

Formulasi *Natrium Ascorbyl Phosphate* dalam Mikroemulsi A/M VCO

*Tri Suciati dan Lisa Patricia

*Kelompok Keilmuan Farmasetika, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung,
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132*

Abstrak

Dilakukan pengembangan formulasi mikroemulsi A/M untuk menghasilkan permeasi tertinggi dari *Natrium Ascorbyl Phosphate* (NAP) sebagai turunan vitamin C yang stabil. Mikroemulsi dibuat dengan menggunakan VCO sebagai basis minyak, gliserin sebagai kosurfaktan, dan kombinasi Tween 80 – Span 80 sebagai surfaktan. Hasil mikroemulsi diperoleh pada konsentrasi surfaktan 27,5% dengan rasio Tween 80-Span 80 3:1, konsentrasi kosurfaktan gliserin 30%, dan fasa dalam 15%. Pada pengamatan organoleptik, sediaan mikroemulsi memiliki penampilan jernih kuning tanpa pemisahan fasa setelah dilakukan uji sentrifuga, *freeze-thaw*, dan penyimpanan 28 hari di suhu ruang dan 40°C. Sediaan memiliki viskositas rata-rata 375 cps dan pH rata-rata 6,80±0,21 dengan jumlah rata-rata NAP terdifusi 850,56 µg/cm² atau sebanyak 75,75% selama 8 jam penentuan *in vitro* dengan membran kulit ular. Mikroemulsi A/M berpotensi untuk dikembangkan sebagai pembawa NAP dalam kosmetik anti-kerut.

Kata kunci: mikroemulsi, NAP, vitamin C, VCO.

Abstract

Optimization of formulation was done to develop a W/O microemulsion formulation to yield highest diffusion of *Natrium Ascorbyl Phosphate* (NAP) as the stable form of vitamin C. Microemulsions were made using VCO as the oil phase, options of ethanol or glycerin as cosurfactant, and combination of Tween 80 and Span 80 as surfactants. Microemulsion was obtained at surfactant concentration of 27.5% with a 3:1 ratio of Tween80-Span80, 30% of glycerin as cosurfactant, and 15% of the inner phase. The organoleptic of preparations had a clear, transparent yellowish appearance without phase separation after centrifugation test, freeze-thaw test, and 28 days of storage at room temperature and 40°C. Preparations had 375 cps of average viscosity and 6.80±0.2 pH with 850.56µg/cm² or 75.75% of NAP diffused after 8 hours *in vitro* testing using snake's skin as the membrane. Microemulsion W/O is potential to be developed as a carrier for NAP in anti-wrinkle cosmetics.

Keywords: microemulsion, NAP, vitamin C, VCO.

Pendahuluan

Vitamin C dipakai dalam produk topikal karena dapat meningkatkan produksi kolagen. Di dalam dermis, vitamin C berperan sebagai katalis dalam reaksi enzimatik yang mengkonversi asam amino prolin menjadi kolagen (Pauling 1986). Namun, vitamin C mudah teroksidasi udara dan terdegradasi oleh cahaya sehingga produk kosmetik telah banyak menggunakan turunan vitamin C yang bersifat lebih stabil. Pada penelitian ini, dipilih NAP (*Natrium Ascorbyl Phosphate*) yang merupakan turunan vitamin C sebagai zat aktif, karena NAP memiliki beberapa kelebihan seperti lebih stabil, lebih tidak iritatif, dan memiliki potensi sama seperti vitamin C. NAP akan diubah dalam kulit menjadi vitamin C melalui reaksi enzimatik. Namun, sama seperti vitamin C, NAP juga bersifat larut air sehingga diperlukan sediaan yang mampu menembus lapisan lipid pada kulit. Sediaan juga harus mampu melindungi zat aktif dari lingkungan karena biarpun NAP bersifat lebih stabil, NAP tetap terdegradasi oleh faktor lingkungan (udara dan cahaya). Karena

itu, dipilih sediaan mikroemulsi air dalam minyak untuk memenuhi kriteria tersebut.

Mikroemulsi merupakan campuran air, minyak, surfaktan dan kosurfaktan yang bersifat jernih, stabil secara termodinamik dan isotropik dengan ukuran globul 10-200 nm sehingga diperlukan surfaktan dengan konsentrasi tinggi. Sistem mikroemulsi lebih baik sebagai penghantar obat dibandingkan makroemulsi biasa karena meningkatnya kapasitas dalam melarutkan obat, transparansi, difusi tinggi, dan penyerapan yang lebih baik.

Tujuan dari penelitian ini untuk menghasilkan formulasi mikroemulsi turunan vitamin C dengan basis VCO. NAP larut di fasa air, kemudian didispersikan dalam ukuran nano di dalam basis minyak. Basis ini mudah menembus lapisan lipid kulit, membawa globul-globul mengandung zat aktif. Penetrasi menuju dermis ditingkatkan karena ukuran globul yang kecil, sehingga lebih mudah berdifusi pasif. Zat aktif juga terlindungi dari lingkungan

*Penulis korespondensi. E-mail: tri.suciati@fa.itb.ac.id

karena adanya basis minyak yang melindungi zat aktif di fasa dalam.

Percobaan

Bahan

NAP (Otto), VCO (SITH ITB), Tween 80, Span 80 (Tritunggal), gliserin, etanol, aquadest.

Alat

Alat pengaduk listrik (Eurostar), viskometer Brookfield®, timbangan gram (Sastorius), timbangan milligram (AG204), Delsa Nano C *particle size analyzer*, pH meter (Beckman), alat sentrifuga, gelas piala, gelas ukur, pipet, labu takar, cawan, tabung sentrifuga, vial, dan sel difusi.

Prosedur

Pengembangan formula basis mikroemulsi

Dilakukan optimisasi dengan variasi perbandingan surfaktan Tween 80- Span 80 (Smix), variasi kosurfaktan, dan fasa dalam. Variasi Smix dimulai dari 1:1 sampai 3:1. Kemudian sediaan dibuat sesuai dengan cara pembuatan mikroemulsi untuk masing-masing rasio Smix. Setelah diperoleh rasio Smix paling optimum, dilakukan variasi konsentrasi Smix – air untuk memperoleh konsentrasi Smix paling sedikit yang diperlukan untuk memperoleh mikroemulsi yang stabil. Pemilihan kosurfaktan antara gliserin dan etanol juga berdasarkan konsentrasi kosurfaktan paling sedikit untuk mikroemulsi yang stabil. Setelah diperoleh kadar surfaktan dan kosurfaktan, optimisasi fasa dalam dilakukan dengan variasi air – minyak dimana konsentrasi air terhadap minyak ditingkatkan bertahap. Mikroemulsi dibuat dengan memanaskan fasa minyak (VCO, Span 80) dan fasa air (aquadest, Tween 80, gliserin) pada dua cawan penguap terpisah sampai suhu 40° C. Kemudian kedua fasa dicampur dalam gelas kimia, diaduk dengan stirrer pada kecepatan 220 rpm selama 15 menit. Pada optimisasi dengan etanol, penambahan etanol dilakukan saat pengadukan.

Pembuatan mikroemulsi dengan NAP

NAP dilarutkan dalam fasa air. Kemudian fasa minyak dan fasa air diperlakukan dengan cara pembuatan mikroemulsi.

Evaluasi

a) Efek *tyndall*

Sediaan dilewatkan dengan sinar laser (dari *pointer*) untuk mengamati efek *tyndall*.

b) Penentuan ukuran globul

Penentuan ukuran globul dilakukan dengan alat Delsa Nano C *particle size analyzer*. Sediaan dimasukkan

dalam kuvet, kemudian dianalisis dengan alat Delsa tersebut.

c) Uji stabilita

Stabilita sediaan ditentukan dengan uji sentrifuga, *freeze-thaw*, pengukuran pH dan viskositas. Sediaan disimpan selama 28 hari pada suhu 40°C dan kelembapan 75%. Dibuat 3 *batch* lalu dimasukkan ke dalam *climatic chamber*. Pengukuran pH dan viskositas dilakukan pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21, dan hari ke-28.

d) Uji sentrifuga

Sediaan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuga, disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Setiap 1 jam diamati ada tidaknya pemisahan fasa.

e) Uji *freeze-thaw*

Disiapkan 7 vial, sediaan dimasukkan ke dalam setiap vial sebanyak 2 g. Satu vial dipakai sebagai control, disimpan pada suhu 25°C. Enam vial lain digunakan untuk siklus *freeze-thaw*, sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam, dipindahkan pada suhu 40°C selama 48 jam, selama 6 siklus. Setiap selesai 1 siklus, diamati terjadinya pemisahan fasa.

f) Uji difusi

Uji difusi dilakukan untuk menentukan banyaknya zat aktif yang dapat berdifusi dari sediaan masuk ke dalam cairan penerima. Proses ini mewakili difusi zat aktif dari permukaan kulit masuk ke dalam darah. 1 gram mikroemulsi diratakan pada sel difusi. Membran kulit ular diletakkan di atasnya, sel dijepit lalu ditutup. Thermostat dinyalakan sampai suhu mencapai 32°C, pH cairan penerima diatur pada pH 7.4 dengan dapar Na_2HPO_4 KH_2PO_4 . Sampel diambil selama 8 jam setiap interval 30 menit, sebanyak 5 ml. setiap pengambilan sampel diganti dengan penambahan cairan donor 5 ml. Kadar pada setiap sampel diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 261 nm.

Hasil dan Pembahasan

Sediaan mikromulsi dibuat untuk menghasilkan penetrasi dan permeasi terbaik untuk NAP ke dalam dermis. Penampilan jernih menjadi indikasi dalam optimisasi mikroemulsi. Optimisasi pertama dilakukan terhadap perbandingan Tween 80 dan Span 80.

Dari data, terlihat bahwa ada beberapa pilihan rasio yang dapat menghasilkan kejernihan. Penambahan kosurfaktan etanol bervariasi, tergantung jumlah yang diperlukan untuk menghasilkan kejernihan. Rasio 3:1 membutuhkan paling sedikit etanol yaitu sebanyak

6%. Untuk menentukan rasio, percobaan diulang dengan diikuti penambahan air. Diamati jumlah air yang dapat ditambah ke dalam sistem sebelum terjadi kekeruhan.

Tabel 1. Optimasi Rasio Tween 80 – Span 80

Rasio Tween 80 – Span 80	Konsentrasi etanol(%)	Hasil
2:1	8	keruh
1:1	8	jernih
2:3	10	keruh
3:2	8	jernih
3:1	6	jernih
4:1	10	keruh

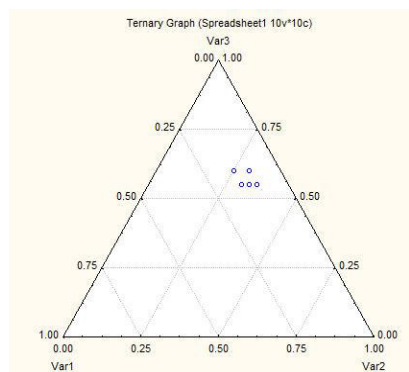
Tabel 2. Konsentrasi Maksimum Air yang Dapat Dikorporasikan dalam Mikroemulsi

Rasio Tween 80-Span 80	% air ^{a)}
2:1	10
1:1	13
2:3	9
3:2	7,4
3:1	14,2
4:1	12,5

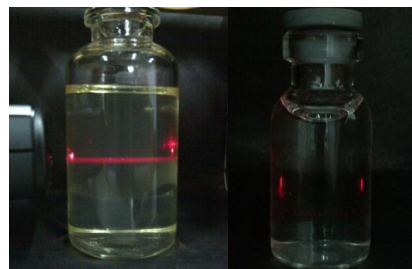
Keterangan: a) total penambahan air hingga diperoleh mikroemulsi yang keruh.

Rasio Tween 80 – Span 80 3:1 adalah yang paling baik dalam *me-loading* air ke dalam sistem emulsi. Pada optimasi dengan variasi konsentrasi surfaktan sampai 31% juga diperoleh bahwa rasio 3:1 yang membutuhkan paling sedikit etanol untuk mencapai kejernihan. Dipilih rasio Smix 3:1 untuk optimasi berikutnya.

Dengan kadar minyak masih tetap, dibuat variasi konsentrasi antara surfaktan - air. Data menunjukkan diperlukan surfaktan diatas 30% untuk menghasilkan kejernihan. Pada optimasi fasa dalam, variasi dilakukan dengan kadar surfaktan tetap, yaitu 31% dan rasio minyak-air yang berubah. Diperoleh kadar air terbesar yang dapat terkorporasi sebanyak 16%. Namun setelah dilarutkan zat aktif ke dalam air, sediaan menjadi keruh. Konsentrasi surfaktan yang dinaikkan sampai 36% tetap menghasilkan kekeruhan.



Gambar 1. Diagram tiga fasa mikroemulsi.



Gambar 2. Pengamatan efek *tyndall* sinar laser yang dilewatkan pada (A) mikro-emulsi dan (B) air.

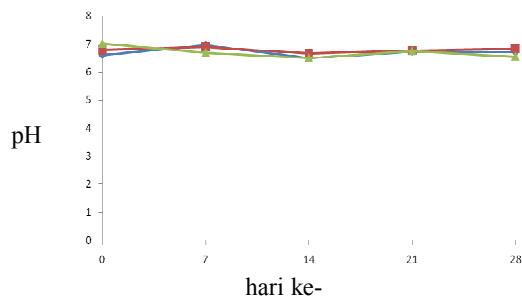
Tabel 3. Optimasi Konsentrasi Surfaktan – Air – Minyak

Formula	Persentase komponen				Pengamatan
	Tween 80 – Span 20	Gliserin	VCO	Air	
A	30	30	30	10	jernih
B	30	25	30	15	keruh
C	30	30	25	15	jernih
D	27,5	27,5	32,5	12,5	jernih
E	25	30	32,5	12,5	keruh
F	27,5	27,5	35	10*	keruh
G	27,5	27,5	32,5	12,5*	keruh
H	30	30	25	15*	keruh
I	27,5	30	27,5	15*	jernih
J	30	27,5	27,5	15*	jernih

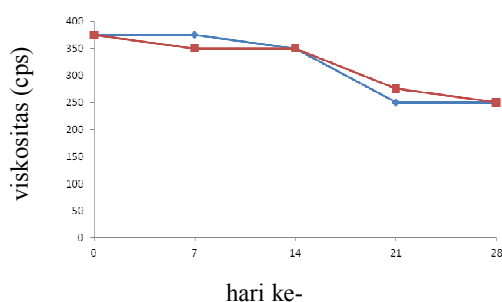
*ditambahkan NAP

Tabel 4. Hasil Evaluasi pH Selama 28 Hari

Minggu	Suhu 40 °C	Suhu 25 °C
	Rataan±SD	pH kontrol
0	6,69±0,13	7,02
7	6,92±0,04	6,69
14	6,58±0,11	6,5
21	6,75±0,028	6,75
28	6,76±0,091	6,7

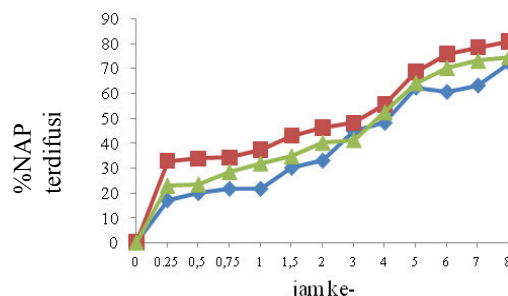
**Gambar 3.** Variasi pH dari mikroemulsi yang disimpan pada suhu 40 °C dan 20°C. Keterangan: ♦ batch 1; ■ batch 2; ▲ kontrol.**Tabel 5.** Viskositas Mikroemulsi yang Disimpan pada Suhu 40°C

Minggu	Rataan±SD
0	375
7	362,5±17,67
14	350
21	262,5±17,67
28	250

**Gambar 4.** Viskositas mikroemulsi pada penyimpanan suhu 40 °C. Keterangan: ♦ batch 1; ■ batch 2.

Dengan penggunaan etanol sebagai kosurfaktan tunggal tanpa gliserin, dapat dihasilkan sediaan yang jernih dengan konsentrasi surfaktan minimal 28%, namun muncul endapan setelah dibiarkan sehari pada semua rasio minyak - air di sediaan.

Optimasi dilanjutkan dengan penggunaan gliserin tanpa etanol. Konsentrasi gliserin ditingkatkan menjadi 30%. Hasil optimasi dipaparkan dalam Tabel 3.

**Gambar 5.** Kurva difusi NAP dari sediaan (n= 3). Keterangan: ♦ n = 1; ■ n = 2; ▲ n = 3.**Tabel 6.** Difusi Sediaan Selama 8 Jam

waktu	Rataan±SD	
	$C_{\mu\text{g}/\text{cm}^2}$	NAP terdifusi (%)
15 menit	234,91±41,21	24,01±6,73
30 menit	269,48±24,13	25,63±5,89
45 menit	288,58±23,75	28,01±5,14
60 menit	305,193±38,13	30,24±6,53
90 menit	389,14±21,69	35,85±5,35
2 jam	409,25±21,93	39,68±5,42
3 jam	505,39±45,46	44,67±2,83
4 jam	578,51±52,7	51,90±3,02
5 jam	699,61±55,26	64,93±2,6
6 jam	727,71±50,87	68,76±6,3
7 jam	788,33±53,41	71,50±6,41
8 jam	850,56±27,15	75,75±3,78

Formula D dipilih karena mengandung konsentrasi surfaktan terkecil. Namun setelah terkorporasi zat aktif, hasilnya keruh (formula G). Dilakukan optimasi lagi untuk dengan meningkatkan konsentrasi surfaktan dan fasa air. Setelah terkorporasi zat aktif, terlihat bahwa diperlukan total surfaktan – kosurfaktan sebanyak 57,5% dari sediaan untuk menghasilkan kejernihan sementara 55% surfaktan – kosurfaktan akan cukup jika zat aktif belum

dilarutkan ke dalam fasa air. Dipilih formula I karena surfaktan lebih iritan dibandingkan gliserin sehingga konsentrasi surfaktan rendah lebih dipilih daripada konsentrasi gliserin yang rendah.

Diagram 3 fasa diperoleh dengan STATISTICA 7. Daerah mikroemulsi dapat dilihat pada area dengan lingkaran putih. Pada karakterisasi mikroemulsi, sediaan memiliki efek *tyndall* saat dilewati sinar laser.

Penentuan ukuran globul tidak dapat dilakukan karena sediaan sangat kental untuk dibaca dengan menggunakan Delsa Nano. Hasil uji pH menghasilkan pH 8, terlalu basa untuk pemakaian kulit sehingga ditambah dapar fosfat pH 6,4 dengan prosedur pembuatan berdasarkan FI. Dilakukan pengukuran pH selama 4 minggu pada suhu 40 °C dan suhu 25 °C sebagai pembanding. Hasil evaluasi pH dalam 4 minggu pada 2 batch.

Hasil uji sentrifuga dan *freeze-thaw* menunjukkan sediaan tetap stabil. Sentrifuga dilakukan selama 5 jam, pengamatan dilakukan setiap setengah jam. Sediaan stabil selama pengamatan. Uji *freeze-thaw* dilakukan dengan menaruh sediaan dalam *climatic chamber* pada suhu 40 °C selama 2 hari kemudian dalam kulkas suhu 4 °C selama 2 hari. Prosedur diulang sebanyak 6 siklus. Hasil pengamatan menunjukkan sediaan tetap stabil selama 6 siklus. Tidak terjadi pemisahan fasa.

Uji difusi sediaan dilakukan dengan membran kulit ular tiga kali (triplo) pada satu *batch*. Ketiga hasil ditampilkan dalam Tabel 6.

Kesimpulan

Sediaan mikroemulsi memiliki formula optimum pada konsentrasi surfaktan 27,5% pada rasio Tween 80-Span 80 3:1, konsentrasi kosurfaktan gliserin 30%, dan fasa dalam 15%. Sediaan bersifat jernih, transparan, dan stabil selama evaluasi dengan viskositas rata-rata 375 cps, pH rata-rata 6,80±0,21, dan jumlah NAP rata-rata terdifusi 850,56 µg/cm² atau sebanyak 75,75% selama 8 jam.

Daftar Pustaka

Pauling L, 1986, How to Live Longer and Feel Better, Harper Collins Publishers, Oregon.

Schulman HTP, 1943, J. H. Transparent water in oil dispersions: the oleopathic hydromicelle. Nature 152: 102 – 103.

Barry BW, 1983, Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption. Marcel Dekker, Inc.: New York

Mason, 2006, Microemulsions: formation, structure, and physical properties. Department of Chemistry and Biochemistry, University of California—Los Angeles.

Partridge DA, Davies MB, Austin J, 1991, Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, Manchester.

Charro D, 1996, Delivery of a hydrophilic solute through the skin from novel microemulsion systems. School of Pharmacy, University of California-San Francisco, San Francisco.

Kawakami K, 2002, Microemulsion formulation for enhanced absorption of poorlysoluble drugs. Developmental Research Laboratories, Shionogi and Co. Ltd., 12-4 Sagisu 5-chome, Fukushima-ku, Osaka 553-0002, Japan.

Hathout RM, 2010, Microemulsion formulations for the transdermal delivery of testosterone. Faculty of Pharmacy, Ain Shams University, Cairo, Egypt.

Peng LC, 2010, Optimization of water-in-oil mikroemulsions by mixed surfactants. Department of Applied Chemistry, Providence University, Taichung, Taiwan.

Weiner ND, 2001, Topical transport of hydrophilic compounds usingwater-in-oil microemulsions. Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109, USA.

Torchilin VP, 2006, Nanoparticulates as drug carriers. Imperial College Pres, Fulsland offset printing, Singapore, hal.126-128.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Rowe RC, 2009, Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th. London: Pharmaceutical Press.