

PENGEMBANGAN FORMULA DAN UJI STABILITAS FISIK GEL LIPOSOM

MINYAK CENGKEH (*SYZYGIUM AROMATICUM*)

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Vinta Fajar Ridho Illahi

NIM 155070500111025

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

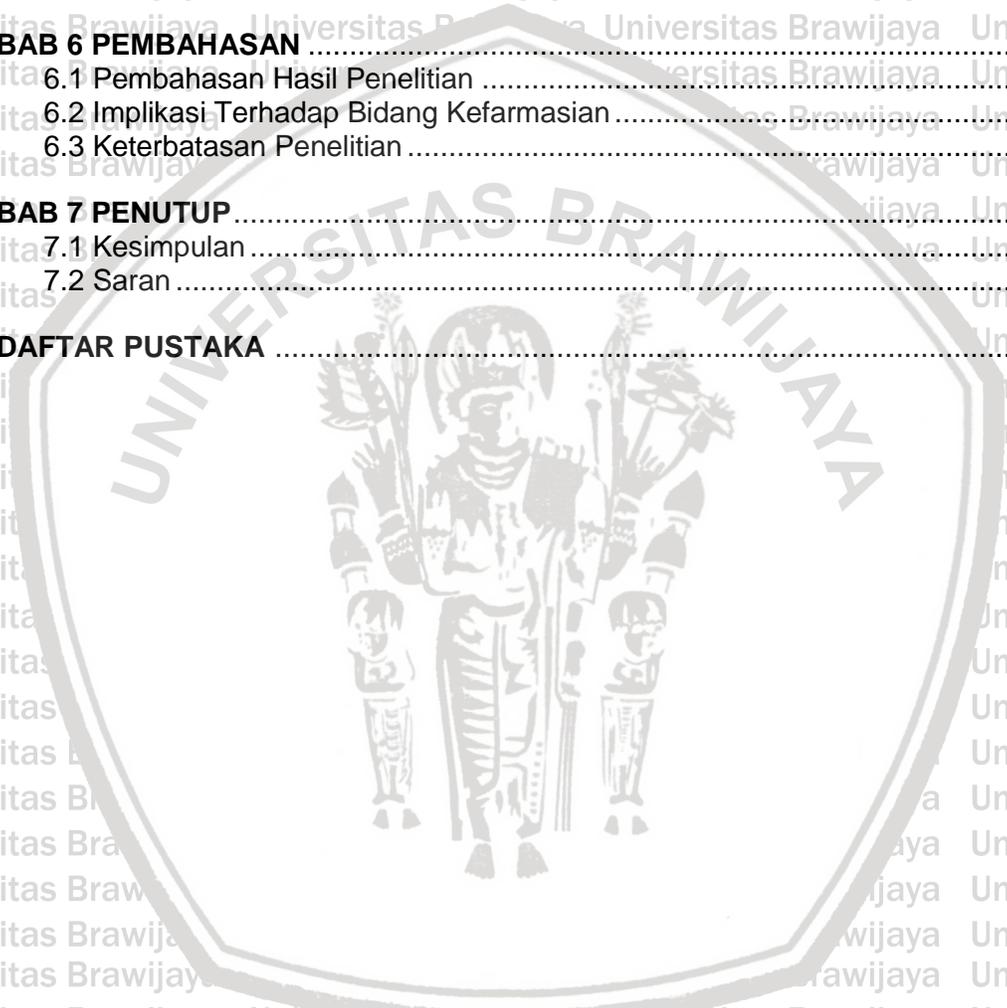
MALANG

2018

DAFTAR ISI

TUGAS AKHIR	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT KEPUTUSAN DEKAN	iii
SERTIFIKAT	vii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Minyak Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)	8
2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia Minyak Cengkeh	9
2.1.2 Eugenol	10
2.2 Skabies	11
2.2.1 Definisi Skabies	11
2.2.2 Etiologi Skabies	11
2.2.3 Epidemiologi Skabies	13
2.3 Terapi Farmakologi	13
2.4 Rute Topikal	14
2.5 Kulit	15
2.6 Liposom	16
2.6.1 Definisi Liposom	16
2.6.2 Komponen Liposom	17
2.6.2.1 Fosfatidilkolin	17
2.6.2.2 Kolesterol	18
2.6.2.3 Kloroform	19
2.6.3 Klasifikasi Liposom	20
2.6.4 Metode Pembuatan Liposom	21
2.6.4.1 Metode Dispersi Mekanik	21
2.6.4.2 Metode Dispersi Pelarut	22
2.6.4.3 Metode Penghilangan Detergen	22
2.6.4.4 Sonikasi	23
2.6.5 Stabilitas Liposom	23
2.6.6 Analisis Ukuran Partikel Liposom	24
2.7 Gel	25
2.7.1 Bahan Gel	26

5.4.3 Uji pH Gel.....	54
5.4.4 Uji Viskositas Gel.....	55
5.5 Hasil Evaluasi Gel Liposom Minyak Cengkeh.....	55
5.5.1 Uji Organoleptis Gel Liposomal.....	56
5.5.2 Uji Daya Lekat dan Daya Sebar Gel Liposomal.....	57
5.5.3 Uji pH Gel Liposomal.....	57
5.5.4 Uji Viskositas Gel Liposomal.....	57
5.5.5 Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas Gel Liposomal.....	58
5.6 Hasil Analisis Data.....	59
BAB 6 PEMBAHASAN	60
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	60
6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian.....	68
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	68
BAB 7 PENUTUP	69
7.1 Kesimpulan.....	69
7.2 Saran.....	69
DAFTAR PUSTAKA	70



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Cengkeh	9
Gambar 2.2 Struktur Kimia Eugenol	11
Gambar 2.3 Infeksi Tungau Skabies	12
Gambar 2.4 Anatomi Kulit	16
Gambar 2.5 Struktur Liposom	17
Gambar 2.6 Struktur Kimia Fosfatidilkolin	18
Gambar 2.7 Struktur Kimia Kolesterol	19
Gambar 2.8 Struktur Kimia Kloroform	20
Gambar 2.9 Mekanisme Pembentukan Liposom	22
Gambar 2.10 Struktur Kimia Carbopol	26
Gambar 2.11 Struktur Kimia Propilen glikol	27
Gambar 2.12 Struktur Kimia Metil Paraben	28
Gambar 2.13 Struktur Kima BHT	29
Gambar 2.14 Struktur Kimia TEA	30
Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian	38
Gambar 5.1 Lapisan Lipid Tipis Liposom	45
Gambar 5.2 Campuran Lesitin dalam Kloroform	47
Gambar 5.3 Lapisan Lipid Tipis Liposom	48
Gambar 5.4 Suspensi Liposom Setelah Hidrasi	48
Gambar 5.5 Suspensi Liposom Setelah Homogenisasi	49
Gambar 5.6 Gel dengan Basis Karbopol 940	53
Gambar 5.7 Gel Liposom Minyak Cengkeh	56

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat Fisikokimia Minyak Cengkeh	10
Tabel 4.1 Formula Liposom Minyak Cengkeh dengan Variasi Jumlah Pelarut	39
Tabel 4.2 Rancangan Formula Liposom Minyak Cengkeh	40
Tabel 4.3 Rancangan Formula Gel Minyak Cengkeh	41
Tabel 5.1 Ukuran Partikel dan pH dari Tiga Formula Liposom Minyak Cengkeh dengan Variasi Jumlah Pelarut	45
Tabel 5.2 Ukuran Partikel Liposom Minyak Cengkeh	50
Tabel 5.3 Indeks Polidispersitas Liposom Minyak Cengkeh	50
Tabel 5.4 Hasil Uji pH F1 dan 2 Liposom	51
Tabel 5.5 Hasil Uji Organoleptis Suspensi Liposom	52
Tabel 5.6 Hasil Uji Organoleptis Gel	53
Tabel 5.7 Hasil Uji Daya Lekat dan Daya Sebar	54
Tabel 5.8 Hasil Uji pH Gel	54
Tabel 5.9 Hasil Uji Viskositas Gel	55
Tabel 5.10 Hasil Uji Organoleptis Gel Liposomal	56
Tabel 5.11 Hasil Uji Daya Lekat dan Daya Sebar Liposomal	57
Tabel 5.12 Hasil Uji pH Gel Liposomal	57
Tabel 5.13 Hasil Uji Viskositas Gel Liposomal	58
Tabel 5.14 Ukuran Partikel Gel Liposom Minyak Cengkeh	58
Tabel 5.15 Indeks Polidispersitas Gel Liposom Minyak Cengkeh	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Pembuatan Liposom74
Lampiran 2. Kerangka Alur Pembuatan Gel Minyak Cengkeh.....75
Lampiran 3. Dokumentasi Pembuatan Gel Liposom Minyak Cengkeh76
Lampiran 4. Dokumentasi Proses Uji Evaluasi Liposom Minyak Cengkeh78
Lampiran 5. Data Hasil Uji Ukuran Partikel Liposom dan Indeks Polidispersitas79
Lampiran 6. Dokumentasi Proses Evaluasi Sediaan Gel85
Lampiran 7. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas Gel Liposomal87
Lampiran 8. Hasil Uji Statistik90



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGEMBANGAN FORMULA DAN UJI STABILITAS FISIK LIPOSOM GEL MINYAK
CENGEK (SYZYGIUM AROMATICUM)

Oleh:

Vinta Fajar Ridho Illahi

NIM 155070500111025

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 Febrina Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 2011068502181001

ABSTRAK

Illahi, Vinta Fajar Ridho. **Pengembangan Formula dan Uji Stabilitas Fisik Gel Liposom Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)**. Tugas Akhir, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki daya hambat 100% pada tungau *Sarcoptes scabiei* pada konsentrasi 6,25%. Minyak cengkeh dapat menyebabkan iritasi dan dermatitis kontak apabila kontak langsung dengan kulit. Selain itu, minyak cengkeh bersifat volatil dan lipofilik, sehingga dapat diformulasikan dalam vesikel liposom yang bersifat amfipatik. Suspensi liposom sendiri kurang stabil, mudah beragregasi dan berflokulasi, serta tidak akseptabel jika digunakan langsung pada kulit. Salah satu solusi yang dapat dilakukan adalah penambahan kolesterol dan pembuatan gel untuk meningkatkan stabilitas dan akseptabilitasnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui formula liposom yang optimal berdasarkan rasio konsentrasi kolesterol terhadap lesitin, serta melihat stabilitas liposom dalam sediaan gel liposomal. Sediaan liposom dibuat dalam 2 formula dengan perbandingan fosfatidilkolin : kolesterol berturut-turut adalah 9 : 1 dan 9 : 2. Hasil uji evaluasi liposom menunjukkan F2 memiliki karakteristik fisik yang lebih baik dengan ukuran partikel \pm SD yaitu $274,27 \pm 123,78$ nm dan indeks polidispersitas \pm SD yaitu $0,136 \pm 0,07$. F2 kemudian diformulasikan dalam sediaan gel dengan hasil uji organoleptis, uji pH, viskositas, daya lekat dan daya sebar telah memenuhi persyaratan spesifikasi yang telah ditetapkan. Ukuran partikel liposom dalam sediaan gel diukur kembali dengan hasil \pm SD yaitu $196,0 \pm 9,18$ nm dan indeks polidispersitas \pm SD yaitu $0,148 \pm 0,02$. Ukuran partikel liposom sebelum dan sesudah dimasukkan dalam sediaan gel tidak berubah signifikan dan tetap berada dalam spesifikasi ukuran yaitu ≤ 3 μ m. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ukuran dan distribusi ukuran liposom tidak terpengaruh oleh pembuatan gel liposomal, karena adanya penambahan kolesterol yang memberikan efek protektif terhadap rigiditas liposom.

Kata Kunci : Minyak Cengkeh, Liposom, Kolesterol, Gel

ABSTRACT

Illahi, Vinta Fajar Ridho. **Formulation and Physical Stability Test of Clove Oil (*Syzygium aromaticum*) Liposomal Gel Preparation.** Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisor: Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Clove oil (*Syzygium aromaticum*) has 100% inhibition on *Sarcoptes scabiei* mites at the concentration of 6.25%. Clove oil can cause irritation and dermatitis if it's directly in contact to the skin. Clove oil characteristic are volatile and lipophilic, thus it can be formulated in amphipathic liposome vesicles. Liposomes are easy to aggregate and flocculate, as well as it's less acceptable if used directly on the skin. The addition of cholesterol and liposomal gels preparations are one of the techniques in order to improve the physical stability and acceptability of liposome. This study has aim to determine the optimal liposome formula based on the ratio of cholesterol concentration and observe the stability of liposomes in liposomal gel preparations. Liposome preparations were made in 2 formulas with the ratio of phosphatidylcholine: cholesterol: tween 80, respectively 9: 1: 1 and 9: 2: 1. The results of liposome evaluation tests showed that F2 had better physical characteristics both in particle size \pm SD of 274.27 ± 123.78 nm and polydispersity index \pm SD of 0.136 ± 0.07 . F2 has made into liposomal gel with the results of organoleptic, pH, viscosity, adhesion and dispersion tests have met the specified standard requirements. The liposome particle size in gel preparation was measured again with a yield \pm SD of 196.0 ± 9.18 nm and the polydispersity index \pm SD was 0.148 ± 0.02 . The particle size of liposome did not change significantly and remained in size specifications, $\leq 3 \mu\text{m}$. Thus it can be concluded that particle size and polidispersity index of liposom doesn't affected by liposomal gel preparations, because of the addition of cholesterol which provides a protective effect in the rigidity of liposomes.

Keywords : Clove Oil, Liposome, Cholesterol, Gel

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) diketahui mengandung eugenol hingga 89%. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas akarisidal dan antimikroba yang baik. Akarisidal adalah bahan yang mengandung senyawa kimia yang digunakan untuk membunuh tungau. Minyak cengkeh memiliki daya hambat 100% pada tungau *Sarcoptes scabiei* dalam waktu 15 menit pada konsentrasi 1,56% untuk tungau yang sensitif, dan konsentrasi 6,25% untuk tungau yang telah resisten terhadap terapi konvensionalnya, yaitu permetrin 5% (Pasay *et al.*, 2010). Mekanisme aksinya adalah dari kandungan eugenol pada minyak cengkeh dapat menghancurkan membran sel dan menurunkan produksi ATP dari tungau *Sarcoptes scabiei*. Minyak cengkeh juga memiliki aktivitas germisida pada bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Minyak cengkeh juga memiliki efek analgesik dan antiinflamasi dengan menghambat sintesis prostaglandin, sehingga mengurangi gejala nyeri. Selain itu, studi lain menunjukkan bahwa aktivitas eugenol lebih poten sebagai antimikroba dibandingkan dengan amoksisillin tanpa menunjukkan adanya resistensi (Ali *et al.*, 2005).

Skabies merupakan suatu infeksi parasit yang disebabkan oleh tungau *Sarcoptes scabiei* varietas hominis, arthropoda orde Acarina (Heukelbach and Feldmeier, 2006). Prevalensi angka kejadian infeksi *Sarcoptes scabiei* di dunia sendiri mencapai 300 juta orang setiap tahunnya (Katsarou *et al.*, 2012). Manifestasi klinis dari skabies secara umum adalah rasa gatal yang intens terutama pada malam hari

dibagian siku, sela jari, punggung, pergelangan tangan, bagian aksilla, genitalia dan bagian periareolar pada wanita. Pada beberapa pasien skabies dapat menimbulkan gejala demam, impetigo sekunder atau selulitis (Mahé *et al.*, 2005). Tungau skabies memulai siklus hidupnya di permukaan kulit manusia dengan membuat liang dalam lapisan epidermis kemudian bertelur dalam liang tersebut (Leung and Miller, 2011). Infeksi skabies yang kronis dapat menyebabkan penebalan dan keriput pada kulit dan ditutupi oleh kerak berwarna abu-abu kekuningan. Terapi konvensional yang digunakan untuk skabies adalah *permethrin* 5% dan ivermektin. Kebanyakan terapi ini memiliki potensi efek samping yang berbahaya seperti edema, erosi, pioderma dan ekzematosis sekunder. Pada uji sensitivitas secara *in vitro*, terapi menggunakan *permethrin* menunjukkan aktivitas akarisidal yang lambat. Penggunaan terapi ivermektin oral saat ini sudah tidak disarankan lagi karena ivermectin bukan ovididal, dan tidak adekuat dalam berpenetrasi kedalam lapisan telur tungau skabies (Chosidow and Ph, 2006).

Minyak cengkeh dianggap aman dalam jumlah kecil (<1.500 ppm) pada pemberian secara oral dengan dosis letal sebesar 3,75 g per kg berat badan. Apabila kontak langsung dengan kulit atau jaringan lunak, minyak cengkeh dapat menyebabkan iritasi transien, dermatitis kontak, radang bibir, dan peradangan atau ulserasi pada mulut (Pubchem, 2018). Seperti sebagian besar minyak atsiri, minyak cengkeh tidak stabil secara biologis, kurang larut dalam air dan terdistribusikan secara defektif ke situs target. Untuk itu, beberapa metode baru telah dikembangkan untuk meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas minyak atsiri diantaranya adalah penggunaan enkapsulasi liposom (Shoji and Nakashima, 2004).

Liposom merupakan pembawa (karier) senyawa obat dan kosmetik. Salah satu kelebihan dari liposom adalah kemampuannya membawa obat yang larut dalam air ataupun dalam minyak dan dapat menuju target obat yang spesifik melalui berbagai rute pemberian. Fosfolipid pada liposom dapat meningkatkan permeasi obat dalam bentuk vesikula, mikroemulsi dan sistem miselar dengan cara bergabung dengan lapisan lipid *bilayer* dari stratum korneum sehingga meningkatkan partisi obat yang dienkapsulasi. Metode enkapsulasi liposom dapat mengurangi reaktivitas minyak atsiri dengan lingkungan (air, oksigen, cahaya), mengurangi penguapan atau kecepatan transfer ke lingkungan luar, dan meningkatkan dilusi serta terdistribusi seragam ketika digunakan dalam jumlah yang sangat kecil. Minyak cengkeh sebagai minyak esensial bersifat lipofilik, nonpolar dan mudah menguap (*volatil*). Aplikasi minyak cengkeh langsung dikulit dapat menyebabkan berkurangnya jumlah obat yang mencapai target obat di epidermis, sehingga metode penghantaran obat dengan liposom ini sesuai untuk formulasi minyak cengkeh terutama yang digunakan dalam dosis rendah (Karande and Mitragotri, 2009).

Stabilitas liposom terdiri dari 3 yaitu stabilitas fisik, kimia dan biologi yang saling berhubungan. Stabilitas liposom selama masa simpan dipengaruhi oleh stabilitas fisik dan kimia yang ditunjukkan melalui keseragaman distribusi ukuran, efisiensi enkapsulasi dan jumlah senyawa yang terdegradasi. Stabilitas fisik liposom dapat dipengaruhi oleh terjadinya agregasi atau flokulasi yang dapat mempercepat terjadinya koalesensi dan bersifat irreversibel. Mekanisme terjadinya ketidakstabilan liposom ini dijelaskan melalui teori *Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO)*, dimana gaya listrik meningkat secara eksponensial ketika partikel mendekati satu sama lain. Sebagai akibatnya, kekuatan aditif ini dapat dinyatakan sebagai energi

potensial versus kurva pemisahan. Hasil positif menunjukkan penghalang energi dan tolakan, sementara resultan negatif menunjukkan daya tarik dan menyebabkan agregasi. Salah satu metode untuk mencegah terjadinya ketidakstabilan fisik pada liposom adalah dengan penambahan kolesterol pada fosfatidilkolin. Penggabungan kolesterol ke liposom (fosfatidilkolin : kolesterol) mengurangi efek suhu dan kerapatan optik yang menunjukkan perubahan yang sangat sedikit dengan waktu (hari) karena kolesterol dalam konsentrasi tinggi mencegah pengepakan fosfolipid dan menginduksi orientasi dan kekakuan lebih ke fosfolipid sehingga mencegah terjadinya agregasi liposom (Yadav *et al.*, 2011). Kolesterol juga mampu menurunkan fluiditas dan mikroviskositas sehingga mencegah kebocoran liposom serta mengurangi permeabilitas membran pada molekul larut air (Myaes & Botham, 2003)

Formulasi liposom dalam sediaan gel dapat meningkatkan akseptabilitas dan stabilitasnya ketika diaplikasikan di kulit. Gel merupakan sistem semisolid yang dibentuk oleh partikel inorganik kecil atau molekul organik besar yang di interpenetrasi oleh likuid. Sediaan ini ditujukan untuk pemakaian topikal atau di permukaan kulit dan bekerja secara lokal. Kelebihan gel dibandingkan sediaan topikal lainnya seperti krim dan salep adalah kadar airnya yang tinggi sehingga mampu menghidrasi permukaan kulit pada bagian stratum korneum, tidak menyumbat pori-pori kulit, daya lengkat yang tinggi serta stabilitas atau kemampuannya bertahan pada parameter fisiknya juga lebih baik. Kerak di permukaan kulit penderita scabies dapat dihidrasi dengan memanfaatkan sediaan gel ini. Kelebihan gel lainnya adalah dapat membentuk lapisan film yang kuat, dapat diformulasikan untuk obat topikal dengan dosis rendah sehingga banyak digunakan dalam sediaan minyak essensial (Ansel, 1989). Pada penelitian ini, basis gel yang akan digunakan adalah carbopol. Pada satu studi

menunjukkan bahwa liposom kompatibel dengan sediaan gel yang terbuat dari *cross-linked* polimer turunan *acrylic acid* seperti carbopol. Carbopol merupakan polimer asam akrilat yang bersifat hidrofilik dan memiliki karakteristik bioadhesif dalam liposom sehingga dapat membantu mempertahankan rigiditas dari dinding liposom dan meningkatkan penghantaran obat. Carbopol sendiri memiliki sifat bioadhesif yang baik di permukaan mukosa, hal ini menguntungkan karena dapat meningkatkan *residence time* dan disaat bersamaan dapat meningkatkan absorpsi obat (Malubag *et al.*, 2018).

Berdasarkan penjelasan di atas, maka untuk mendapatkan sediaan gel liposomal minyak cengkeh yang baik, diperlukan studi formulasi untuk melihat stabilitas liposom sebelum dan sesudah dibentuk dalam sediaan gel. Stabilitas gel liposomal pada minyak atsiri sendiri sudah pernah dibuktikan pada minyak atsiri dari daun *Eucalyptus camaldulensis* dan menunjukkan stabilitas liposom yang baik (Moghimpour *et al.*, 2012). Untuk menunjukkan kestabilan fisik liposom minyak cengkeh dalam gel, dapat dilihat melalui uji evaluasi meliputi uji ukuran partikel dan indeks polidispersitas untuk melihat distribusi ukuran partikelnya. Untuk liposom sendiri, dibuat menjadi dua formula yaitu fosfatidilkolin dengan penambahan kolesterol (F1) pada perbandingan fosfatidilkolin : kolesterol adalah (1 : 1 molar) dan perbandingan (1 : 2 molar) pada (F2) untuk melihat jumlah kolesterol yang optimum dalam mempertahankan stabilitas fisik liposom. Formula liposom terbaik kemudian diformulasikan dalam sediaan gel dan dievaluasi meliputi uji ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel liposom. Dari kedua uji tersebut diharapkan bahwa liposom mampu menjadi karier zat aktif minyak cengkeh yang baik tanpa adanya koalesensi dan flokulasi vesikel liposom. Uji lanjutan dilakukan untuk melihat karakteristik sediaan

gel minyak cengkeh meliputi uji organoleptis, pH, viskositas, daya lekat dan daya sebar.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana formula liposom minyak cengkeh yang optimal menggunakan berbagai rasio konsentrasi kolesterol terhadap ukuran partikel dan distribusi ukurannya?
2. Bagaimana stabilitas fisik liposom minyak cengkeh dalam sediaan gel berdasarkan ukuran partikel dan distribusi ukurannya?

1.3 Tujuan Penelitian

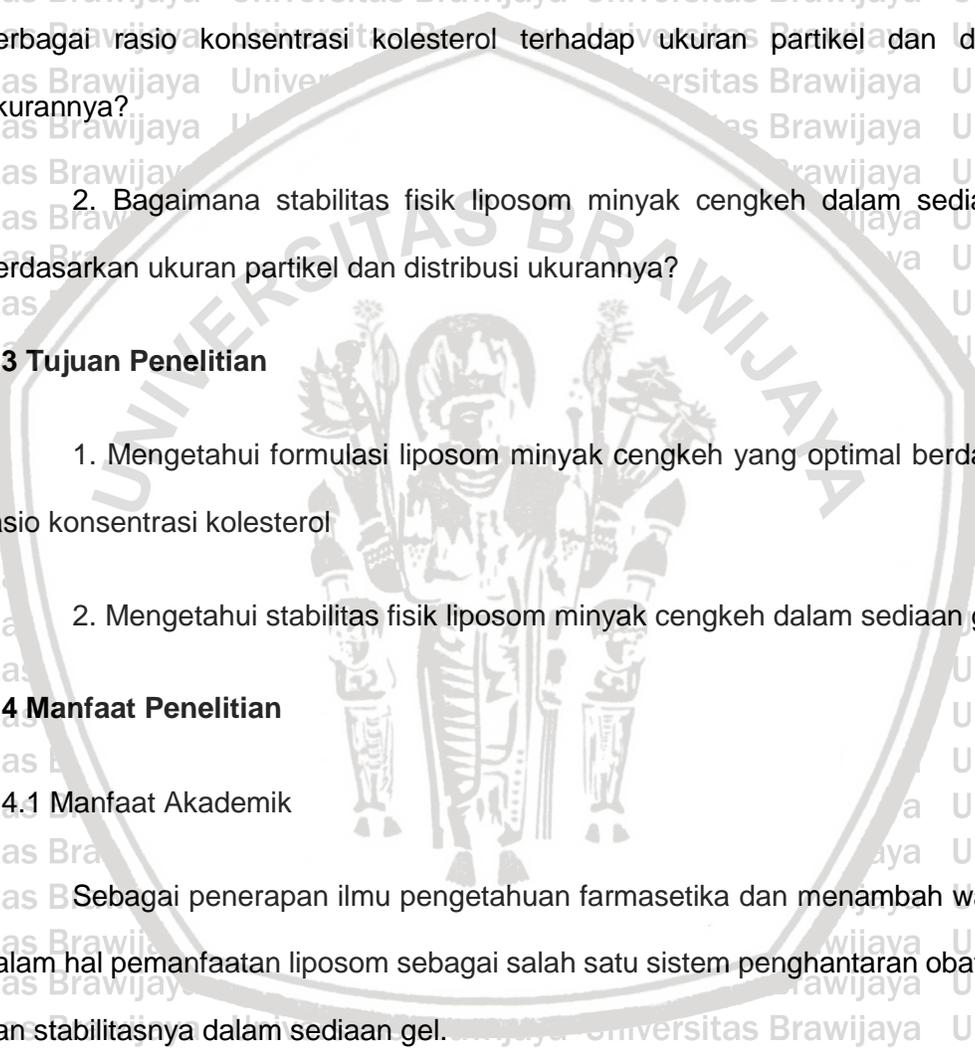
1. Mengetahui formulasi liposom minyak cengkeh yang optimal berdasarkan rasio konsentrasi kolesterol
2. Mengetahui stabilitas fisik liposom minyak cengkeh dalam sediaan gel

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Sebagai penerapan ilmu pengetahuan farmasetika dan menambah wawasan dalam hal pemanfaatan liposom sebagai salah satu sistem penghantaran obat topikal dan stabilitasnya dalam sediaan gel.

1.4.2 Manfaat Praktis



Pemanfaatan tanaman herbal dalam hal ini minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai terapi alternatif untuk *Antisarcptes scabiei* dalam bentuk sediaan gel terenkapsulasi liposom.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Syzygium aromaticum (*Eugenia caryophyllata*) umumnya dikenal sebagai cengkeh, merupakan pohon ukuran median (8-12 m) dari keluarga Mirtaceae yang berasal dari pulau-pulau Maluku di Indonesia Timur. Cengkeh merupakan salah satu sumber utama dari senyawa fenolik seperti flavonoid, asam hidroksibenzoat, asam hidroksinamik dan hidroksifenil propen. Eugenol adalah senyawa bioaktif utama minyak cengkeh, yang ditemukan dalam konsentrasi mulai dari 9.381,70 hingga 14.650,00 mg/100g tanaman segar (Kamatou, Vermaak and Viljoen, 2012). Selain eugenol, asam galat adalah senyawa yang ditemukan dalam konsentrasi 783,50 mg/100 g berat segar. Asam fenolik lain yang ditemukan dalam minyak cengkeh adalah asam kafein, ferulik, elagik dan salisilat. Flavonoid seperti kaempferol, kuercetin dan turunannya (glikosilasi) juga ditemukan dalam cengkeh dalam konsentrasi yang lebih rendah. Konsentrasi hingga 18% minyak esensial dapat ditemukan di kuncup bunga cengkeh. Sekitar 89% dari minyak atsiri cengkeh adalah eugenol dan mulai dari 5% hingga 15% adalah eugenol asetat (Höferl *et al.*, 2014). Minyak cengkeh memiliki daya hambat 100% pada tungau *Sarcoptes scabiei* dalam waktu 15 menit pada konsentrasi 1,56% untuk tungau sensitif, dan 6,25% untuk tungau yang sensitif dan telah resisten terhadap terapi konvensional, yaitu permetrin 5% (Pasay *et al.*, 2010).

Klasifikasi tanaman cengkeh (Gambar 2.1) adalah sebagai berikut (www.plants.usda.gov):

- a. Kingdom : Plantae
b. Subkingdom : Tracheobionta
c. Superdivisi : Spermatophyta
d. Divisi : Magnoliophyta
e. Kelas : Magnoliopsida
f. Subkelas : Rosidae
g. Ordo : Myrtales
h. Family : Myrtaceae
i. Genus : *Syzygium*
j. Spesies : *Syzygium aromaticum*



Gambar 2.1 Tanaman Cengkeh (Aksan, 2008)

2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia Minyak Cengkeh

Minyak cengkeh pada suhu 25°C dan tekanan 1 atm berwujud likuid, dengan titik didih tinggi yaitu 251°C. Tidak larut di air, namun larut dalam 70% alkohol dan

pelarut organik lain (Merck, 2015). Karakteristik fisika dan kimia lainnya dapat dilihat di tabel 2.1 di bawah ini:

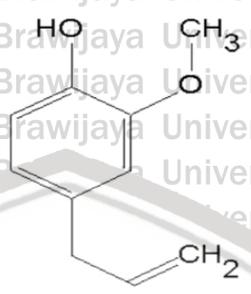
Tabel 2.1 Sifat Fisikokimia Minyak Cengkeh (Krystyna et al., 2012)

Parameter	Minyak dari tunas bunga	Minyak dari batang	Minyak dari daun
Densitas d_{20} , g/cm ³	1,05	1,040 – 1,067	1,046 – 1,053
Koefisien Refraksi n_D^{20}	1,53	1,531 – 1,538	1,533 – 1,535
Kandungan fenol (%)	91	93	83 - 95-86 - 90
Rotasi	-0°32'	-1°30'	-1°20' – 0°49'

2.1.2 Eugenol

Eugenol (C₁₀H₁₂O₂ atau CH₃C₆H₃) adalah konstituen fenolik volatil dari minyak atsiri cengkeh yang diperoleh dari tunas bunga dan daun *Eugenia caryophyllata*, terutama yang dipanen di Indonesia, India dan Madagaskar. Eugenol adalah minyak kuning pucat dengan aroma pedas dengan berat molekul 164,2 g/mol (Barceloux, 2008). Molekul ini tergolong asam lemah yang larut dalam pelarut organik. Sejak zaman dahulu, minyak cengkeh telah digunakan sebagai antimikroba, antiseptik dan antispasmodik dalam pengobatan tradisional Cina. Salah satu aktivitas eugenol sebagai antibakteri adalah daya hambatnya pada pertumbuhan *P. aeruginosa* pada konsentrasi 1000 µg/mL. Komponen utama minyak cengkeh yaitu eugenol, komponen minor asetileugenol serta analog yang terkait isoeugenol dan metilleugenol. Mekanisme aksi eugenol pada membran bakteri *L. monocytogenes*, *S. pyogenes*, *Proteus vulgaris* dan *E. coli* menunjukkan bahwa eugenol menginduksi lisis sel melalui

kebocoran protein dan lipid dalam membran sel (Oyedemi *et al.*, 2009). Struktur kimia eugenol dapat dilihat pada gambar 2.2 berikut:



Gambar 2.2 Struktur Kimia Eugenol (NCBI, 2017)

2.2 Skabies

2.2.1 Definisi Skabies

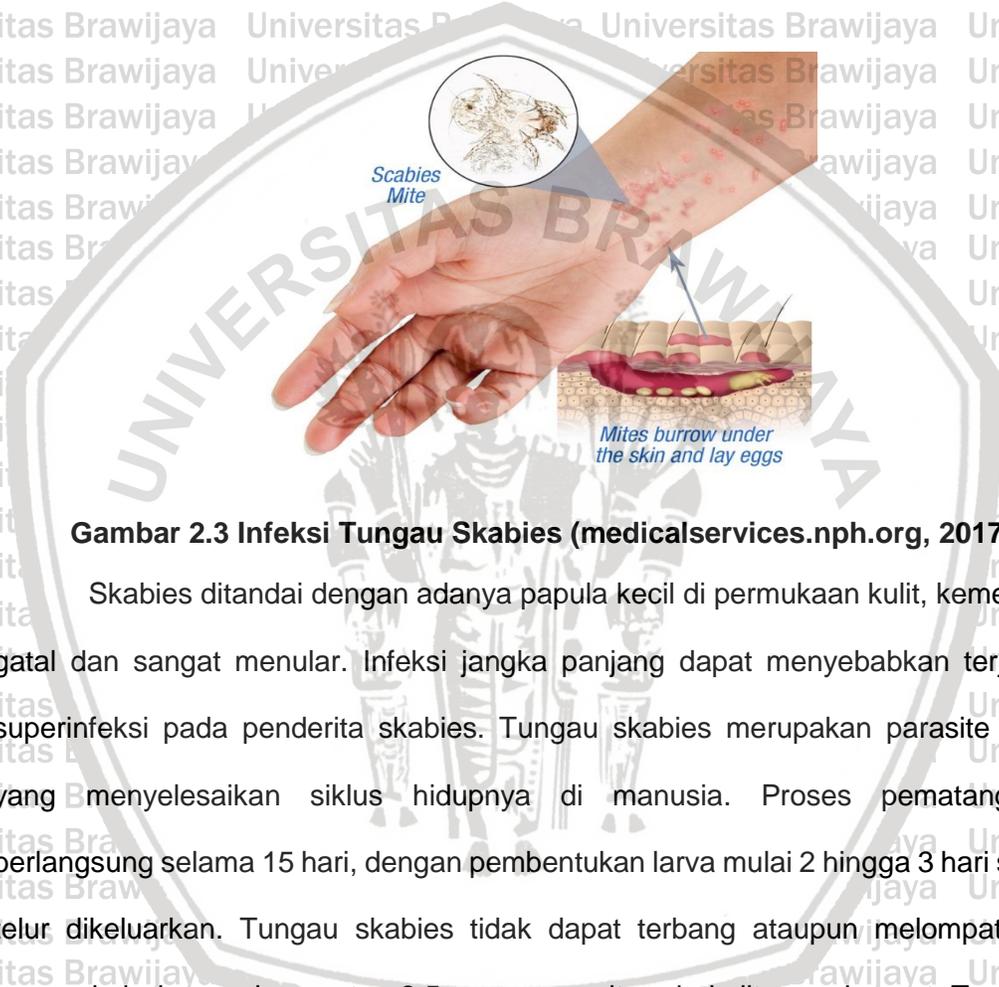
Skabies merupakan salah satu penyakit menular dengan manifestasi klinis berupa kulit kemerahan dan gatal, yang disebabkan oleh tungau *Sarcoptes scabiei*. Tungau ini dapat menyerang segala umur tetapi kebanyakan terdapat pada orang tua dan anak-anak (British Association of Dermatologies, 2016). Kata *Sarcoptes scabiei* sendiri berasal dari bahasa Yunani yaitu "sarx" dan "koptein" yang berarti daging dan memotong, serta dari bahasa Latin yaitu "scabere" atau menggaruk. Gatal adalah gejala utama, biasanya dimulai sekitar sebulan setelah tungau menginfeksi. Rasa gatal diseluruhi tubuh dan anggota badan tetapi biasanya kecuali pada kepala dan leher. Rasa gatal sering memburuk pada malam hari karena tungau skabies aktif di malam hari (Hengge *et al.*, 2006).

2.2.2 Etiologi Skabies

Parasit skabies berukuran 300 hingga 400 mikron, berwarna putih, tidak memiliki mata, tembus cahaya, oval dan perut yang rata. Tungau ini memulai siklus

hidupnya di permukaan kulit manusia dengan membuat liang dalam lapisan epidermis kemudian bertelur dalam liang tersebut, seperti yang ditunjukkan oleh gambar 2.3.

Telur tersebut akan membentuk larva dan berkembang menjadi tungau dewasa. Adanya liang inilah yang menyebabkan respon inflamasi dan reaksi hipersensitivitas pada kulit *host* yang dimanifestasikan dengan rasa gatal (Leung and Miller, 2011).



Gambar 2.3 Infeksi Tungau Skabies (medicalservices.nph.org, 2017)

Skabies ditandai dengan adanya papula kecil di permukaan kulit, kemerahan, gatal dan sangat menular. Infeksi jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya superinfeksi pada penderita skabies. Tungau skabies merupakan parasite obligat yang menyelesaikan siklus hidupnya di manusia. Proses pematangannya berlangsung selama 15 hari, dengan pembentukan larva mulai 2 hingga 3 hari setelah telur dikeluarkan. Tungau skabies tidak dapat terbang ataupun melompat tetapi merangkak dengan kecepatan 2,5 cm per menit pada kulit yang hangat. Tungau ini dapat hidup selama 24 hingga 36 jam pada suhu ruang dan kelembapan rata-rata. Transmisi skabies sendiri dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung.

Transmisi langsung dapat terjadi melalui kontak langsung antara kulit yang terinfeksi dengan kulit yang normal, sedangkan transmisi tidak langsung dapat terjadi melalui

pakaian, menggunakan tempat tidur dan handuk yang sama, dan lainnya (Chosidow and Ph, 2006). Skabies yang parah seperti skabies berkerak (*crusted skabies*) dapat terjadi pada pasien yang menerima terapi kortikosteroid topikal maupun sistemik, pasien dengan infeksi HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), penerima transplantasi organ, dan pasien lanjut usia. Hal ini karena terjadinya penurunan sistem imun pada pasien tersebut (Otero *et al.*, 2004).

2.2.3 Epidemiologi Skabies

Penyakit skabies biasanya banyak ditemukan di daerah kumuh, asrama, penjara dan panti jompo. Hal ini disebabkan karena rendahnya kesadaran akan kebersihan lingkungan dan *personal hygiene*. Penularannya cukup cepat baik antar-manusia yang telah terinfeksi tungau skabies maupun melalui media seperti handuk, pakaian ataupun tempat tidur terutama di permukiman yang sempit dan berdesakan (Wong *et al.*, 2015). Di Indonesia sendiri menurut Kementerian Kesehatan RI tahun 2008, angka prevalensi penderita skabies masih tinggi yaitu berkisar antara 5,60%-12,95% dan 50% nya adalah anak-anak. Angka yang tinggi ini juga disebabkan oleh kondisi geografi Indonesia sebagai negara tropis sehingga memudahkan tungau skabies berkembang biak.

2.3 Terapi Farmakologi

Beberapa obat-obat yang dapat digunakan sebagai terapi skabies terdapat dalam sediaan oral serta topikal. Sediaan oral contohnya adalah ivermektin. Namun saat ini, penggunaan obat ivermektin tidak disetujui di beberapa negara karena efeknya terhadap anak anak (usia dibawah 5 tahun), ibu hamil dan lanjut usia dapat meningkatkan resiko neurotoksisitas (Haas, 2012). Sediaan topikal yang paling

banyak digunakan adalah sulfur dan *permethrin* 5%. Sulfur yang digunakan adalah sulfur presipitatum dalam sediaan salep. Sulfur digunakan dengan cara menggosok pada tempat yang terinfeksi setiap hari selama 3 hari berturut-turut. Kepatuhan pasien sangat dibutuhkan dalam pengobatan ini karena baunya yang menyengat serta terkadang menimbulkan iritasi. Sediaan topikal lainnya adalah benzoil peroksida dan *permethrin* 5% yang bekerja dengan membunuh tungau *Sarcoptes scabiei*. Kedua obat ini digunakan dengan mengoleskannya didaerah papula setiap malam selama 3 hari. Aktivitas skabisidalnya jika digunakan dalam waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya ekzema hingga serosis (Hengge *et al.*, 2006).

2.4 Rute Topikal

Rute obat topikal adalah sistem penghantaran obat terlokalisasi melalui mata, rektal, vagina dan kulit. Kulit merupakan salah satu organ yang paling mudah diakses pada tubuh manusia untuk pemberian topikal dan merupakan rute utama dari sistem pengiriman obat topikal. Bukti klinis menunjukkan bahwa gel topikal adalah pilihan pengobatan yang aman dan efektif untuk digunakan dalam manajemen penyakit terkait dermatitis. Obat sediaan topikal diaplikasikan di permukaan kulit baik untuk efek lokal maupun sistemik. Setelah produk diaplikasikan pada kulit, terjadi interaksi yang kompleks antara formulasi, senyawa aktif, dan kulit itu sendiri. Penetrasi senyawa aktif ke dalam kulit mengikuti hukum difusi Fick pertama, yang mendiskripsikan tingkat transfer zat terlarut sebagai fungsi konsentrasi dari berbagai bahan, ukuran luas permukaan terapi, dan permeabilitas kulit. Namun, permeabilitas kulit dapat dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti pengeringan, pelembab, atau efek oklusi dari eksipien dalam formulasi, yang dalam kombinasi, dapat memodulasi pelepasan produk di tempat perawatan (Roussel, 2012).

Pada rute topikal, terdapat mekanisme absorpsi dimana terjadi perpindahan obat dari permukaan kulit ke dalam stratum korneum yang dipengaruhi oleh gradien konsentrasi dan berdifusi melalui stratum korneum. Molekul obat akan berpartisipasi kedalam stratum korneum dari fase pembawa yang digunakan dan terjadi difusi molekul melalui stratum korneum ke epidermis. Terdapat tiga mekanisme difusi obat pada stratum korneum yaitu (Ansel,1989):

- a. Penetrasi transelular
- b. Penetrasi intraselular
- c. Penetrasi transappendageal atau melalui folikel rambut, keringat, dan kelenjar lipid.

2.5 Kulit

Kulit menutupi seluruh permukaan eksternal tubuh manusia dan merupakan tempat interaksi utama dengan dunia sekitarnya. Kulit berfungsi sebagai pelindung yang mencegah jaringan internal dari paparan trauma, radiasi ultraviolet (UV), suhu ekstrim, racun, dan bakteri. Fungsi penting lainnya termasuk persepsi sensorik, reaksi imunologi, termoregulasi, dan kontrol sekresi cairan. Kulit atau integumen terdiri dari 2 lapisan yaitu epidermis dan dermis, yang terletak pada lapisan subkutan lemak, *panniculus adiposus* (Medscape, 2018). Epidermis terutama berasal dari ektoderm yang mengandung melanosit dari krista neural, sel langerhans sumsum tulang, dan sel merkel yang mendeteksi tekanan dari asal krista neural. Dermis berasal terutama dari mesoderm dan mengandung kolagen, fiber elastis, pembuluh darah, struktur sensorik, dan fibroblas. Secara mikroskopis, kulit adalah organ berlapis-lapis yang terdiri dari banyak lapisan histologis. Hal ini umumnya dijelaskan dalam tiga lapisan

utama - epidermis, dermis dan hipodermis. Bagian mikroskopis epidermis menunjukkan 5 bagian - stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum germinativum, seperti yang ditunjukkan oleh gambar 2.4 (Roussel, 2012).



Gambar 2.4 Anatomi Kulit (Bardia, 2018)

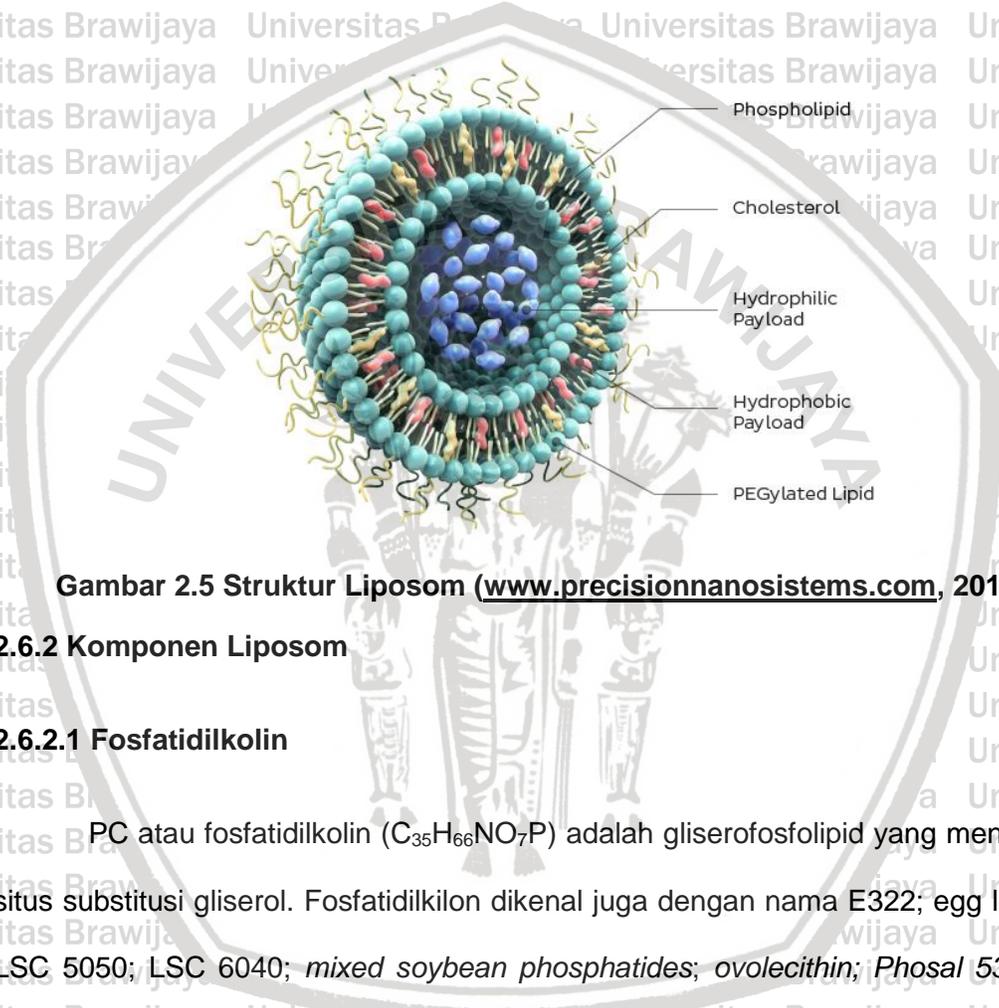
2.6 Liposom

2.6.1 Definisi Liposom

Liposom adalah vesikel *bilayer* konsentris di mana volume berair tertutup sepenuhnya oleh lapisan lipid *bilayer* terutama terdiri dari fosfolipid alami atau sintesis.

Nama liposom berasal dari dua kata Yunani: 'Lipos' yang berarti lemak dan 'Soma' yang berarti tubuh. Liposom dapat dibentuk pada berbagai ukuran berupa uni-lamellar atau multi-lamellar. Bagian inti dalam liposom dapat diisi dengan obat, dan digunakan untuk menghantarkan obat ke target spesifik seperti pada kanker dan penyakit lainnya. Liposom biasanya berdiameter 0,05- 5,0 μm yang terbentuk secara spontan ketika fosfolipid terhidrasi dalam media berair. Liposom terdiri dari bahan yang relatif

biokompatibel dan biodegradabel, dan terdiri dari volume berair yang terperangkap oleh satu atau lebih *bilayer* dari lipid alami dan / atau sintetis. Obat lipofilik dapat dienkapsulasi dalam liposom, baik dalam fosfolipid *bilayer*, dalam volume berair yang terperangkap atau pada antarmuka *bilayer*, seperti yang ditunjukkan oleh gambar 2.5 (Singh, 2015).



Gambar 2.5 Struktur Liposom (www.precisionnanosystems.com, 2017)

2.6.2 Komponen Liposom

2.6.2.1 Fosfatidilkolin

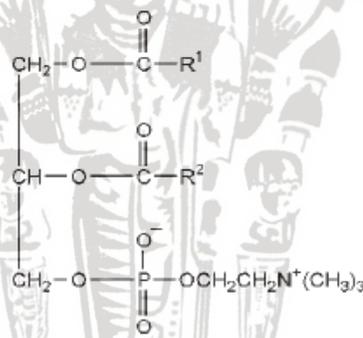
PC atau fosfatidilkolin ($C_{35}H_{66}NO_7P$) adalah gliserofosfolipid yang menempati situs substitusi gliserol. Fosfatidilkolin dikenal juga dengan nama E322; egg lecithin; LSC 5050; LSC 6040; *mixed soybean phosphatides*; *ovolecithin*; *Phosal 53 MCT*; *Phospholipon 100 H*; *ProKote LSC*; *soybean lecithin*; *soybean phospholipids*; *Sternpur*; *vegetable lecithin*. Fosfolipid merupakan komponen utama dari lipid bilayer sel, serta terlibat dalam metabolisme dan persinyalan sel. Berat molekulnya yaitu 758.075 g/mol. Fosfatidilkolin apabila terpapar pada suhu 160-180°C selama 24 jam dapat terdegradasi dan rusak. Fosfolipid memiliki kepala hidrofilik dan rantai asil

hidrofobik sehingga disebut juga senyawa amfipatik. Variasi pada gugus kepala, rantai alifatik dan alkohol menunjukkan variasi macam fosfolipid. Fosfolipid dalam air dapat membentuk berbagai jenis bentuk, seperti misel, liposom dan fase heksagonal (Li *et al.*, 2014). Fosfatidilkolin alami banyak ditemukan di alam, diantaranya yaitu kuning telur, kedelai, hati sapi dan sum sum tulang belakang dalam jumlah yang lebih sedikit.

Fosfatidilkolin digunakan dalam pembuatan liposom baik untuk pemberian rute topikal dan oral karena dapat membentuk vesikel secara spontan dalam medium berair.

Soybean lecithin sering digunakan dalam pembuatan liposom karena lebih murah, mudah didapatkan dan bagian kepala yang lebih hidrofilik dibandingkan fosfolipid lainnya (Akrachalanont, 2008). Struktur kimia fosfatidilkolin dapat dilihat pada gambar

2.6 berikut:



Gambar 2.6 Struktur Kimia Fosfatidilkolin (Rowe *et al.*, 2009)

2.6.2.2 Kolesterol

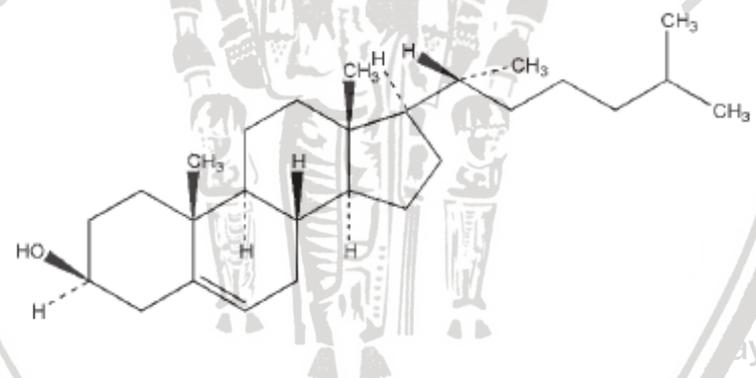
Kolesterol memiliki rumus kimia $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ dengan berat molekul 386.664 g/mol.

Kolesterol juga dikenal dengan nama *cholesterin* dan *cholesterolum*. Kolesterol berwujud padat, berwarna putih atau kuning mutiara dengan titik didih 360°C .

Kolesterol larut dalam dietil eter, aseton, kloroform piridin dan benzene, serta sedikit larut dalam air dingin Kolesterol merupakan prekursor utama untuk sintesis vitamin D

dan berperan penting dalam proses sinaps di otak. Kolesterol diekskresi melalui fezes, urin dan permukaan kulit manusia.

Beberapa metode dapat digunakan untuk meningkatkan stabilitas liposom diantaranya adalah pada metode pembuatan, metode pemuatan obat, komposisi lipid dan pada sifat fisikokimia obat. Pada komposisi pembuatan liposom, faktor yang dapat dimodifikasi adalah komposisi lipid, salah satunya dengan penambahan kolesterol. Penggabungan kolesterol 25 mol ke liposom (fosfatidilkolin: kolesterol) dapat mengurangi efek suhu dan menunjukkan perubahan yang sangat sedikit dengan waktu (hari) karena kolesterol dalam konsentrasi tinggi mencegah pengepakan fosfolipid dan menginduksi kekakuan atau rigiditas lebih ke fosfolipid sehingga mencegah terjadinya agregasi liposom (Yadav *et al.*, 2011). Struktur kimia kolesterol dapat dilihat pada gambar 2.7 berikut :

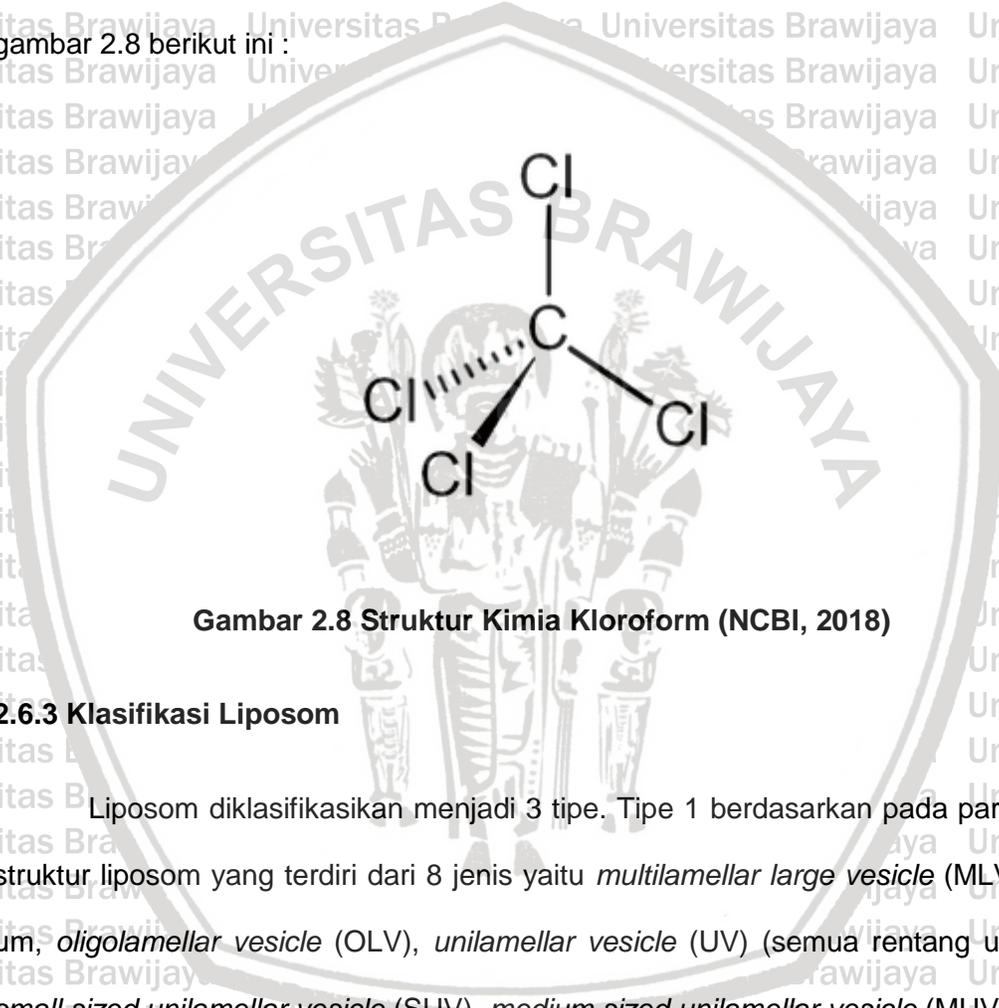


Gambar 2.7 Struktur Kimia Kolesterol (Rowe *et al.*, 2009)

2.6.2.3 Kloroform

Kloroform (CHCl₃) atau dikenal juga dengan nama *trichlorometane* dan *formyl trichloride* merupakan pelarut klorinasi hidrokarbon yang bersifat volatil, jernih, tidak berwarna dan memiliki bau seperti eter. Kloroform umumnya digunakan sebagai pelarut dan proses produksi freon. Berat molekulnya adalah 119,369 g/mol dengan

titik didih yaitu 62°C. Kloroform larut dalam karbon disulfide dan sangat larut dalam air (NCBI, 2018). Kloroform sering digunakan dalam pembuatan liposom sebagai pelarut fosfolipid dan zat aktif lipofilik. Selain karena kemampuannya dalam melarutkan, titik didihnya yang rendah dapat mempercepat proses penguapan pelarut saat proses pembuatan liposom (Garcinia, 2015). Struktur kimia kloroform dapat dilihat pada gambar 2.8 berikut ini :



Gambar 2.8 Struktur Kimia Kloroform (NCBI, 2018)

2.6.3 Klasifikasi Liposom

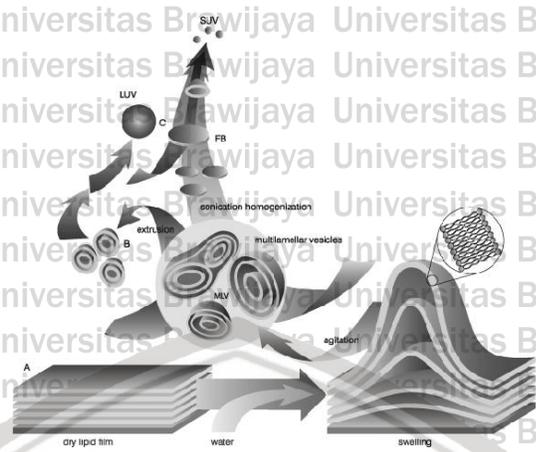
Liposom diklasifikasikan menjadi 3 tipe. Tipe 1 berdasarkan pada parameter struktur liposom yang terdiri dari 8 jenis yaitu *multilamellar large vesicle* (MLV) >0.5 μm, *oligolamellar vesicle* (OLV), *unilamellar vesicle* (UV) (semua rentang ukuran), *small sized unilamellar vesicle* (SUV), *medium sized unilamellar vesicle* (MUV), *large unilamellar vesicle* (LUV) >100 nm, *giant unilamellar vesicle* (GUV) >1 μm dan *multivesicular vesicle* (MV) >1 μm. Tipe 2 dibagi berdasarkan metode pembuatan liposom dan tipe 3 berdasarkan komposisi dan aplikasi dari liposom. Liposom

konvensional akan menghasilkan fosfolipid dengan muatan netral atau negatif (Singh, 2015).

2.6.4 Metode Pembuatan Liposom

2.6.4.1 Metode Dispersi Mekanik

Metode ini terdiri dari hidrasi lipid, mikro emulsifikasi, sonikasi, tekanan sel, ekstruksi membran, rekonstitusi kering vesikel dan liposom *Freeze thawed*. Semua metode pada kategori ini diawali dengan melarutkan lipid dalam pelarut organik dan mendispersikannya kedalam medium berair (Singh, 2015). Dari metode diatas, salah satu metode yang paling sering digunakan dalam pembuatan liposom adalah metode hidrasi lapis tipis. Pada metode ini, fosfolipid, kolesterol dan pelarut organik seperti diklorometana dicampurkan dalam labu dan distirrer hingga homogen. Adanya pengaruh mekanik seperti vortex, pengocokan dan putaran akan membentuk lamelar liposom yang mengembang dan membentuk myelin (tubula lipid tipis) seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.9. Pelarut organik dihilangkan dengan bantuan *rotary evaporator* pada tekanan rendah. Lapisan lipid dihidrasi menggunakan dapar fosfat hingga membentuk liposom multilamellar (MLVs). Penambahan perlakuan seperti sonikasi dapat meningkatkan homogenitas liposom dan memperkecil ukurannya hingga pada rentang 25 hingga 100 nm atau disebut juga *small unilamellar liposom* (SUVs) (Yadav *et al.*, 2011).



Gambar 2.9 Mekanisme Pembentukan Liposom (Lasic, 1989)

2.6.4.2 Metode Dispersi Pelarut

Metode ini terdiri dari injeksi etanol, injeksi eter, vesikel emulsi double, vesikel penguapan fase balik dan vesikel plurilamellar stabil. Pada metode kategori ini, prinsipnya adalah melarutkan lipid dengan pelarut organik dan kontak dengan medium berair yang mengandung material yang akan dienkapsulasi dalam liposom. Vesikel akan terbentuk setelah terjadi kontak dengan fase air (Singh, 2015).

2.6.4.3 Metode Penghilangan Detergen

Pada metode ini, fosfolipid kontak dengan fase cair melalui detergen yang akan menghubungkan molekul fosfolipid dengan bagian hidrofobik dari molekul air. Struktur yang akan terbentuk adalah misel. Ukuran dan bentuk liposomnya tergantung pada sifat kimia dari detergen yang digunakan. Titik kritis pembentukan miselnya adalah konsentrasi dari detergen yang digunakan (Singh, 2015).

2.6.4.4 Sonikasi

Disrupsi suspensi LMV (*Large multilamellar vesicle*) menggunakan energi sonik (*sonication*) biasanya menghasilkan *small unilamellar vesicles* (SUV) dengan diameter dalam kisaran 15-100 nm. Instrumentasi yang paling umum untuk mengecilkan ukuran partikel liposom adalah *bath* dan *probe tip sonicator*. Sonikator *probe-tip* bekerja dengan memberikan masukan energy yang tinggi ke suspensi lipid tetapi sering terjadinya *overheating* pada suspensi lipid dapat menyebabkan degradasi. Alat ini juga cenderung untuk melepaskan partikel titanium ke dalam suspensi lipid dan harus dihilangkan dengan sentrifugasi sebelum digunakan. Untuk alasan ini, *bath* sonikator adalah instrumentasi yang paling banyak digunakan untuk pembuatan liposom SUV. Sonikasi liposom LMV dilakukan dengan menempatkan tabung reaksi yang mengandung suspensi dalam *bath* sonikator (atau menempatkan ujung sonikator dalam tabung tes) dan disonikasi selama 5-10 menit di atas T_c dari lipid. Pada vesikel SUV secara inheren tidak stabil dan secara spontan akan bergabung untuk membentuk vesikula yang lebih besar karena ukurannya yang sangat kecil (Burgess, 1998).

2.6.5 Stabilitas Liposom

Stabilitas liposom dapat dibagi menjadi kestabilan fisik, kimia dan biologis, yang semuanya saling terkait. Secara umum, stabilitas masa simpan liposom ditentukan oleh stabilitas fisik dan kimia (keseragaman distribusi ukuran dan efisiensi enkapsulasi, dan degradasi minimal dari semua senyawa). Dengan mengoptimalkan distribusi ukuran, pH dan kekuatan ionik, serta penambahan antioksidan dan agen pengkelat, dapat menstabilkan formulasi liposom cair. Selain itu, proses fisik seperti

agregasi/ flokulasi dan fusi / koalesensi yang mempengaruhi liposom dengan mengakibatkan hilangnya liposom yang mengandung obat dan mengakibatkan perubahan ukuran. Agregasi adalah pembentukan unit bahan liposom yang lebih besar; unit-unit ini masih terdiri dari liposom individual. Stabilitas fisik liposom dapat dipahami sebagai stabilitas koloid yang dijelaskan oleh teori DLVO. Menurut teori ini stabilitas didasarkan pada gagasan bahwa dua jenis gaya independen mengatur interaksi antara partikel koloid yang sama: kekuatan dinding Vander yang menarik dan gaya-gaya repulsif. Salah satu aspek terpenting dari perubahan fisik adalah ukuran partikel dan distribusi ukuran. Perubahan-perubahan dalam sistem koloid ini terutama terjadi melalui dua mekanisme: pada tingkat molekuler, mekanismenya dapat berupa pertukaran molekuler asimetris, dimana pada tingkat partikel sebagian besar adalah agregasi, fusi, *co-accervation* atau flotasi / presipitasi (Yadav *et al.*, 2011).

2.6.6 Analisis Ukuran Partikel Liposom

Analisis ukuran partikel atau *particle size analysis* merupakan suatu metode untuk melihat ukuran liposom yang dibuat apakah sudah sesuai dengan yang disyaratkan. Metode yang sering digunakan adalah *Dynamic Light Scattering* (DLS) atau *Photon Correlation Spectroscopy* (PCS). Metode ini dikenal sebagai hamburan cahaya kuasi-elastis dan banyak digunakan karena memberikan hasil yang absolut dan reproduibel. Pada metode PCS, intensitas cahaya yang tersebar oleh partikel terdispersi cenderung berfluktuasi dengan waktu. Fluktuasi ini terjadi terhadap profil waktu disebabkan oleh perubahan konstan dari posisi partikel yang dibawa oleh gerak *Brownian*. PCS umumnya dianggap metode yang cocok untuk mendapatkan distribusi ukuran partikel pada sampel dengan ukuran partikel mulai dari beberapa nm hingga beberapa mikron. Sebelum pengukuran, sampel diencerkan dengan air Milli-Q untuk

mencapai tingkat hitungan 200–300 K (nilai yang ditampilkan oleh pengukur kecepatan). Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa kepadatan jumlah liposom cukup rendah untuk menghindari terjadinya interaksi antar-vesikel. Pengukuran dilakukan pada suhu 25°C dan sudut tetap 90°, di mana kedua efek refleksi dan polidispersitas diminimalkan. Nilai diameter Z (Z_{Ave}) rata-rata dan indeks polidispersitas yang menunjukkan intensitas alami rata-rata tertimbang dan distribusi ukuran partikel masing-masing dicatat dan digunakan untuk perbandingan semua sampel (Armengol and Estelrich, 1995).

2.7 Gel

United States Pharmacopeial (USP) mendefinisikan gel sebagai sistem semipadat yang mengandung suspensi baik yang terdiri dari partikel anorganik kecil, atau molekul organik besar yang diinterpenetrasikan oleh cairan. Gel diklasifikasikan sebagai sistem dua fase, jika ukuran partikel fase terdispersi relatif besar, massa gel kadang-kadang disebut sebagai magma. Gel fase tunggal terdiri dari makromolekul organik bersirkulasi merata di seluruh cairan sedemikian rupa sehingga tidak ada batas yang jelas terjadi antara makromolekul terdispersi dan cairan. Gel umumnya dianggap lebih kaku daripada jeli karena gel mengandung lebih banyak ikatan silang kovalen, kepadatan ikatan fisik yang lebih tinggi, atau lebih sedikit cairan. Polimer pembentuk gel menghasilkan bahan yang memiliki rentang rigiditas, dimulai dengan sol dan meningkat menjadi mucilago, jeli, gel, dan hidrogel. Beberapa sistem gel sejernih air, dan yang lain keruh karena bahan-bahannya mungkin tidak sepenuhnya terdispersi secara molekuler (larut atau tidak larut), atau dapat membentuk agregat, yang menyebarkan cahaya. Konsentrasi *gelling agent* sebagian besar kurang dari

10%, biasanya dalam kisaran 0,5% hingga 2,0%, dengan beberapa pengecualian (Rathod and Mehta, 2015).

2.7.1 Bahan Gel

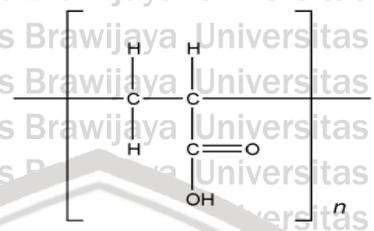
2.7.1.1 Karbopol

Karbopol adalah polimer sintetik dengan berat molekul tinggi. Karbopol terdiri dari asam akrilat yang *cross-linked* dengan alil sukrosa atau alil eter pentaeritritol, dan terbentuk sebagai bubuk berwarna putih, halus, asam, higroskopik dengan sedikit bau khas. Berat molekul karbopol 940 adalah 72.063 g/mol. pH dispersi pada konsentrasi 0,5% hingga 1,0% berada dalam kisaran 2,5 hingga 3,5. Karbopol larut dalam air; setelah netralisasi, carbomer larut dalam etanol 95% dan gliserin. Ketika tersebar dalam air, larutan koloid asam membentuk viskositas rendah dan menebal ketika bahan alkali, seperti trolamin, ditambahkan. Untuk memudahkan proses dispersi awal, karbopol harus didispersikan pada air, dengan hati-hati diambil untuk meminimalkan pembentukan gumpalan. Banyak agen penetralisir dapat digunakan untuk mengentalkan gel, termasuk asam amino, boraks, kalium hidroksida, natrium bikarbonat, natrium hidroksida (0,4 g natrium hidroksida akan menetralkan sekitar 1 g karbopol), amina organik polar seperti trolamina, dan lauril dan amina stearil. Penggabungan gelembung udara ke gel harus dijaga seminimal mungkin. Viskositas maksimum umumnya dapat diperoleh dalam rentang pH 6 hingga 11 (Koleng, 2006).

Struktur kimia carbopol dapat dilihat pada gambar 2.10.

Kelebihan carbopol 940 dibandingkan *gelling agent* alami dan polimer semisintetik lainnya adalah mampu mengembang hingga 1000 kali massanya, efektif untuk formulasi yang tebal, memiliki kejernihan yang sangat bagus dalam air, dan

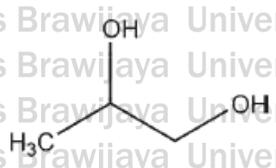
membentuk gel yang jernih dengan viskositas 40.000-60.000 cps (A. Jain, P. Deveda, N. Vyas, 2012).



Gambar 2.10 Struktur Kimia carbopol (Rowe et al., 2009)

2.7.1.2 Propilen glikol

Propilen glikol (C₃H₈O₂) memiliki berat molekul 76.09 g/mol, berwujud cairan jernih, tak berwarna, kental, tidak berbau, dan manis. Larut dalam aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin dan air, larut 1:6 pada eter, tidak larut dalam *mineral oil* atau *fixed oil* serta larut dalam *essential oil*. Stabil pada suhu rendah dan teroksidasi pada suhu tinggi dan wadah yang terbuka. Inkompatibel dengan agen pengoksidasi/oksidator seperti kalium permanganat. Pada konsentrasi 10%, propilen glikol dapat digunakan sebagai pelarut, kosolven dan humektan. Propilen glikol bersifat higroskopik dan harus disimpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya, di tempat sejuk dan kering (Rowe et al., 2009). Pada penelitian sebelumnya oleh Dwiastuti, efek propilen glikol bernilai positif pada grafik hal ini berarti propilen glikol akan meningkatkan daya sebar pada gel. Semakin banyak penggunaan propilen glikol, maka daya sebar gel semakin meningkat (Dwiastuti, 2010). Struktur kimia propilen glikol dapat dilihat pada gambar 2.11 berikut ini :

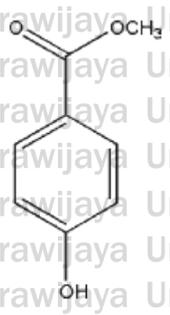


Gambar 2.11 Struktur Kimia Propilen glikol (Rowe et al., 2009)

2.7.1.3 Metil Paraben

Metil paraben atau Methyl-4-hydroxybenzoate ($C_8H_8O_3$) memiliki berat molekul 152,15 g/mol memiliki aktivitas antimikroba dan sering digunakan sebagai pengawet dalam sediaan farmasi. Paraben aktif dalam rentang pH yang luas yaitu 4-8. Metil paraben efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur dan mold serta bakteri gram positif. Untuk sediaan topikal, konsentrasi yang digunakan adalah 0,02-0,3%. Efikasi pengawet ini juga meningkat dengan penambahan propilen glikol pada konsentrasi 2-5% atau dengan mengkombinasinya dengan paraben lainnya. Metil paraben berwujud kristal tidak berwarna atau serbuk kristal putih dan hampir tidak berbau. Meleleh pada suhu 125-128°C, larut dalam propilen glikol dengan perbandingan 1:5 pada suhu 25°C (Rowe et al., 2009).

Metil paraben telah digunakan secara luas dalam sediaan topikal sebagai pengawet karena bersifat nonteratogenik dan nonmutagenik. Pada studi oleh (Campana et al., 2006) menyebutkan bahwa penggunaan metil paraben pada sediaan gel menunjukkan daya hambat spectrum luas pada strain bakteri *S.aureus*, *S.epidermidis*, *P.aeruginosa* dan *P.putida*. Struktur kimia metil paraben dapat dilihat pada gambar 2.12 berikut ini :



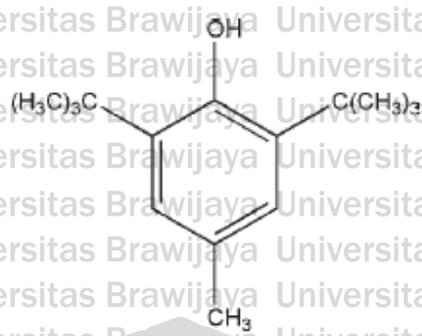
Gambar 2.12 Struktur Kimia Metil Paraben (Rowe et al., 2009)

2.7.1.4 BHT (*Butylated hydroxytoluene*)

BHT (C₁₅H₂₄O) memiliki berat molekul 220,35 g/mol dengan titik didih 265°C.

Larut dalam aseton, benzene, etanol(95%), eter, methanol, dan minyak mineral. BHT merupakan antioksidan dan sering digunakan dalam kosmetik, makanan dan sediaan farmasi. Digunakan untuk mencegah oksidasi dari lemak, minyak dan mencegah hilangnya aktivitas vitamin yang larut air. BHT digunakan dalam rentang konsentrasi 0,5-1,0% w/w dan dapat meningkatkan stabilitas warna suspensi (Rowe et al., 2009).

BHT diketahui sebagai antioksidan fenolik sintesis dan menunjukkan aktivitas menghambat induksi kanker oleh berbagai senyawa karsinogen. Studi in vitro dan in vivo pada BHT menunjukkan aktivitas metabolisme BHT yaitu hidroksilasi pada substituent alkil dan oksidasi dari cincin aromatisnya. BHT efektif dalam merusak rantai oksidan pada makhluk hidup (Fujisawa, Kadoma and Yokoe, 2004). Struktur kimia BHT dapat dilihat pada gambar 2.13 berikut ini :



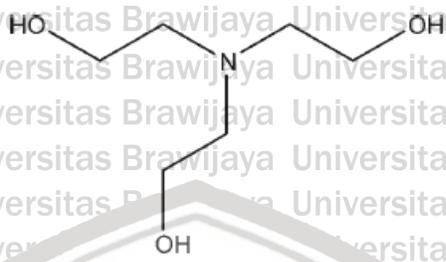
Gambar 2.13 Struktur Kimia BHT (Rowe et al., 2009)

2.7.1.5 Trietanolamin (TEA)

Trietanolamin ($C_6H_{15}NO_3$) dengan berat molekul 149,19 g/mol berwujud cairan viskos yang jernih, tidak berwarna sampai kuning pucat, mempunyai sedikit bau seperti amonia. Kelarutannya yaitu larut dalam aseton, larut 1:24 pada benzena, larut dalam karbontetraklorida, larut dalam 1:63 pada etil eter, larut dalam metanol, larut dalam air. TEA dapat berubah warna menjadi coklat bila terpapar udara dan cahaya. Trietanolamina harus disimpan dalam wadah kedap udara dari cahaya, di tempat sejuk dan kering karena dapat bereaksi dengan asam mineral membentuk garam kristal dan ester. TEA pada formulasi sediaan farmasi sering digunakan sebagai *emulsifying agent* dan *alkalizing agent*. Penyimpanannya dalam wadah yang tertutup rapat dan terlindung dari cahaya (Rowe et al., 2009).

TEA sering digunakan dalam sediaan gel, terutama dengan basis gel carbomer. Ketika karbomer terdispersi dalam air, larutan akan memiliki pH rendah, sehingga perlu ditambahkan penetral untuk meningkatkan pH dan menyebabkan dispersi menebal. Beberapa agen penetralisir adalah natrium hidroksida, potasium hidroksida, dan trietanolamin. Jika trietanolamina digunakan, gel dapat mentolerir konsentrasi alkohol yang tinggi. Viskositas gel dapat dimanipulasi lebih lanjut oleh propilen glikol dan gliserin (untuk meningkatkan viskositas) atau dengan

menambahkan elektrolit (untuk menurunkan viskositas) (UNC, 2018). Struktur kimia TEA dapat dilihat pada gambar 2.14 berikut ini :



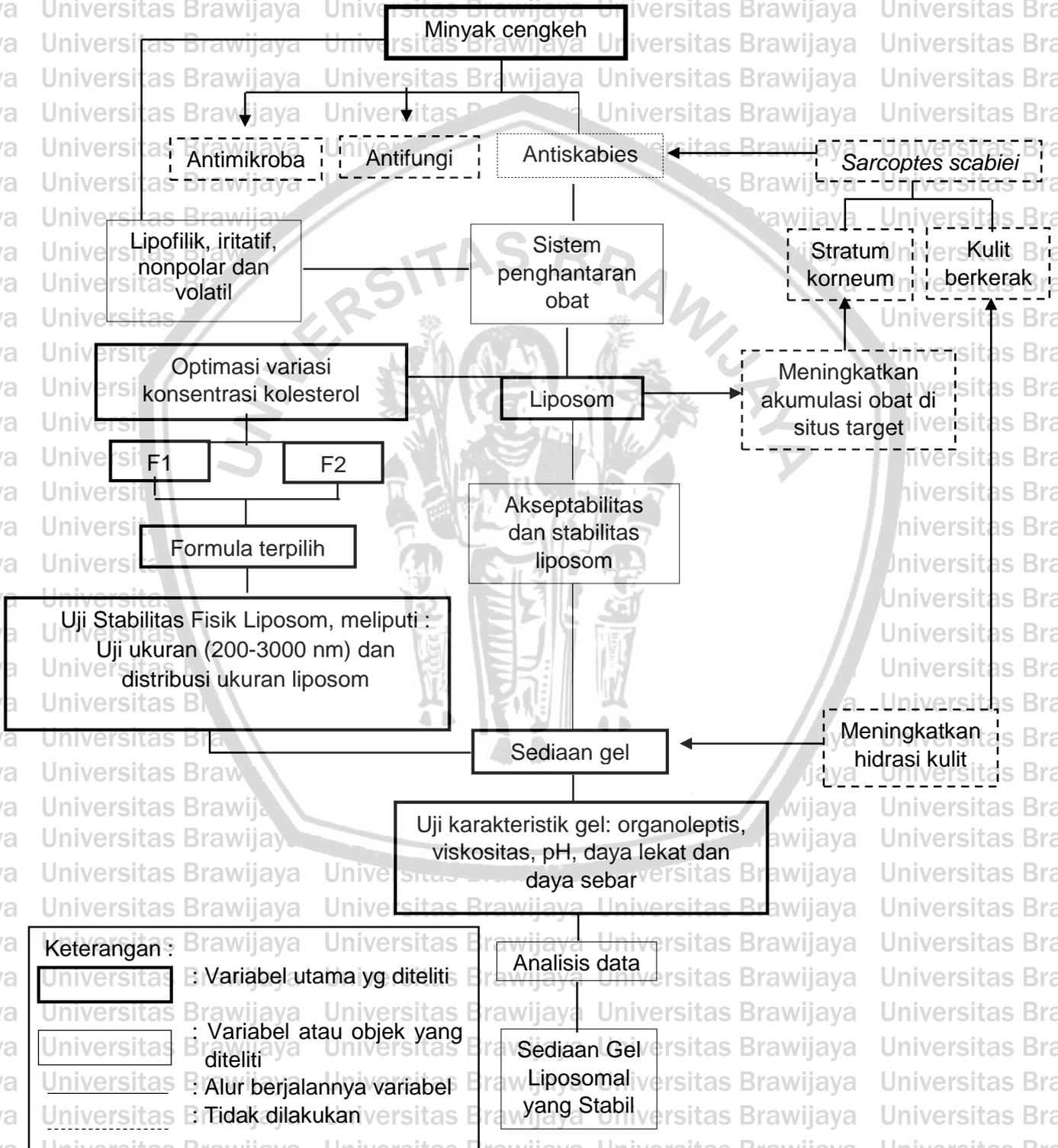
Gambar 2.14 Struktur Kimia TEA (Rowe et al., 2009)



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



3. 2 Penjabaran Kerangka Konsep

Minyak cengkeh memiliki efek sebagai antimikroba, antifungi dan antiskabies.

Skabies sendiri disebabkan oleh tungau *Sarcoptes scabiei* yang menginfeksi kulit manusia dengan bertelur di lapisan epidermis stratum korneum. Infeksi kronis oleh tungau ini dapat menyebabkan penebalan dan keriput pada kulit dan ditutupi oleh kerak-kerak berwarna abu-abu kekuningan. Pengaplikasian minyak cengkeh langsung di permukaan kulit dapat menyebabkan iritasi dan reaksi hipersensitivitas.

Selain itu, minyak cengkeh sebagai zat aktif bersifat lipofilik dan volatil, untuk itu diperlukan sistem penghantaran obat (SPO) yaitu liposom. Liposom terdiri dari fosfolipid yang mengenkapsulasi obat didalam intinya dan meningkatkan deposisi zat aktif ke dalam stratum korneum. Liposom dibuat dengan 2 formula yaitu F1 dengan perbandingan fosfatidilkolin dan kolesterol (1 :1 molar) dan F2 yaitu (1 : 2 molar).

Secara teoritis, penambahan kolesterol pada liposom dapat mengurangi efek suhu karena kolesterol dalam konsentrasi tinggi mencegah pengepakan fosfolipid dan menginduksi orientasi dan kekakuan lebih ke fosfolipid, sehingga mencegah terjadinya agregasi liposom membentuk vesikel berukuran lebih besar (Briuglia et.,al., 2015). Diharapkan formula dengan jumlah koletserol yang lebih banyak dapat memenuhi target ukuran sesuai spesifikasi serta terdistribusi lebih seragam. Target spesifikasi ukuran liposom sendiri adalah 200-3000 nm karena lebih kecil ukuran pori kulit yaitu 3 μm , jika terlalu kecil vesikel liposom mudah beragregasi karena meningkatnya energi bebas, sedangkan apabila ukurannya terlalu besar maka dapat memperlama waktu partisi obat ke dalam stratum korneum. Untuk meningkatkan akseptabilitas dan stabilitas liposom saat diaplikasikan, maka formula liposom yang

terbaik perlu dibuat dalam sediaan gel. Gel sendiri memiliki keuntungan yaitu mampu menghidrasi kulit, sehingga dapat menghidrasi lapisan kerak di kulit akibat tungau skabies, mengurangi resiko terjadinya iritasi dan mudah tercucikan oleh air. Sediaan gel juga memiliki kandungan air yang tinggi sehingga daya lekatnya menjadi lebih lama dan lebih mudah diserap.

Beberapa studi menunjukkan bahwa liposom dapat digabungkan dan stabil dalam sediaan gel (Argan and Harikumar, 2012). Salah satunya pada pembuatan gel liposomal kalsein, yang menunjukkan bahwa jumlah kalsein yang terenkapsulasi dalam liposom baik sebelum dan sesudah dimasukkan dalam sediaan gel tetap sama.

Hal tersebut membuktikan teori bahwa matriks hidrogel seperti karbopol memiliki efek protektif pada vesikel liposom (Pavlic *et al.*, 2001). Sejauh ini, belum ada studi yang menunjukkan kestabilan fisik liposom minyak cengkeh dalam gel liposomal. Maka untuk membuktikan hal tersebut, akan dilakukan uji evaluasi meliputi uji ukuran dan distribusi ukuran partikel liposom menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) sebelum dan sesudah dibuat dalam sediaan gel. Uji lanjutan dilakukan untuk melihat karakteristik dan stabilitas sediaan gel minyak cengkeh meliputi uji organoleptis, pH, viskositas, daya lekat dan daya sebar.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustaka, dan kerangka konsep di atas maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

3.3.1 Formula liposom minyak cengkeh yang terbaik didapatkan dari formula satu (F2) dengan perbandingan kolesterol : fosfatidilkolin (9 : 2) berdasarkan evaluasi terhadap ukuran dan distribusi ukuran partikelnya

3.3.2 Pembuatan gel liposomal minyak cengkeh tidak mempengaruhi stabilitas liposom dibuktikan melalui evaluasi terhadap ukuran dan distribusi ukuran partikelnya



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Design Penelitian

Design penelitian ini menggunakan design 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 liposom gel minyak cengkeh.

2. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah rasio fosfatidilkolin dan kolesterol pada formulasi liposom gel minyak cengkeh.

3. Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah suhu, kecepatan homogenisasi dan lama waktu homogenisasi

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Program Studi

Farmasi untuk proses pembuatan gel minyak cengkeh *Syzygium aromaticum* beserta proses evaluasinya, serta di Laboratorium Fisika Institut Teknologi Sepuluh Nopember untuk evaluasi *Particle size analysis* dan uji indeks polidispersitas. Waktu penelitian dilakukan selama ± 3 bulan.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Beaker glass* 50 dan 250 mL, pipet tetes, gelas ukur 10 mL, vial 30 ml, sonikator (Sonica), 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*) (Malvern Zetasizer Ver. 7.01), pH meter, *hot plate* (IKA 3581001 Ceramic Stirring), anak timbangan dan kaca ukuran 14x14 cm.

4.4.2 Bahan

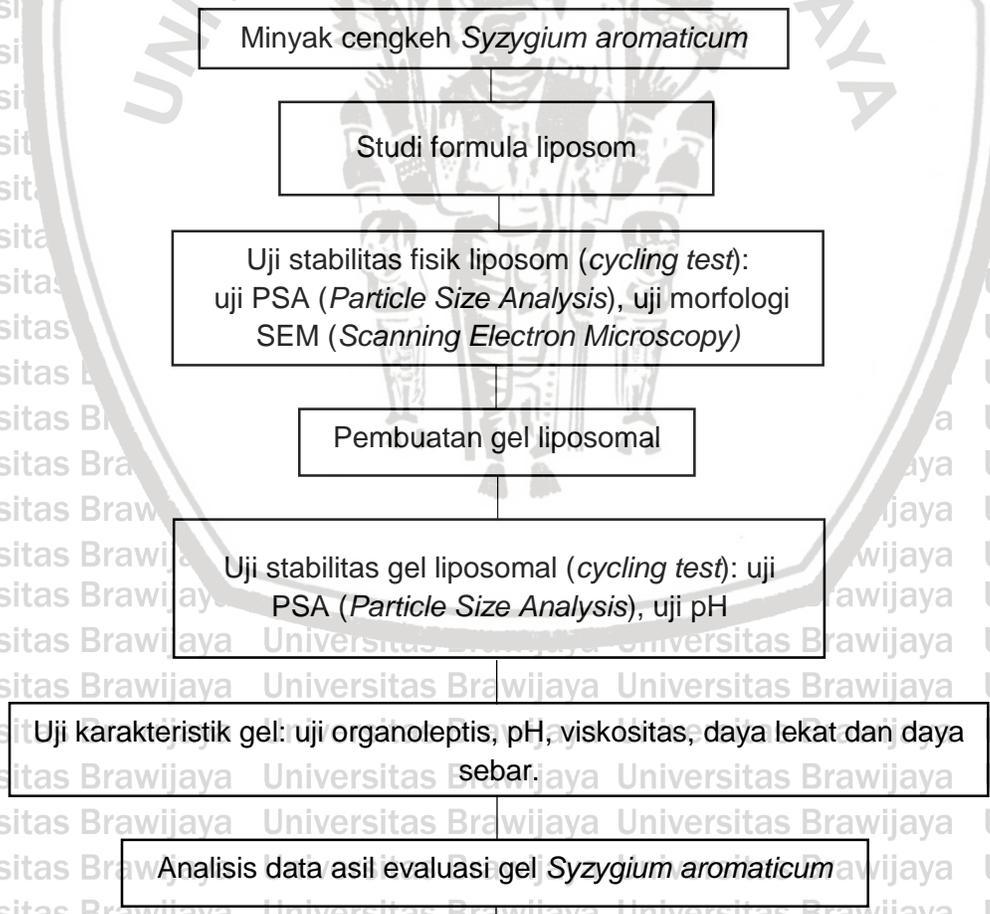
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak cengkeh dari Institut Atsiri Universitas Brawijaya, carbopol 940 (CV. Duta Jaya), propilenglikol (PT. Brataco Chemika), lesitin soya, metil paraben, NaOH, trietanolamin (TEA), tween 80 (CV. Makmur Sejati), kloroform, dapar posfat pH 7,4, kolesterol (CV. Gamma Lab) dan aquades.

4.5 Definisi Operasional

1. Gel adalah sediaan obat berbentuk semisolid yang terdiri atas bahan aktif dan campuran beberapa bahan eksipien yang diberikan dengan rute topikal.

2. Liposom adalah vesikel berair yang terbentuk secara spontan ketika fosfolipid dihidrasi dengan sejumlah air berupa membran lipid ganda unilamellar atau multilamellar.
3. *Particel Size Analysis* adalah metode untuk melihat ukuran dan distribusi ukuran partikel liposom
4. Uji morfologi SEM adalah uji menggunakan mikroskop elektron untuk melihat morfologi liposom
5. Stabil adalah suatu keadaan dimana sediaan dimana gel memenuhi spesifikasi parameter yang ditetapkan.

4.6 Skema Kerja



Gel liposomal minyak cengkeh dengan stabilitas optimum

Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Preliminary Study Pembuatan Liposom Minyak Cengkeh

Studi pendahuluan pembuatan liposom minyak cengkeh menggunakan variasi jumlah pelarut organik aseton dengan formula seperti yang ditunjukkan oleh tabel 4.1 berikut :

Tabel 4.1 Formula Liposom Minyak Cengkeh dengan Variasi Jumlah Pelarut

	F (A)	F (B)	F (C)
Aseton	5 mL	10 mL	15 mL
Fosfatidilkolin	500 mg	500 mg	500 mg
Minyak Cengkeh	1,25 mL	1,25 mL	1,25 mL
Dapar Fosfat	20 mL	20 mL	20 mL

Fosfatidilkolin dilarutkan dalam aseton hingga homogen, dan diuapkan menggunakan rotary evaporator selama satu jam, suhu 40°C, kecepatan 80-150 rpm hingga didapatkan lapisan lipid tipis pada dinding labu bulat. Lapisan lipid kemudian ditambahkan zat aktif minyak cengkeh, dan dihidrasi menggunakan dapar fosfat sebanyak 20 mL hingga homogen selama 1 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 150 rpm. Setelah didapatkan suspensi liposom yang homogen, dilakukan uji pH menggunakan pH meter pada masing-masing formula. Selanjutnya dilakukan evaluasi ukuran partikel liposom menggunakan Particle Size Analyzer.

4.7.2 Formula Liposom Minyak Cengkeh

Untuk mendapatkan liposom dengan karakteristik fisik yang terbaik, maka dibuat dua formula liposom dengan perbandingan fosfatidilkolin dan kolesterol yang berbeda. Formula liposom dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut:

Tabel 4.2 Rancangan Formula Liposom Minyak Cengkeh

Formula (30 mL)	Minyak Cengkeh (6,25%)	Komponen Liposom				
		Fosfatidil kolin (mg)	Kolesterol (mg)	Tween 80	Kloroform	Dapar fosfat pH 7,4
I	1,875 mL	3,94 g	0,224 g	0,349 mL	15 mL	30 mL
II	1,875 mL	3,94 g	0,447 g	0,349 mL	15 mL	30 mL

4.7.3 Pembuatan Liposom Minyak Cengkeh

Pembuatan liposom minyak cengkeh *Syzygium aromaticum* dilakukan dengan metode hidrasi lapisan lipid. Lesitin soya atau lipid, tween 80 dan kolesterol dilarutkan dalam pelarut organik kloroform. Pelarut kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* dibawah vakum selama 1-2 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 150 rpm untuk mendapatkan lapisan tipis lipid. Lapisan lipid disimpan selama satu malam (24 jam) pada suhu 4°C. Lapisan lipid ditambahkan zat aktif minyak cengkeh 6,25% dan dihidrasi menggunakan dapar fosfat (pH 7,4) sebanyak 30 mL dan dievaporasi kembali menggunakan *rotary evaporator* tanpa vakum selama 1 jam hingga terbentuk suspensi homogen. Suspensi disonikasi selama 1 jam untuk mengecilkan dan menghomogenisasikan ukuran partikel liposom. Tahapan selanjutnya adalah homogenisasi dengan *ultra turrax* selama 6 x 10 menit dengan

kecepatan 10.000 rpm dan disimpan untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Saputra, 2011).

4.7.4 Uji Stabilitas Fisik Liposom Minyak Cengkeh

4.7.4.1 Analisis ukuran partikel dan indeks polidispersitas

Rata-rata diameter ukuran globul dan indeks polidispersitas liposom diukur menggunakan alat *particle size analyzer*. *Particle size analyzer* yang digunakan adalah *dynamic light scattering (DLS)*. Pengukuran dilakukan pada suhu 25°C dan sudut tetap 90°, di mana kedua efek refleksi dan polidispersitas diminimalkan (Armengol, 1995).

4.7.4.2 Uji pH

Uji pH pada liposom dilakukan untuk melihat stabilitas pH liposom setelah dibuat menjadi gel liposomal. Uji pH dilakukan menggunakan pH meter pada suspensi liposom.

4.7.5 Formula Gel

Gel *Syzygium aromaticum* ini mengandung zat aktif liposom minyak cengkeh dengan konsentrasi 6,25%. Satu sediaan gel memiliki bobot 30 g. Rancangan formula untuk penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.3 berikut ini:

Tabel 4.3 Rancangan Formula Gel Minyak Cengkeh

Bahan	Fungsi	Konsentrasi
Liposom Minyak Cengkeh	<i>Active content</i>	6,25%
Carbopol	<i>Gelling agent</i>	1%
Propilenglikol	Humektan dan pelarut	10%

Trietanolamin	Alkalinizing agent	qs
Metil Paraben	Pengawet	0,2%
BHT (<i>Butylated hydroxytoluene</i>)	Antioksidan	0,1%
NaOH	pH adjuster	qs
Aquadest	Pelarut dan pembawa gel	Ad 100%

4.7.6 Pembuatan Gel Minyak Cengkeh

Pembuatan Gel *Syzygium aromaticum* menggunakan Carbopol sebagai *gelling agent*. Proses pembuatannya adalah dengan mendispersikan *gelling agent* dalam akuades bebas CO₂ dan didiamkan hingga mengembang kemudian dicampurkan dengan eksipien lainnya. Carbopol 940 atau carbomer ini digunakan karena kompatibel dengan zat aktif dan dapat membuat basis dengan viskositas sesuai konsistensi yang diinginkan. Carbopol awalnya berbentuk serbuk dan jika terhidrasi dalam air akan mengalami *crosslinking* antar polimernya menyebabkan meningkatnya viskositas. Penambahan TEA berfungsi untuk meningkatkan kelarutan carbomer dalam air sehingga dapat terjadi peningkatan viskositas (UNC, 2018). Efek *after use* yang baik akan menyebabkan gel memberikan efek tidak lengket dan efek lembab pada kulit karena ditambahkan propilen glikol. Selanjutnya dilarutkan metil paraben, BHT dengan propilenglikol dan dicampurkan dengan basis gel hingga homogen. Zat aktif liposom minyak cengkeh ditambahkan, dilakukan *adjust pH* menggunakan NaOH bila diperlukan (Guntero et.,al., 2017).

4.7.7 Evaluasi Karakteristik Gel Minyak Cengkeh

4.7.7.1 Uji Organoleptis

Pada uji organoleptis, gel dievaluasi meliputi warna, bau dan teksturnya menggunakan alat indera. Organoleptis gel sesuai dengan zat aktif sediaan yaitu minyak cengkeh (Mohamed, 2004).

4.7.7.2 pH

Nilai pH sediaan ditentukan menggunakan pH meter digital. Sebanyak 1 g gel dilarutkan dalam 100 mL akuades dan didiamkan selama 2 jam, kemudian diukur pH nya dengan tiga kali replikasi dan dihitung nilai rata-rata. pH sediaan harus sama dengan pH kulit (Kaur *et al.*, 2010).

4.7.7.3 Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Rion VT-06. Uji dilakukan dengan replikasi tiga kali dan di dapatkan rata-rata viskositas sediaan gel.

4.7.7.4 Uji Daya Sebar

Uji ini ditujukan untuk melihat luas area sebaran gel ketika diaplikasikan di kulit. Potensi terapeutik dari gel juga tergantung pada daya sebar nya. Sebanyak 2 gram gel diletakkan ditengah kaca dan ditutup dengan kaca berukuran sama. Beban seberat 1 kg diletakkan ditengah-tengah kaca selama 1 menit. Selanjutnya kedua lempeng kaca dipisahkan dan dicatat waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan kedua lempeng hingga jarak 7,5 cm. Kemudian daya sebar dihitung dengan persamaan berikut:

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

dimana S sebagai daya sebar, M sebagai massa gel (g), L sebagai panjang dan T (detik) sebagai waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan kedua lempeng kaca (Avinash et al, 2016).

4.7.7.5 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan meletakkan sejumlah 0,25 gram gel di atas gelas objek dan ditutup dengan gelas objek berukuran sama kemudian diberi beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian dicatat waktu yang dibutuhkan untuk melepaskan kedua gelas objek dengan menurunkan beban 80 gram.

4.7.8 Analisis Data

Analisis data hipotesis pertama dilakukan dengan uji statistik *Unpaired t-test* atau uji T tidak berpasangan. Hal ini karena hipotesis bersifat komparatif, tidak berpasangan dan terdiri dari 2 kelompok. Distribusi data diuji menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 dengan nilai $p > 0,05$ apabila terdistribusi normal. Analisis dilanjutkan dengan program SPSS dengan hasil analisa berbeda secara bermakna apabila $p < 0,05$. Analisis data dilanjutkan dengan uji alternatif *Mann-whitney* apabila distribusi data ditemukan tidak normal. Hipotesis kedua dibuktikan berdasarkan uji statistik *Paired T test* atau uji T berpasangan untuk hipotesis komparatif, berpasangan, dan terdiri dari 2 kelompok. Analisis menggunakan SPSS diharapkan $p > 0,05$ yang menunjukkan tidak ada perbedaan secara bermakna. Apabila distribusi data tidak normal maka dilakukan uji alternatif yaitu uji non parametrik *Wilcoxon*.

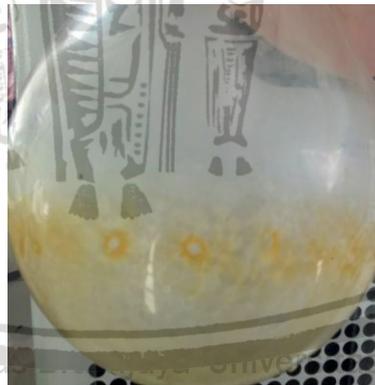
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Liposom Minyak Cengkeh

5.1.1 Hasil *Preliminary Study* Pembuatan Liposom Minyak Cengkeh

Pada *preliminary study*, dilakukan pembuatan liposom dengan menggunakan pelarut aseton dengan 3 variasi formula yaitu F(A); F(B); dan F(C). Perbedaan jumlah pelarut ini dilihat korelasinya dengan ukuran partikel dan pH yang dihasilkan, sehingga didapatkan formula C sebagai formula terbaik dengan jumlah pelarut aseton sebanyak 15 mL. Sebanyak 15 mL aseton dapat melarutkan fosfatidilkolin dan membentuk lapisan lipid tipis yang baik sehingga dihasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan kedua formula lainnya. Lapisan lipid tipis liposom dapat dilihat pada gambar 5.1 Formula, hasil uji PSA serta uji pH dapat dilihat pada tabel 5.1 dibawah

ini:



Gambar 5.1 Lapisan Lipid Tipis Liposom

Tabel 5.1 Ukuran Partikel dan pH dari Tiga Formula Liposom Minyak Cengkeh Variasi Jumlah Pelarut

	F (A)	F (B)	F (C)
Aseton	5 mL	10 mL	15 mL
pH	4,3	4,6	4,5
Diameter Partikel	69400 nm	125900 nm	41300 nm

Pada penelitian ini, setelah digunakan diklorometana dan kloroform sebagai pelarut perbandingan, didapatkan hasil bahwa kloroform lebih cepat dalam melarutkan campuran lesitin dan kolesterol dibandingkan kedua pelarut lainnya. Jika aseton dan diklorometana membutuhkan pengadukan tambahan menggunakan *magnetic stirrer*, kloroform hanya membutuhkan sedikit pengadukan menggunakan batang pengaduk. Pelarut diklorometana membutuhkan jumlah yang lebih banyak untuk melarutkan kolesterol yaitu 30 – 50 mL, sedangkan kloroform hanya membutuhkan 5 – 15 mL untuk melarutkan lesitin – kolesterol. Berdasarkan hasil uji tersebut, dipilih kloroform sebagai pelarut pada pembuatan liposom ini karena jumlah yang dibutuhkan lebih sedikit dan mampu melarutkan dalam waktu yang lebih singkat.

5.1.2 Pembuatan Liposom Minyak Cengkeh

Pada proses pembuatan liposom minyak cengkeh, digunakan minyak cengkeh sebagai zat aktif dan lesitin soya sebagai fosfolipid pembentuk vesikel liposom dengan perbandingan 1:2 molar. Komponen liposom sendiri terdiri dari fosfolipid, kolesterol, tween 80 yang dibuat dalam dua formula yaitu F1 dengan perbandingan molar berturut-turut yaitu 9 : 1 : 1 molar dan F2 dengan jumlah kolesterol yang lebih banyak yaitu 9 : 2 : 1 molar. Perbedaan jumlah kolesterol ini dilakukan untuk melihat pengaruh banyaknya jumlah kolesterol terhadap stabilitas fisik liposom. Tahap pertama dalam pembuatan adalah sebanyak 3,49 gram lesitin soya ditimbang dalam gelas beaker

menggunakan neraca analitik. Kemudian ditimbang kolesterol sebanyak 0,224 gram dan tween 80 menggunakan gelas arloji sebanyak 0,349 gram. Kolesterol ditambahkan ke dalam gelas beaker berisi lesitin, dan ditambahkan tween 80 kemudian dilarutkan dalam 15 mL pelarut organik kloroform. Kemampuan kloroform dalam melarutkan lesitin dan kolesterol sangat cepat sehingga hanya diaduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen seperti yang ditunjukkan oleh gambar 5.2.



Gambar 5.2 Campuran Lesitin dalam Kloroform

Setelah larut, campuran dipindahkan dalam labu bulat untuk proses pembuatan lapis tipis lipid. Pelarut organik dalam labu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu diatas T_c fosfolipid, yaitu 40°C dengan kecepatan putaran yang dinaikkan secara bertahap dimulai dari 40, 60, 80, 100 dan 150 rpm selama 30 menit dalam kondisi vakum. Kecepatan ini dinaikkan secara bertahap untuk membentuk lapisan lipid tipis yang rata di dalam labu bulat. Setelah 30 menit, didapatkan lapisan lipid tipis dalam labu bulat, kemudian labu disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C untuk memaksimalkan penguapan pelarut selama 24 jam

seperti yang ditunjukkan oleh gambar 5.3. Lapisan lipid tipis dalam labu ditambahkan zat aktif minyak cengkeh sebanyak 1,875 mL menggunakan mikropipet dan dihidrasi menggunakan dapar fosfat pH 7 sebanyak 30 mL. Suspensi liposom dihomogenkan menggunakan rotavapor tanpa kondisi vakum dengan kecepatan 150 rpm suhu 40°C selama 30 menit. Suspensi liposom yang telah homogen dipindahkan kedalam gelas beaker dan ditutup menggunakan aluminium foil untuk mencegah menguapnya zat aktif dan disimpan untuk tahap selanjutnya. Suspensi liposom yang didapatkan berwarna putih tulang dengan bau khas cengkeh seperti yang ditunjukkan oleh gambar 5.4.



Gambar 5.3 Lapisan Lipid Tipis Liposom



Gambar 5.4 Suspensi Liposom Setelah Hidrasi

5.2 Hasil Penyeragaman dan Pengecilan Ukuran Partikel Liposom Minyak Cengkeh

Penyeragaman dan pengecilan ukuran partikel dilakukan menggunakan ultraturrax dengan kecepatan 10.000 rpm selama 6 x 10 menit, dilanjutkan dengan sonikasi selama 30 menit. Proses homogenisasi dan pengecilan ukuran ini menghasilkan suspensi liposom yang lebih putih dan homogen. Proses yang sama dilakukan hingga didapatkan enam suspensi liposom yang terdiri dari tiga F1 (F1A; F1B; dan F1C) dan tiga suspensi F2 (F2A; F2B; dan F2C), seperti yang ditunjukkan oleh gambar 5.5 berikut :



Gambar 5.5 Suspensi Liposom Setelah Homogenisasi

5.3 Hasil Uji Evaluasi Liposom Minyak Cengkeh

5.3.1 Evaluasi Ukuran Partikel Liposom

Evaluasi ukuran partikel liposom dilakukan di *Advanced Materials Research Group*, Departemen Fisika, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Uji dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* Malvern Zetasizer Ver. 7.01 terhadap enam sampel F1 dan F2. Uji dilakukan dengan memasukan sampel ke dalam kuvet dan diukur ukuran partikelnya dengan metode DLS (*Dynamic Light Scattering*) sehingga didapatkan

diameter ukuran droplet dan indeks polidispersitas. Pengukuran dilakukan pada suhu 25,0 °C, kecepatan hitung (*count rate*) 263,5 kcps, posisi pengukuran 4,65 mm dan dalam waktu 60 detik. Ukuran partikel yang didapatkan F1 dengan rata-rata ± SD yaitu 654,07 ± 83,04 nm dan F2 dengan rata-rata ± SD yaitu 274,27 ± 123,78 nm. Untuk indeks polidispersitas, F1 menunjukkan hasil 0,626 ± 0,05 dan F2 yaitu 0,136 ± 0,07.

Hasil uji dapat dilihat pada tabel 5.2 dan 5.3 berikut :

Tabel 5.2 Ukuran Partikel Liposom Minyak Cengkeh

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

Tabel 5.3 Indeks Polidispersitas Liposom Minyak Cengkeh

Formula	Replikasi	Hasil	Rata-rata ± SD
1	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	

5.3.2 Evaluasi pH Liposom

Uji evaluasi pH dilakukan menggunakan pH meter digital dengan replikasi tiga kali sehingga didapatkan 18 data pH. Data tersebut akan dilihat apakah sudah memenuhi spesifikasi yang ditentukan yaitu dalam rentang pH kulit 4,5 – 6,5. Evaluasi pH dilakukan tiga kali replikasi untuk setiap formula. Dari keenam formula yang diuji, semuanya masuk pada spesifikasi pH yang ditetapkan. Nilai rata-rata ± SD pH F1

adalah $5,97 \pm 0,037$ dan rata-rata \pm SD pH F2 yaitu $6,04 \pm 0,02$ seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil pH F1 dan 2 Liposom

Formula	Replikasi	Hasil	Rata-rata \pm SD
F1A	1	5,93	$5,97 \pm 0,03$
	2	5,99	
	3	5,96	
F1B	1	5,99	$6,04 \pm 0,02$
	2	6,02	
	3	6,02	
F1C	1	5,93	$5,95 \pm 0,03$
	2	5,99	
	3	5,93	
F2A	1	6,10	$6,06 \pm 0,03$
	2	6,05	
	3	6,04	
F2B	1	6,03	$6,03 \pm 0,0057$
	2	6,03	
	3	6,02	
F2C	1	6,04	$6,03 \pm 0,01$
	2	6,04	
	3	6,02	

5.3.3 Uji Organoleptis Liposom

Uji evaluasi organoleptis suspensi liposom dilakukan dengan mengamati secara visual bentuk, bau dan warna. Karakteristik organoleptik suspense liposom F1A, F1B dan F1C yaitu berbentuk cair, bewarna putih tulang dan berbau khas cengkeh, begitu juga dengan F2A, F2B dan F2C. Sehingga dari kedua formula hasil yang didapatkan yaitu suspensi liposom berbentuk cair, bewarna putih tulang dan berbau khas minyak cengkeh, seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.5 berikut ini:

Tabel 5.5 Hasil Uji Organoleptis Suspensi Liposom

Formula	Karakteristik Organoleptik	Hasil
F1A	Bentuk	Cair
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Khas Cengkeh
F1B	Bentuk	Cair
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Khas Cengkeh
F1C	Bentuk	Cair
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Khas Cengkeh
F2A	Bentuk	Cair
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Khas Cengkeh
F2B	Bentuk	Cair
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Khas Cengkeh
F2C	Bentuk	Cair
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Khas Cengkeh

5.4 Hasil Evaluasi Sediaan Gel

Sediaan gel tanpa liposom dan zat aktif dibuat dan dilakukan evaluasi, untuk membandingkan karakteristik gel tanpa liposom dengan gel liposomal. Pembuatan gel ini menggunakan karbopol 940 sebagai basis. Karbopol yang telah didispersikan ke dalam akuades bebas CO₂ didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Hal ini dilakukan untuk memaksimalkan pendispersian karbopol sehingga didapatkan sediaan gel dengan konsistensi yang baik dan jernih seperti yang ditunjukkan pada gambar 5.6. Sediaan gel dibuat dengan replikasi tiga kali dan dilanjutkan dengan evaluasi.



Gambar 5.6 Gel dengan Basis Karbopol 940

5.4.1 Uji Organoleptis Gel

Uji evaluasi organoleptis gel dilakukan dengan mengamati secara visual bentuk, bau dan warna. Hasil evaluasi gel didapatkan bentuk semisolid, berwarna putih jernih dan tidak berbau. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan melihat secara visual melalui dua lempeng kaca berukuran sama, dan didapatkan gel yang homogen tanpa partikel kasar. Uji dilakukan terhadap ketiga replikasi gel dengan hasil seperti yang ditunjukkan pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Uji Organoleptis Gel

Replikasi	Karakteristik Organoleptik	Hasil
1	Bentuk	Semisolid
	Warna	Putih Jernih
	Bau	Tidak Berbau
	Homogenitas	Homogen
2	Bentuk	Semisolid
	Warna	Putih Jernih
	Bau	Tidak Berbau
	Homogenitas	Homogen

3	Bentuk	Semisolid
	Warna	Putih Jernih
	Bau	Tidak Berbau
	Homogenitas	Homogen

5.4.2 Uji Daya Lekat dan Daya Sebar Gel

Uji Daya lekat dilakukan dengan menggunakan dua lempeng kaca berukuran 14 x 14 cm. Kedua uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan daya lekat dan daya sebar gel ketika diaplikasikan di kulit. Hasil daya lekat rata-rata ± SD gel yaitu 34,67± 0,57 s dan daya sebar rata-rata ± SD yaitu 4,92 ± 0,07 g.cm/s. Uji dilakukan sebanyak 3 kali pada masing-masing sampel dengan hasil seperti pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Uji Daya Lekat dan Daya Sebar

Replikasi	Daya Lekat (s)	Rata-rata ± SD	Daya Sebar (g.cm/s)	Rata-rata ± SD
1	35	34,67± 0,57	4,91	4,92 ± 0,07
2	34		5,00	
3	35		4,86	

5.4.3 Uji pH Gel

Uji pH dilakukan untuk melihat apakah pH gel sudah masuk dalam rentang pH kulit, apabila belum maka akan dilakukan *adjust* pH menggunakan NaOH. Hasil uji pH rata-rata ± SD gel adalah 5,53 ± 0,01. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel 5.8 berikut:

Tabel 5.8 Hasil Uji pH Gel

Replikasi	Hasil	Rata-rata ± SD
1	5,53	5,53 ± 0,01
2	5,52	
3	5,54	

5.4.4 Uji Viskositas Gel

Uji viskositas dilakukan menggunakan viskometer. Rentang penerimaan viskositas untuk sediaan topikal gel sendiri adalah 2000 – 4000 cPs. Berdasarkan hasil uji, rata-rata viskositas gel adalah $3500 \pm 0,0$ sehingga konsistensi gel sesuai dengan spesifikasi. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada tabel 5.9 berikut :

Tabel 5.9 Hasil Uji Viskositas Gel

Replikasi	Hasil (cPs)	Rata-rata \pm SD
1	3500	$3500 \pm 0,0$
2	3500	
3	3500	

5.5 Hasil Evaluasi Gel Liposom Minyak Cengkeh

Sediaan gel yang sudah dibuat dan dievaluasi, dicampurkan dengan 20 mL suspensi liposom F2 seperti yang ditunjukkan oleh gambar 5.6. Pemilihan liposom F2 berdasarkan hasil uji evaluasi terhadap kedua formula liposom, dan didapatkan hasil bahwa F2 dengan komposisi kolesterol yang dua kali lipat lebih banyak menunjukkan karakteristik fisik yang lebih baik. Karakteristik fisik yang diuji yaitu ukuran partikel yang lebih kecil dengan reproduibilitas yang lebih baik dibandingkan dengan F1, serta ukuran partikel terdistribusi lebih seragam. Kemudian hasil uji evaluasi yang didapatkan dibandingkan dengan evaluasi gel sebelum dicampurkan dengan liposom.

Gambar gel liposomal dapat dilihat pada gambar 5.7.



Gambar 5.7 Gel Liposom Minyak Cengkeh

5.5.1 Uji Organoleptis Gel Liposomal

Uji evaluasi secara visual terhadap organoleptis sediaan gel liposom minyak cengkeh menunjukkan hasil yang sama untuk replikasi 1,2 dan 3 seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.10. Hasil yang didapatkan yaitu gel berbentuk semisolid, berwarna putih tulang, memiliki bau khas cengkeh dan homogenitas yang homogen tanpa adanya partikel kasar.

Tabel 5.10 Hasil Uji Organoleptis Gel Liposomal

Replikasi	Karakteristik Organoleptik	Hasil
1	Bentuk	Semisolid
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Bau khas cengkeh
	Homogenitas	Homogen
2	Bentuk	Semisolid
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Bau khas cengkeh
	Homogenitas	Homogen
3	Bentuk	Semisolid
	Warna	Putih Tulang
	Bau	Bau khas cengkeh
	Homogenitas	Homogen

5.5.2 Uji Daya Lekat dan Daya Sebar Gel Liposomal

Hasil uji daya lekat dan daya sebar pada sediaan gel liposom minyak cengkeh memiliki perbedaan dengan sediaan gel sebelum dimasukkan zat aktif. Daya lekat rata-rata ± SD yang didapatkan adalah 21,23 ± 0,49 s dan daya sebar dengan rata-rata ± SD 8,39 ± 0,08 (g.cm/s) seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.11.

Tabel 5.11 Hasil Uji Daya Lekat dan Daya Sebar Gel Liposomal

Replikasi	Daya Lekat (s)	Rata-rata ± SD	Daya Sebar	Rata-rata ± SD (g.cm/s)
1	20,9	21,23 ± 0,49	8,42	8,39 ± 0,08
2	21,0		8,47	
3	21,8		8,30	

5.5.3 Uji pH Gel Liposomal

Hasil uji pH gel liposom minyak cengkeh didapatkan dengan rata-rata ± SD 6,75 ± 0,02. Hasil ini didapatkan dari uji ketiga replikasi sediaan gel seperti yang ditunjukkan oleh tabel 5.12.

Tabel 5.12 Hasil Uji pH Gel Liposomal

Replikasi	Hasil	Rata-rata ± SD
1	6,77	6,75 ± 0,02
2	6,73	
3	6,74	

5.5.4 Uji Viskositas Gel Liposomal

Hasil uji viskositas gel setelah penambahan suspensi liposom adalah 1.500 ± 0,00. Viskositas gel menurun akibat penambahan suspensi liposom sebanyak 20 mL.

Hasil uji viskositas gel liposomal dapat dilihat pada tabel 5.13 berikut :

Tabel 5.13 Hasil Uji Viskositas Gel Liposomal

Replikasi	Hasil (cPs)	Rata-rata ± SD
1	2.200	2.200 ± 0,00
2	2.200	
3	2.200	

5.5.5 Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas Gel Liposomal

Ukuran partikel dan indeks polidispersitas partikel liposom dalam minyak cengkeh dievaluasi kembali untuk dibandingkan dengan data hasil evaluasi sebelum diformulasikan dalam sediaan gel. Pengukuran dilakukan setelah sediaan gel liposomal disimpan tiga hari pada suhu ruang. Hasil uji dapat dilihat pada table 5.14 dan 5.15 berikut.

Tabel 5.14 Ukuran Partikel Gel Liposom Minyak Cengkeh

Formula	Replikasi	Hasil (nm)	Rata-rata ± SD (nm)
2	A	206,4	196,0 ± 9,18
	B	189,0	
	C	192,6	

Tabel 5.15 Indeks Polidispersitas Gel Liposom Minyak Cengkeh

Formula	Replikasi	Hasil	Rata-rata ± SD
2	A	0,148	0,148 ± 0,02
	B	0,176	

C 0,122

5.6 Hasil Analisa Data

Uji analisa data dilakukan terhadap data ukuran partikel, indeks polidispersitas dan pH. Terdapat dua jenis uji yaitu uji t-tidak berpasangan untuk kedua formula liposom dan uji t-berpasangan untuk parameter karakteristik fisik gel liposomal. Pada kedua jenis uji tersebut, dilakukan uji analisa sebaran data menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji Kolmogorov-Smirnov, karena data yang digunakan memiliki sampel ≤ 50 . Pada sebaran data uji ukuran partikel dan indeks polidispersitas, didapatkan sebaran data normal dengan nilai $p > 0,05$ sehingga uji lanjutan dapat dilakukan. Sebaran data tidak normal ditemukan pada data pH, sehingga harus dilakukan konversi data terlebih dahulu menggunakan uji Wilcoxon. Setelah didapatkan sebaran data normal barulah uji selanjutnya dapat dilakukan. Pada pembuktian hipotesis 1 digunakan uji t- tidak berpasangan. Uji t-tidak berpasangan dilakukan untuk uji hipotesis komparatif, dengan skala pengukuran numerik dan jumlah sampel hanya 2 kelompok. Hasil yang didapatkan signifikan dengan nilai signifikansi 0,01 ($p < 0,05$). Pada uji pembuktian hipotesis 2 digunakan uji t-berpasangan dengan syarat jumlah sampel 2 kelompok dan untuk pengujian data numerik. Nilai signifikansi uji t-berpasangan yaitu 0,102 ($p > 0,005$). Data uji normalitas dan hasil analisa data lainnya dapat dilihat pada lampiran 6.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Pada penelitian ini, pembuatan gel liposomal minyak cengkeh dibuat dengan menjerap minyak cengkeh di dalam vesikel liposom dan diformulasikan dalam sediaan gel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui rasio kolesterol yang optimal dalam meningkatkan stabilitas fisik liposom, serta membuktikan bahwa pembuatan gel liposomal tidak mempengaruhi stabilitas dari liposom itu sendiri. Salah satu komponen yang penting dalam menjaga stabilitas fisik liposom adalah kolesterol. Penambahan kolesterol dalam jumlah yang sesuai dapat meningkatkan rigiditas liposom, sehingga mencegah kecenderungan liposom untuk beragregasi dan berflokulasi. Kolesterol akan berada di dalam membran lipid liposom dan menjaga rigiditas liposom dengan cara berikatan dengan kedua gugus polar fosfolipid.

Proses pembuatan liposom menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Pemilihan metode ini sendiri karena mudah untuk dilakukan dalam skala laboratorium serta dapat membentuk vesikel liposom hingga pada *Small Unilamellar Vesicle* (SUV) dengan penambahan metode sonikasi dan ultraturax. Sonikasi memanfaatkan gelombang suara untuk menggerakkan partikel dalam suatu larutan, hal ini menyebabkan perubahan energi listrik menjadi getaran fisik untuk memecah substansi atau partikel. Perubahan energi ini dapat mencampurkan larutan, mempercepat pelarutan zat padat ke dalam larutan dan menghilangkan gas terlarut dalam larutan (Dua, 2012).

Pada penelitian ini, ukuran partikel liposom diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* Malvern dengan prinsip DLS (*Dynamic Light Scattering*). Teknik ini mengukur difusi partikel yang bergerak di bawah gerak Brown, dan mengkonversikannya menjadi ukuran dan distribusi ukuran partikel menggunakan hubungan Stokes-Einstein. Selanjutnya dengan tambahan Teknologi *Non-Invasive Back Scatter* (NIBS), hasil pengukuran akan memberikan hasil dengan sensitivitas tertinggi dan rentang konsentrasi dinamis yang tinggi (malvernpanalytical.com, 2018).

Berdasarkan hasil pengukuran liposom sebelum dimasukkan ke dalam sediaan gel, didapatkan hasil ukuran rata-rata \pm SD partikel F1 yaitu $654,07 \pm 83,04$ nm dan F2 yaitu $274,27 \pm 123,78$ nm. Ukuran partikel F2 lebih kecil dibandingkan F1, dengan jumlah kolesterol dua kali lipat dari pada F1. Ukuran partikel ini memenuhi spesifikasi dan persyaratan ukuran partikel yang baik untuk sediaan topikal yaitu pada rentang 200 nm – 3 μ m. Ukuran partikel yg ≤ 3 μ m mampu menembus lapisan stratum korneum dengan baik, sedangkan untuk partikel > 10 μ m cenderung menetap di permukaan stratum korneum sehingga jumlah obat yang mencapai target tidak adekuat dan efek terapi tidak tercapai (Schaefer and Redelmeier, 1996). Kedua formula juga masuk dalam rentang ukuran vesikel liposom unilamellar besar (LUV) pada rentang 0,2 – 2 μ m (McNally dan Park, 2007).

Hasil uji indeks polidispersitas menunjukkan nilai indeks polidispersitas F1 adalah $0,626 \pm 0,05$ dan F2 yaitu $0,136 \pm 0,07$. Indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran partikel pada sampel, dimana semakin besar nilai indeks polidispersitas maka semakin luas distribusi ukuran dalam sampel dan sampel mengandung partikel besar ataupun hasil agregasi partikel yang lebih kecil. Pada partikel dengan ukuran 100-300 nm, nilai indeks polidispersitas yang baik adalah lebih

kecil dari 0,3 sehingga F2 memiliki ukuran partikel yang lebih seragam dan lebih stabil (Nanocomposix, 2012). Hal ini dapat disebabkan oleh jumlah kolesterol dalam F2 lebih banyak daripada F1. Kolesterol sendiri akan membantu meningkatkan rigiditas vesikel liposom, dan mencegah terjadinya agregasi dan flokulasi vesikel liposom. Ukuran partikel liposom yang kecil menyebabkan peningkatan gaya bebas dan tabrakan antar vesikel liposom. Aktivitas tersebut menyebabkan vesikel liposom mudah beragregasi membentuk vesikel yang lebih besar (Yadav *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil perhitungan, nilai Simpangan Deviasi (SD) pada uji ukuran partikel setiap F1 dan F2 cukup besar yaitu 83,04 dan 123,78. Kedua nilai ini menunjukkan bahwa replikasi kedua formula tidak reproduibel namun masih masuk dalam rentang ukuran yang diharapkan. Menurut Dua *et al* tahun 2012, ukuran rata-rata dan distribusi ukuran dipengaruhi oleh komposisi, suhu, waktu sonikasi, volume dan *sonicator tuning*. Hal ini menyebabkan hampir mustahil untuk mereproduksi ulang kondisi sonikasi, sehingga mengakibatkan adanya variasi ukuran antar *batch* yang diproduksi pada waktu yang berbeda. Selain itu, tingginya derajat kelengkungan pada membran liposom, menyebabkan vesikel liposom menjadi tidak stabil dan secara spontan menyatu dengan vesikel lain membentuk vesikel yang lebih besar jika disimpan di bawah suhu transisinya. Untuk itu, perlu dilakukan optimasi metode sonikasi terlebih dahulu meliputi suhu, waktu sonikasi, volume dan *sonicator tuning* untuk mendapatkan metode sonikasi yang optimum dan reproduibel.

Nilai SD uji indeks polidispersitas F1 dan F2 berturut-turut yaitu 0,05 dan 0,07. Apabila dibandingkan dengan uji ukuran partikel, dapat dilihat bahwa F1 dan F2 reproduibel terhadap distribusi ukuran partikel. Hal ini didukung oleh adanya penambahan kolesterol dalam pembuatan liposom. F2 dengan jumlah kolesterol yang

lebih banyak atau dua kali lipat dari F1, yang menunjukkan distribusi ukuran yang lebih merata. Hal ini membuktikan fungsi kolesterol dalam mempertahankan rigiditas vesikel liposom, sehingga mencegah adanya agregasi dan koalesensi vesikel liposom membentuk vesikel yang berukuran lebih besar. Selain itu, kolesterol juga mampu meningkatkan resistensi vesikel terhadap agregasi dan mengubah fluiditas interaksi intravesikel untuk membuatnya menjadi lebih kaku (Yadav *et al.*, 2011).

Uji evaluasi liposom dilanjutkan dengan uji pH. Hasil uji pH liposom F1 dan F2 berturut-turut yaitu $5,97 \pm 0,037$ dan $6,04 \pm 0,02$. Nilai pH kedua sediaan masuk dalam spesifikasi rentang pH kulit yaitu 5,0 – 6,8 (Ansari, 2009). Selanjutnya dilakukan analisa data pH, ukuran partikel dan indeks polidispersitas liposom menggunakan uji t-tidak berpasangan.

Uji analisa data diawali dengan uji normalitas Shapiro-wilk karena data berupa data analitik dengan sampel ≤ 50 . Uji normalitas menunjukkan hasil signifikansi 0,548 yang menunjukkan bahwa sebaran data pH normal karena memenuhi persyaratan nilai kemaknaan ($p \geq 0,05$). Hasil uji normalitas dapat dilihat di lampiran 6 gambar 1. Pada hasil uji t-tidak berpasangan didapatkan hasil $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang bermakna antara nilai pH dengan penambahan jumlah kolesterol pada kedua formulasi liposom. Selanjutnya dilihat sebaran data pada uji ukuran partikel liposom. Pada uji Shapiro-Wilk, didapatkan nilai kemaknaan ($p \geq 0,05$) yang menunjukkan sebaran data normal. Pada uji t-tidak berpasangan didapatkan nilai signifikansi 0,12 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang bermakna antara ukuran partikel liposom dengan penambahan jumlah kolesterol pada kedua formulasi liposom. Analisa data dilanjutkan terhadap indeks polidispersitas liposom dengan langkah yang sama. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk

didapatkan sebaran data normal dengan signifikansi 0,13 ($p > 0,05$). Selanjutnya didapatkan nilai kemaknaan uji t-tidak berpasangan yaitu 0,01 ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna dari perbedaan jumlah kolesterol dalam kedua formula liposom terhadap nilai indeks polidispersitas atau keseragaman distribusi ukuran partikel dalam liposom. Hasil uji analisa data dapat dilihat pada lampiran 6.

Pada hasil evaluasi sediaan gel tanpa liposom zat aktif, didapatkan hasil uji organoleptis yaitu gel memiliki warna putih jernih, tidak berbau, homogen, dan memiliki konsistensi yang baik. Setelah ditambahkan dengan liposom minyak cengkeh, evaluasi organoleptis sediaan menunjukkan warna putih tulang, homogen dan memiliki bau khas cengkeh. Perubahan ini disebabkan oleh penambahan liposom dengan warna putih tulang dan bau khas cengkeh yang kuat sebanyak 20 mL ke dalam sediaan gel. Pada uji pH, nilai rata-rata pH gel awal adalah $5,53 \pm 0,01$ dan rata-rata pH akhir gel liposomal yaitu $6,75 \pm 0,02$. Kenaikan pH ini disebabkan karena penambahan trietanolamin dalam sediaan akhir gel liposomal sebanyak 5 tetes. Penambahan ini bertujuan untuk meningkatkan viskositas dan memperbaiki konsistensi gel setelah penambahan suspensi liposom. Trietanolamin (TEA) selain berfungsi sebagai peningkat viskositas gel, juga berfungsi sebagai *alkalizing agent*.

Trietanolamin memiliki pH 10,5 (dalam 0,1 N larutan berair) sehingga tergolong pada basa kuat (Pubchem, 2018).

Uji evaluasi selanjutnya adalah daya sebar dan daya lekat. Daya sebar rata-rata gel awal adalah $4,92 \pm 0,07$ g.cm/s dengan daya lekat rata-rata yaitu $34,67 \pm 0,57$ s. Sedangkan nilai daya sebar rata-rata gel akhir adalah $8,39 \pm 0,08$ g.cm/s dengan daya lekat rata-rata yaitu $21,23 \pm 0,49$ s. Satuan daya sebar g.cm/s dan daya lekat

dalam detik mengacu pada metode Avinash et.,al tahun 2016. Daya sebar menunjukkan kemampuan gel dalam jumlah tertentu (g) untuk menyebar pada diameter tertentu (cm) tiap satuan waktu (s) (Avinash et al., 2016). Nilai daya sebar rata-rata gel mengalami peningkatan hampir dua kali lipat dibandingkan sebelum penambahan suspensi liposom. Menurut Danimayostu 2017, nilai daya sebar yang baik berkisar pada diameter 5 – 7 cm, dengan daya lekat >4 detik. Daya sebar gel sediaan tidak masuk dalam rentang tetapi sudah baik ketika diaplikasikan di kulit. Peningkatan daya sebar ini disebabkan oleh penurunan viskositas gel setelah ditambahkan suspensi liposom. Sedangkan untuk daya lekat, sediaan gel liposomal minyak cengkeh sudah memenuhi spesifikasi yang ditetapkan. Sediaan semisolid seperti gel hendaknya memenuhi spesifikasi daya sebar dan daya lekat yang ditetapkan karena berhubungan dengan efikasi terapi. Penghantaran obat dalam dosis yang sesuai sangat tergantung pada daya sebar daya lekat sediaan topikal di kulit. Apabila daya sebar sediaan rendah, jumlah obat atau zat aktif yang kontak dengan kulit menjadi sedikit, dan jumlah obat yang mencapai situs target juga sedikit dan dapat menurunkan efikasi terapi. Begitu juga dengan daya lekat, apabila terlalu rendah maka waktu kontak obat di kulit hanya sebentar, hal ini juga dapat menurunkan efek terapi obat. Hal ini disebabkan oleh obat dalam sediaan gel membutuhkan waktu > 4 detik untuk mampu menembus lapisan epidermis kulit dan terakumulasi di situs target (Garg et al., 2002).

Pada uji evaluasi viskositas, nilai viskositas rata-rata sediaan gel awal adalah $3500 \pm 0,00$ cPs dan nilai viskositas akhir adalah $2.200 \pm 0,00$ cPs. Kedua nilai viskositas gel memenuhi spesifikasi yang ditetapkan untuk sediaan semisolid yaitu berkisar antara 2.000 - .4000 cPs (Garg, 2002). Terjadinya penurunan viskositas

setelah penambahan liposom adalah karena wujud suspensi liposom ketika ditambahkan, konsistensi gel menjadi lebih cair sehingga ditambahkan trietanolamin.

Trietanolamin ditambahkan sebanyak 5 tetes untuk meningkatkan viskositas gel, hingga didapatkan gel dengan viskositas dan konsistensi yang sesuai dengan spesifikasi yang telah ditetapkan.

Pembuatan gel liposomal minyak cengkeh menggunakan liposom formula kedua. Pada uji ukuran partikel, sediaan gel menunjukkan hasil dengan rata-rata \pm SD yaitu $196,0 \pm 9,18$ nm dengan indeks polidispersitas rata-rata \pm SD yaitu $0,148 \pm 0,02$.

Berdasarkan hasil uji tersebut, ukuran partikel gel liposomal minyak cengkeh masih berada pada rentang yang dapat menembus lapisan stratum korneum yaitu $\leq 3 \mu\text{m}$.

Hasil uji tersebut mengalami penurunan nilai jika dibandingkan dengan ukuran partikel dan indeks polidispersitas F2 liposom sebelum diformulasikan dalam sediaan gel yaitu $274,27 \pm 123,78$ untuk ukuran partikel dan $0,136 \pm 0,07$ untuk indeks polidispersitas. Adanya pengecilan ukuran dan distribusi ukuran yang semakin baik dapat disebabkan oleh homogenisasi kembali sediaan gel ketika sudah ditambahkan liposom, menggunakan homogenizer kecepatan 500 rpm selama 20 menit. Ketika distirrer kembali, partikel-partikel liposom dapat menyusun kembali vesikel-vesikelnya membentuk ukuran yang lebih kecil. Selain itu, distribusi ukuran yang semakin baik dapat dipengaruhi oleh adanya carbopol, sebagai polimer turunan asam akrilat dapat memberikan efek protektif terhadap matriks hidrogel dan rigiditas liposom (Schubert, 2001).

Hubungan ukuran partikel dan indeks polidispersitas liposom dalam sediaan gel liposomal dianalisis menggunakan uji t-berpasangan, dengan syarat jumlah kelompok yaitu 2 kelompok, jenis hipotesis komparatif, skala variable numerik dan

data berpasangan. Untuk data ukuran partikel liposom, didapatkan sebaran data normal pada uji Shapiro-Wilk dengan nilai $p > 0,005$ sehingga uji t-berpasangan dapat dilanjutkan. Hasil uji t-berpasangan menunjukkan nilai signifikansi 0,386 ($p > 0,05$) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ukuran partikel liposom sebelum dan sesudah dimasukkan ke dalam sediaan gel. Uji dilanjutkan terhadap nilai indeks polidispersitas liposom. Hasil uji normalitas menunjukkan sebaran data normal dengan nilai signifikansi t-berpasangan yaitu 0,856 ($p > 0,05$) yang juga mendukung hipotesis kedua bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ukuran partikel liposom sebelum dan sesudah dimasukkan ke dalam sediaan gel. Uji terakhir dengan parameter pH, didapatkan sebaran data tidak normal ($p < 0,005$) sehingga dilakukan transformasi data menggunakan uji Wilcoxon. Setelah sebaran data normal, barulah dilakukan uji t-berpasangan dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,102 ($p < 0,005$). Berdasarkan uji statistik di atas dapat disimpulkan bahwa hipotesis dua diterima, yaitu pembuatan gel liposomal tidak mempengaruhi stabilitas liposom baik sebelum dan sesudah dibuat dalam sediaan gel dengan parameter stabilitas fisik yang telah ditetapkan. Parameter yang diukur dalam penelitian ini yaitu ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Adanya polimer turunan asam akrilat dan polietilen oksida mampu memberikan efek protektif terhadap rigiditas vesikel dan meningkatkan penghantaran obat ke situs target. Hasil penelitian ini juga didukung oleh penelitian lain yang menunjukkan bahwa adanya peningkatan jumlah obat yang terenkapsulasi dalam vesikel liposom, dari 60% menjadi 80% setelah liposom diformulasikan dalam sediaan gel (Schubert, 2001).

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian

Dari data hasil penelitian ini, penambahan kolesterol dalam sediaan liposom dapat membantu menjaga stabilitas fisik liposom sehingga dapat menjadi sumber informasi dan referensi bagi peneliti ataupun akademisi dalam melakukan formulasi sistem penghantaran obat liposom. Pembuatan gel liposomal dapat dikembangkan untuk meningkatkan efek terapi karena stabilitas fisik liposom yang tidak terpengaruh oleh proses pembuatan sediaan gel itu sendiri.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini sendiri adalah belum dilakukan uji evaluasi efisiensi penjerapan dan morfologi liposom. Sehingga dapat dilanjutkan pada penelitian selanjutnya untuk melihat efektifitas penjerapan liposom dalam menjerap zat aktif minyak cengkeh (*entrapment efficiency*), serta melihat morfologi liposom menggunakan mikroskop elektron.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Formula liposom minyak cengkeh yang optimal didapatkan dari rasio kolesterol yang lebih tinggi yaitu F2 dengan perbandingan fosfatidilkolin: kolesterol yaitu 9 : 2.
2. Tidak terdapat perubahan yang signifikan terhadap ukuran dan indeks polidispersitas liposom minyak cengkeh dalam sediaan gel liposomal.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah dapat dilakukan optimasi metode sonikasi terlebih dahulu meliputi suhu, waktu sonikasi, volume dan *sonicator tuning* untuk mendapatkan metode sonikasi yang optimum dan menghasilkan ukuran liposom yang lebih reproduibel.

DAFTAR PUSTAKA

A. Jain, P. Deveda, N. Vyas, J. C. (2012) 'Development of antifungal emulsion based gel for topical fungal infection', *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 2(12), pp. 18–25.

Akrachalanont, P. (2008) 'Preparation and Evaluation of Liposome Containing Clove Oil', *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(1), pp. 1–10.

Ali, S. M. et al. (2005) 'Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*', *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 4, pp. 1–7. doi: 10.1186/1476-0711-4-20.

Argan, N. and Harikumar, S. L. (2012) 'Topical Liposomal Gel: A Novel Drug Delivery System', *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 2(2), pp. 383–391.

Armengol, X. and Estelrich, J. (1995) 'Physical stability of different liposome compositions obtained by extrusion method', *Journal of Microencapsulation*, 12(5), pp. 525–535. doi: 10.3109/02652049509006783.

Avinash, S. et al. (2016) 'Formulation and evaluation of topical gel using *Eupatorium glandulosum* michx. for wound healing activity', *Der Pharmacia Lettre*, 8(9), pp. 52–63.

Campana, R. et al. (2006) 'Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: Health risk and efficacy of preservative systems', *Letters in Applied Microbiology*, 43(3), pp. 301–306. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01952.x

Chosidow, O. and Ph, D. (2006) 'Scabies'.

Fujisawa, S., Kadoma, Y. and Yokoe, I. (2004) 'Radical-scavenging activity of

butylated hydroxytoluene (BHT) and its metabolites', *Chemistry and Physics of Lipids*, 130(2), pp. 189–195. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2004.03.005.

Garcinia, L. (2015) 'Formulation and Penetration Study of Liposome Xanthone of Mangosteen Pericarp Methanol Extract', *International Journal of Scientific and Research Publications*, 5(12), pp. 434–439.

Ger et al. 2002. Spreading of Semisolid Formulations An Update. *Pharmaceutical Technology*, 84-97.

Hengge, U. R. et al. (2006) 'Scabies: a ubiquitous neglected skin disease', *Lancet Infectious Diseases*, 6(12), pp. 769–779. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70654-5.

Heukelbach, J. and Feldmeier, H. (2006) 'Scabies', *Lancet*, 367(9524), pp. 1767–1774. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68772-2.

Höferl, M. et al. (2014) 'Chemical Composition and Antioxidant Properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) Essential Oil. Action of the Essential Oil on the Antioxidant Protection of *Saccharomyces cerevisiae* Model Organism', *Antioxidants*, 3(1), pp. 81–98. doi: 10.3390/antiox3010081.

Kamatou, G. P., Vermaak, I. and Viljoen, A. M. (2012) 'Eugenol - From the remote Maluku Islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule', *Molecules*, 17(6), pp. 6953–6981. doi: 10.3390/molecules17066953.

Karande, P. and Mitragotri, S. (2009) 'Enhancement of transdermal drug delivery via synergistic action of chemicals', *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. Elsevier B.V., 1788(11), pp. 2362–2373. doi: 10.1016/j.bbamem.2009.08.015.

Katsarou, A. et al. (2012) 'Skin diseases in Greek and immigrant children in Athens',

International Journal of Dermatology, 51(2), pp. 173–177. doi: 10.1111/j.1365-4632.2011.04948.x.

Leung, V. and Miller, M. (2011) 'Detection of scabies: A systematic review of diagnostic methods.', *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology*, 22(4), pp. 143–6. doi: 10.1155/2011/698494.

Li, J. et al. (2014) 'A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems', *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Elsevier Ltd, 10(2), pp. 81–98. doi: 10.1016/j.ajps.2014.09.004.

Mahé, A. et al. (2005) 'Definition of an algorithm for the management of common skin diseases at primary health care level in sub-Saharan Africa', *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(1), pp. 39–47. doi: 10.1016/j.trstmh.2004.03.008.

Malubag, M. A. et al. (2018) 'Issn: 2277–4998', 7(7), pp. 1324–1334.

Moghimpour, E. et al. (2012) 'Preparation and characterization of liposomes containing essential oil of Eucalyptus camaldulensis leaf', *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 7(3), pp. 117–122. doi: 10.5812/jjnpp.5261.

Otero, L. et al. (2004) 'Sarcoptes scabiei in a sexually transmitted infections unit: A 15-year study', *Sexually Transmitted Diseases*, 31(12), pp. 761–765. doi: 10.1097/01.olq.0000145853.35574.18.

Oyedemi, S. O. et al. (2009) 'The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, -terpineol and γ γ γ γ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*', *African Journal of Biotechnology*, 8(7), pp. 1280–1286. doi: 10.4314/ajb.v8i7.60106.

Pasay, C. et al. (2010) 'Acaricidal activity of eugenol based compounds against

- scabies mites', *PLoS ONE*, 5(8), pp. 1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0012079.
- Rathod, H. J. and Mehta, D. P. (2015) 'A Review on Pharmaceutical Gel', *Acta Scientifica International Journal of Pharmaceutical Science Citation International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), pp. 33–47.
- Schubert, R. (2001) 'Liposomal gels for vaginal drug delivery', 219, pp. 139–149.
- Shoji, Y. and Nakashima, H. (2004) 'Nutraceuticals and delivery systems', *Journal of Drug Targeting*, 12(6), pp. 385–391. doi: 10.1080/10611860400003817.
- Singh, R. (2015) 'A Review on Liposome', *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*, 7(3), p. 226. doi: 10.5958/0975-4377.2015.00033.6.
- Wong, S. S. Y. et al. (2015) 'Development of Conventional and Real-Time Quantitative PCR Assays for Diagnosis and Monitoring of Scabies', *Journal of Clinical Microbiology*, 53(7), pp. 2095–2102. doi: 10.1128/JCM.00073-15.
- Yadav, A. V. et al. (2011) 'Stability aspects of liposomes', *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45(4), pp. 402–413. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.01.020>.