

**PENGEMBANGAN FORMULA DAN UJI STABILITAS KRIM  
LIPOSOM MINYAK CENGKEH  
(*Syzigium aromaticum*)**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

**Ni Putu Ayu Meldayani**

**NIM 155070507111005**

**Program Studi Sarjana Farmasi**

**Fakultas Kedokteran**

**Universitas Brawijaya**

**Malang**

**2018**

## DAFTAR ISI

**TUGAS AKHIR** ..... 错误!未定义书签。

**HALAMAN PENGESAHAN** ..... 错误!未定义书签。

**SURAT KEPUTUSAN DEKAN** ..... 错误!未定义书签。

**KATA PENGANTAR** ..... 错误!未定义书签。

**ABSTRAK** ..... 错误!未定义书签。

**ABSTRACT** ..... 错误!未定义书签。

**DAFTAR TABEL** ..... 错误!未定义书签。

**DAFTAR GAMBAR** ..... 错误!未定义书签。

**DAFTAR SINGKATAN** ..... 错误!未定义书签。

**BAB 1 PENDAHULUAN** ..... 错误!未定义书签。

1.1 Latar Belakang ..... 错误!未定义书签。

1.2 Rumusan Masalah ..... 错误!未定义书签。

1.3 Tujuan Penelitian ..... 错误!未定义书签。

1.3.1 Tujuan Umum ..... 错误!未定义书签。

1.3.2 Tujuan khusus ..... 错误!未定义书签。

1.4 Manfaat Penelitian ..... 错误!未定义书签。

1.4.1 Manfaat Akademik ..... 错误!未定义书签。

1.4.2 Manfaat Praktis ..... 错误!未定义书签。

**BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA** ..... 错误!未定义书签。

2.1 Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) ..... 错误!未定义书签。

2.1.1 Kandungan Metabolit Sekunder Minyak Cengkeh ..... 错误!未定义书签。

2.1.2 Stabilitas dan Sifat Fisika Kimia Minyak Cengkeh ..... 错误!未定义书签。

2.1.3	Aktivitas Farmakologi.....	错误!未定义书签。
2.2	Skabies .....	错误!未定义书签。
2.2.1	Parasit Skabies.....	错误!未定义书签。
2.2.2	Gejala Skabies.....	错误!未定义书签。
2.2.3	Terapi Farmakologi.....	错误!未定义书签。
2.3	Liposom .....	错误!未定义书签。
2.3.1	Definisi Liposom .....	错误!未定义书签。
2.3.2	Klasifikasi Liposom .....	错误!未定义书签。
2.3.3	Komponen Liposom .....	错误!未定义书签。
2.3.3.1	Fosfolipid .....	错误!未定义书签。
2.3.4	Metode Pembuatan Liposom .....	错误!未定义书签。
2.3.5	Mekanisme Liposom Menembus Lapisan Kulit....	错误!未定义书签。
2.4	Formula Liposom.....	错误!未定义书签。
2.4.1	Lesitin.....	错误!未定义书签。
2.4.2	Kloroform .....	错误!未定义书签。
2.5	Krim .....	错误!未定义书签。
2.5.1	Definisi Sediaan Topikal Krim .....	错误!未定义书签。
2.5.2	Tipe Krim .....	错误!未定义书签。
2.6	Formula Krim .....	错误!未定义书签。
2.6.1	Asam Stearat .....	错误!未定义书签。
2.6.2	Setil Alkohol .....	错误!未定义书签。
2.6.3	NaOH (Natrium Hidroksida).....	错误!未定义书签。
2.6.4	BHT .....	错误!未定义书签。
2.6.5	Tween 80.....	错误!未定义书签。

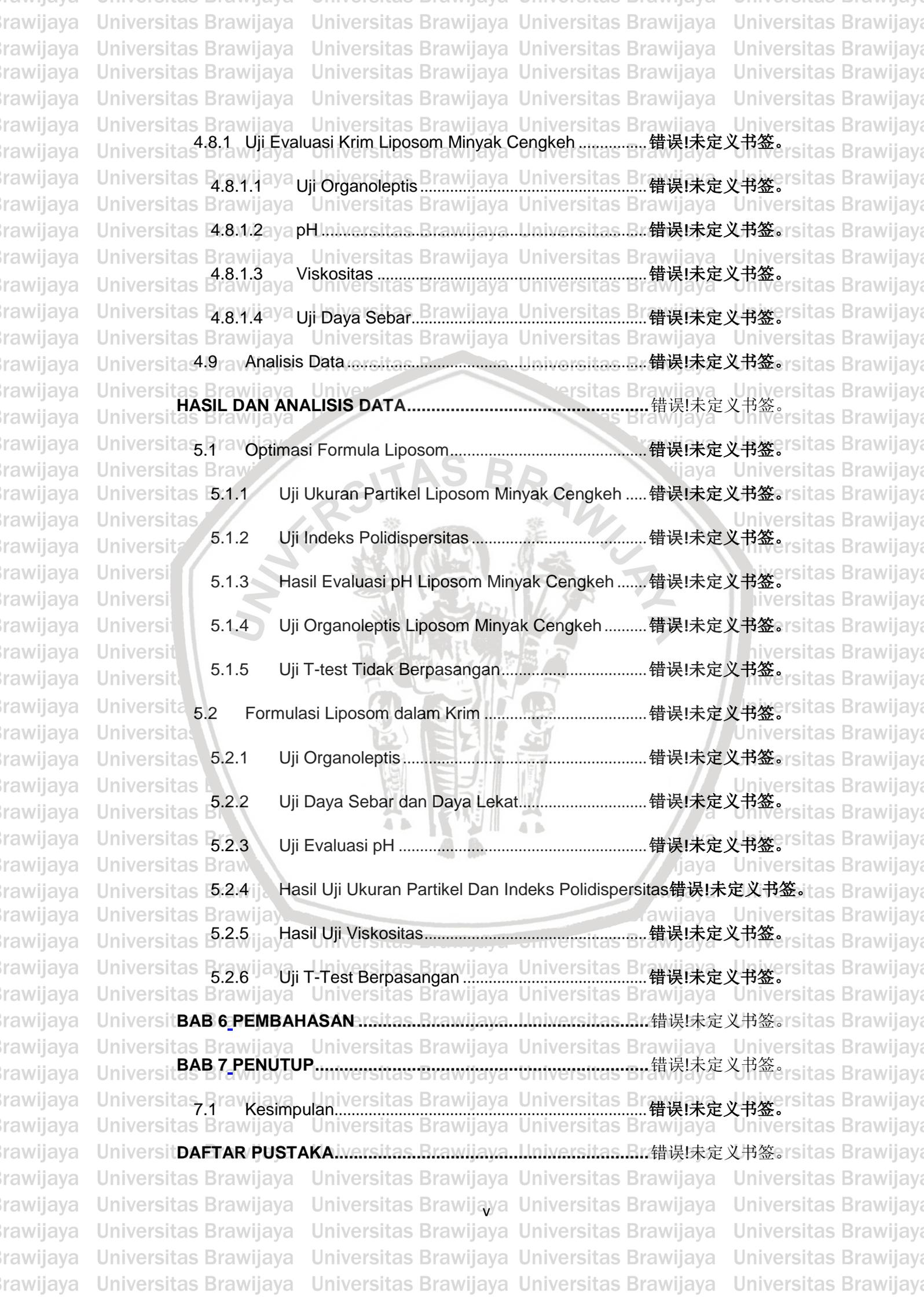
2.6.6	Propilen Glikol.....	错误!未定义书签。
2.6.7	Metil Paraben.....	错误!未定义书签。
2.6.8	Purified Water.....	错误!未定义书签。
2.6.9	Span 80.....	错误!未定义书签。
2.7	Uji Karakteristik Liposom .....	错误!未定义书签。
2.7.1	Particle Size Analyzer (PSA) .....	错误!未定义书签。
2.8	Uji Evaluasi Krim .....	错误!未定义书签。
2.8.1	Uji pH.....	错误!未定义书签。
2.8.2	Uji Organoleptis.....	错误!未定义书签。
2.8.3	Uji Daya Sebar.....	错误!未定义书签。
2.8.4	Uji Viskositas.....	错误!未定义书签。
2.8.5	Uji Daya Lekat .....	错误!未定义书签。

**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN** 错误!未定义书签。

3.1	Kerangka Konsep.....	错误!未定义书签。
2.4	Hipotesis.....	错误!未定义书签。

**BAB 4 METODE PENELITIAN** 错误!未定义书签。

4.1	Rancangan Penelitian .....	错误!未定义书签。
4.2	Variabel penelitian.....	错误!未定义书签。
4.3	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	错误!未定义书签。
4.4	Alat dan Bahan.....	错误!未定义书签。
4.5	Definisi Operasional.....	错误!未定义书签。
4.6	Pre-Study Liposom Minyak Cengkeh.....	错误!未定义书签。
4.7	Pembuatan Liposom dan Evaluasi Liposom.....	错误!未定义书签。
4.7.1	Analisis ukuran partikel (PSA).....	错误!未定义书签。



4.8.1 Uji Evaluasi Krim Liposom Minyak Cengkeh ..... 错误!未定义书签。

4.8.1.1 Uji Organoleptis ..... 错误!未定义书签。

4.8.1.2 pH ..... 错误!未定义书签。

4.8.1.3 Viskositas ..... 错误!未定义书签。

4.8.1.4 Uji Daya Sebar ..... 错误!未定义书签。

4.9 Analisis Data ..... 错误!未定义书签。

**HASIL DAN ANALISIS DATA** ..... 错误!未定义书签。

5.1 Optimasi Formula Liposom ..... 错误!未定义书签。

5.1.1 Uji Ukuran Partikel Liposom Minyak Cengkeh ..... 错误!未定义书签。

5.1.2 Uji Indeks Poldispersitas ..... 错误!未定义书签。

5.1.3 Hasil Evaluasi pH Liposom Minyak Cengkeh ..... 错误!未定义书签。

5.1.4 Uji Organoleptis Liposom Minyak Cengkeh ..... 错误!未定义书签。

5.1.5 Uji T-test Tidak Berpasangan ..... 错误!未定义书签。

5.2 Formulasi Liposom dalam Krim ..... 错误!未定义书签。

5.2.1 Uji Organoleptis ..... 错误!未定义书签。

5.2.2 Uji Daya Sebar dan Daya Lekat ..... 错误!未定义书签。

5.2.3 Uji Evaluasi pH ..... 错误!未定义书签。

5.2.4 Hasil Uji Ukuran Partikel Dan Indeks Poldispersitas ..... 错误!未定义书签。

5.2.5 Hasil Uji Viskositas ..... 错误!未定义书签。

5.2.6 Uji T-Test Berpasangan ..... 错误!未定义书签。

**BAB 6 PEMBAHASAN** ..... 错误!未定义书签。

**BAB 7 PENUTUP** ..... 错误!未定义书签。

7.1 Kesimpulan ..... 错误!未定义书签。

**DAFTAR PUSTAKA** ..... 错误!未定义书签。



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGEMBANGAN FORMULA DAN UJI STABILITAS KRIM LIPOSOM

MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*)

Oleh:

Ni Putu Ayu Meldayani

NIM 155070507111005

Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 28 Desember 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I/Pembimbing I



Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt

NIP. 2011068510252001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



Alvan Febrian Shafas, S.Farm., M.Farm., Apt

NIP. 2011068502181001



## ABSTRAK

Meldayani, Ni Putu Ayu. 2018. Pengembangan Formula dan Uji Stabilitas Krim Liposom Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*): Tugas Akhir, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: Oktavia Eka Puspita, S.Farm., Msc., Apt.

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki kandungan utama yaitu eugenol dengan konsentrasi optimal 6,25% dalam waktu 15 menit dapat membunuh *Sarcoptes scabiei*. Minyak cengkeh mudah menguap dan menyebabkan dermatitis sehingga dienkapsulasi liposom. Namun, liposom memiliki ketidakstabilan yaitu beragregasi sehingga diformulasikan dalam bentuk krim. Krim akan membantu meningkatkan efektifitas minyak cengkeh yang dienkapsulasi liposom. Terdapat dua formula liposom dengan rasio kolesterol yang berbeda. Kolesterol berfungsi membentuk struktur liposom menjadi lebih rigid sehingga mengurangi resiko liposom pecah dan membentuk agregat. Metode untuk pembuatan liposom menggunakan hidrasi lapis tipis dengan menguapkan pelarut (kloroform) dan hidrasi dengan buffer pH 7. Metode ini dikombinasikan dengan sonikasi dan ultraturax untuk membantu homogenisasi dan pengecilan ukuran. Krim memiliki fase minyak dan fase air yang dicampur untuk membentuk basis krim dengan suhu 70°C.

Formula 1 memiliki perbandingan lesitin:kolesterol sebesar 9:1 dan F2 yaitu 9:2. F1 memiliki ukuran partikel  $654,07 \pm 83,04$  nm, indeks polidispersitas  $0,626 \pm 0,05$ , pH 5,97 dan F2 sebesar  $274,27 \pm 123,78$  nm, indeks polidispersitas  $0,136 \pm 0,07$ , pH 6,04. Berdasarkan hasil penelitian, F1 dan F2 memiliki ukuran  $< 3 \mu\text{m}$  (ukuran yang baik untuk menembus stratum korneum) namun, F2 memiliki indeks polidispersitas yang lebih kecil (mendekati 0) yang berarti distribusi ukuran partikelnya lebih merata sehingga F2 dipilih untuk diformulasi ke dalam krim. Krim memiliki daya sebar  $0,49 \pm 0,047$ , daya lekat  $33 \pm 3$ , pH  $4,59 \pm 0,08$ , ukuran partikel liposom dalam krim  $1013 \pm 640$  nm, dan indeks polidispersitas  $0,83 \pm 0,14$ .- Ukuran partikel liposom dalam krim menjadi meningkat akibat terjadinya koalesensi karena peningkatan kontak antar lapisan film/layer dari droplet.

**Kata Kunci : Minyak Cengkeh, Liposom, Kolesterol, Krim**

## ABSTRACT

Meldayani, Ni Putu Ayu. 2018. Development of formula and Stability Test of Clove Oil Liposomes Cream (*Syzygium aromaticum*). Final Assignment Pharmacy Program Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Supervisor: Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Clove (*Syzygium aromaticum*) has the main content of eugenol with a optimal concentration of eugenol which is 6.25% with a time of 15 minutes can kill *Sarcoptes scabiei*. Clove oil is volatile and causes dermatitis so it is encapsulated by liposomes. However, liposomes have instability is aggregation so that it is formulated in cream. The cream will help increase the effectiveness of clove oil encapsulated by liposomes. There are two liposome formulas with different cholesterol ratios. Cholesterol functions to form the structure of the liposome to be more rigid, thereby reducing the risk of liposomes breaking and forming aggregates. The method for making liposomes uses thin layer hydration by evaporating solvents (chloroform) and hydration with a pH 7 buffer. This method is combined with sonication and ultraturax to help homogenize and reduce size. The cream has an oil phase and the water phase is mixed to form a cream base with a temperature of 70°C.

Formula 1 has a ratio of lecithin : cholesterol of 9:1 and F2 is 9:2. F1 has a particle size of  $654.07 \pm 83.04$  nm, F2 is  $274.27 \pm 123.78$  nm, the polydispersity index is  $0.626 \pm 0.05$ , F2 is  $0.136 \pm 0.07$ , pH 5.97 and F2 is 6.04. Based on the results of the study, F1 and F2 have a size of  $<3 \mu\text{m}$  (good size to penetrate the stratum corneum) however, F2 has a smaller polydispersity index (approach of 0) which means the particle size distribution is more evenly distributed, so that F2 is chosen to be into cream. The cream has a spread of  $0.49 \pm 0.047$ , adhesiveness of  $33 \pm 3$ , pH  $4.59 \pm 0.08$ , particle size of liposomes in cream  $1013 \pm 640$  nm, and polydispersity index  $0.83 \pm 0.14$ . Particle size of liposomes in the cream increases due to coalescence because increased contact between the film layers / layers of the droplet.

**Keywords: Clove Oil, Liposomes, Cholesterol, Cream**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki minyak esensial berbau aromatis yang dominan terdapat pada pucuk daun, bunga, dan ranting.

Komponen utama pada minyak cengkeh adalah eugenol dengan kadar 89% yang terletak pada tunas bunga (Krystyna, 2012). Eugenol dapat berfungsi sebagai antimikroba, antifungi, antioksidan, dan antitungau (Razafimamonjison, *et al.*, 2014). Konsentrasi optimal minyak cengkeh untuk terapi alternatif skabies yaitu 6,25% dengan waktu 15 menit dalam membunuh *Sarcoptes scabiei* (Cielo, *et al.*, 2010). Dalam artikel herbal minyak cengkeh untuk kesehatan gigi (2017), minyak cengkeh yang digunakan langsung pada kulit dapat menyebabkan sensitifitas pada beberapa individu. Konsentrasi eugenol yang terlalu tinggi dapat mengiritasi selaput lendir dan menyebabkan dermatitis pada kulit.

Sifat mudah menguap dari minyak atsiri yang terkandung dalam minyak cengkeh dan toksisitas minyak cengkeh jika langsung kontak dengan kulit dapat diatasi dengan enkapsulasi liposom. Liposom dapat melindungi minyak cengkeh dari faktor lingkungan seperti oksigen, cahaya, kelembaban, dan pH, serta menurunkan penguapan. Selain itu, enkapsulasi liposom membantu meningkatkan mekanisme absorpsi sel dan meningkatkan bioefikasi (Anna, *et al.*, 2014). Penelitian lain menunjukkan bahwa enkapsulasi minyak cengkeh maupun eugenol menggunakan liposom meningkatkan stabilitas minyak cengkeh (Ghosh, *et al.*, 2014; Cortes-Rojas, *et al.*, 2014; dan Majeed, *et al.*, 2016).

Liposom terdiri dari komponen fosfolipid dan kolesterol. Fosfolipid akan membentuk lapisan bilayer yang memiliki struktur hidrofilik pada bagian kepala

dan hidrofobik pada bagian ekor. Sedangkan, Kolesterol berfungsi membentuk struktur liposom menjadi lebih rigid dengan menempati celah dari fosfolipid sehingga dapat mengurangi bahan aktif yang bersifat hidrofil (Shasi, *et al.*, 2012).

Selain itu, kolesterol mampu menurunkan fluiditas dan mengurangi permeabilitas membran terhadap molekul yang larut air (Mansori dan Agrawal, 2012).

Berdasarkan hal tersebut, maka kolesterol yang semakin banyak pada formula liposom dapat meningkatkan distribusi ukuran partikel dengan mencegah liposom pecah dan membentuk agregat.

Bentuk ketidakstabilan liposom secara fisik diakibatkan karena adanya agregasi atau flokulasi dan fusi atau koalesensi yang mempengaruhi susunan liposom dan mengakibatkan hilangnya kestabilan liposom dalam melindungi bahan aktif. Agregasi merupakan penggabungan partikel-partikel kecil yang terdispersi dalam liposom menjadi lebih besar dan bersifat reversibel.

Sedangkan, koalesensi merupakan proses ketidakstabilan liposom yang bersifat tidak dapat kembali (*Irreversible*) dan mengakibatkan struktur liposom tidak terlihat secara jelas karena penggabungan globul-globul menjadi lebih besar (Takeuchi, *et al.*, 1998 dalam Yadav, *et al.*, 2011).

Menurut Roberta *et al.* (2004) yang telah melakukan penelitian antigen dalam liposom, menyebutkan bahwa, meskipun beberapa liposom terdegradasi selama proses emulsifikasi akibat sumbangan molekul fosfolipid untuk pembuatan emulsi, namun sejumlah besar liposom tetap utuh mengandung antigen yang telah dikemas dalam bentuk emulsi. Stabilitas emulsi sangat bergantung pada rasio dari liposom ke minyak selama proses emulsifikasi. Selain itu, liposom memiliki akseptabilitas rendah dan mempengaruhi stabilitas ketika kontak langsung dengan kulit.

Berdasarkan penelitian tersebut, dapat diasumsikan bahwa kestabilan liposom dalam emulsi sangat cocok jika liposom diformulasikan untuk sediaan krim. Krim mengandung bahan aktif terlarut atau tersuspensi dalam air maupun basis emolien (pelembab) yang diklasifikasikan menjadi krim jenis air dalam minyak (*water in oil*) dan minyak dalam air (*oil in water*), yang akan dikombinasikan dengan cara pengadukan maupun memanfaatkan panas (Ansell dan Alen, 2002).

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan studi kestabilan liposom dalam bentuk sediaan krim yang didasari pada hasil uji evaluasi liposom seperti analisis ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, dan pH serta uji evaluasi krim seperti organoleptis, pH, ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, viskositas, daya sebar, dan daya lekat.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh rasio kolesterol terhadap formula liposom yang baik berdasarkan distribusi ukuran partikel?
2. Bagaimana stabilitas ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel liposom minyak cengkeh dalam sediaan krim?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui liposom yang optimal berdasarkan rasio kolesterol dan distribusi ukuran partikel.
2. Untuk mengetahui kestabilan liposom minyak cengkeh dalam sediaan topikal krim.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui liposom yang optimal dari hasil uji evaluasi distribusi ukuran partikel.
2. Untuk mengetahui stabilitas liposom dalam sediaan krim berdasarkan hasil ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel menggunakan *Size Particle Analyzer*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

Sebagai penerapan dalam ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmasi tentang pentingnya kestabilan dan karakteristik liposom dalam sediaan topikal krim.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Sebagai kajian farmasetika bagi praktisi apoteker di Industri Farmasi maupun Bahan Alam untuk mempertimbangkan kestabilan dan karakteristik sistem penghantaran obat liposom yang mengandung bahan aktif ketika diformulasikan pada sediaan topikal krim.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1 Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan salah satu tanaman yang berasal dari family Myrtaceae. Spesies ini memiliki kandungan minyak esensial tinggi pada daun, batang, dan tunas sebagai salah satu tanaman aromatis.

Cengkeh dan minyak cengkeh selama berabad-abad telah dikenal dan digunakan di Babel, Asyur, Mesir, Yunani, dan Cina. Cengkeh diimpor ke Eropa dari Pulau Maluku (secara historis dikenal sebagai *The Spice Island* pada abad keempat). *Syzygium aromaticum* memiliki ukuran pohon 10-15 m, dengan cabang horizontal yang ramping dan tebal membentuk piramida. Kulit kayu yang lembut dengan warna kuning pucat keabuan. Daun hijau yang memiliki panjang 3-6 inchi dominan tumbuh dengan arah yang berlawanan. Bunga yang tumbuh berkelompok dan sangat banyak dalam satu cabang. Saat muda atau awal tumbuh, bunga cengkeh akan berwarna merah muda namun pada saat kering akan berwarna agak ke-cokelatan (Krystyna, *et al.*, 2012).

Klasifikasi cengkeh adalah sebagai berikut (<https://plants.usda.gov>):

*Kingdom* : *Plantae*

*Subkingdom* : *Tracheobionta*

*Divisio* : *Magnoliophyta*

*Class* : *Magnoliopsida*

*Subclass* : *Rosidae*

*Ordo* : *Myrtales*

*Familia* : *Myrtaceae*

*Genus* : *Syzygium*

*Spesies* : *Syzygium aromaticum*

### 1.1.1 Kandungan Metabolit Sekunder Minyak Cengkeh

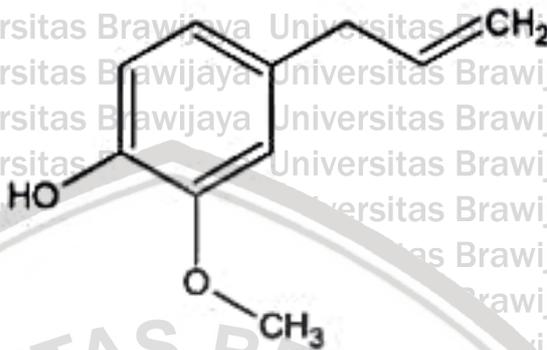
Konsentrasi minyak atsiri ditemukan di kuncup bunga cengkeh dan sekitar 89% dari minyak atsiri tersebut adalah eugenol. Konsentrasi eugenol asetat dan  $\beta$ -cariofileno yang terdapat pada cengkeh yaitu 5% hingga 15%.

Gambar struktur eugenol dapat dilihat pada gambar 2.2. Senyawa lain yang bersifat volatil dengan konsentrasi yang lebih rendah dalam minyak cengkeh seperti  $\beta$ -pinene, limonene, farnesol, benzaldehida, 2-heptanon, dan etil heksanoat (Pubchem, 2018). Cengkeh yang ada di Indonesia memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu heptane-2-one 0.05%,  $\alpha$ -Kopeah +  $\alpha$ -llangen 1,7%, Caryophyllene 1,7%,  $\alpha$ -Humulen 2,1%,  $\delta$ -Kadinen 5,3%, Kalamenen 0,49%, Eugenol 36%, dan Eugenol Asetat 11,7%. Konsentrasi eugenol dalam minyak esensial 28% saat daun masih muda dan sampai 95% saat daun mulai matang, sedangkan eugenol asetat hanya berjumlah 22% saat daun masih muda dan menurun sampai 1% ketika daun sudah mulai matang (Krystyna, 2012). Morfologi cengkeh (daun, ranting, dan bunga muda) dapat dilihat pada gambar 2.1.



**Gambar 2.1 Cengkeh** (Sumber : [powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:601421-1](http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:601421-1))

Eugenol yang merupakan metabolit sekunder pada minyak esensial cengkeh memiliki struktur kimia seperti dibawah ini :



Gambar 2.2 Struktur Kimia Eugenol (Krystyna, 2012)

### 1.1.2 Stabilitas dan Sifat Fisika Kimia Minyak Cengkeh

Estimasi titik leleh maupun titik didih dari minyak esensial penting sebagai penilaian untuk kemurnian. Minyak cengkeh dan minyak esensial lainnya memiliki titik leleh sekitar 0,5°C. Minyak cengkeh memiliki titik didih 250°C. Kristalisasi minyak esensial dapat terjadi disertai adanya pelepasan panas pada peningkatan suhu mendadak. Minyak cengkeh stabil dalam penyimpanan yang sejuk namun tidak di *freezer* dan mudah teroksidasi ketika penyimpanan dalam wadah sangat rapat. Dalam Krystyna, 2012 disebutkan bahwa sifat fisika kimia minyak cengkeh yaitu densitas  $d(20)$ : 1,05 g/cm<sup>3</sup>; refraksi 1,53; rotasi -0°25', dan fenol yang terkandung 93%. Berdasarkan USP 29, minyak cengkeh memiliki logam berat sebesar 0,004%. Eugenol yang terdapat dalam minyak cengkeh memiliki titik didih 253,2°C dan memiliki titik leleh sebesar -7,5°C.

### 1.1.3 Aktivitas Farmakologi

Eugenol yang diisolasi dari minyak cengkeh dapat berperan sebagai antikanker. Setelah terapi menggunakan eugenol, sel-sel HL-60 (sel-sel leukemia promyelocytic) menunjukkan tanda-tanda apoptosis. Apoptosis ini

terjadi karena adanya peningkatan aktivitas ROS, menginduksi transisi permeabilitas mitokondria, dan mendorong pelepasan sitokrom C ke sitosol (Yoo, *et al.*, 2005). Sebuah penelitian yang menggunakan minyak cengkeh, minyak kayu putih, teh, serai, dan lemon diberikan kepada 30 pasien yang menderita kanker kepala dan leher, diberikan dalam bentuk sediaan topikal (5 mL) dioleskan 2 kali sehari memperlihatkan hasil antibakteri dan antiinflamasi (warneke, *et al.*, 2006). Eugenol juga memiliki aktivitas antimikroba, antifungi, dan antioksidan. Eugenol, sebagai komponen dasar dan utama yang terdapat pada cengkeh dan biasanya digunakan sebagai pembuatan vanillin (Razafimamonjison, *et al.*, 2014). Secara *in vitro*, eugenol memiliki aktivitas dalam menghalangi pelepasan IL-1, TNF-alpha, prostaglandin E2, dan menekan ekspresi mRNA IL-1beta serta mengurangi aktivitas COX-2 yang dirangsang oleh lipopolisakarida bakteri gram negatif (Jang, *et al.*, 2007).

Konsentrasi minyak cengkeh yang digunakan untuk terapi skabies adalah 1% (Fang, *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Pasay *et al.* melaporkan bahwa 1,56% minyak cengkeh dapat membunuh *Sarcoptes scabiei* setelah 15 menit (Pasay, *et al.*, 2010), sementara penelitian yang dilakukan oleh Fang-Fang *et al.* didapatkan hasil bahwa dengan minyak cengkeh konsentrasi 1% dapat membunuh *Sarcoptes scabiei* dalam waktu 20 menit (Fang, *et al.*, 2016). Konsentrasi optimal minyak cengkeh untuk terapi alternatif skabies yaitu 6,25% dengan waktu 15 menit dalam membunuh *Sarcoptes scabiei* (Cielo, *et al.*, 2010).

Eugenol dari minyak cengkeh ini bekerja dengan mekanisme penghancuran membran sel dan menurunkan ATP dari parasit *Sarcoptes scabiei* (Fang, *et al.*, 2016).

## 1.2 Skabies

### 1.2.1 Parasit Skabies

Skabies merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah dalam bidang kesehatan. Berdasarkan data dari Departemen Kesehatan Indonesia, prevalensi scabies tahun 2009 berkisar pada 4,9-12,95%. Skabies disebabkan oleh tungau parasite *Sarcoptes scabiei* varietas *hominis*. *Sarcoptes scabiei* ini mirip seperti artropoda, namun sangat kecil dan tidak bisa dilihat dengan mata telanjang. *Sarcoptes scabiei* akan membuat lubang dengan panjang kira-kira 1 cm di stratum korneum dan jika parah akan mencapai perbatasan lapisan stratum granulosum epidermis. Larva heksapoda muncul 2 sampai 4 hari setelah telur diletakkan dan berkeliaran di tubuh inang untuk menjadi dewasa dalam 14 sampai 17 hari. Larva *Sarcoptes scabiei* sudah dapat membentuk liang pada kulit yang menyebabkan hipersensitifitas pada kulit. Nimfa akan berganti kulit menjadi dua tahap pada saat dewasa yaitu *protonymphs* dan *tritonymphs*. Setelah 10 sampai 14 hari berganti kulit terakhir, nimfa akan muncul sebagai tungau dewasa jantan maupun betina (Burkhart, *et al.*, 2000).

### 1.2.2 Gejala Skabies

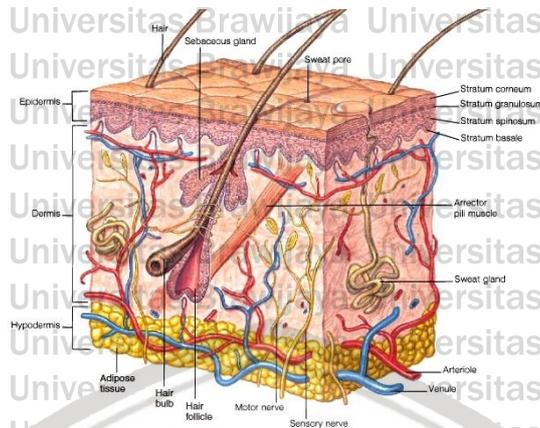
Karakteristik kemerahan yang terjadi pada skabies ini bukanlah karena terinfeksi dari tungau ini tapi reaksi alergi dengan telur dan feses yang sangat sensitif jika mengenai kulit terutama anak-anak. Terdapat tiga gejala khas jika individu terkena infeksi skabies ini yaitu adanya bagian kulit yang menonjol akibat persembunyian tungau ini, eritema papula, dan kemerahan disertai rasa gatal. Diagnosa ditegakkan ketika seseorang mengalami kemerahan yang lebih banyak pada malam hari dan memiliki riwayat pernah bersentuhan langsung dengan individu yang mengalami rasa gatal disertai kemerahan dalam 2 bulan

terakhir. (Hengge, et al., 2006). Selain itu, skabies ditandai dengan adanya hipersensitifitas yang berlebihan akibat tungau, seperti pruritis pada malam hari, kulit kasar, dan adanya kemerahan pada kulit disertai bintik-bintik kecil (Johnston dan Sladden, 2005). Tungau parasit ini bertelur pada bagian stratum korneum epidermis kulit yang dapat dilihat pada gambar 2.3.



**Gambar 2.3 Infeksi Skabies pada kulit**  
Sumber: [medicalseervices.nph.org](http://medicalseervices.nph.org)

Lapisan kulit stratum korneum merupakan lapisan paling atas pada epidermis, yang diikuti dengan lapisan granulosum, lapisan spinosum, dan lapisan germinativum. Pada bagian epidermis terdapat sel keratinosit dan sel dendrit. Dimana, sel-sel yang ada pada lapisan germinativum akan menuju ke permukaan kulit yang disebut sebagai proses keratinisasi (Chu, 2008). Struktur anatomi kulit ditampilkan pada **gambar 2.4**.



**Gambar 2.4 Anatomi Kulit** (Sumber : <http://pulpbits.net/7-skin-structure-anatomy-diagrams/structure-of-skin/>)

### 1.2.3 Terapi Farmakologi

Terapi farmakologi skabies terfokus pada dua mekanisme umum yaitu neurotoksisitas yang menghasilkan lisis pada tungau dan membunuh dengan cara melapisi tungau agar tungau tidak bisa bernafas. Neurotoksisitas yang sudah ada dalam bentuk topikal seperti shampoo lindane 1%, lotion permethrin 1%, pyrethrin 0,3% piperonyl butoxide 4% shampoo, dan lotion malathion 0,5%.

Permethrin digunakan sebagai lini pertama dalam terapi skabies (Frankowski dan Bocchini, 2010). Terapi untuk skabies klasik digunakan permethrin 5% sebagai terapi awal karena belum ada bukti jelas bahwa permethrin 5% menyebabkan resisten dalam dua dekade terakhir (Workowski dan Berman, 2010). Untuk memaksimalkan efek terapi obat pada skabies, dianjurkan menggunakan krim permethrin pada malam hari dan dibiarkan semalaman, selanjutnya diberikan 1 sampai 2 minggu setelah penggunaan pertama kali (Mumcuoglu dan Gilead, 2008).

### 1.3 Liposom

#### 1.3.1 Definisi Liposom

Liposom adalah vesikel mikroskopis yang terdiri dari satu atau lebih lipid yang dikapsulasi dengan lapisan ganda *lipid bilayer*. Lapisan *double lipid*

*bilayer* tersebut biasanya terbentuk dari lipid seperti kolesterol dan lesitin. Lesitin ini memiliki bagian molekul hidrofilik dan hidrofobik yang memiliki kelarutan

berbeda dan secara spontan akan membentuk lapisan tunggal maupun ganda dan membuat vesikel tertutupi oleh pelarut air yang digunakan. Liposom memiliki

ukuran 0.025µm sampai lebih dari 5 µm. Liposom mampu untuk melindungi obat secara luas dan memiliki sifat fleksibilitas struktural merupakan salah satu

kelebihan liposom untuk mengendalikan obat sehingga dapat mencapai target dengan keadaan utuh. Selain itu, liposom bekerja sebagai pembawa obat

dengan pelepasan diperlambat mengakibatkan liposom dapat memperpanjang durasi obat dalam tubuh sehingga efek terapi yang ditimbulkan lebih panjang.

Liposom juga dapat melindungi obat dari degradasi enzim dalam tubuh sehingga dosis obat tidak akan berkurang sebelum mencapai target obat dalam tubuh

(Zarena dan Sankar, 2009., Krowczynski, 1987).

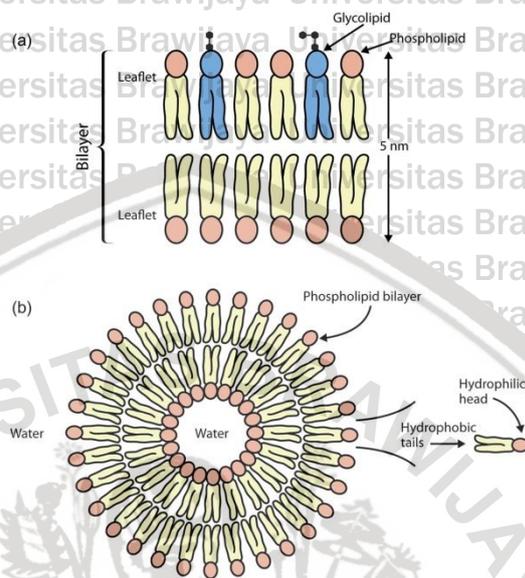
Alec Bangham, pertama kali menjelaskan fosfolipid sebagai molekul membran yang dapat berinteraksi dengan air membentuk struktur unik yang

sekarang dikenal dengan liposom. Fosfolipid jika dikombinasikan dengan air akan membentuk lapisan ganda (*double layer*) yang berbentuk seperti bola

karena satu ujung dari setiap molekul larut air dan ujung lainnya tidak larut air (Bangham dan Horne, 1964 dalam Sumaira, 2016). Obat yang larut air akan

terperangkap di bagian sisi liposom yang bersifat hidrofilik dan obat larut lemak akan berada didalam lapisan lipid (hidrofobik) (Gregoriadis, 1995 dalam Dash

Tapaswi, 2013). Bagian liposom yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat dilihat pada gambar 2.5.



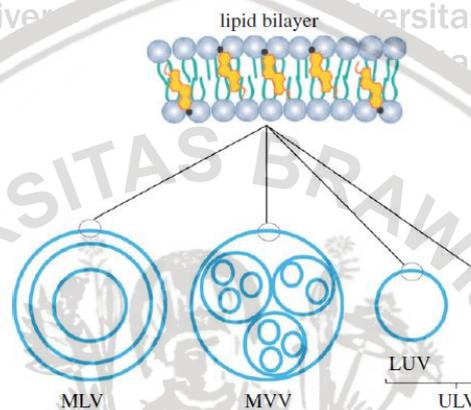
**Gambar 2.5 Bagian Liposom (hidrofilik dan hidrofobik)** (Sumber : <http://essays.biochemistry.org/content/59/43>)

Liposom sebagai sistem penghantaran obat menjanjikan hal yang menguntungkan dalam pemberian obat bagi tubuh manusia. Hal ini disebabkan karena liposom memiliki sifat biokompatibilitas, merupakan protein yang stabil, mampu terdegradasi saat obat akan mencapai target, mampu mencapai target spesifik, tidak beracun, fleksibel dan non imunogenik untuk penghantaran obat sistemik dan non sistemik, dan memiliki sifat hidrasi yang terkontrol (Mozafari, *et al.*, 2002).

### 1.3.2 Klasifikasi Liposom

Liposom dapat diklasifikasikan menjadi tiga berdasarkan jumlah lamella dan ukuran liposom, yaitu *Small Unilamellar Vesicles* merupakan liposom yang memiliki ukuran 20–50 nm dengan hanya memiliki satu lamella, *Large Unilamellar Vesicles* memiliki satu lamella dengan ukuran diameter 100-1000nm, *Giant Unilamellar Vesicles* memiliki ukuran diameter >1000nm dengan satu

lamella, *Multilamellar vesicles* memiliki ukuran diameter >500 nm dan memiliki beberapa lamella (5-25), *Oligolamellar vesicles* memiliki ukuran diameter 100-1000 nm, dan *Multivesicular vesicle* memiliki ukuran diameter >1000nm dengan struktur multikompartemen pada lapisan lipid (Grant, et al., 2004). Klasifikasi liposom berdasarkan ukuran dapat dilihat pada gambar 2.6 dibawah ini :



**Gambar 2.6 Klasifikasi Liposom** (Sumber : Gomez dan Manuel, 2005)

### 1.3.3 Komponen Liposom

#### 1.3.3.1 Fosfolipid

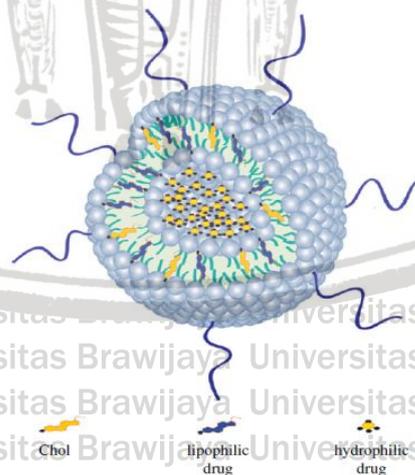
Fosfolipid sebagai komponen utama dalam liposom memiliki dua jenis yaitu fosfoglisericid dan sfingolipid, sedangkan jenis fosfolipid yang paling umum adalah fosfolipid dengan molekul fosfatidilkolin. Partikel-partikel yang terdapat pada fosfatidilkolin tidak larut dalam air maupun dalam media yang bersifat air, namun partikel tersebut membentuk formasi yang sejajar untuk menghindari adanya fase air dan fase minyak yang tidak saling bercampur. Salah satu komponen liposom yang paling umum digunakan adalah gliserol karena memiliki lebih dari 50% berat lipid yang terdapat pada membrane biologis. Beberapa

fosfolipid yaitu fosfatidil kolin (lesitin)-PC, fosfatidil etanolamin (*cephalin*)-PE,

fosfatidil serine (PS), fosfatidil inositol (PI), dan fosfatidil gliserol (PG) (Patil, *et al.*, 2005 dan Patel, 2006).

### 1.3.3.2 Kolesterol

Kolesterol tidak membentuk lapisan lipid bilayer dengan sendirinya, namun dapat ditambahkan ke dalam membran fosfolipid dalam konsentrasi yang sangat tinggi. Posisi kolesterol dalam membrane sejajar dengan gugus hidroksil yang berada pada permukaan air dan sejajar dengan rantai alifatik yang berada pada pusat *bilayer*. Kelarutan kolesterol yang tinggi dalam liposom karena adanya interaksi antara kolesterol dengan bagian hidrofobik liposom (Patil, *et al.*, 2005 dan Patel, 2006). Kolesterol berfungsi membentuk struktur liposom menjadi lebih rigid dengan menempati celah dari fosfolipid sehingga dapat mengurangi bahan aktif yang bersifat hidrofil (Shasi, *et al.*, 2012). Selain itu, kolesterol mampu menurunkan fluiditas dan mengurangi permeabilitas membran terhadap molekul yang larut air (Mansori dan Agrawal, 2012). Komponen liposom yaitu fosfolipi dan kolesterol dapat dilihat pada gambar 2.7 dibawah ini :



**Gambar 2.7 Komponen Liposom** (Monteiro, *et al.*, 2014)

### 1.3.4 Metode Pembuatan Liposom

Metode pembuatan liposom dapat dilakukan dengan cara *Thin Film Hydration, Reverse Phase Evaporation, Solvent (Ethanol/Ether) Injection, Polyol dilution, Freeze-Thaw, double emulsions, proliposome method, french press extrusion, detergent removal, dan high-pressure homogenization*. Namun, metode yang paling sering digunakan yaitu *Thin Film Hydration, Reverse Phase Evaporation, Solvent (Ethanol/Ether) Injection* (Yang, et al., 2012).

#### 1.3.4.1 Hidrasi Lapis Tipis (*Thin Film Hydration*)

Campuran fosfolipid dan kolesterol didispersikan dalam pelarut organik. Kemudian, pelarut organik dihilangkan dengan cara penguapan menggunakan rotary evaporator. Pelarut yang biasanya digunakan untuk pembuatan liposom yaitu kloroform, diklorometana, dan methanol. Ketika pelarut menguap sempurna maka lapisan lipid mulai terbentuk. Lapisan lipid kering yang terbentuk pada dinding labu dihidrasi dengan menambahkan larutan buffer tanpa keadaan vakum untuk membentuk sisi hidrofil liposom. Liposom yang terbentuk dengan metode ini yaitu *Multilamellar Large Vesicles*.

Metode ini merupakan metode umum yang paling sering digunakan karena hasil dari liposom yang dihasilkan membentuk ukuran dan bentuk yang baik. Teknik ini juga dapat dikombinasi dengan sonikasi untuk menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dan lebih seragam yaitu mencapai *Small Unilamellar Vesicle* (Khrisna dan Shasikala, 2014). Zat aktif atau obat ditambahkan saat proses hidrasi, dimana lapisan lipid dan obat akan terdispersi dalam larutan buffer. Penambahan zat aktif atau obat yang bersifat hidrofobik ke dalam liposom selama pembentukan vesikel liposom disebut dengan *Passive Loading*. Jumlah zat aktif yang terenkapsulasi liposome bergantung pada

interaksi obat dengan lipid. Obat yang bersifat hidrofobik akan terjerap di dalam membran lipid liposom karena gugus lipofilik liposom akan berikatan dengan bagian lipofilik obat. Beda halnya dengan *Active loading* yang menambahkan obat pada saat liposome telah terbentuk (Akbarzadeh, *et al.*, 2013).

#### **1.3.4.2 Metode Injeksi Pelarut (Eter atau etanol)**

Metode injeksi etanol melibatkan proses pemecahan lipid menjadi fase organik (etanol atau eter) dan diikuti oleh proses injeksi larutan lipid ke dalam fase air yang akan membentuk liposom. Dalam metode injeksi etanol, liposom dapat diperoleh hanya dengan menyuntikkan fase minyak yang telah terlarut etanol ke dalam fase air tanpa pengecilan ukuran atau sonikasi. Metode injeksi eter berbeda dengan etanol, dimana eter tidak dapat bercampur dengan fase air sehingga pelarut dikeluarkan dari liposom. Metode injeksi eter melibatkan injeksi larutan eter-lipid ke dalam fase air diatas titik didih eter. Eter akan menguap saat kontak dengan fase air dan lipid terdispersi membentuk liposom (Riaz, 1996).

#### **1.3.4.3 Metode Reverse Phase Evaporation**

Metode ini dapat menghasilkan liposom dengan cara membentuk emulsi *water-in-oil* dari fosfolipid dan buffer. Langkah pertama, fosfolipid dilarutkan dalam pelarut organik untuk membentuk lapisan tipis (*thin film*), kemudian pelarut dihilangkan dengan penguapan (evaporasi). Lapisan tipis tersebut diresuspensi dengan dietil eter, dilanjutkan dengan penambahan air. Selanjutnya, dilakukan sonikasi selama waktu tertentu sehingga membentuk emulsi yang homogeny Metode ini dapat digunakan untuk mengenkapsulasi makromolekul berukuran besar dengan nilai efisiensi enkapsulasi sebesar (20 – 68%). Kelemahan metode ini adalah bahan yang dienkapsulasi terkena paparan dari pelarut organik dan

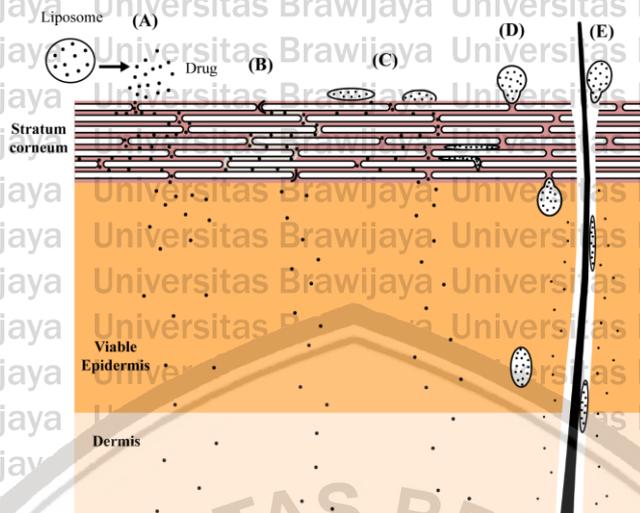
disonikasi dengan kecepatan tinggi yang dapat menimbulkan panas, sehingga dapat merusak molekul yang sensitif terhadap panas (Monteiro *et al.*, 2014).

### 1.3.5 Mekanisme Liposom Menembus Lapisan Kulit

Mekanisme liposom sebagai pembawa obat dalam sediaan topikal memiliki 5 jenis mekanisme yaitu mekanisme obat bebas, mekanisme *penetration enhancer*, fusi dengan stratum korneum, *Intact vesicular skin penetration mechanism*, dan penetrasi transapendagel. Mekanisme obat bebas merupakan liposom hanya bertindak sebagai pembawa obat lipofilik maupun hidrofilik yang berada pada bagian dekat dengan stratum korneum sehingga obat akan terlepas dan obat berpenetrasi secara mandiri ke stratum korneum setelah keluar dari vesikel liposom (Ganesan, *et al.*, 1984). Mekanisme *penetration enhancer* pada liposom yaitu lesitin dapat berfungsi sebagai peningkat penetrasi pada sediaan transdermal dengan menurunkan permeabilitas membrane kulit. Dimana, ketika terdapat *penetration enhancer* maka penetrasi obat kemungkinan mencapai bagian yang lebih bawah dari stratum korneum dengan cara berfusi dengan lipid kulit untuk menghancurkan strukturnya. Selain itu, *penetration enhancer* seperti alkohol mampu mendorong liposom masuk melalui celah korneosit kemudian pelepasan obat terjadi pada lapisan kulit yang lebih dalam (Kirjavainen, 1996).

Mekanisme yang ketiga yaitu liposom mampu berfusi atau menempel dengan stratum korneum. Vesikel liposom dapat terserap ke permukaan stratum korneum dengan transfer obat langsung dari vesikel menuju kulit, atau vesikel liposom dapat menyatu dengan matriks lipid stratum korneum. Interaksi liposom dengan kulit dapat disimpulkan bahwa liposom dapat menjadi pembawa bahan aktif untuk sediaan topikal kulit namun tidak dapat menembus stratum korneum

secara utuh, sehingga liposom akan terdegradasi. Liposom juga dapat berfusi atau bergabung dengan matriks lipid stratum korneum pada bagian hidrofobik liposom (Kirjavainen, 1996). Mekanisme keempat yaitu adanya kemampuan liposom untuk berubah bentuk menjadi lebih lentur. Dalam hal ini, transfersom yang memiliki sifat fleksibel dapat menembus stratum korneum secara utuh karena hidrofobisitas fosfolipid menyebabkan xerophobia (takut kekeringan) sehingga vesikel liposom tetap memiliki struktur yang mengembang dan lentur sehingga dapat tetap bergerak melewati gradien hidrasi lokal dan bergerak ke lapisan kulit yang lebih dalam (Cevc dan Blame, 1995). Mekanisme yang kelima yaitu transpendagel yang memanfaatkan folikel rambut. Liposom dapat memasuki folikel rambut yang mencapai dermis dan melepaskan obat di folikel rambut yang dapat berdifusi keluar pada bagian dermis maupun epidermis. Namun, rute ini memiliki peran kecil dalam rute pengiriman obat transdermal dari liposom. Penelitian yang telah dilakukan oleh Cevc pada tahun 1998 menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang dapat ditemukan antara *guinea pig* yang memiliki bulu lebat dengan yang tidak ketika disuntikkan transfersom insulin. Rute transpendagel dari liposom dapat meningkat hanya setelah dikombinasikan dengan teknik iontophoresis (mengurangi keringat pada kulit) (Han, et al., 2004). Ilustrasi mekanisme penetrasi liposom pada kulit dapat dilihat pada **gambar 2.8**.



**Gambar 2.8 Mekanisme Penetrasi Liposom ke dalam Kulit.** (A) Mekanisme Obat bebas, (B) Adanya Penetration Enhancer, (C) Liposom fusi dengan Stratum Korneum, (D) Penetrasi vesikel utuh ke dalam kulit, (E) Melalui Transapendagel (El Maghraby *et al.*, 2008).

## 2.4 Formula Liposom

### 2.4.1 Lesitin

Fosfatidilkolin merupakan fosfolipid yang merupakan konstituen utama dari sel membrane. Fosfatidilkolin juga dikenal sebagai 1, 2-diacyl-ueglycero-3-phosphocholine, PtdCho dan lecithin. Lesitin mengandung fosfatidilkolin yang dihasilkan dari sayuran, hewan, dan mikroba, namun dominan dihasilkan dari sumber nabati. Kedelai dan bunga matahari merupakan sumber utama dari lesitin komersial. Fosfatidilkolin yang terdapat dalam kedelai yaitu 20 hingga 22%. Lesitin soya merupakan salah satu fosfolipid yang sering digunakan dalam industri makanan maupun farmasi. Struktur amphiphilic yang dimiliki lesitin ini membuat lesitin merupakan agen penurun tegangan permukaan yang baik sehingga sering digunakan sebagai emulsifier dalam sediaan emulsi o/w maupun w/o. Stabilitas emulsi mengacu pada kemampuan emulsi mempertahankan sifat fisiknya untuk tidak terpisah dan stabilitas tersebut juga sangat bergantung

dengan jenis fosfolipid yang digunakan (Stauffer, 1999). Lesitin soya memiliki kelebihan karena dapat meningkatkan fluiditas lipid bilayer yang terbentuk sehingga dapat mengurangi kekakuan fosfolipid dengan cara melonggarkan bilayer fosfolipid sehingga obat akan lebih mudah berpenetrasi melewati membran lipid sel. Dengan sifat tersebut, lesitin soya juga dapat membantu kulit lebih permeabel terhadap cairan (Patil, *et al.*, 2005 dan Patel, 2006).

#### **2.4.2 Kloroform**

Kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) merupakan pelarut organik yang memiliki nama lain *trichloromethane*, *formyl trichloride*, *trichloroform*, dan *methane trichloride*.

Kloroform memiliki sifat tidak berwarna, mudah menguap, dan bau seperti eter.

Kloroform dapat digunakan sebagai anestesi inhalasi selama operasi.

Penggunaan utama kloroform di industri biasanya digunakan sebagai pelarut dalam produksi *Freon refrigerants*. Toksisitas kloroform akut menyebabkan gangguan fungsi hati, aritmia jantung, mual, dan disfungsi sistem saraf pusat.

Titik didih kloroform  $62^\circ\text{C}$  dan stabil jika tidak kontak langsung dengan sinar matahari maupun udara karena dapat terdekomposisi pada suhu biasa dibawah sinar matahari dan dalam wadah (gelap) terbuka. Kloroform dapat digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi untuk lemak, minyak, kolesterol, serta digunakan sebagai obat bius (Pubchem, 2018).

### **2.5 Krim**

#### **2.5.1 Definisi Sediaan Topikal Krim**

Penghantaran obat secara topikal merupakan salah satu aplikasi obat yang mempunyai formulasi dengan penghantaran secara langsung ke kulit untuk mengobati gangguan kulit maupun manifestasi penyakit lain yang menyerang kulit dengan tujuan memiliki farmakologi atau efek obat yang langsung menuju

lapisan kulit. Beberapa keuntungan menggunakan sediaan topikal yaitu nyaman, mudah diterapkan, dosis lebih rendah karena tidak melewati *first past effect*, dapat disesuaikan kondisi pH dengan target obat (kulit), dan menghindari fluktuasi obat yang dapat menyebabkan toksisitas (Agarwal dan Rajesh, 2007).

Sistem penghantaran obat topikal dapat terbagi menjadi patch, gel, krim, salep, dan lotion. Pemberian obat secara topikal digunakan untuk terapi dengan target yang terlokalisasi untuk mengembalikan fungsi dasar kulit maupun memberikan efek farmakologi yang memiliki tempat tertarget pada jaringan dibawah kulit.

Produk yang digunakan untuk sistem pengiriman obat terlokalisasi seperti mata, rectum, vagina dan kulit disebut sebagai produk topikal atau dermatologis (Rashmi, 2008., dan Provost, 1986).

Krim merupakan sistem emulsi semipadat yang memiliki sifat fisik berbeda dari sediaan topikal lainnya. Konsistensi dan sifat rheologik krim tergantung pada sifat emulsi minyak dalam air (*o/w*) atau air dalam minyak (*w/o*).

Emulsi dapat diartikan sebagai sistem bifasik yang terdiri dari dua cairan yang tidak saling bercampur dan terdapat fase terdispersi yaitu fase yang akan terdistribusi dalam fase pendispersi. Ukuran partikel dari fase terdispersi biasanya berkisar dari 0,1 hingga 100  $\mu\text{m}$ . Emulsi yang merupakan sistem termodinamik yang tidak stabil, maka agen penstabil (surfaktan) diperlukan untuk menstabilkan emulsi akibat adanya dua fase yang tidak saling bercampur. Emulsi krim memiliki viskositas yang lebih tinggi daripada emulsi lotion (Agarwal dan Rajesh, 2007).

## **2.5.2 Tipe Krim**

### **2.5.2.1 Krim Air dalam Minyak (W/O)**

Suatu sistem emulsi yang menunjukkan adanya air terdispersi dalam minyak, dimana krim tipe ini memiliki efek oklusif dengan menghidrasi stratum korneum dan menghambat penguapan sekresi ekrin. Krim tipe w/o juga berguna untuk membersihkan kulit dari kotoran yang larut dalam minyak seperti sediaan kosmetik. Krim ini biasanya digunakan secara eksternal untuk mencegah penguapan sehingga kelembaban kulit dapat terjaga. Ketika emulsi air dalam minyak terbentuk, maka sifat fisik dari minyak berubah drastis. Emulsi yang stabil akan mengandung 60 hingga 80% air, ketika emulsi air dalam minyak terbentuk maka akan menyebabkan emulsi mengandung 2 hingga 5 kali air dari volume biasanya. Selain itu, viskositas minyak juga berubah dari 100 mPa.s menjadi 100.000 mPa.s dan biasanya peningkatan terjadi dari 500 hingga 1000 mPa.s (Merv, 2014).

### **2.5.2.2 Krim Minyak dalam air (O/W)**

Minyak dalam air merupakan salah satu tipe emulsi krim yang memperlihatkan gumpalan atau tetesan minyak yang terdispersi pada fase air. Bahan aktif yang bersifat lipofil atau sistem penghantaran obat larut lemak biasanya diformulasikan dalam bentuk sediaan emulsi minyak dalam air. Ketika digunakan, emulsi minyak dalam air tidak berminyak dan digunakan secara eksternal akan memberikan sensasi dingin dan secara internal dapat menutupi rasa pahit minyak. Emulsi minyak dalam air memiliki konduktivitas positif dengan fase eksternal adalah konduktor listrik yang baik (Barkat, *et al.*, 2011).

Krim tipe ini memberikan rasa nyaman saat digunakan karena tidak berminyak, lebih mudah menyebar, dan tidak mudah menguap dibandingkan

emulsi tipe air dalam minyak,. Selain itu, minyak dalam air memiliki gradien konsentrasi yang baik ketika bahan aktif melintasi stratum korneum kulit sehingga dapat meningkatkan penyerapan secara percutan. Kelebihan krim minyak dalam air yaitu bersifat oklusif, menjaga kelembaban kulit, dan dapat dikombinasi dengan pelarut yang tidak menguap seperti propilen glikol. Namun, krim dengan tipe ini dapat menyebabkan adanya penimbunan lipid dan pelembab lainnya pada stratum korneum tetapi dapat diatasi karena krim minyak dalam air mampu mengembalikan kemampuan hidrasi jaringan karena mengandung emollien yang dapat kontak langsung dengan kulit sehingga mampu mengembalikan struktur kulit yang radang (Debjit, *et al.*, 2012).

## **2.6 Formula Krim**

### **2.6.1 Asam Stearat**

Asam stearat merupakan zat padat keras mengkilat yang menunjukkan susunan hablur putih atau kuning pucat, dan mirip lemak lilin. Nama lain asam stearat yaitu Acidum stearicum; cetylacetic acid; Crodacid; Cristal G; Cristal S; Dervacid; E570; Edenor; Emersol; Extra AS; Extra P; Extra S; Extra ST; 1-heptadecanecarboxylic acid; Hystrene; Industrene; Kortacid 1895; Pearl Steric; Pristerene; stereophanic acid; dan Tegostearic. Asam stearate dapat digunakan untuk sediaan oral maupun topikal. Pada sediaan oral, asam stearate dapat digunakan sebagai lubrikan, sedangkan pada sediaan topikal asam stearate dapat digunakan sebagai emulsifying agent dan solubilizing agent. Asam stearate digunakan untuk sediaan topikal dengan rentang konsentrasi 1-20%.

Asam stearate memiliki titik didih 383°C dan titik leleh 69-70°C, sehingga jika menggunakan asam stearate untuk formulasi dapat menyesuaikan pada titik

leleh asam stearate agar sediaan yang akan dibuat memiliki stabilitas yang baik (Rowe, *et al.*, 2009). Asam stearate dapat meningkatkan permeabilitas kulit dan membantu obat menembus lapisan lipid bilayer membran sel (Dragicevic, *et al.*, 2009).

### **2.6.2 Setil Alkohol**

Setil alkohol memiliki ciri berkilin, kepingan putih, granul, dan memiliki rasa hambar, serta memiliki nama lain yaitu Alcohol cetylicus; Avol; Cachalot; Crodacol C70; Crodacol C90; Crodacol C95; ethal; ethol; HallStar CO-1695; 1-hexadecanol; n-hexadecyl alcohol; Hyfatol 16-95; Hyfatol 16-98; Kessco CA; Lanette 16; Lipocol C; Nacol 16-95; palmityl alcohol; Rita CA; Speziol C16 Pharma; Tego Alkanol 16; Vegarol 1695. Setil alkohol dapat digunakan sebagai emollient dengan rentang konsentrasi yang dapat digunakan yaitu 2-5%. Dalam sediaan krim minyak dalam air, setil alkohol dapat meningkatkan stabilitas sediaan ketika dikombinasikan dengan emulgator yang memiliki sifat larut air. Setil alkohol memiliki titik leleh 45-52°C. Solubilitasnya mampu larut dalam etanol 95%, eter, dan kelarutannya dapat meningkatkan suhu dalam sediaan, dan tidak larut dalam air. Sedangkan, sebagai stiffening agent konsentrasi yang dapat digunakan yaitu 2-10%. Penyimpanan setil alkohol harus dijauhkan dengan agen pengoksidasi kuat karena dapat teroksidasi dengan mudah (Rowe, *et al.*, 2009).

### **2.6.3 NaOH (Natrium Hidroksida)**

Natrium hidroksida memiliki nama lain caustic soda, lye, natrii hydroxidum, dan sodium hydrate. Memiliki ciri berbentuk batang, butiran, hablur atau keping, berwarna putih, mudah meleleh, dan sangat alkalis. Natrium hidroksida memiliki pH alkalinitas 12 (0,05% w/w), 13 (0,5% w/w), dan 14 (5% w/w). Kelarutannya larut dalam 7,2 eanol, larut dalam eter dan gliserin, larut

dalam 4,2 bagian methanol, larut dalam 0,3 bagian air panas, dan 0,9 bagian air dingin. Natrium hidroksida harus disimpan dalam wadah kedap udara, bukan logam, dan di tempat sejuk dan kering. Bersifat kompatibel terhadap senyawa yang mudah mengalami hidrolisis maupun oksidasi, dan sering dikombinasi dengan senyawa yang bersifat asam agar mengurangi iritasi jika digunakan dalam sediaan topikal. Natrium hidroksida juga dapat digunakan sebagai antibakteri dan antivirus sehingga sering digunakan sebagai disinfektan (Rowe, *et al.*, 2009).

#### **2.6.4 BHT**

*Butylated Hydroxytoluene* atau BHT memiliki bentuk fisik hablur padat, putih, dan tidak berbau. Nama lain BHT yaitu Agidol; BHT; 2,6-bis(1,1-dimethyl ethyl)-4-methyl phenol; butyl hydroxytoluene; Daltac; dibutylated hydroxytoluene; 2,6-di-tert-butyl-p-cresol; 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene; E321; Embanox BHT; Impruvol; Ionol CP; Nipanox BHT; OHS28890; Sustane; Tenox BHT; Topanol; Vianol. Memiliki titik leleh 70°C dan stabilitas penyimpanan dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya, tempat sejuk dan kering. Paparan cahaya dan kelembapan dapat menyebabkan perubahan warna dan hilangnya aktivitas sebagai antioksidan. BHT berfungsi sebagai antioksidan pada kosmetik, makanan, dan sediaan farmasi. Konsentrasi yang digunakan sebagai antioksidan dalam sediaan topikal dengan rentang 0,0075 sampai 1%. Butylated hydroxytoluene juga digunakan pada konsentrasi 0,5-1,0% b/b untuk memberikan stabilitas warna pada pembuatan karet sintetis (Rowe, *et al.*, 2009).

#### **2.6.5 Tween 80**

Polysorbate 80 atau yang lebih dikenal dengan tween 80 sering digunakan sebagai surfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan emulsi

minyak dalam air maupun air dalam minyak sehingga kestabilan emulsi terjaga.

Tween 80 merupakan surfaktan non ionik dan memiliki kelarutan yang baik dalam air. Konsentrasi yang biasa digunakan sebagai surfaktan tanpa kombinasi dengan surfaktan lain yaitu 1 sampai 15%. Sedangkan, konsentrasi tween yang digunakan untuk emulgator dalam sediaan emulsi minyak dalam air ketika digunakan kombinasi dengan emulgator lain yaitu 1-10%. Tween 80 memiliki nilai HLB 15 yang menandakan sifat surfaktan yang hidrofilik. Ketika digunakan dalam sediaan kosmetik, makanan, oral, parenteral, dan formulasi topikal, tween 80 tidak memberikan efek iritasi maupun toksik (Rowe, *et al.*, 2009).

#### **2.6.6 Propilen Glikol**

Propilen glikol memiliki karakteristik tidak berwarna, bening, kental, tidak berbau, dan memiliki rasa manis. Dalam sediaan farmasi, propilen glikol biasanya digunakan sebagai humektan dengan konsentrasi kurang lebih 15%.

Sedangkan, konsentrasi propilen glikol sebagai pengawet yaitu dengan rentang 15-30%. Propilen glikol juga bisa digunakan sebagai pelarut dan juga pengawet pada sediaan parenteral dan topikal. Propilen glikol memiliki sifat sebagai pelarut yang lebih baik dari gliserin. Jika digunakan sebagai antiseptic, propilen glikol memiliki sifat seperti etanol namun kurang efektif daripada etanol. Pada sediaan kosmetik, propilen glikol dapat digunakan sebagai emulgator dan pembawa.

Propilen glikol larut dalam aseton, kloroform, etanol, gliserin, air, dan larut pada beberapa minyak esensial. Propilen glikol stabil secara kimia ketika dicampur dengan etanol 95%, gliserin, air, dan pelarut yang telah disterilisasi dengan autoklaf. Propilen glikol memiliki titik didih 188°C dan titik leleh -59°C (Rowe, *et al.*, 2009). Propilen glikol sebagai humektan juga berfungsi sebagai bahan yang

dapat meningkatkan penterasi bahan aktif ke dalam kulit (Wester dan Maibach, 1990).

### 2.6.7 Metil Paraben

Metil paraben memiliki ciri khas serbuk halus, hablur putih, tidak berbau, dan memiliki rasa hambar. Nama lain dari metil paraben yaitu aseptoform M, methyl parasept, dan nipagin M. Memiliki kelarutan, larut dalam air, etanol, propilen glikol, gliserin dan eter. Konsentrasi yang digunakan sebagai pengawet untuk sediaan topikal yaitu 0,002-0,3%. Metil paraben dapat menghambat aktivitas antimikroba pada rentang pH 4 sampai 8. Selain itu, aktivitas antimikroba metil paraben juga meningkat ketika dikombinasikan dengan ekseprien seperti propilen glikol (Rowe, *et al.*, 2009).

### 2.6.8 Purified Water

Air suling atau *purified water* memiliki ciri fisik cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa. Nama lain *purified water* yaitu air suling atau *purifying water*. Air ini memiliki pH stabilitas 7, memiliki titik didih 100°C dan titik beku 0°C. Inkompatibilitas terhadap zat yang mudah terhidrolisis pada suhu lingkungan maupun kenaikan suhu yang mendadak. Air suling berfungsi sebagai media pelarut yang dapat disimpan dalam wadah tertutup. Selain sebagai media pelarut, air suling juga dapat berfungsi sebagai pelarut dalam pembuatan produk parenteral. Penyimpanan yang sesuai yaitu ditempatkan dalam wadah tertutup rapat, dan jika penyimpanan dalam jumlah besar maka disimpan dalam wadah yang dirancang untuk membatasi pertumbuhan mikroorganisme dan kontaminasi lainnya (Rowe, *et al.*, 2009).

## 2.6.9 Span 80

Span 80 merupakan salah satu surfaktan yang digunakan sebagai penurun tegangan permukaan pada sistem emulsi dengan sifat lipofilik. Span 80 memiliki HLB 4,3. Dimana, jika nilai HLB surfaktan semakin rendah menandakan surfaktan semakin bersifat lipofilik. Jika span digunakan tanpa kombinasi akan membantu kestabilan emulsi air dalam minyak, sementara jika dikombinasikan dengan surfaktan yang bersifat hidrofilik maka dapat digunakan untuk emulgator minyak dalam air maupun air dalam minyak, serta *emulsifying agent* pada obat yang kurang larut lemak. Konsentrasi span yang digunakan untuk emulgator dalam sediaan emulsi minyak dalam air ketika digunakan kombinasi dengan emulgator lain yaitu 1-10%. Kombinasi span 80 yang memiliki nilai HLB rendah dengan tween 80 yang memiliki nilai HLB tinggi dapat membantu terbentuknya formasi yang stabil pada sediaan emulsi (Ansel, 1985 dan Rukmini., *et al.*, 2012).

## 2.7 Uji Karakteristik Liposom

### 2.7.1 Particle Size Analyzer (PSA)

*Particle Size Analyzer* merupakan salah satu metode pengukuran partikel yang terdapat dalam liposom. Liposom yang memiliki ukuran partikel kecil akan lebih mudah berpenetrasi ke dalam pori-pori kulit sehingga obat menghasilkan efek terapi yang baik. Beberapa metode untuk mengukur ukuran partikel liposom yaitu DLS (*Dinamic Light Scattering*), *Static Light Scattering*, *Gel exclusion Chromatography*, *Light Microscopy*, *Laser Diffraction*, *TEM*, *Small-Angle X-Ray Scattering*, dan *Flow Cytometry*. Metode DLS merupakan salah satu metode dalam PSA yang sering digunakan. *Dynamic Light Scattering* juga biasa disebut dengan spektroskopi korelasi foton merupakan teknik yang memungkinkan untuk

pengukuran ukuran partikel dengan rentang sub-mikrometer. Ketika DLS mengukur ukuran partikel hanya diperlukan waktu 2 sampai 5 menit sehingga DLS juga disebut metode pengukuran partikel dengan teknik yang cepat. Sebelum pengukuran DLS dilakukan, partikel harus disuspensikan dalam larutan dan diterangi oleh cahaya agar partikel-partikel dapat menyebarkan cahaya yang telah diterima sehingga menghasilkan indeks refraksi. Maka dari itu, liposom diukur dalam keadaan natural tanpa pewarna (Monteiro, 2014).

## **2.8 Uji Evaluasi Krim**

### **2.8.1 Uji pH**

Uji pH dalam sediaan krim digunakan untuk mengetahui pH sediaan agar sesuai dengan pH kulit (pH normal yaitu 4,5-6,5). Jika pH sediaan sangat asam akan menyebabkan kulit iritasi, namun jika pH sediaan sangat basa akan menyebabkan kulit bersisik, sehingga pengujian pH yang dilakukan 3 kali replikasi digunakan untuk melihat konsistensi pH sediaan agar tidak mengiritasi maupun membuat kulit bersisik (Desy, *et al.*, 2015).

### **2.8.2 Uji Organoleptis**

Uji organoleptis digunakan untuk melihat konsistensi sediaan dalam penyimpanan. Uji organoleptis diamati warna, bau, dan kelembutan. Bau diamati untuk melihat adanya ketidakstabilan krim dengan mengamati adanya bau tengik atau tidak (Rosmala, *et al.*, 2014). Sediaan yang berwarna putih kekuningan dalam keadaan stabil, namun dalam keadaan tidak stabil akan ada perbedaan warna seperti warna kecokelatan atau warna yang berbeda seperti warna sediaan sebelumnya.

### **2.8.3 Uji Daya Sebar**

Uji evaluasi daya sebar pada sediaan topikal krim diperlukan untuk melihat kemampuan formulasi yang dipilih untuk menyebar ketika dilakukan uji evaluasi. Uji daya sebar dapat memperlihatkan kemampuan sediaan topikal menyebar saat diaplikasikan ke bagian kulit sehingga dapat diperkirakan luas area yang dapat dijangkau oleh sediaan topikal saat diterapkan ke kulit. Keefektifan terapi dari formulasi yang dipilih juga dapat diperkirakan dengan uji daya sebar ini. Salah satu keuntungan dari metode dengan menggunakan plat kaca yaitu mudah dilakukan dan tidak memerlukan biaya mahal. Metode dengan plat kaca juga merupakan metode yang paling sering digunakan untuk sediaan semipadat (Ravindra, *et al.*, 2013). Persyaratan daya sebar untuk sediaan topikal adalah 5-7 cm (Rachmalia *et al.*, 2016).

### **2.8.4 Uji Viskositas**

Uji viskositas digunakan untuk membantu menentukan konsistensi dan fluiditas pada sediaan krim yang sesuai karena dapat menunjukkan konsistensi krim selama penyimpanan dalam beberapa waktu. Viskositas formulasi akan tergantung pada karakteristik fisikokimia bahan yang digunakan dan suhu yang dipilih dalam uji viskositas. Secara umum, viskositas akan meningkat ketika konsentrasi bahan dalam sediaan juga meningkat. Variasi viskositas sangat dipengaruhi oleh perbedaan temperatur yang akan mempengaruhi sediaan topikal (Isaac, *et al.*, 2008). Persyaratan viskositas yang baik pada sediaan semisolid adalah sebesar 4000-40.000 cPs (Wasiaatmadja, 1997).

### 2.8.5 Uji Daya Lekat

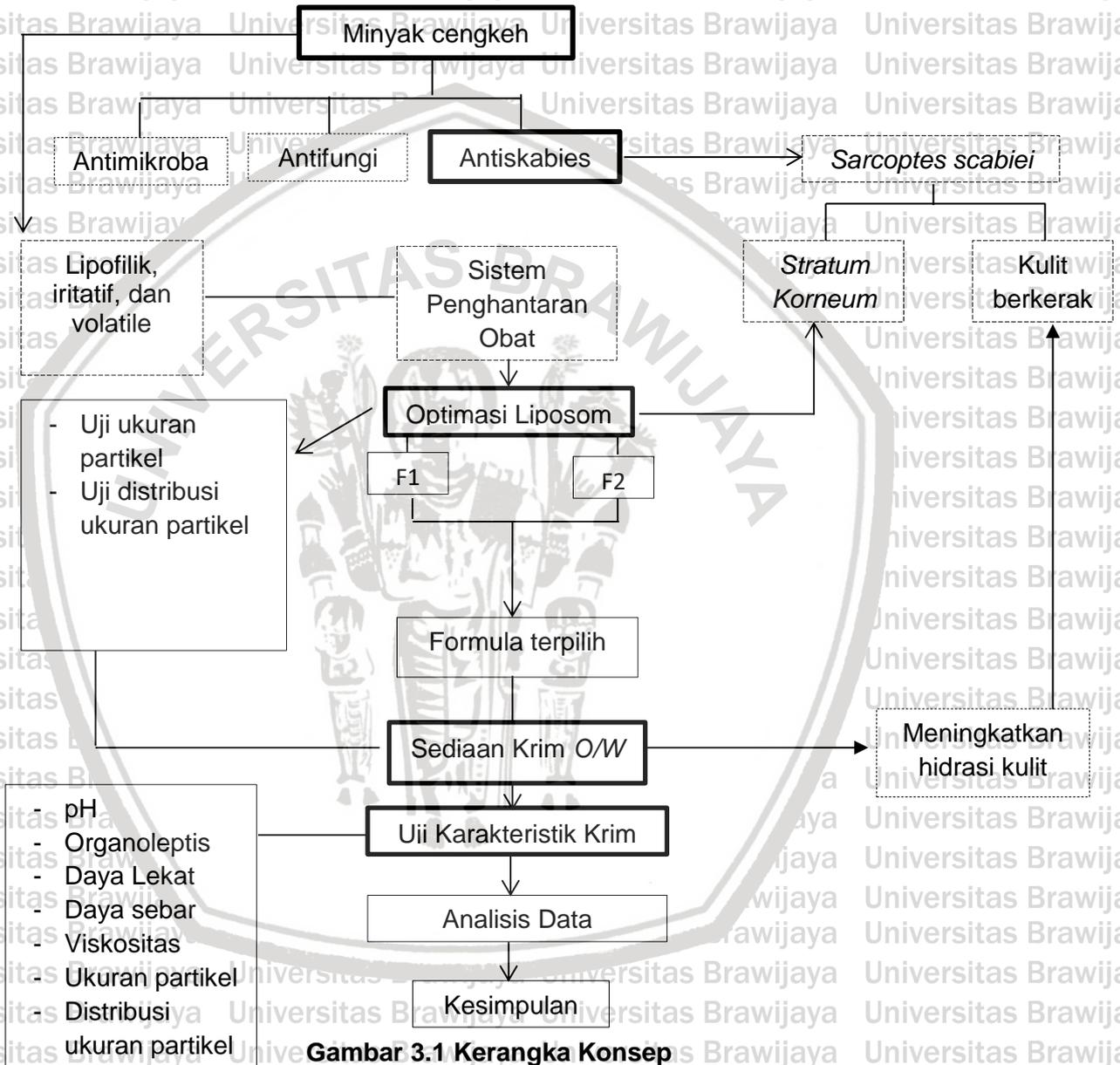
Uji daya lekat pada sediaan krim digunakan untuk mengetahui krim melekat dengan baik pada tempat aplikasinya. Formulasi yang dipilih dalam sediaan krim mempengaruhi daya lekat krim yang berhubungan dengan lamanya kontak antara basis krim yang ada pada sediaan dengan kulit. Uji daya lekat mempengaruhi efek terapeutik yang akan diberikan oleh suatu sediaan karena mempengaruhi jumlah obat yang akan terlepas pada target. Nilai uji daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah  $>4$  detik (Rachmalia, *et al.*, 2016).



### BAB 3

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep



**Gambar 3.1 Kerangka Konsep**

Pada penelitian ini yang akan diteliti adalah kestabilan liposom minyak cengkeh yang diformulasikan dalam bentuk sediaan krim sebagai terapi alternatif skabies. Skabies yang merupakan salah satu penyakit kulit menular memiliki kejadian dengan prevalensi tinggi di Indonesia. Minyak cengkeh memiliki fungsi sebagai antifungi, antiskabies, dan antimikroba yang diharapkan dapat membunuh *Sarcoptes scabiei* penyebab skabies. Skabies bertelur pada lapisan stratum korneum epidermis dan menyebabkan kulit kering berkerak. Maka dari itu, diperlukan sistem penghantaran minyak cengkeh yang dapat menembus stratum korneum yaitu liposom.

Minyak cengkeh diformulasikan dalam bentuk liposom karena adanya sifat penguapan yang tinggi dari minyak atsiri cengkeh dan iritatif jika minyak cengkeh kontak langsung dengan kulit. Selain itu, liposom bekerja sebagai pembawa bahan aktif dengan pelepasan diperlambat mengakibatkan liposom dapat memperpanjang durasi obat dalam tubuh dan juga dapat melindungi bahan aktif dari degradasi enzim sehingga dosis tidak akan berkurang sebelum mencapai target dalam tubuh. Kelebihan liposom ini dapat membantu penetrasi minyak cengkeh sebagai terapi skabies karena dapat meningkatkan stabilitas minyak cengkeh. Komponen liposom yaitu fosfolipid dan kolesterol. Kolesterol bukan merupakan komponen utama dalam liposom, namun kolesterol memberikan sifat rigiditas pada lipid bilayer liposom agar tidak mudah pecah saat proses pembuatan liposom sehingga, optimasi liposom dilakukan dengan membuat dua formula yaitu F1 dengan menggunakan minyak cengkeh, lesitin, kolesterol dengan perbandingan lesitin:kolesterol sebanyak 9:1 molar dan F2 dengan perbandingan lesitin:kolesterol sebanyak 9:2. Optimasi dilakukan untuk

memilih liposom yang optimal sebagai pembawa minyak cengkeh berdasarkan ukuran partikel  $<3\mu\text{m}$  dan indeks polidispersitas yang mendekati 0.

Selain oklusif, liposom diformulasikan dalam krim untuk memudahkan penggunaan dan untuk meningkatkan efektifitas. sediaan krim memberikan daya lekat dan daya sebar yang baik saat digunakan sehingga dapat meningkatkan daya terima pemakai dan efektifitas liposom yang cukup stabil jika diformulasikan dalam bentuk sediaan emulsi krim akan membantu meningkatkan efektifitas terapi dalam mengatasi kulit berkerak akibat skabies karena formula krim yang mengandung humektan, emollient, dan oklusif yang mengembalikan struktur kulit. Pemberian obat secara topikal salah satunya dalam bentuk krim sering digunakan untuk terapi dengan target yang terlokalisasi dengan tujuan mampu mengembalikan fungsi dasar kulit maupun memberikan efek farmakologi yang memiliki tempat tertarget pada jaringan dibawah kulit. Daya sebar dapat memperlihatkan kemampuan sediaan topikal menyebar saat diaplikasikan ke bagian kulit sehingga dapat diperkirakan luas area yang dapat dijangkau oleh sediaan topikal dan daya lekat pada krim akan mempengaruhi daya lekat krim yang berhubungan dengan lamanya kontak antara basis krim yang ada pada sediaan dengan kulit karena mempengaruhi jumlah obat yang akan terlepas pada target. Stabilitas liposom dalam krim dievaluasi berdasarkan konsistensi distribusi dan ukuran partikel antara sebelum dan sesudah diformulasikan dalam sediaan krim. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Choi dan Maibach (2005) liposom yang diintegrasikan ke dalam sediaan krim tetap dapat mempertahankan distribusi dan ukuran partikelnya.

### 1.1 Hipotesis

Pada penelitian ini, hipotesis yang dapat diajukan yaitu :

1. Rasio kolesterol : lesitin 9:2 (F2) merupakan formula optimal liposom berdasarkan hasil uji evaluasi distribusi ukuran partikel.
2. Liposom minyak cengkeh yang diformulasikan dalam sediaan krim memiliki ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel yang tidak berbeda secara signifikan dengan liposom sebelum ditambahkan ke dalam krim.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*True experimental design*) dimana ditentukan variabel bebas yang kemudian diukur efeknya pada variabel terikat.

### 4.2 Variabel penelitian

Variabel dalam penelitian ini terbagi atas 2 antara lain:

#### 1. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel

#### 2. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah rasio kolesterol : lesitin dalam formula liposom.

### 4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Program Studi Farmasi untuk proses pembuatan krim liposom minyak cengkeh *Syzygium aromaticum* beserta proses evaluasinya serta di Laboratorium Kimia Analisis Universitas Brawijaya untuk evaluasi *Particle Size Analyzer*. Waktu penelitian akan dilakukan selama  $\pm 3$  bulan.

#### 4.4 Alat dan Bahan

##### 4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Beaker glass* 50 mL (Pyrex), *beaker glass* 250 mL (Pyrex), vial 30 ml, sonikator (Sonica), ultraturax, pipet tetes, gelas ukur 10 mL (Pyrex), neraca analitik (OHAUS CP214), *magnetic stirrer* (Spinbar 5 cm), stirrer (RW 20 Digital Overhead Stirrer) cawan petri, viscometer (Viscometer Rion VT-06), PSA (Particle Size Analyzer) Type 1090/Cilas, *Scanning Electrone Microscope*, pH meter, *hot plate* (IKA 3581001 Ceramic Stiring), mortar, dan stemper, anak timbangan, dan kaca ukuran 14x14 cm.

##### 4.4.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak cengkeh, kloroform, lesitin, kolesterol, dan buffer fosfat pH 7 sebagai bahan pembuatan liposom, sedangkan pembuatan krim menggunakan asam stearat, setil alkohol, *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), metil paraben, propilen glikol, Tween 80, dan aquades.

#### 4.5 Definisi Operasional

1. Liposom adalah vesikel mikroskopis yang terdiri dari satu atau lebih lipid yang dienkapsulasi dengan lapisan ganda *lipid bilayer*.
2. Karakterisasi liposom meliputi uji *Particle Size Analyzer* dan pH yang di uji saat terbentuknya liposom dan saat liposom sudah diformulasikan dalam sediaan krim.

3. Krim merupakan sediaan topikal yang termasuk dalam emulsi kental yang mengandung air tidak kurang dari 60% dan digunakan untuk pemakaian luar.
4. Karakterisasi sediaan krim meliputi organoleptik, daya sebar, daya lekat, viskositas, dan pH.

#### 4.6 Pre-Study Liposom Minyak Cengkeh

Pembuatan Liposom minyak cengkeh dengan tiga formula yang menggunakan variasi suhu saat sonikasi memiliki hasil uji ukuran partikel yang berbeda. Hasil PSA dan pH untuk liposom minyak cengkeh saat pre-study dapat dilihat pada tabel 4.1 dibawah ini :

**Tabel 4.1 Ukuran Partikel dan pH dari Tiga Formula Liposom Minyak Cengkeh dengan variasi suhu**

	F (A)	F (B)	F (C)
pH	4,3	4,6	4,5
PSA (Diameter at 90%)	69400 nm	41300 nm	125900 nm

Keterangan : Formulasi A dengan suhu pengadukan 30°C, Formulasi B dengan suhu pengadukan 40°C, dan Formulasi C dengan suhu pengadukan 45°C.

Studi pendahuluan pembuatan liposom menggunakan variasi suhu untuk menentukan suhu yang optimal dalam pembuatan liposom. Formula liposom A,B, dan C yaitu lesitin 500 mg dengan pelarut aseton 15 mL dan diuapkan dengan *Rotary evaporator*. Kemudian dilakukan hidrasi dengan buffer fosfat pH 7 sebanyak 20 mL dan ditambahkan minyak cengkeh 1,25 mL. Liposom yang sudah dihidrasi dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan

700 rpm selama 20 menit dengan suhu sesuai formula. Ketiga formula disonikasi selama 15 menit pada suhu 40°C. Berdasarkan studi pendahuluan maka didapatkan hasil dengan suhu 40°C memiliki ukuran partikel yang paling kecil dan sesuai dengan suhu transisi minyak cengkeh yaitu 40-45°C.

## 4.7 Pembuatan Liposom dan Evaluasi Liposom

### 4.7.1 Formulasi Liposom Minyak Cengkeh

Sediaan liposom akan dibuat dengan 2 formula yaitu formula 1 menggunakan minyak cengkeh, liposom, kolesterol, dapar fosfat, kloroform, dan tween 80. Perbandingan lesitin : kolesterol 9:1. Sedangkan, untuk formula 2 menggunakan perbandingan lesitin : kolesterol yaitu 9:2 molar. Berdasarkan hasil studi pendahuluan maka suhu yang dapat digunakan untuk hidrasi maupun homogenisasi saat penambahan minyak cengkeh yaitu 40°C. Formula liposom minyak cengkeh dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini :

**Tabel 4.2 Formula Liposom Minyak Cengkeh**

Formula	Minyak Cengkeh	Komponen Liposom			Buffer pH (mL)	Kloroform (mL)
		Lesitin	Kolesterol	Tween 80 (3%)		
		F1 = 9:1	F2 = 9:2			
I	1,875 mL	3,94 gr	0,224 gr	0,349 gr	30	15 mL
II	1,875 mL	3,94 gr	0,447 gr	0,349 gr	30	15 mL

Pembuatan liposom minyak cengkeh *syzygium aromaticum* dilakukan dengan metode hidrasi lapis tipis. Lesitin soya, minyak cengkeh, dan kolesterol dilarutkan dalam pelarut organik kloroform 15 mL. Pelarut kemudian dihilangkan

dengan menggunakan *rotary evaporator* dibawah vakum 1-2 jam dengan suhu 45-50°C dan kecepatan vakum 150 rpm. Kemudian dihidrasi dengan dapar fosfat (pH 7). Terbentuk lapisan lipid pada dinding labu dan didiamkan selama 10 menit. Hidrasi dengan dapar fosfat pH 7 dan tween 80 3%, diletakkan pada *rotary evaporator* suhu 40°C 125 rpm tanpa kondisi vakum. Selanjutnya, dikeluarkan dari *rotary evaporator*. Pengecilan ukuran liposom menggunakan sonikasi dengan suhu 40°C selama 20 menit serta homogenisasi dengan ultraturax dengan 10.000 rpm selama 10 menit (Mitskari, *et al.*, 2010).

#### 4.7.1 Analisis ukuran partikel (PSA)

Rata-rata diameter ukuran globul pada liposom diukur menggunakan alat *particle size analyzer*. *Particle size analyzer* yang digunakan adalah *photon correlation spectroscopy* (PCS). Pengukuran dilakukan pada suhu 25°C dan sudut tetap 90°, di mana kedua efek refleksi dan polidispersitas diminimalkan (Armengol, 1995). Ukuran partikel liposom dikatakan sesuai spesifikasi jika memasuki rentang 1-20 µm sesuai dengan ukuran stratum korneum.

#### 4.8 Pembuatan dan Evaluasi Krim Liposom Minyak Cengkeh

Krim liposom minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) ini mengandung zat aktif eugenol dari minyak cengkeh sebesar 6,25%. Satu sediaan krim memiliki bobot 30 gram. Rancangan formula krim liposom minyak cengkeh dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini :

**Tabel 4.3 Formula Krim Liposom Minyak Cengkeh**

Bahan	Fungsi	Kadar	Penimbangan
<b>Fase Minyak</b>			
Asam Stearat	<i>Emulsifying agent</i>	5%	1,5 gr
Setil Alkohol	<i>Emollient, stiffening agent,</i>	5%	1,5 gr

<i>Emulsifying agent</i>			
BHT	Antioksidan	0,1%	0,9 gr
Span 80	Surfaktan	5%	0,15
<b>Fase Air</b>			
Propilen Glikol	Humektan dan pelarut	10%	3 gr
Metil Paraben	Pengawet	0,2%	0,6 gr
Tween 80	Emulgator/surfaktan	5%	1,35 gr
Aquadest	Pelarut	Ad 100 mL	Ad 95,05 mL
<b>Liposom</b>			
Minyak Cengkeh	Zat aktif	9	1,875 mL
Lesitin	Komponen Liposom	1	3,94 gr
Kolesterol	Komponen Liposom	2	0,447 gr
Tween 80	Surfaktan	3%	0,349 gr
Kloroform	Pelarut	-	15 mL
Buffer fosfat pH 7	Komponen tahap hidrasi	-	30 mL

Pembuatan krim liposom minyak cengkeh diawali dengan pembuatan fase minyak dengan cara melebur asam stearate, BHT, dan setil alkohol pada suhu 70°C menggunakan *water bath*. Pembuatan fase air dilakukan dengan melarutkan tween 80 dan metil paraben yang sudah larut dalam propilen glikol Diaduk hingga homogen dengan suhu 70°C. Fase minyak ditambahkan ke dalam fase air dan diaduk dengan stirrer 350 rpm hingga homogen. Jika suhu campuran sudah mencapai 40-45°C, ditambahkan liposom minyak cengkeh dan dihomogenkan.

#### **4.8.1 Uji Evaluasi Krim Liposom Minyak Cengkeh**

##### **4.8.1.1 Uji Organoleptis**

Pada uji organoleptis, krim dievaluasi meliputi warna, bau dan teksturnya menggunakan alat indera (Mohamed, 2004).

#### 4.8.1.2 pH

Nilai pH sediaan ditentukan menggunakan pH meter digital. Sebanyak 0,5 gram krim dilarutkan dalam 50 mL akuades, kemudian diukur pH nya dengan tiga kali replikasi dan dihitung nilai rata-rata. Sediaan krim dikatakan sesuai dengan spesifikasi apabila hasil pH sesuai rentang 4,5-6,5 sesuai pH kulit (Ravindran, *et al.*, 2016).

#### 4.8.1.3 Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer *Viscometer Rion VT-06*. Krim diputar dengan kecepatan 20 rpm menggunakan spindle nomor 6 pada suhu 25°C. Dilakukan pengukuran tiga kali dan dihitung rata-rata Interpretasi untuk viskositas sediaan krim yaitu 4000-40.000 cPs (Ravindra, *et al.*, 2013).

#### 4.8.1.4 Uji Daya Sebar

Uji ini ditujukan untuk melihat luas area sebaran krim ketika diaplikasikan di kulit. Sebanyak 1 gram krim diletakkan di salah satu slide yang berukuran 20x20 cm. Diletakkan beban seberat 125 gram selama 5 menit. Selanjutnya kedua lempeng kaca dipisahkan dan dicatat waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan kedua lempeng sampai jarak 10 cm. Dilakukan replikasi 3 kali dan dicatat hasilnya. Perhitungan daya sebar :

$$\text{Spreadability (S)} = \frac{M \times L}{T}$$

dimana S sebagai daya sebar, M sebagai massa krim (g), L sebagai panjang dan T (detik) sebagai waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan kedua lempeng kaca.

#### 4.8.1.5 Uji Daya Lekat

Krim ditimbang 1 gr lalu dioleskan pada plat kaca dengan luas 2,5 cm<sup>2</sup>.

Kedua plat ditempelkan sampai plat menyatu dan diletakkan dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit setelah itu dilepaskan, lalu diberi beban pelepasan

80 gr untuk pengujian. Waktu dicatat sampai kedua plat saling lepas dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

#### 4.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan uji statistik *unpaired test* dan *paired test*.

*Unpaired test* digunakan untuk menentukan formula liposom yang baik antara

F1 dan F2 dengan syarat data berdistribusi normal. Jika data tidak berdistribusi normal, maka dilakukan statistik dengan Mann-Whitney. Uji untuk menentukan

data berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Data berdistribusi normal pada uji *Shapiro Wilk* apabila sig.

$p > 0,05$ . Analisis statistik yang digunakan untuk menganalisis kestabilan liposom sebelum dan sesudah diaplikasikan ke dalam bentuk sediaan krim menggunakan

*paired test* yaitu analisis statistik untuk 2 kelompok yang tidak berpasangan. Jika data tidak berdistribusi normal maka dilakukan uji alternatif dengan Wilcoxon.

Hasil analisa dinyatakan berbeda makna dengan  $p < 0,05$  dan tidak berbeda secara bermakna jika  $p > 0,05$  dan akan dihitung dengan SPSS.

## BAB 5

### HASIL DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Optimasi Formula Liposom

Variasi konsentrasi kolesterol di formulasikan dalam dua formula yaitu F1 dan F2 pada liposom minyak cengkeh. Formula 1 (F1) menggunakan perbandingan antara lesitin:kolesterol sebanyak 9:1, sedangkan untuk formula 2 menggunakan perbandingan 9:2. Kolesterol pada formula 2 lebih banyak 2 kali lipat dibandingkan dengan formula 1. Formula 1 dan formula 2 merupakan liposom minyak cengkeh yang sudah melewati proses *rotary evaporator* dalam keadaan vakum dan hidrasi dengan buffer fosfat pH 7 dalam keadaan tidak vakum sehingga terbentuk liposom yang memiliki bagian hidrofil dan hidrofob. Tahap pembuatan liposom sebelum hidrasi dapat dilihat pada **gambar 5.1** dan setelah hidrasi pada **gambar 5.2** dibawah ini. Selanjutnya di ultraturax dan sonikasi untuk homogenisasi dan memperkecil ukuran partikel. Kedua formula ini akan diuji dengan metode *Particle Size Analyzer* untuk menentukan ukuran partikel yang terkecil.



**Gambar 5.1 Lapisan Lipid Liposom**



**Gambar 5.2 Proses Hidrasi Liposom dengan Buffer fosfat pH 7**

Liposom yang sudah dihidrasi akan diultraturax untuk menghomogenisasikan dan di sonikasi untuk pengecilan ukuran. Hasil liposom yang sudah diultraturax dan disonikasi dapat dilihat pada **gambar 5.3 dan 5.4**.



**Gambar 5.3 Formula 1 Liposom Minyak Cengkeh**



**Gambar 5.4 Formula 2 Liposom Minyak Cengkeh**

### 5.1.1 Uji Ukuran Partikel Liposom Minyak Cengkeh

Formula 1 dan 2 (replikasi 3 kali) selanjutnya dilakukan pengujian terhadap ukuran partikel dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* dan dapat dilihat pada tabel 5.1 seperti berikut :

**Tabel 5.1 Hasil Ukuran Partikel Liposom Minyak Cengkeh**

Formula	Replikasi	Hasil (nm)	Rata-Rata $\pm$ SD (nm)
1	A	650,6	654,07 $\pm$ 83,04
	B	741,1	
	C	574,2	
2	A	258,7	274,27 $\pm$ 123,78
	B	159,0	
	C	405,1	

Hasil dari *Particle Size Analyzer* yang digunakan untuk mengukur ukuran partikel dan keseragaman distribusi partikel menunjukkan bahwa formula formula 1 memiliki ukuran partikel 574,2 nm – 741,1 nm dan formula 2 memiliki ukuran 159 nm – 405,1 nm. Berdasarkan data tersebut maka dapat ditentukan bahwa formula 2 dengan perbandingan 9:2:2 antara lesitin:kolesterol:tween 80 memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan formula 1 dan indeks polidispersitas yang memiliki nilai semakin mendekati 0 yang berarti sebarannya baik.

### 5.1.2 Uji Indeks Polidispersitas

Pengujian indeks polidispersitas menunjukkan nilai persebaran droplet pada sediaan liposom minyak cengkeh. Ketika nilai semakin mendekati 1,000 maka droplet dindikasikan mengalami penggumpalan, sedangkan jika nilai semakin mendekati 0 maka mengindikasikan persebaran yang baik. Rata-rata

indeks polidispersitas untuk liposom formula 1 adalah  $0,626 \pm 0,05$  dan untuk formula 2 adalah  $0,136 \pm 0,07$ . Hasil uji indeks polidispersitas dapat dilihat pada

Tabel 5.2 dibawah ini :

**Tabel 5.2 Hasil Uji Indeks Polidispersitas**

Formula	Replikasi	Hasil (nm)	Rata-rata (nm) ±SD
1s	A	0,559	0,626 ± 0,05
	B	0,660	
	C	0,661	
2	A	0,137	0,136 ± 0,07
	B	0,059	
	C	0,213	

### 5.1.3 Hasil Evaluasi pH Liposom Minyak Cengkeh

Pengukuran pH dilakukan untuk menilai kestabilan liposom minyak cengkeh selama penyimpanan. pengujian dilakukan menggunakan instrument Ph meter Schoot pada suhu  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Nilai pH sediaan antara 5,93 – 6,02. Dapat dilihat pada tabel 5.3.

**Tabel 5.3 Hasil Uji pH Liposom Minyak Cengkeh**

Formula	Replikasi	Hasil	Rata-rata ± SD
F1A	1	5,93	5,97 ± 0,03
	2	5,99	
	3	5,96	
F1B	1	5,99	6,04 ± 0,02
	2	6,02	
	3	6,02	
F1C	1	5,93	5,95 ± 0,03
	2	5,99	

	3	5,93	
<b>F2A</b>	1	6,10	$6,06 \pm 0,03$
	2	6,05	
	3	6,04	
<b>F2B</b>	1	6,03	$6,03 \pm 5,7 \times 10^{-3}$
	2	6,03	
	3	6,02	
<b>F2C</b>	1	6,04	$6,03 \pm 0,01$
	2	6,04	
	3	6,02	

#### 5.1.4 Uji Organoleptis Liposom Minyak Cengkeh

Parameter yang diamati pada uji organoleptis sediaan liposom minyak cengkeh yaitu warna, bau, dan bentuk. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada **tabel 5.4** dibawah ini :

**Tabel 5.4 Hasil Uji Organoleptis Liposom Minyak Cengkeh**

Sampel	Warna	Bau	Bentuk
F1A	Putih Kekuningan	Khas Cengkeh	Suspensi
F1B	Putih Kekuningan	Khas Cengkeh	Suspensi
F1C	Kuning Muda	Khas Cengkeh	Suspensi
F2A	Putih Tulang	Khas Cengkeh	Suspensi
F2B	Putih Tulang	Khas Cengkeh	Suspensi
F2C	Putih Tulang	Khas Cengkeh	Suspensi

#### 5.1.5 Uji T-test Tidak Berpasangan

Data dari hasil PSA selanjutnya dianalisis dengan uji statistika *unpaired test* untuk melihat formula mana yang baik. Sebelumnya, dilakukan uji normalitas data untuk menentukan data memiliki distribusi normal atau tidak. Hasil uji

normalitas data menunjukkan data memiliki distribusi normal karena nilai

signifikansi pH sebesar 0,548 ( $p>0,05$ ), ukuran partikel didapatkan hasil signifikan 0,738 ( $p>0,05$ ), dan indeks polidispersitas memiliki nilai signifikan 0,13 ( $p>0,05$ ). Data dilanjutkan dengan uji t-test tidak berpasangan dan didapatkan hasil untuk nilai pH sebesar 0,46 ( $p>0,05$ ); ukuran partikel sebesar 0,12 ( $p>0,05$ ), dan distribusi ukuran partikel sebesar 0,01 ( $p<0,05$ ). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan antara penambahan kolesterol dengan konsentrasi yang lebih tinggi pada nilai distribusi ukuran partikel yang dapat dilihat pada hasil signifikansi F2 sebesar 0,01 ( $p<0,05$ ) sehingga dapat dikatakan F2 merupakan formula yang lebih baik dari F1 karena terlihat persebaran ukuran partikel yang merata dengan peningkatan massa kolesterol.

Didapatkan nilai indeks polidispersitas Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

## 5.2 Formulasi Liposom dalam Krim

Variasi konsentrasi kolesterol pada formula 1 dan 2 menunjukkan hasil bahwa formula 2 memiliki ukuran partikel yang masuk dalam spesifikasi sehingga formula 2 di kombinasikan dengan cara dimasukkan ke dalam krim *oil in water* sehingga membentuk krim liposom minyak cengkeh. Krim *oil in water* memiliki basis krim yaitu fase minyak dan fase air. Fase minyak terdiri dari asam stearate, setil alkohol, span, dan BHT sedangkan fase air terdiri dari metil paraben, propilen glikol, dan tween 80. Penampakan fisik krim liposom minyak cengkeh dapat dilihat pada **gambar 5.5** dibawah ini :



**Gambar 5.5 Krim Liposom Minyak Cengkeh**

### 5.2.1 Uji Organoleptis

Organoleptis dilakukan setelah menambahkan liposom ke dalam krim.

Parameter yang diamati adalah warna, bau, dan tekstur sediaan. Hasilnya menunjukkan emulsi krim, berwarna coklat pudar, dan berbau minyak atsiri cengkeh. Hasil organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 5.5** dibawah ini.

**Tabel 5.5 Hasil Uji Organoleptis Krim Liposom Minyak Cengkeh**

Parameter	Replikasi	Hasil Pengamatan
<b>Warna</b>	1	Putih Tulang
	2	Putih Tulang
	3	Putih Tulang
<b>Bau</b>	1	Khas Cengkeh
	2	Khas Cengkeh
	3	Khas Cengkeh
<b>Bentuk</b>	1	Emulsi Krim
	2	Emulsi Krim
	3	Emulsi Krim

### 5.2.2 Uji Daya Sebar dan Daya Lekat

Daya sebar memperlihatkan kemampuan sediaan topikal menyebar saat diaplikasikan ke bagian kulit sehingga dapat diperkirakan luas area yang dapat dijangkau oleh sediaan topikal saat diterapkan ke kulit. Sedangkan, daya lekat digunakan untuk menentukan lamanya kontak antara basis krim yang ada pada

sediaan dengan kulit. Hasilnya dapat dilihat pada **tabel 5.6**. Angka yang didapatkan akan dihitung dengan rumus

$$\text{Spreadability (S)} = \frac{M \times L}{T}$$

dimana S sebagai daya sebar, M sebagai massa krim (g), L sebagai panjang dan T (detik) sebagai waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan kedua lempeng kaca.

**Tabel 5.6 Hasil Uji Daya Sebar dan Daya Lekat Krim Liposom Minyak**

Cengkeh						
Replikasi	Daya Lekat	Rata-Rata ± SD	Daya Sebar	Rata-rata ± SD		
	(s)		(g.cm/s)			
1	36	33 ± 3	0,55	0,49 ± 0,047		
2	33		0,48			
3	30		0,46			

### 5.2.3 Uji Evaluasi pH

Pengukuran pH dilakukan untuk menilai kestabilan krim liposom minyak cengkeh dengan menggunakan formula 2 sebagai liposom minyak cengkeh yang dikombinasikan dengan sediaan krim *oil in water*. Pengujian dilakukan menggunakan instrument pH meter Schoot pada suhu  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Nilai pH sediaan antara 4,53 - 4,68. Dapat dilihat pada **tabel 5.7**.

**Tabel 5.7 Hasil Uji pH Krim Liposom Minyak Cengkeh**

Replikasi	pH	Rata-rata ± SD
1	4,68	4,59 ± 0,08
2	4,56	
3	4,53	

#### 5.2.4 Hasil Uji Ukuran Partikel Dan Indeks Polidispersitas

Krim yang telah dikombinasikan dengan liposom minyak cengkeh di uji dengan *Particle Size Analyzer* untuk mendapatkan ukuran partikel krim liposom minyak cengkeh. Hasil Uji PSA dapat dilihat pada **tabel 5.8** dan indeks polidispersitas dapat dilihat pada **tabel 5.9** dibawah ini :

**Tabel 5.8 Hasil Ukuran Partikel Krim Liposom Minyak Cengkeh**

Replikasi	Hasil (nm)	Rata-rata (nm) ±SD
1	763,5	1013 ± 640
2	536,6	
3	1714	

**Tabel 5.9 Hasil Indeks Polidispersitas Krim Liposom Minyak Cengkeh**

Replikasi	Hasil	Rata-rata (nm) ±SD
1	0,737	0,83 ± 0,14
2	0,753	
3	1,000	

#### 5.2.5 Hasil Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan sediaan krim liposom minyak cengkeh. Hal ini berkaitan dengan penerimaan sediaan krim sebagai sediaan topikal pada penggunaan terapi yang terlokalisasi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *Viscometer Rion VT-06* dan sampel diukur dengan cara spindle nomor 3 dimasukkan ke dalam 30 gram sampel krim. Hasil

pengukuran nilai viskositas yaitu sebesar  $9333 \pm 577,3$  dan dapat dilihat pada

**Tabel 5.11** dibawah ini :

**Tabel 5.11 Hasil Uji Viskositas Krim Liposom Minyak Cengkeh**

Replikasi	Viskositas (cPs)	Rata-rata $\pm$ SD
1	9000	$9333 \pm 577,3$
2	9000	
3	10000	

### 5.2.6 Uji T-Test Berpasangan

Uji statistik ini digunakan untuk mengetahui signifikansi perbedaan nilai pH, ukuran partikel, dan distribusi ukuran partikel ketika terbentuk liposom minyak cengkeh dan sesudah dimasukkan dalam krim. Uji analisis ini dipilih karena hanya ada 2 kelompok data yang diamati yaitu sediaan liposom sebelum dan sesudah diaplikasikan dalam bentuk sediaan krim. Sebelumnya, dilakukan uji normalitas data untuk menentukan data memiliki distribusi normal atau tidak.

Hasil uji normalitas data untuk ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan pH memiliki nilai signifikansi  $p > 0,05$  yang menandakan data berdistribusi normal. Uji dilanjutkan dengan uji t-test berpasangan yang didapatkan hasil untuk uji ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan pH yaitu  $p > 0,05$  yang mengindikasikan tidak ada perbedaan yang bermakna ketika liposom sebelum dan dimasukkan ke dalam krim. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini memiliki beberapa tahap yaitu pembuatan liposom minyak cengkeh dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis dengan menggunakan pelarut kloroform, menentukan formula liposom yang terbaik dilihat dari ukuran partikel dan indeks polidispersitas dengan adanya variasi konsentrasi kolesterol, pembuatan krim liposom minyak cengkeh, dan yang terakhir uji evaluasi krim liposom minyak cengkeh. Masing-masing komponen liposom yang digunakan dalam penelitian ini yaitu minyak cengkeh sebagai bahan aktif, lesitin sebagai fosfatidilkolin, kolesterol sebagai peningkat rigiditas lipid bilayer, tween 80 sebagai surfaktan, kloroform sebagai pelarut, dan buffer ph 7 sebagai pembentuk lapisan hidrofili. Sementara, komponen krim *oil in water* yaitu asam stearat, setil alkohol, BHT, dan span 80 sebagai fase minyak dan fase air yang terdiri dari tween 80, metil paraben, propilen glikol, dan aquades. Tween 80 dan span 80 berfungsi sebagai surfaktan, metil paraben sebagai pengawet, BHT sebagai antioksidan, dan propilen glikol sebagai pelarut.

Formula liposom di uji dengan metode *Particle Size Analyzer* untuk menentukan ukuran partikel dan pengujian pH. Hasil dari PSA akan diolah dengan menggunakan statistika SPSS yaitu *unpaired t-test* karena formula 1 dan formula 2 tidak berhubungan sehingga dipilih metode SPSS t-test tidak berpasangan. Setelah menentukan formula yang terbaik maka dimasukkan ke dalam krim dan dilakukan pengukuran partikel serta hasilnya di olah ke dalam bentuk statistika SPSS dengan metode *paired test* karena sampel yang digunakan berhubungan. *Paired test* dipilih untuk melihat hasil ukuran partikel,

pH, dan indeks polidispersitas liposom sebelum dan sesudah dimasukkan ke dalam sediaan krim.

Proses percobaan ini diawali dengan pembuatan liposom minyak cengkeh. Liposom minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) didapatkan melalui metode hidrasi lapis tipis dengan penambahan variasi konsentrasi kolesterol. Perbandingan yang digunakan antara minyak cengkeh, lesitin, kolesterol, dan tween 80 yaitu untuk F1 sebesar 2:9:1:1 dan untuk F2 yaitu 2:9:1:2. Metode hidrasi lapis tipis merupakan salah satu metode pembuatan liposom dengan menguapkan pelarut agar terbentuk lapisan lipid dalam kondisi vakum. Lapisan lipid yang terbentuk pada dinding labu dihidrasi dengan menambahkan larutan buffer pada kondisi tidak vakum untuk membentuk sisi hidrofil dari liposom sehingga akan membentuk liposom yang memiliki bagian hidrofilik dan hidrofobik. Biasanya, metode ini dikombinasikan dengan sonikasi untuk menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dan lebih seragam yaitu bisa sampai mencapai *Small Unilamellar Vesicle* (Khrisna dan Shasikala, 2014).

Formula liposom minyak cengkeh dibuat dua formula dengan variasi konsentrasi kolesterol berbeda untuk mengetahui pengaruh kolesterol terhadap ukuran partikel, pH, dan nilai indeks polidispersitas. Spesifikasi yang memenuhi syarat sebagai sistem penghantaran dalam bentuk topikal adalah memiliki ukuran  $\leq 3$   $\mu\text{m}$  dan memiliki pH 4,5-6,5. Partikel yang berukuran sesuai spesifikasi dapat berpenetrasi ke dalam lapisan kulit sebagai sediaan topikal (Komarion, 2011; Baroli et al., 2007). Ketika akan membuat formula untuk sediaan topikal maka harus mempertimbangkan pH normal kulit yaitu 4,5-6,5 (Desy, et al., 2015).

Hasil organoleptis liposom minyak cengkeh untuk formula 1 yaitu putih kekuningan dan untuk formula 2 putih tulang. Organoleptis formula liposom

minyak cengkeh memiliki warna seperti minyak cengkeh yaitu kuning muda.

Warna pada liposom memiliki warna kuning yang agak pudar karena adanya penambahan lesitin yang berwarna coklat muda dan adanya tahap pengadukan serta pengecilan ukuran dengan sonikasi dan ultraturax. Bau dari liposom minyak cengkeh untuk formula satu dan dua berbau khas minyak atsiri cengkeh dan berbentuk suspensi.

Parameter lain yang diuji untuk melihat sifat fisikokimia liposom minyak cengkeh yaitu pH sediaan. pH sediaan dapat mempengaruhi efektivitas dari pelepasan obat dan kenyamanan dalam penggunaan ketika sediaan topikal diaplikasikan ke kulit. Sediaan topikal yang dapat diterima sesuai dengan pH normal kulit yaitu 4,5-6,5 sehingga tidak mengiritasi kulit (Desy et. al., 2015).

Hasil pengukuran rata-rata pH liposom minyak cengkeh untuk F1A yaitu  $5,97 \pm 0,03$ ; F2B yaitu  $6,04 \pm 0,02$ ; F2C yaitu  $5,95 \pm 0,03$  dan F2A yaitu  $6,06 \pm 0,03$ ; F2B yaitu  $6,03 \pm 5,7 \times 10^{-3}$ ; serta F2C yaitu  $6,03 \pm 0,01$ . Berdasarkan, hasil uji pH maka kedua formula dengan replikasi 3 kali sesuai dengan spesifikasi rentang pH kulit normal.

Liposom minyak cengkeh diuji PSA untuk melihat diameter ukuran partikel dari masing-masing formula. Rata-rata ukuran partikel formula 1 yaitu  $654,07 \pm 83,04$  dan formula 2 yaitu  $274,27 \pm 123,78$ . Spesifikasi untuk sediaan yang mampu menembus stratum korneum yaitu  $\leq 3 \mu\text{m}$  dan didapatkan hasil bahwa formula 1 dan formula 2 sesuai spesifikasi sehingga dapat diindikasikan formula 1 maupun formula 2 mampu menembus kulit dengan baik. Partikel yang lebih besar dari  $10 \mu\text{m}$  cenderung tetap berada di permukaan stratum korneum, sedangkan partikel dengan ukuran  $3-10 \mu\text{m}$  berada di dalam folikel rambut, dan partikel dengan ukuran  $\leq 3 \mu\text{m}$  mampu menembus stratum korneum (Schaefer

dan Redelmeier, 1996). Uji Indeks polidispersitas menyatakan persebaran droplet pada sediaan liposom minyak cengkeh dan spesifikasi untuk indeks polidispersitas yaitu jika mendekati 0 maka mengindikasikan persebaran yang baik, namun jika mendekati 1 maka droplet diindikasikan mengalami penggumpalan atau persebaran yang tidak merata. Rata-rata hasil uji indeks polidispersitas untuk F1 yaitu  $0,626 \pm 0,05$  dan F2 yaitu  $0,136 \pm 0,07$ . Rata-rata dari kedua formula menyatakan bahwa formula 2 memiliki persebaran droplet yang lebih baik daripada formula 1, sehingga formula 2 dipilih untuk dimasukkan dalam sediaan krim sebagai sediaan topikal dalam mengatasi skabies.

Kolesterol dalam formula liposom minyak cengkeh berfungsi untuk mempercepat pembentukan fosfolipid, meningkatkan resistensi vesikel untuk membentuk agregat, dan mengubah fluiditas interaksi antar partikel sehingga dapat membentuk lapisan lipid yang lebih rigid. Selain itu, kolesterol juga memberikan rigiditas pada lipid bilayer dengan menempati celah dari fosfolipid dan meningkatkan stabilitas fisik liposom (Liang, et al., 2004). Kelarutan kolesterol yang tinggi dalam liposom karena adanya interaksi antara kolesterol dengan bagian hidrofobik liposom (Patil, et al., 2005 dan Patel, 2006).

Pengujian statistik dilakukan secara nonparametrik dengan uji Shapiro-Willk untuk menentukan normalitas data dan didapatkan nilai signifikansi untuk pengukuran pH sebesar 0,548 ( $p > 0,05$ ) yang berarti data berdistribusi normal.

Data dilanjutkan dengan pengukuran menggunakan t-test tidak berpasangan dengan hasil 0,46 ( $p > 0,05$ ) yang mengindikasikan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan antara penambahan kolesterol dengan pH. Uji statistik untuk melihat normalitas ukuran partikel menggunakan Shapiro-Willk dan didapatkan hasil signifikansi 0,738 ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan persebaran data normal dan

dilanjutkan dengan t-test tidak berpasangan. Hasil dari t-test tidak berpasangan untuk ukuran partikel yaitu 0,12 ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak ada pengaruh yang bermakna antara penambahan kolesterol dengan ukuran partikel. Parameter indeks polidispersitas diuji dengan Shapiro-Wilk dan memiliki nilai signifikansi 0,13 ( $p > 0,05$ ). Dilanjutkan untuk uji t-test tidak berpasangan dan didapatkan hasil 0,01 ( $p < 0,05$ ) yang berarti ada pengaruh yang bermakna antara penambahan kolesterol dengan jumlah yang lebih banyak terhadap distribusi ukuran partikel karena semakin mendekati 0 yang berarti distribusi ukuran partikel merata sehingga didapatkan kesimpulan bahwa formula 2 lebih baik.

Emulsi krim *oil in water* dibuat dengan menggunakan fase minyak yaitu asam stearat, setil alkohol, BHT, dan span 80 sedangkan komponen fase air yaitu metil paraben, tween 80, dan propilen glikol. Asam stearat dipilih sebagai fase minyak karena dapat meningkatkan permeabilitas kulit dan membantu obat menembus lapisan lipid bilayer membran sel (Dragicevic, *et al.*, 2009). Surfaktan yang digunakan yaitu kombinasi tween 80 dan span 80 dengan HLB 14. Kombinasi surfaktan tween 80 dan span 80 memiliki sifat biokompatibel dan aman jika digunakan dalam sediaan topikal sehingga sering digunakan sebagai surfaktan pada sediaan farmasi. Kedua surfaktan ini merupakan surfaktan non ionik yang akan membentuk sistem disperse *o/w* ataupun *w/o* sehingga lebih fleksibel dalam penggunaannya (Azeem, *et al.*, 2008).

Krim liposom minyak cengkeh diuji organoleptis dengan parameter warna, bau, dan bentuk. Warna pada sediaan krim liposom yaitu putih tulang dengan bau khas atsiri minyak cengkeh, dan berbentuk emulsi krim. Hasil uji daya lekat setelah dilakukan replikasi 3x yaitu memiliki rata-rata  $33 \pm 3$  detik. Uji daya lekat ini digunakan untuk memperkirakan kemampuan perlekatan krim pada kulit

ketika digunakan secara topikal. Nilai uji daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah  $>4$  detik (Rachmalia, *et al.*, 2016). Berdasarkan spesifikasi tersebut, maka krim liposom minyak cengkeh memiliki daya lekat sesuai untuk sediaan topikal. Hasil uji daya sebar pada krim memiliki rata-rata  $0,49 \pm 0,047$  dengan luas daya sebar untuk replikasi 1 yaitu 10 cm, replikasi 2 yaitu 8 cm, dan replikasi 3 yaitu 7 cm. Spesifikasi penerimaan untuk sediaan topikal yaitu memiliki daya sebar 5-7 cm (Rachmalia *et al.*, 2016). Krim liposom memiliki daya sebar yang lebih besar dari spesifikasi karena adanya penambahan liposom yang memiliki viskositas lebih rendah daripada krim sehingga liposom yang berbentuk suspensi menurunkan viskositas krim dan mempengaruhi daya sebar dari krim. Uji daya sebar dapat memperlihatkan kemampuan sediaan topikal menyebar saat diaplikasikan ke bagian kulit sehingga dapat diperkirakan luas area yang dapat dijangkau oleh sediaan topikal. Keefektifan terapi dari formulasi yang dipilih juga dapat diperkirakan dengan uji daya sebar ini.

Hasil viskositas sediaan krim untuk replikasi 1 yaitu 9000 cPs; replikasi 2 yaitu 9000; dan replikasi 3 yaitu 10.000 cPs. Viskositas digunakan untuk mengetahui besarnya tahanan suatu cairan untuk mengalir dan spesifikasi viskositas untuk sediaan semisolid yaitu 4000-40.000 cPs (Wasiaatmadja, 1997).

Uji viskositas digunakan untuk membantu menentukan konsistensi dan fluiditas pada sediaan krim karena dapat menunjukkan konsistensi krim selama penyimpanan dalam beberapa waktu dan mempengaruhi daya sebar. Jika viskositas meningkat maka daya sebar menurun sehingga mempengaruhi efektivitas krim saat digunakan. Ketiga distribusi ukuran partikel lebih merata maka akan meningkatkan viskositas karena adanya resistensi cairan yang tinggi untuk membentuk agregat/ketidakstabilan. Ketiga sampel krim liposom memiliki

hasil uji viskositas yang sesuai dengan spesifikasi penerimaan krim. Hasil perbandingan pH liposom sebelum dan sesudah dimasukkan ke dalam sediaan krim memiliki perbedaan yang cukup signifikan yaitu pH sediaan krim liposom memiliki rata-rata  $4,59 \pm 0,08$ . Hal ini dapat diakibatkan karena dalam sediaan krim memiliki fase minyak asam stearat yang bersifat asam. Namun, sesuai spesifikasi pH untuk sediaan topikal maka krim liposom minyak cengkeh masih masuk ke dalam spesifikasi yaitu 4,5-6,5.

Ukuran partikel pada krim liposom minyak cengkeh mengalami peningkatan dibandingkan dengan liposom sebelum ditambahkan ke dalam sediaan krim. Krim liposom replikasi 1 memiliki ukuran partikel 763,5 nm; replikasi 2 yaitu 536,6; dan replikasi 3 yaitu 1714 nm dengan rata-rata  $1013 \pm 640$ . Hasil indeks polidispersitas pada sediaan krim liposom juga mengalami kenaikan yaitu memiliki rata-rata  $0,83 \pm 0,14$ . Peningkatan droplet ini dapat diakibatkan karena terjadinya koalesensi atau penggumpalan yang disebabkan oleh peningkatan kontak antar lapisan film/layer dari droplet. Selain itu, droplet yang lebih kecil akan menempati droplet yang lebih besar karena adanya perbedaan potensial antara droplet kecil dan besar sehingga droplet yang lebih kecil akan menuju ke droplet yang lebih besar (Delmas, *et al.*, 2011).

Peningkatan ukuran ini juga mempengaruhi nilai indeks polidispersitas yang menyatakan keseragaman distribusi partikel. Indeks polidispersitas liposom minyak cengkeh dalam krim yaitu  $0,83 \pm 0,14$ . Terjadi peningkatan indeks polidispersitas akibat persebaran droplet besar dan kecil yang tidak merata.

Ukuran partikel yang tidak seragam juga dapat disebabkan karena kecenderungan partikel untuk beraglomerasi membentuk agregat partikel yang lebih besar. Faktor yang dapat menyebabkan hal tersebut yaitu formula

kombinasi liposom dengan krim, pH sediaan, kecepatan pengadukan, dan volume pengadukan (Rismana, *et al.*, 2013).

Pengujian statistik untuk menentukan normalitas data dilakukan secara nonparametrik dengan uji Shapiro-Wilk pada pengukuran ukuran partikel sebelum ditambahkan krim didapatkan nilai signifikansi 0,792 dan setelah ditambahkan krim sebesar 0,349 ( $p > 0,05$ ) yang berarti persebaran data normal.

Uji dilanjutkan dengan t-test berpasangan dan didapatkan hasil 0,129 ( $p > 0,05$ ) yang mengindikasikan tidak ada perbedaan yang signifikan antara ukuran partikel liposom sebelum dan sesudah dimasukkan ke dalam krim. Uji normalitas data untuk indeks polidispersitas sebelum dimasukkan ke dalam krim yaitu 0,986 ( $p > 0,05$ ) dan sesudah dimasukkan ke dalam krim didapatkan hasil signifikansi 0,174 ( $p > 0,05$ ) yang berarti uji persebaran data normal. Uji dengan t-test berpasangan mendapatkan hasil 0,06 ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan antara indeks polidispersitas sebelum dan sesudah liposom ditambahkan ke dalam krim, walaupun nilai signifikansi mendekati nilai 0,05 sebagai batasan tidak berbeda secara bermakna. Hasil pengukuran pH dengan uji Shapiro-Wilk didapatkan hasil ( $p > 0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa uji persebaran data normal. Data dilanjutkan dengan uji t-test berpasangan dan didapatkan hasil 0,102 ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pH liposom sebelum dan sesudah dimasukkan ke dalam krim.

Berdasarkan penelitian ini dapat dikatakan bahwa kolesterol mempengaruhi distribusi ukuran partikel karena kolesterol berperan dalam meningkatkan rigiditas liposom yang berarti menurunkan resiko liposom pecah dan membentuk agregat, karena jika partikel liposom membentuk agregat akan menyebabkan persebaran ukuran partikel menjadi tidak merata. Ukuran partikel

untuk kedua formula liposom sesuai spesifikasi sediaan topikal yang mampu menembus stratum korneum yaitu  $< 3 \mu\text{m}$ . Formula 2 liposom memiliki ukuran partikel  $274,27 \pm 123,78$  dan setelah dimasukkan ke dalam sediaan krim terjadi peningkatan ukuran partikel liposom menjadi  $1013 \pm 640 \text{ nm}$ . Hal ini disebabkan karena adanya kecenderungan partikel untuk beragregasi sehingga terjadi penggumpalan menjadi partikel yang lebih besar. Namun, krim liposom minyak cengkeh masih masuk dalam spesifikasi untuk ukuran partikel yang mampu menembus stratum korneum. Sementara, hasil indeks polidispersitas antara liposom minyak cengkeh dan liposom yang diformulasikan dalam krim juga mengalami peningkatan yang cukup signifikan namun nilainya masih  $< 1,000$  yang menyatakan persebaran partikel masih dapat dikatakan baik.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa rasio kolesterol:lesitin yang semakin tinggi dalam formula liposom minyak cengkeh mempengaruhi distribusi ukuran partikel. Formula 2 dipilih sebagai sediaan liposom yang diformulasikan ke dalam krim karena memiliki distribusi ukuran partikel yang mendekati 0 dan ukuran partikel yang lebih kecil. Hasil evaluasi ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel liposom sebelum dan sesudah diformulasikan dalam krim tidak memiliki perbedaan yang signifikan yang berarti liposom stabil ketika diformulasikan dalam sediaan krim.

#### 7.2 Saran

Parameter lain yang belum di uji seperti efisiensi penjerapan dan *Scanning Electrone Microscope* masih perlu dilakukan untuk melihat kadar liposom dalam sediaan dan morfologi liposom sehingga hasil yang didapatkan lebih akurat.

## DAFTAR PUSTAKA

Abdus Samad, Y. Sultana And M. Aqil. 2007. *Liposomal Drug Delivery Systems: An Update Review*. India

Afaneh, I, K. Abu-Alruz, J.M. Quasem, A. Sundookah, J. Abbadi, S. Alloussi, Dan Ayyad. 2011. *Fundamental Element To Produce Sesame Yoghurt From Sesame Milk*. Am. J. Applied Sci., 8 (11): 1086 – 1092

Agarwal Sp, Rajesh K (2007). *Physical Pharmacy*. Cbs Publisher, Delhi, India, Pp. 177-186.

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Nejati-Koshki, K. 2013. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 102. doi:10.1186/1556-276x-8-102

Akhtar N, Khan BA, Khan MS, Mahmood T, Khan HMS, Iqbal M and Bashir S. 2011. Formulation Development and Moisturising Effects of a Topical Cream of *Aloe vera* Extract. *International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering Vol:5, No:3*. Pakistan

Anna Rita Bilia, Clizia Guccione, Benedetta Isacchi, Chiara Righeschi, Fabio Firenzuoli, and Maria Camilla Bergonzi. 2014. *Essential Oils Loaded in Nanosystems: A Developing Strategy for a Successful Therapeutic Approach*. Italy

Ansel H.C., Allen L.V., 2000. *Pharmaceutical dosage forms and Drug Delivery System, 7th edition*. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins

Armengol, X.; Estelrich, J. Physical Stability of Different Liposome Compositions Obtained By Extrusion Method. *J. Microencapsul.* 1995, 12, 525–535.

Avinash S.1 , D. V. Gowda, Suresh J., Aravind Ram A. S., Atul Srivastava and Riyaz Ali M. Osmani. *Formulation and Evaluation of Topical Gel Using Eupatorium Glandulosum Michx For Wound Healing Activity. Der Pharmacia Lettre*, 2017, 8 (8): 255-266.

Azeem A., Sushama Talegaonkar, Farhan J. Ahmad, Roop K. Khar, Shadab A. Pathan dan Zeenat I. Khan. 2008. Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery. *Journal of Drug Delivery and Formulation* Vol 2. India : P; 238-257

B. Niyaz Basha, Kalyani Prakasam, Divakar Goli. 2011. Formulation and evaluation of Gel containing Fluconazole-Antifungal Agent. *International Journal of Drug Development & Research* Vol. 3 Issue 4 ISSN 0975-9344. Netherlands : Elsevier

Barkat Ali Khan, Naveed Akhtar, Haji Muhammad Shoaib Khan, Khalid Waseem, Tariq, Mahmood, Akhtar Rasul, Muhammad Iqbal1 and Haroon Khan. 2011. Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 5(25) : Pakistan

Betageri, G. & Prabhu, S., 2002, Semisolid Preparation, Dalam Swarbick, J. And Boylan, J.C., (Eds.), *Encyclopedia Of Pharmaceuical Technology*, 2nd Ed, Vol.3, 2436, 2453-2456, Marcel Dekker Inc., New York.

Burkhart Cg, Burkhart Cn, Burkhart Km (2000) *An Epidemiologic And Therapeutic Reassessment Of Scabies*. *Cutis*, 65: 233-236.

Cevc G, Gebauer D, Stieber J, Schatzlein A, Blume G. 1998. *Ultraflexible Vesicles, Transferosomes, Have An Extremely Low Pore Penetration Resistance*

*And Transport Therapeutic Amounts Of Insulin Across The Intact Mammalian Skin. Biochim.Biophys.Acta.P : 201-215.*

Cevc, G., Sch" Atzlein, A., Blume, G., 1995. Transdermal Drug Carriers: Basic Properties, Optimization And Transfer Efficiency In The Case Of Epicutaneously Applied Peptides. *J. Control. Release* 36, 3-16.

Chen, J., Lu, W.L., Gu, W., Lu, S.S., Chen, Z.P., Cai, B.C. & Yang, X.X. 2014. *Drug-in-cyclodextrin-in-liposomes: A promising delivery system for hydrophobic drugs. Expert Opinion on Drug Delivery* 11: 565-577

Chu, D.H. 2008. Overview of biology, development, and structure of skin. In K. Wolff, L.A. Goldsmith, S.I. Katz, B.A. Gilchrest, A.S. Paller, & D.J. Leffell (Eds.), *Fitzpatrick's dermatology in general medicine* (7th ed., pp. 57-73). New York: McGraw-Hill

Cielo Pasay, Kate Mounsey, Graeme Stevenson, Rohan Davis, Larry Arlian, Cortés-Rojas, D. F.; Souza, C. R. F.; Oliveira, W. P. 2014. Encapsulation of Eugenol Rich Clove Extract in Solid Lipid Carriers. *Journal of Food Engineering*, 127, 34-42.

Dash Tapaswi Rani. 2013. Liposome As A Potential Drug Delivery System : A Review. *International Research Journal of Pharmacy* 4 (1). India

Debjit Bhowmik<sup>1</sup>, Harish Gopinath<sup>1</sup>, B. Pragati Kumar<sup>1</sup>, S.Duraivel<sup>1</sup>, K.P.Sampath Kumar. 2012. *Recent Advances In Novel Topical Drug Delivery System. India*

Delmas, Thomas, Helene P., Anne C.C., Issabele T., F. Vinet. 2011. How to Prepare and Stabilize Very Small Nanoemulsion. *Langmur Article American Chemical Society* Vol.27 (5): 1683-1693

- Desy Muliana Wenas, Mahdi Jufri, Berna Elya. 2015. Formulation And Penetration Study Of Liposome Xanthone Of Mangosteen Pericarp Methanol Extract (*Garcinia Mangostana* L.). *International Journal Of Scientific And Research Publications*, Volume 5, Issue 12. Indonesia
- Dr. KM Ho. 2006. 'Proper Choice of Base of Topical Medicaments', *Medical Bulletin*, Vol.11 No.5 May Medical Bulletin, Vol-11(9), September 2006, page no-7,8.
- Dragicevic-Curic N, et al. . 2009 Temoporfin-loaded liposome gels: Viscoelastic properties and in vitro skin penetration. *Int. J. of Pharm*; 373: 77-84.
- El-Nikeety MMA, El-Akel ATM, Abd El-Hady MMI, Badei AZM. 1998. Changes In Physical Properties And Chemical Constituents Of Parsley Herb Volatile Oil During Storage. *Egypt J Food Sci* 26–28:35–49.
- Eskandar M., Nasrin A., Ali Zarei, M., Zahra R., Somayeh, H. 2012. Preparation And Characterization Of Liposomes Containing Essential Oil Of Eucalyptus Camaldulensis Leaf. *Journal Of Natural Pharmaceutical Products*. Iran
- Fang Fang, Kerdalidec Candy, Elise Melloul, Charlotte Bernigaud, Ling Chai, Céline Darmon<sup>2</sup>, Rémy Durand, Françoise Botterel, Olivier Chosidow, Arezki Izri, Weiyi Huang and Jacques Guillot. 2016. *In vitro activity of ten essential oils against Sarcoptes scabiei*. France : Research group
- Dynamyc, EA 7380 EnvA, UPEC, UPE, Maisons-Alfort & Créteil, France
- Frankowski BL, Bocchini JA Jr. 2010. *Council on School Health and Committee on Infectious Diseases*. Head lice. *Pediatrics*. 126(2):392-403.

Gabriella Pasaribu, Iskandarsyah, Erny Sagita. 2016. Uji Aktivitas Antiproliferasi Formulasi Liposom Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharmac Sci*, 3 (1): 45-59.

Ghosh, V.; Mukherjee, A.; 2014. *Chandrasekaran, N. Eugenol-Loaded Antimicrobial Nanoemulsion Preserves Fruit Juice Against Microbial Spoilage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 392–397

Go Mez-Hens A, Manuel Ferna´Ndez-Romero J. 2005. *The Role Of Liposomes In Analytical Processes. Trends Anal. Chem.* 24, 9–19.

Grant G. J., Y. Barenholz, E. M. Bolotin, M. Bansinath, H. Turndoft, B. Piskoun And E. M. Davidson.2004. *A Novel Liposomal Bupivacaine Formulation To Produce Ultralong-Acting Analgesia, Anesthesiology*, 101, 133–137

Gregoriadis G. 1995. *Engineering Liposomes For Drug Delivery: Progress And Problems. Rev article. Trends Biotechnol* 13: 527–537.

Grit M, Crommelin DJ (1993) *Chemical stability of liposomes: Implications for their physical stability. Chem Phys Lipids* 64: 3-18.

Han I, Kim M, Kim J. 2004. *Enhanced Transfollicular Delivery Of Adriamycin With A Liposome And Iontophoresis. Exp. Dermatol.*Vol13 (2): 86-92.

Hengge UR, Currie BJ, Jager G, Lupi O, Schwartz RA (2006) *Scabies: a ubiquitous neglected skin disease. Lancet Infectious Disease* 6: 769-79

Hou, Z., Li, Y., Huang, Y., Zhou, C., Lin, J., Wang, Y., Cui, F., Zhou, S., Jia, M.,

Ye, S. & Zhang, Q. 2013. *Phytosomes loaded with mitomycin C-soybean phosphatidylcholine complex developed for drug delivery. Mol. Pharm.* 10: 90-101.

Imhof A and Pine D J. 1997. Stability of Nonaqueous Emulsions, *Journal of Colloid and Interface Science*,:192, 368–374.

- Isaac, V.L.B.; Cefali, L.C.; Chiari, B.G.; Oliveira, C.C.L.G.; Salgado, H.R.N.; Corrêa, M.A. Protocolo Para Ensaio Físico-Químicos De Estabilidade De Fitocosméticos. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, V.29, N1, P.81-96, 2008.
- Jang, I.S., Y.H. Ko, S.Y. Kang, And C.Y. Lee, 2007. *Effect Of Commercial Essential Oil On Growth Performance Digestive Enzyme Activity And Intestinal Microflora Population In Broiler Chickens. Anim. Feed Sci. Technol.*, 134: 304–315.
- Johnston G, Sladden M. 2005. *Scabies: diagnosis and treatment. BMJ.* p;331(7517):619-622.
- Karewicz, A., Bielska, D., Loboda, A., Gzyl-Malcher, B., Bednar, J., Jozkowicz, A., Dulak, J. & Nowakowska, M. 2013. *Curcumin-Containing Liposomes Stabilized By Thin Layers Of Chitosan Derivatives. Colloids Surf B Biointerfaces* 109: 307-316.
- Kaur LP., et al. Development And Evaluation Of Topical Gel Of Minoxidil From Different Polymer Bases In Application Of Alopecia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2010, 2 (3): 43-47.
- Khrisna Sailaja, A., Shashikala, P. 2014. An Overall Review On Liposomal Drug Delivery System. *Indian Journal Of Novel Drug Delivery. India*
- Krowczynski, L. *Extended-Release Dosage Forms*. USA, 1987; CRC Press. (Dalam Desy Muliana Wenas, Mahdi Jufri, Berna Elya, 2015).
- Krystyna Nowak, Jan Ogonowski, Małgorzata Jaworska, Katarzyna Grzesik. 2012. *Clove Oil - Properties And Applications. CHEMIK 66 (2)* Institute Of Chemistry And Organic Technology, Cracow University Of Technology. Cracaw. P-145-152

Majeed, H.; Liu, F.; Hategekimana, J.; Sharif, H. R.; Qi, J.; Ali, B.; Bian, -Y.-Y.;

Ma, J.; Yokoyama, W.; Zhong, F. 2016. *Bactericidal Action Mechanism of Negatively Charged Food Grade Clove Oil Nanoemulsions. Food Chemistry.*, 197, 75–83.

Mansoori M.1 A., Agrawal S., Jawade S., Khan M. I.2012. A Review On Liposome. *International Journal Of Advanced Research Pharmaceutical And Bioscience*, 2012; Vol.2 (4):453-464

Marjorie Morgan, DiAnn Vyszenski-Moher, Kathy Andrews, James McCarthy. 2010. *Acaricidal Activity of Eugenol Based Compounds against*

Merv Fingas F. 2014. Water In Oi; Emulsions: Fomation And Prediction. *Journal Of Petroleum Science Research Vol. 3 Canada*

Mitkari Bv, Korade Sa, Mahadik Kr, Kokare Cr. 2010. Formulation And Evaluation Of Topical Liposomal Gel For Fluconazole. *Indain J Pharm Edu Res* P;44:324-33.

Monteiro N, Martins A, Reis RI, Neves Nm. 2014 Liposomes In Tissue Engineering And Regenerative Medicine. *International Journal Of The Royal. Society*. Interface 11: 20140459

Mosca, M., Ceglie, A. & Ambrosone, L. 2011. Effect of membrane composition on lipid oxidation in liposomes. *Chemistry and Physics of Lipids* 164: 158-165.

Mounsey K, Ho M-F, Kelly A, Willis C, Pasay C, Kemp DJ, Et Al. A 2010. *Tractable Experimental Model For Study Of Human And Animal Scabies*. Plos Negl Trop Dis.;4:E756.

Mozafari, M.R., Reed, C.J., Rostron, C., Kocum, C. & Piskin, E. Construction of *Stable Anionic Liposome-Plasmid Particles Using The Heating Method: A*

- Preliminary Investigation. *Cellular & Molecular Biology Letters*, (2002) 7  
(3): 923-921
- Mumcuoglu Ky, Gilead L. *Treatment Of Scabies Infestations. Parasite*  
2008;15:248-51.
- Orion E, Marcos B, Davidovici B, Wolf R. 2006. *Itch and scratch: Scabies and*  
*pediculosis. Clinics in Dermatology* 24: 168-175.
- Patel S. S (2006). Liposome: A Versatile Platform For Targeted Delivery Of  
Drugs. *Pharmainfo.Net.*, 4; 5: 1-5
- Patil S. G., Gattani S. G., Gaud R. S., Surana S. J., Dewani S. P. And Mahajan H.  
S.2005. *The Pharma Review*, 18(3):53-58.
- Provost C. 1986. Transparent oil-water gels. A review. *International Jurnal*  
*Cosmet Sci* 8(7): 233-247.
- Pubchem. <https://Pubchem.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/Compound/Eugenol#Section=Top>.  
Diakses Tanggal 20 September 2018
- Rachmalia N., Mukhlisah I., Sugihartini N., Yuwono T. (2016) Daya Iritasi Dan  
Sifat Fisik Sediaan Salep Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium*  
*Aromaticum*) Pada Basis Hidrokarbon. *Maj. Farmaseutik* 12:372-376.
- Rashmi MS. 2008. *Topical gel. A review* 6(3):244-249
- Ravindran Muthukumarasamy\*, Alifah Ilyana, Nur 'Afini Fithriyaani, Nur Ain  
Najihah, Nur Asyiqin, Mahendran Sekar. 2016. Formulation And  
Evaluation Of Natural Antioxidant Cream Comprising Methanolic Peel  
Extract Of *Dimocarpus Longan*. *International Journal Of Pharmaceutical*  
*And Clinical Research* 8 (9). Malaysia
- Razafimamonjison Gaylor, Renaud Boulanger, Michel Jahiel, Panja Ramanoelina,  
Panja Fawbush, Marc Lebrun, Pascal Danthu. 2016. Variation in Yield

and Composition of Leaf Essential Oil From *Syzygium aromaticum* at various phases of development. *International Journal of Basic and Applied Science* 5 (1) p : 90-94

Riaz, M. 1996. Liposome Preparation Method. *Pakistan Journal Of Pharmaceutical Science*. P; 65-77

Rieger, M. (2000). 10. *Harry's Cosmeticology* (8th Edition). New York: Chemical Publishing Co Inc Ac, V.L.B.;

Roberta L Richards, Mangala Rao, Thomas C Vancott, Gary R Matyas, Deborah L Birx, And Carl R Alving. 2004. Liposome-Stabilized Oil-In-Water Emulsions As Adjuvants: Increased Emulsion Stability Promotes Induction Of Cytotoxic T Lymphocytes Against An Hiv Envelope Antigen. *Journal Of Immunology And Cell Biology*. Usa : P; 531-538

Rosmala Dewi<sup>1</sup>, Effionora Anwar<sup>1</sup>, Yunita K S. 2014. Uji Stabilitas Fisik Formula Krim Yang Mengandung Ekstrak Kacang Kedelai (*Glycine Max*). Original Article. Indonesiandra Rp And Muslim Pk, 'Comparison Of Physical Characteristics Of Vanishing Cream Base, Cow Ghee And Shata-Dhautaghrita As Per Pharmacopoeial Standards', *International Journal Of Pharma And Bio Sciences*, 2013 Oct; 4(4): (P) 14 – 21.

Rossberg M, Lendle M, Lendle M (1986). *Chlorinated Hydrocarbons*. 1. *Chloromethanes*. In: Gerhartz W, Se Yy, Editors. *Ullmann's Encyclopedia Of Industrial Chemistry*. New York (Ny): Vch Publishers; Pp.235–57

Rowe, R. C., Sheskey. P. J., Queen M. E. 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients* Sixth Edition. Pharmaceutical Press dan American Pharmacists Assosiation. London

Rukmini A., Raharjo S., Hastuti P, And Supriyadi S. 2012. Formulation And Stability Of Water-In-Virgin Coconut Oil Microemulsion Using Ternary Food Grade Nonionic Surfactants. *International Food Research J.* 19: 59-65.

Samala, Madhavi. L. dan Gowripattu Sridevi. 2016. *Role of Polymers as Gelling Agents in the Formulation of Emulgels*. India : Department of Pharmaceutics, Aditya Pharmacy College

Sanjay B., Dinesh S., & Neha S., 2003, *Stability Testing Guidelines : Stability Testing Of New Drug Substances And Products*, Ich Steering Committee. Scabies Mites. USA

Schaefer, H., Redelmeier, T.E., 1996. Skin Barrier Principles of Percutaneous Absorption. Karger, Basel, pp. 235–237.

Shashi, Kant, Kumar. S., Prashar Bharat. 2012. A Complete Review On: Liposome. *Internation Research Journal Of Pharmacy* 3 (7). India

Stauffer, C.E., 1999. *Emulsions And Foams, In Emulsifiers*, Eagan Press, St. Paul, Pp. 1–14.

Strong M, Johnstone P. 2007. *Interventions for treating scabies*. Cochrane Database Syst Re.(3):CD000320.

Takeuchi H, Yamamoto H, Toyoda T. *Physical stability of size controlled small unilameller liposomes coated with a modified polyvinyl alcohol*. *Int J Pharm* 1998; 164: 103-111.

Tomalik-Scharte D, Lazar A, Meins J, et al. 2005. Dermal Absorption Of Permethrin Following Topical Administration. *Eur J Clin Pharmacol* 61:399-404.

Turek C, Stintzing FC. 2012. *Impact Of Different Storage Conditions On The Quality Of Selected Essential Oils*. Food Res Int 46:341–53.

Usp 29. [http://www.Pharmacopeia.Cn/V29240/Usp29nf24s0\\_M18950.Html](http://www.Pharmacopeia.Cn/V29240/Usp29nf24s0_M18950.Html). Vol 29 (4). Diakses Tanggal 20 September 2018

Warnke, P., E. Sherry, P.A.J. Russo, Et Al., 2006. Antibacterial Essential Oils In Malodorous Cancer Patients: Clinical Observations In 30 Patients. *Phytomedicine*, 13: 463–467.

Wasitaatmadja, S.M. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: UI Press.

Wester, R. C., & Maibach, H. I. (1990) In Vitro Testing Of Topical Pharmaceutical Formulations. Dalam: *Topical Drug Delivery Formulations*. New York: Marcel Dekker Inc.

Workowski KA, Berman S. 2010. *Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually transmitted diseases treatment guidelines* correction appears in MMWR Recomm Rep. 2011;60(1):18]

Yadav A.V , Murthy M.S , Shete A. S\* and Sfurti Sakhare. 2011. Stability Aspects of Liposomes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. India

Yadav D, Sandeep K, Pandey D, Dutta RK (2017) *Liposomes for Drug Delivery*. *Jurnal of Biotechnol Biomater* 7: 276. India

Yang Sy, Chen Jy, Zhao D, Han De, Chen Xj. 2012. Comparative Study On Preparative Methods Of Dchol/Dope Liposomes And Formulation Optimization By Determining Encapsulation Efficiency. *Int. J. Pharm.* 434, 155–160.

Yoo, C.B., K.T. Han, K.S. Cho, Et Al., 2005. *Eugenol Isolated From The Essential Oil Of Eugenia Caryophyllata Induces A Reactive Oxygen Species-*

Mediated Apoptosis In HL-60 Human Promyelotic Leukemia Cells. *Cancer Lett.*, 225(1): 41–52.

Zarena, A.S. and K.U. Sankar. 2009. Screening of xanthone from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) peels and their effect on cytochrome c reductase and phosphomolybdenum activity. *Journal of Natural Products* 2: 23-30.



