

# Pengaruh Natrium Hialuronat terhadap Penetrasi Kofein Sebagai Antiselulit dalam Sediaan Hidrogel, Hidroalkoholik Gel, dan Emulsi Gel

Joshita Djajadisastra<sup>1</sup>, Zuraida Syafara Dzuhro<sup>1</sup>, Sutriyo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok. 16424

Email : [joshita@farmasi.ui.ac.id](mailto:joshita@farmasi.ui.ac.id)

## Abstrak

Sediaan gel antiselulit topikal dengan zat aktif kofein memerlukan agen untuk meningkatkan penetrasi mencapai lapisan subkutan. Natrium hialuronat (NaHA), bentuk garam asam hialuronat, merupakan polimer hidrofilik derivat polisakarida. NaHA memiliki kemampuan meningkatkan penetrasi perkutan dengan mengubah susunan sel-sel stratum korneum yang tersusun rapat menjadi lebih renggang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh NaHA terhadap penetrasi kofein sebagai zat aktif antiselulit dalam sediaan hidrogel, hidroalkoholik gel, dan emulsi gel. Masing-masing sediaan mengandung kofein 1,5% dan terbagi atas 3 formula. Formula 1 mengandung basis gel HPMC 2%; formula 2 mengandung basis gel HPMC 2% dan NaHA 0,5%; formula 3 mengandung NaHA 2% sebagai basis gel. Uji penetrasi dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz dengan kulit tikus sebagai membran selama 8 jam. Persentase kofein terpenetrasi sediaan hidrogel formula 1, 2, 3 secara berturut-turut adalah  $9,41 \pm 0,01\%$ ;  $11,74 \pm 0,13\%$ ;  $16,32 \pm 0,03\%$ . Persentase kofein terpenetrasi sediaan hidroalkoholik gel formula 1, 2, 3 secara berturut-turut adalah  $19,54 \pm 0,02\%$ ;  $22,99 \pm 0,23\%$ ;  $7,42 \pm 0,08\%$ . Persentase kofein terpenetrasi sediaan emulgel formula 1, 2, 3 secara berturut-turut adalah  $10,47 \pm 0,19\%$ ;  $13,41 \pm 0,12\%$ ;  $18,42 \pm 0,06\%$ . Hasil menunjukkan NaHA meningkatkan penetrasi kofein perkutan berbagai sediaan gel, kecuali hidroalkoholik gel.

## Abstract

Anticellulite topical gel preparation with caffeine as active ingredient needs a penetration enhancer to reach subcutaneous layer. Sodium hyaluronate (NaHA), the sodium salt of hyaluronic acid, is a hydrophilic polysaccharide derivative polymer. It has ability to enhance percutaneous penetration by loosening the dense of the compact substance stratum corneum. The aim of this research was to observe the effects of NaHA on caffeine penetration as anticellulite active agent in three types of gel preparation: hydrogel, hydroalcoholic gel, and gel emulsion. Each gel type contained caffeine 1,5% and was varied into three formulas. Formula 1 contained HPMC 2% as gel basis; formula 2 contained HPMC 2% and NaHA 0,5%; formula 3 contained NaHA 2% as gel basis. Caffeine penetration properties were analyzed by Franz diffusion cell *in vitro* test using rat skin as membrane. Percent caffeine penetration of hydrogel formula 1, 2, 3 were  $9,41 \pm 0,01\%$ ;  $11,74 \pm 0,13\%$ ;  $16,32 \pm 0,03\%$ , respectively. Percent caffeine penetration of hydroalcoholic gel formula 1, 2, 3 were  $19,54 \pm 0,02\%$ ;  $22,99 \pm 0,23\%$ ;  $7,42 \pm 0,08\%$ , respectively. Percent caffeine penetration of gel emulsion formula 1, 2, 3 were  $10,47 \pm 0,19\%$ ;  $13,41 \pm 0,12\%$ ;  $18,42 \pm 0,06\%$ , respectively. The result showed that NaHA enhanced the caffeine percutaneous penetration properties in various gel preparations, except hydroalcoholic gel formula 3.

*Keywords* : caffeine, Franz diffusion cell, hydroalcoholic gel, hydrogel, sodium yaluronate

## PENDAHULUAN

Selulit merupakan salah satu masalah estetika yang umumnya dihadapi oleh wanita, terutama yang memiliki kelebihan berat badan. Selulit adalah suatu kondisi terlokalisasinya jaringan lemak subkutan dan jaringan penghubung sehingga menyebabkan parutan kulit yang tidak rata atau dikenal sebagai penampilan seperti kulit jeruk. (Barel, 2001; Hexsel *et al.*, 2010; Lueder *et al.*, 2011). Penampilan seperti kulit jeruk yang ditemukan pada paha, lengan dan bagian terbuka lainnya akan mengakibatkan kulit menjadi tidak indah. Hal ini akan membuat penderita merasa malu dan tidak percaya diri sehingga berusaha untuk mengatasinya.

Selulit tidak dapat dihilangkan, namun terdapat cara untuk menguranginya. Pertama, dengan menginhibisi lipogenesis sehingga dapat mencegah penyimpanan lemak pada jaringan adiposa. Cara ini dapat dilakukan dengan berolahraga dan diet. Kedua, melalui lipolisis dengan cara menggunakan zat aktif yang dapat merusak jaringan lemak bawah kulit. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan produk kosmetik topikal yang mengandung zat aktif antiselulit dengan atau tanpa pemijatan. Kombinasi diet, olahraga dan penggunaan produk kosmetik topikal akan lebih efisien dalam mengatasi selulit (Barel, 2001; Lueder *et al.*, 2011).

Beberapa zat aktif antiselulit yang sering digunakan pada sediaan kosmetik topikal, antara lain turunan metil xantin (kofein,

teofilin, aminofilin, teobromin), senyawa penstimulasi kolagen (askorbat dan triterpen), senyawa peningkat vaskularitas area selulit (minoksidil, nikotinat, escin, *ivy*, dan metil salisilat), dan agonis adenilat siklase atau antifosfodiesterase (flanon dimerik) (Ghisalberti, 2005). Derivat metilxantin sebagai antiselulit bekerja dengan cara menghambat lipogenesis dan meningkatkan lipolisis melalui penghambatan aktivitas antilipolisis dari adenosin (inhibitor fosfodiesterase). Senyawa derivat metilxantin yang paling berguna dan aman adalah kofein, umumnya digunakan pada konsentrasi 1-2% (Cho *et al.*, 1997; Hexsel *et al.*, 2010).

Stratum korneum merupakan *barrier* atau penghalang penetrasi zat aktif antiselulit dalam mencapai lapisan subkutan. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu pembawa obat atau peningkat penetrasi (*skin enhancer*) yang dapat mengubah struktur barrier tersebut sehingga zat aktif dapat lebih mudah melewatinya. Salah satu senyawa peningkat penetrasi perkutan yang akhir-akhir ini sering diteliti adalah natrium hialuronat. Senyawa ini tergolong aman dan dapat didegradasi oleh tubuh (Brown & Jones, 2005; Hexsel *et al.*, 2010).

Natrium hialuronat (HA), bentuk garam dari asam hialuronat (HA), menunjukkan penghantaran yang baik dan menarik bagi zat aktif yang digunakan secara topikal dan dapat berpenetrasi hingga ke lapisan dermis. NaHA merupakan polimer hidrofilik derivat polisakarida yang memiliki

kemampuan mengikat air sehingga dapat menghidrasi lapisan stratum korneum dan melembabkannya. Hidrasi oleh NaHA akan mengubah susunan sel-sel stratum korneum yang tersusun rapat menjadi lebih renggang. Dengan demikian, permeabilitas kulit terhadap molekul-molekul obat meningkat sehingga penetrasi obat juga meningkat (Bissett, 2006; Brown & Jones, 2005; Hoekstra, 2011).

Terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa NaHA pada formulasi obat dengan zat aktif diklofenak dapat membantu penetrasi obat melintasi barrier terluar kulit. (Brown & Jones, 2005). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa penetrasi zat aktif antiselulit, contohnya golongan metilxantin (kofein dan teofilin) pada bentuk sediaan gel lebih baik dibanding bentuk sediaan krim dan salep (Anggraeni, 2008; Hadyanti, 2008; Novitasari, 2008). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh NaHA terhadap penetrasi kofein sebagai zat aktif antiselulit pada berbagai jenis sediaan gel.

Sediaan hidrogel memiliki kandungan air terbanyak dibandingkan sediaan hidroalkoholik gel dan emulgel sehingga dapat membantu penetrasi perkutan dengan cara menghidrasi kulit. Sediaan hidroalkoholik gel yang mengandung etanol sebanyak 40% membantu penetrasi perkutan dengan cara mengekstraksi lemak atau fluidisasi lipid. Sediaan emulgel memiliki keuntungan yang dimiliki oleh emulsi

dan gel. Adanya fase air dapat membantu meningkatkan penetrasi dengan cara menghidrasi kulit dan adanya fase minyak dapat mencegah terjadinya penguapan pada kulit sehingga proses hidrasi menjadi lebih optimal.

Pengujian penetrasi kofein sebagai zat aktif antiselulit ke dalam jaringan subkutan dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz. Metode ini dapat menggambarkan absorpsi *in vivo* karena dosis donor tepat dan dapat dibandingkan dengan konsentrasi persenti setimeter persegi dalam penggunaan klinis (Hanson *et al.*, 1991).

## METODE

Sel difusi Franz dengan luas area difusi 1,76625 cm<sup>2</sup> dan volume kompartemen 13 ml (Bengkel Gelas ITB, Indonesia), spektrofotometer (Shimadzu UV 1601, Jepang), homogenizer Multimix CKL (Omni-Multimix Inc., Malaysia), pH meter Eutech 510 (Eutech Instrument, Singapura), viscometer Brookfield tipe HAT dan spindel tipe HA (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Amerika), timbangan analitik Adam AFA 210-LC (Adam, Amerika Serikat), Penetrometer Herz 009 (Humboldt Mfg Co., Jerman), mikroskop Optik Nikon Eclipse E-200 (Nikon Instrument Inc., Amerika Serikat), termostat (Polyscience, USA), alat sentrifugasi Kubota 5100 (Kubota corp, Jepang), pengaduk magnetik (USA), oven (Mommert, Jerman), desikator, syringe 1 ml

(Terumo corp, Philipina), penangas air, lemari pendingin (Toshiba, Jepang), kamera digital (LUMIX DMC-FS62 Panasonic), gunting bedah (Gold Cross, Jepang), silet Gillet Goal (The Gillete Company, Jerman), alat-alat gelas (Schott Duran, Jerman).

Kofein anhidrat (Brataco, Indonesia), natrium hialuronat (Nikkol, Japan), HPMC tipe Methocel J12MS (The Dow Chemical Company, Jerman), tween 20 (Brataco, Indonesia), span 60 (TCI, Japan), propilen glikol (Brataco, Indonesia), parafin cair (Brataco, Indonesia), BHT (Brataco, Indonesia), metil paraben (Brataco, Indonesia), propil paraben (Brataco, Indonesia), etanol 96% (Brataco, Indonesia), asam sitrat (Brataco, Indonesia), natrium sitrat (Brataco, Indonesia), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), NaOH (Merck, Jerman), aqua destilata (Brataco, Indonesia), tikus putih betina *Rattus norvegicus* strain Sprague Dawley usia 2-3 bulan dengan berat + 200 gram sebanyak 30 ekor (Institut Pertanian Bogor, Indonesia).

## Cara Kerja

**Formulasi Sediaan.** Pada penelitian ini, terdapat 3 jenis sediaan gel yang akan diteliti, yaitu hidrogel yang diberi simbol A, hidroalkoholik gel yang diberi simbol B, dan emulsi gel (emulgel) yang diberi simbol C. Perbedaan ketiga sediaan tersebut adalah hidrogel memiliki kandungan air lebih besar dibandingkan hidroalkoholik gel dan emulgel; hidroalkoholik gel mengandung alkohol 40%,

dan pada emulgel terdapat pencampuran bentuk emulsi dan gel (1:1). Masing-masing sediaan ini terdiri atas 3 formulasi yang berbeda sehingga total formulasi sediaan yang dibuat adalah 9 formulasi ditandai dengan angka 1, 2, dan 3. Formula A1, B1, dan C1 mengandung kofein 1,5% dan HPMC 2% sebagai basis gel. Formula A2, B2, dan C2 mengandung kofein 1,5%, basis gel HPMC 2%, dan NaHA 0,5%. Formula A3, B3, dan C3 mengandung kofein 1,5% tanpa adanya basis gel HPMC, tetapi konsentrasi NaHA diperbesar menjadi 2% sehingga dapat dimanfaatkan sebagai basis gel. Komposisi dari masing-masing formula dapat dilihat pada Tabel 1.

**Evaluasi Sediaan.** Evaluasi terhadap sediaan hidrogel, hidroalkoholik gel, dan emulgel dilakukan pada suhu penyimpanan yang berbeda, yaitu pada suhu kamar ( $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) yang disimpan di dalam desikator, suhu rendah ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) yang disimpan di dalam lemari pendingin, dan suhu tinggi ( $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) yang disimpan dalam oven. Evaluasi sediaan yang diuji pada suhu penyimpanan yang berbeda meliputi organoleptis, homogenitas, pH, dan ukuran diameter globul rata-rata. Pengujian ini dilakukan setiap 2 minggu selama 8 minggu. Selain itu, dilakukan juga uji lainnya, seperti viskositas dan sifat alir, uji konsistensi, uji mekanik, dan uji enam siklus (*cycling test*). Uji viskositas dan sifat alir serta konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-8 pada suhu kamar, sedangkan uji mekanik dan uji enam siklus (*cycling test*) dilakukan hanya pada minggu ke-0.

Tabel 1. Formula Berbagai Sediaan Gel Topikal Antiselulit

Bahan	Konsentrasi (%)								
	Hidrogel (A)			Hidroalkoholik Gel (B)			Emulsi Gel (C)		
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
<b>Kofein</b>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
<b>Na-Hialuronat</b>	-	0,5	2	-	0,5	2	-	0,5	2
<b>HPMC</b>	2	2	-	2	2	-	2	2	-
<b>Parafin Cair</b>	-	-	-	-	-	-	5	5	5
<b>Etanol 96%</b>	-	-	-	40	40	40	-	-	-
<b>Propilen Glikol</b>	10	10	10	10	10	10	10	10	10
<b>Tween 20</b>	-	-	-	-	-	-	1,5	1,5	1,5
<b>Span 60</b>	-	-	-	-	-	-	1	1	1
<b>Metil Paraben</b>	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
<b>Propil Paraben</b>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>BHT</b>	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1
<b>Natrium Sitrat</b>	0,2	-	-	0,2	-	-	0,2	-	-
<b>Asam Sitrat</b>	-	-	-	-	0,2	0,2	-	0,2	0,2

Keterangan:

A1, B1, C1: Kofein 1,5%, HPMC 2%

A2, B2, C2: Kofein 1,5%, HPMC 2%, Na-Hialuronat 0,5%

A3, B3, C3: Kofein 1,5%, Na-Hialuronat 2% (Na-Hialuronat menggantikan basis HPMC)

Pengukuran viskositas dan sifat alir (rheologi) dilakukan pada dengan menggunakan alat viskometer Brookfield Untuk uji mekanik, sediaan disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 5 jam karena hasilnya ekivalen dengan efek

gravitasi selama 1 tahun. Setelah disentrifugasi, diamati apakah terjadi pemisahan atau tidak antara fase air dengan fase minyak. Pengujian hanya dilakukan pada minggu ke-0. Pada *cycling test*, sediaan disimpan pada suhu 4°C ± 2°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan

ditempatkan pada suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik sediaan dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya. Sebelum menguji penetrasi *in vitro* sediaan, perlu ditetapkan dahulu kadar aktif dalam sediaan.

Untuk uji penetrasi kofein, membran yang digunakan adalah kulit tikus. Pertama-tama tikus dibius dengan eter hingga mati. Kemudian, bulu tikus dicukur dengan hati-hati (Anggraeni, 2008; Mortazavi & Aboofazeli, 2003; Thakker & Chern, 2003; J. Aukunuru, 2007).

Jumlah kumulatif kofein yang terpenetrasi perluas area difusi ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) dihitung dengan rumus (Thakker & Chern, 2003) :

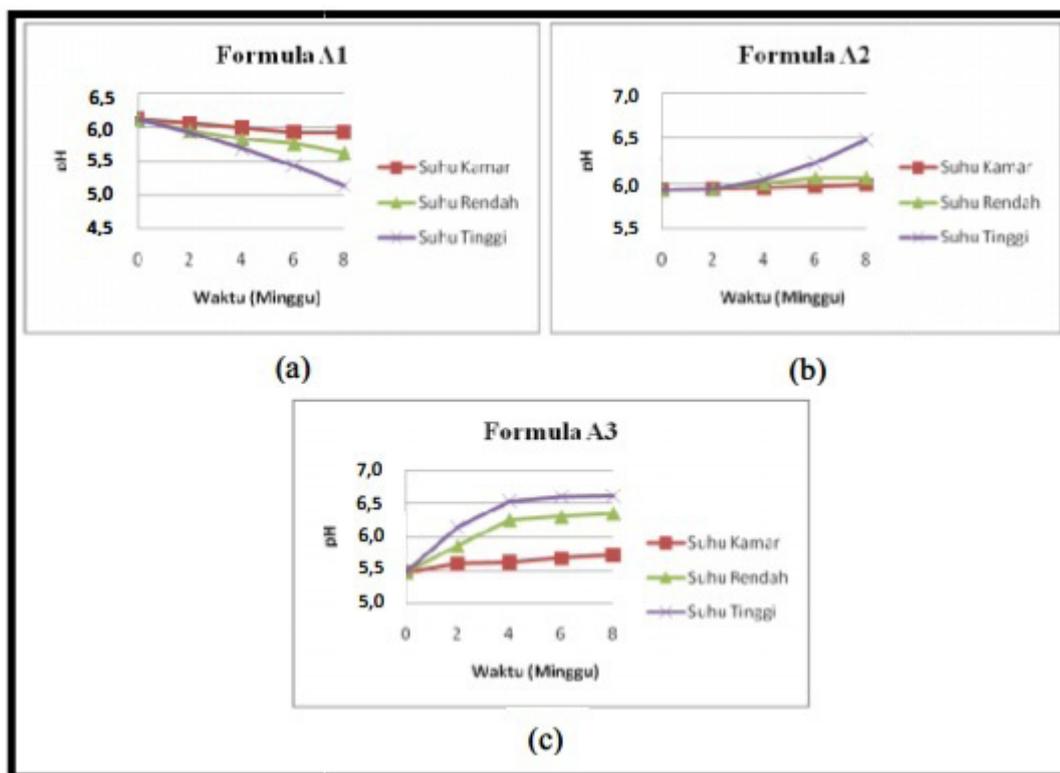
$$Q = \frac{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot S}{A} \quad (1)$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa penetrasi kofein dalam sediaan gel antiselulit berbasis HPMC lebih baik penetrasinya dibandingkan sediaan krim dan salep. Untuk meningkatkan penetrasi perkutan dari kofein tentu membutuhkan suatu peningkat penetrasi (*skin enhancer*) yang aman dan dapat didegradasi oleh tubuh. Salah satu peningkat penetrasi yang memiliki kriteria tersebut adalah natrium hialuronat (NaHA), bentuk garam dari asam hialuronat. NaHA dikenal sebagai

polimer hidrofilik derivat polisakarida yang memiliki kemampuan sebagai peningkat penetrasi perkutan dengan cara mengubah susunan sel-sel stratum korneum yang tersusun rapat menjadi lebih renggang sehingga permeabilitas kulit meningkat. Oleh karena itu, sangat menarik untuk dilakukan penelitian mengenai pengaruh NaHA terhadap penetrasi kofein sebagai zat aktif antiselulit pada berbagai sediaan gel, yaitu: hidrogel, hidroalkoholik gel, dan emulsi gel (emulgel).

Sediaan hidrogel memiliki kandungan air terbanyak dibandingkan sediaan hidroalkoholik gel dan emulgel sehingga memiliki keuntungan sebagai bentuk sediaan yang dapat membantu penetrasi perkutan dengan cara menghidrasi permukaan kulit. Sediaan hidroalkoholik gel mengandung etanol sebanyak 40% sehingga memiliki keuntungan sebagai bentuk sediaan yang dapat membantu penetrasi perkutan dengan cara mengekstraksi lemak atau memfluidisasi lemak. Namun, adanya etanol dalam jumlah banyak mengurangi komposisi air pada sediaan. Selain itu, etanol tersebut dapat membuat kulit menjadi kering karena menarik sejumlah air pada kulit. Sediaan emulsi gel (emulgel) merupakan penggabungan antara gel dan emulsi sehingga memiliki keuntungan yang dimiliki keduanya. Jenis emulsi yang digunakan adalah emulsi minyak dalam air. Adanya fase air dapat membantu meningkatkan penetrasi perkutan dengan cara menghidrasi kulit dan adanya fase minyak dapat mencegah

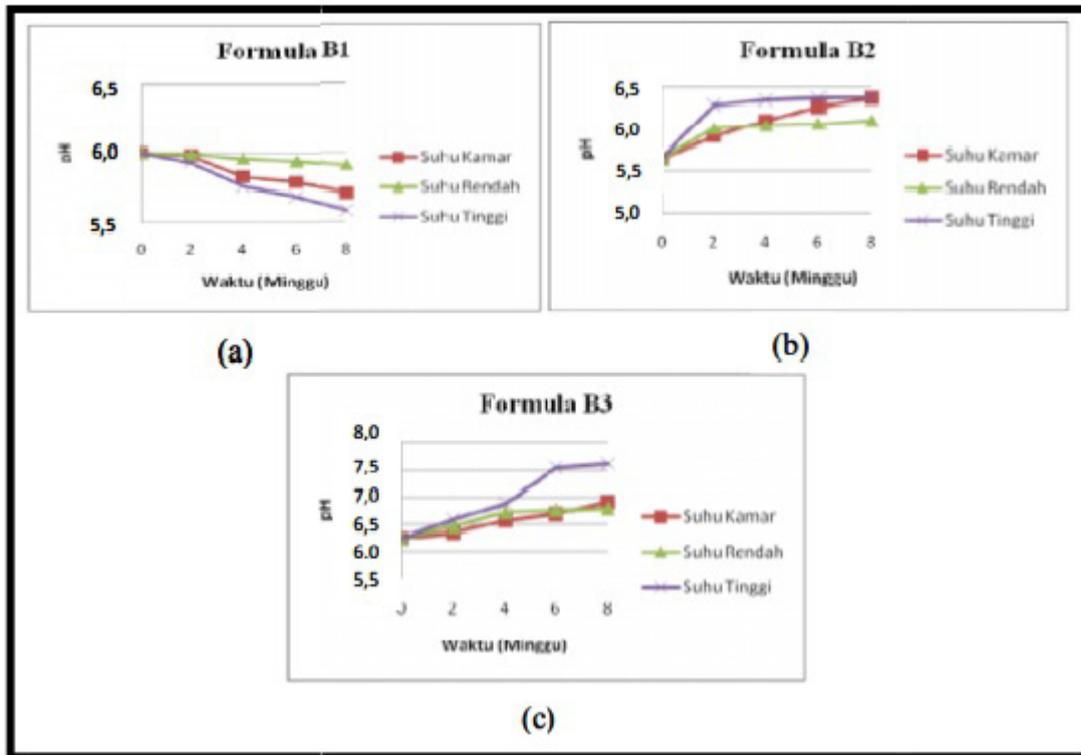


**Gambar 1. Grafik Hubungan Antara Waktu Penyimpanan dengan pH Sediaan Hidrogel A 1 (a), A2 (b), dan A3 (c) pada berbagai suhu**

terjadinya penguapan pada kulit sehingga proses hidrasi menjadi lebih optimal. Formula A1, B1, dan C1 terus mengalami penurunan pH dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8. Hal ini disebabkan oleh pengaruh  $\text{CO}_2$  yang bereaksi dengan air atau  $\text{H}_2\text{O}$  di dalam fase gel sehingga membentuk asam bikarbonat ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). Adanya asam akan menurunkan pH sediaan, semakin banyak  $\text{CO}_2$  yang berikatan dengan air, maka akan semakin banyak asam yang terbentuk sehingga pH sediaan terus menurun. Selain itu, formula A2, A3, B2, B3, C2, dan C3 mengalami peningkatan pH. Hal ini disebabkan oleh adanya NaHA yang akan mengalami ionisasi dalam air. Ion  $\text{Na}^+$  dari natrium hialuronat akan

terlepas dan berikatan dengan  $\text{OH}^-$  dari air sehingga membuat pH sediaan meningkat dan lebih basa. Hialuronat memiliki sifat yang higroskopis dan cenderung suka menarik air dari lingkungannya. Semakin banyak jumlah air yang ada, maka semakin banyak NaHA yang terion dan semakin meningkatkan pH sediaan.

Seperti penyimpanan pada suhu kamar, formula A1, B1, dan C1 yang disimpan pada suhu rendah terus mengalami penurunan pH dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8. Di sisi lain, formula A2, A3, B2, B3, C2, dan C3 terus mengalami peningkatan pH dari minggu ke-0 hingga



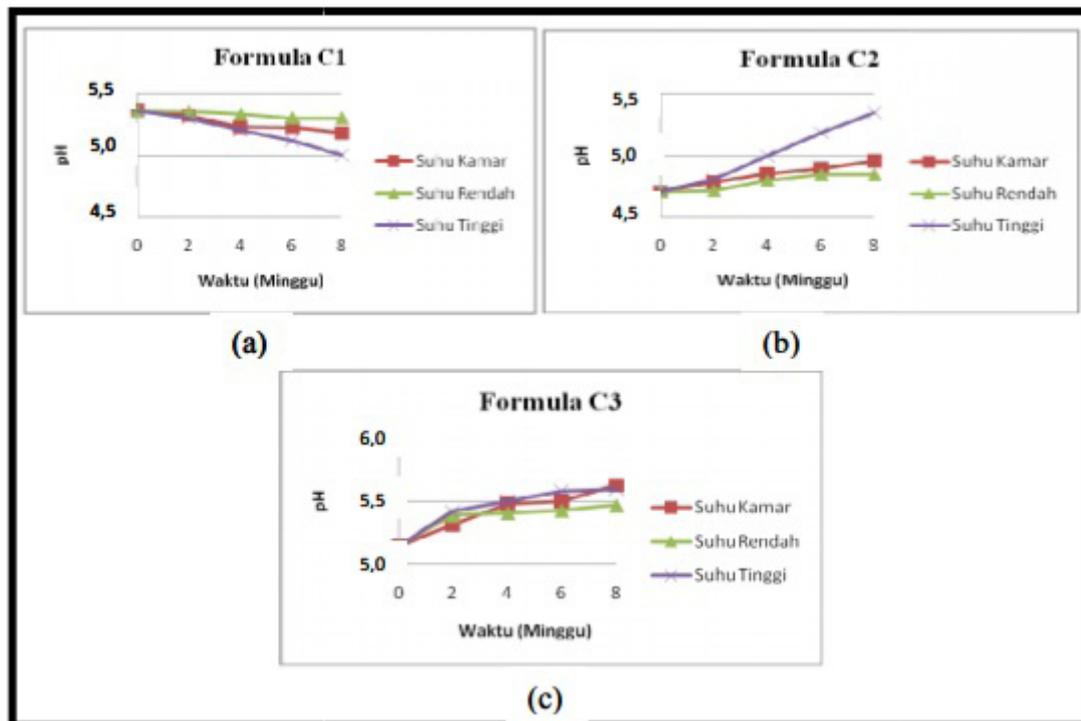
Gambar 2. Grafik Hubungan Antara Waktu Penyimpanan dengan pH Sediaan Hidroalkoholik Gel B1 (a), B2 (b), dan B3 (c) pada berbagai Suhu

minggu ke-8. Pengukuran pH sediaan pada suhu tinggi selama 8 minggu menunjukkan adanya perbedaan pH yang cukup bermakna dibandingkan penyimpanan pada suhu kamar maupun suhu rendah. Pengukuran diameter globul rata-rata ini hanya dilakukan pada sediaan emulgel karena sediaan ini memiliki globul emulsi minyak dalam air, sedangkan pada sediaan hidrogel dan hidroalkoholik gel tidak memiliki globul.

Jika dikelompokkan berdasarkan suhu penyimpanan, maka sediaan emulgel yang disimpan pada suhu kamar berkisar antara 0,0868 - 0,1930  $\mu\text{m}$ , pada suhu rendah berkisar antara 0,0868 - 0,1324, dan pada

suhu tinggi berkisar antara 0,0868 - 0,1989  $\mu\text{m}$ . Hal ini sesuai dengan warna sediaan emulgel yang berwarna putih hingga putih susu (Djajadisastra, 2003). Sediaan emulgel tersebut tergolong ke dalam dispersi koloid karena memiliki ukuran diameter globul berkisar antara 0,5  $\mu\text{m}$  - 1,0  $\mu\text{m}$ . Ukuran diameter globul pada sediaan emulgel lebih kecil dibandingkan sediaan emulsi biasa karena di dalam emulgel terdapat basis gel atau polimer yang mempengaruhi ukuran globul (Martin *et al.*, 1993).

Pengukuran diameter globul dilakukan dengan menggunakan mikroskop Optik Nikon Eclipse E-200 (Nikon Instrument



**Gambar 3. Grafik Hubungan Antara Waktu Penyimpanan dengan pH Sediaan Emulsi Gel B1 (a), B2 (b), dan B3 (c) pada berbagai Suhu**

Inc., Amerika Serikat), terbesar terdapat pada sediaan yang disimpan pada suhu tinggi dan yang terkecil terdapat pada sediaan yang disimpan suhu rendah. Suhu yang tinggi dapat mempengaruhi kestabilan dari emulsi karena fase air dan fase minyak akan semakin cepat memisah. Hal ini sesuai dengan persamaan kinetika kimia Arrhenius yang menyatakan bahwa semakin tinggi temperatur, maka kemampuan untuk memindahkan suatu molekul dari cairan tersebut semakin besar sehingga globul fase air dan fase minyak akan berusaha untuk bergabung dengan fase sejenis (*coalescence*). Sesuai hukum Stokes, semakin besar ukuran globul maka akan semakin cepat laju sedimentasinya sehingga akan menurunkan viskositas. Ukuran globul

ini merupakan indikator utama untuk kecenderungan terjadinya pemisahan dua emulsi (*creaming*) atau pemisahan dua fase tersendiri (*breaking*) (Djajadisastra, 2004; Martin *et al.*, 2008).

Pemeriksaan viskositas terhadap semua sediaan dilakukan pada minggu awal dan minggu ke-8 pada penyimpanan suhu kamar menggunakan alat viskometer Brookfield dengan kecepatan 2 rpm. Berdasarkan perbandingan data viskositas pada pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa sediaan hidrogel lebih rendah viskositasnya dibandingkan sediaan emulgel, namun lebih tinggi dibandingkan sediaan hidroalkoholik gel, baik pada

**Tabel 2. Data hasil pengukuran diameter globul rata-rata berbagai sediaan gel pada penyimpanan suhu yang berbeda**

Sediaan	Suhu	Ukuran Diameter Globul Rata-rata ( $\mu\text{m}$ )				
		Minggu ke-0	Minggu ke-2	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
C1	Kamar	0,1110	0,1179	0,1407	0,1605	0,1930
	Rendah	0,1110	0,1125	0,1200	0,1276	0,1324
	Tinggi	0,1110	0,1254	0,1419	0,1695	0,1989
C2	Kamar	0,0876	0,1158	0,1340	0,1502	0,1854
	Rendah	0,0876	0,0903	0,1008	0,1030	0,1175
	Tinggi	0,0876	0,1197	0,1391	0,1532	0,1904
C3	Kamar	0,0868	0,0954	0,1038	0,1451	0,1490
	Rendah	0,0868	0,0764	0,0907	0,0929	0,0993
	Tinggi	0,0868	0,1177	0,1200	0,1469	0,1724

minggu ke-0 maupun minggu ke-8. Sediaan hidroalkoholik gel lebih rendah viskositasnya karena mengandung etanol (alkohol 96%) sebanyak 40%. Adanya etanol dapat menyebabkan pengenceran pada sediaan sehingga menurunkan viskositasnya. Sebaliknya, sediaan emulgel memiliki viskositas tertinggi karena di dalamnya mengandung globul emulsi minyak dalam air. Adanya globul emulsi ini memberikan peranan yang cukup signifikan dalam meningkatkan viskositas sediaan emulgel karena meningkatkan volume sediaan. Berdasarkan hukum stokes, ukuran diameter partikel (globul) berbanding terbalik dengan viskositas mediumnya. Semakin kecil ukuran partikel, maka semakin tinggi viskositasnya. Semakin tinggi viskositas, maka semakin rendah laju sedimentasinya, artinya semakin stabil

sediaan tersebut. Hal ini menunjukkan sediaan emulgel C3 lebih stabil dibandingkan C2 dan C1.

Sediaan yang mengalami peningkatan viskositas adalah sediaan yang mengandung HPMC sebagai basis gel tanpa NaHA. Hal ini disebabkan oleh sifat HPMC yang pada pendiaman rantai-rantai polimer akan bertahan dalam bentuk gulungan yang tidak beraturan dan menjerat sejumlah besar pelarut sehingga viskositas meningkat. Peningkatan viskositas ini dapat juga dipengaruhi oleh penguapan pelarut. Sebaliknya, sediaan yang mengalami penurunan viskositas adalah sediaan yang mengandung NaHA. Berbeda dengan HPMC yang merupakan derivat selulosa, NaHA adalah derivat polisakarida yang sangat higroskopis sehingga cenderung menarik air dan membuat

**Tabel 3. Data Perbandingan Viskositas dan Sifat Alir berbagai Sediaan Gel antara Minggu Awal dan Minggu ke-8 pada Kecepatan 2 rpm**

Sediaan	Viskositas (cPs)		Sifat Alir	
	Minggu ke-0	Minggu ke-8	Minggu ke-0	Minggu ke-8
A1	14300	16000	Pseudoplastis	Pseudoplastis
A2	64000	59200	Pseudoplastis	Pseudoplastis
A3	130000	94000	Pseudoplastis	Pseudoplastis
B1	12000	12300	Pseudoplastis	Pseudoplastis
B2	58000	48000	Pseudoplastis	Pseudoplastis
B3	124000	72000	Pseudoplastis	Pseudoplastis
C1	20500	21200	Pseudoplastis	Pseudoplastis
C2	78000	66000	Pseudoplastis	Pseudoplastis
C3	144000	114000	Pseudoplastis	Pseudoplastis

Keterangan:

A = Hidrogel; B = Hidroalkoholik gel; C = Emulgel

1 = HPMC 2%; 2 = HPMC 2% + NaHA 0,5%; 3 = NaHA 2%

sediaan mengalami pengenceran seiring bertambahnya waktu (Prehm, 1983; Rowe *et al.*, 2009). Hialuronat juga cenderung bersifat tidak stabil karena memiliki struktur polimer yang fleksibel dan sangat sensitif terhadap air (Sheehan *et al.*, 2001).

Sediaan yang mengandung NaHA (formula A2, A3, B2, B3, C2, dan C3) mengalami peningkatan pH. Peningkatan pH tersebut menyebabkan ukuran polimer NaHA menjadi lebih kecil yang berkaitan dengan ikatan hidrogen intramolekuler. Hilangnya ikatan hidrogen akan meningkatkan fleksibilitas rantai polimer NaHA. Diketahui bahwa semakin tinggi pH, mobilitas partikel dan permeabilitas NaHA meningkat. Hal tersebut secara tidak

langsung menurunkan viskositas sediaan (Hardingham, 2004). Semua sediaan hidrogel, hidroalkoholik gel, dan emulgel, baik yang berbasis HPMC maupun NaHA pada minggu awal memiliki sifat aliran pseudoplastis (Lang *et al.*, 2011; Martin *et al.*, 1993). Walaupun nilai dari viskositas sediaan tersebut berubah selama penyimpanan 8 minggu, perubahan viskositas ini tidak mempengaruhi sifat aliran atau rheologi dari sediaan tersebut. Dengan kata lain, semua sediaan memiliki sifat aliran yang sama, yaitu pseudoplastis.

Viskositas zat pseudoplastis berkurang dengan meningkatnya kecepatan geser. Hal ini disebabkan oleh pemakaian polimer

(HPMC dan NaHA) sebagai basis gel yang mempunyai sifat aliran pseudoplastis. Dengan meningkatnya tekanan geser, molekul-molekul pada rantai polimer yang tergulung secara acak mulai menyusun sumbu yang lebih panjang dan lurus sehingga

mengurangi tahanan (viskositas) dari bahan tersebut dan mengakibatkan kecepatan geser yang lebih besar pada setiap tekanan geser berikutnya. Oleh karena itu, gel dapat disebarkan dengan mudah (Hoekstra, 2011; Martin *et al.*, 2008).

**Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Viskositas, Konsistensi, dan Yield Value berbagai Sediaan Gel pada Suhu Kamar ( $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) minggu ke-0 dan ke-8**

Formula	Viskositas (cPs) pada Kecepatan 2 rpm		Penetrasi (1/10 mm)		Yield Value (dyne/cm <sup>2</sup> )	
	Minggu ke-0	Minggu ke-8	Minggu ke-0	Minggu ke-8	Minggu ke-0	Minggu ke-8
A1	14300	16000	515	502	1391,85	1464,88
A2	64000	59200	390	400	2427,05	2307,22
A3	130000	94000	370	390	2696,53	2427,05
B1	12000	12300	555	530	1198,46	1314,19
B2	58000	48000	400	435	2307,22	1950,88
B3	124000	72000	375	392	2625,10	2402,35
C1	20500	21200	510	500	1419,28	1476,62
C2	78000	66000	370	380	2696,53	2556,47

Keterangan:

A = Hidrogel; B = Hidroalkoholik gel; C = Emulgel

1 = HPMC 2%; 2 = HPMC 2% + NaHA 0,5%; 3 = NaHA 2%

Uji mekanik terhadap sediaan dilakukan melalui proses sentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam, untuk mengetahui kestabilan dari suatu sediaan terkait dengan pemisahan fase, khususnya emulgel. Menurut Bechner, uji ini setara dengan efek gravitasi untuk kira-kira satu tahun (Rieger, 2008).

Berdasarkan Tabel 5, dapat dilihat bahwa sediaan emulgel formula C1, C2, dan C3 tidak stabil karena mengalami pemisahan fase, terutama pada formula C1. Hal ini disebabkan oleh kurangnya konsentrasi basis gel yang digunakan. Formula C1 mengalami pemisahan fase antara emulsi dan gel.

**Tabel 5. Data Hasil Pengamatan Uji Sentrifugasi Berbagai Sediaan Gel**

Formula	Sebelum Uji Mekanik	Sesudah Uji Mekanik
A1	Stabil	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
A2	Stabil	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
A3	Stabil	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
B1	Stabil	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
B2	Stabil	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
B3	Stabil	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
C1	Stabil	Terjadi Pemisahan Fase dan sineresis
C2	Stabil	Terjadi Pemisahan Fase di Dasar Wadah
C3	Stabil	Terjadi Pemisahan Fase di Dasar Wadah

Pemisahan emulsi ini juga mengakibatkan terjadinya sineresis atau keluarnya pelarut dari matriks gel. Lapisan minyak berada di atas, sedangkan lapisan air berada di bawahnya tertahan oleh matriks gel. Hal ini disebabkan oleh massa jenis minyak lebih kecil dibandingkan massa jenis air. Formula C2 dan C3 terlihat lebih stabil dibandingkan formula C1, pemisahan fase hanya terjadi sedikit di bagian dasar wadah. Lapisan emulsi memisah pada bagian bawah, namun pada lapisan atas emulgel tetap stabil dan tidak terjadi sineresis. Pemisahan pada formula C3 lebih sedikit dibandingkan C2 sehingga formula C3 lebih stabil dibandingkan formula C2.

Hasil uji *Cycling Test* menunjukkan semua sediaan menunjukkan sifat yang stabil secara organoleptis dan homogenitas, kecuali pada sediaan emulgel formula C1. Pada formula ini terjadi sineresis yakni terjadinya perpisahan pelarut dari pembawanya. Hal

ini menunjukkan bahwa konsentrasi HPMC yang digunakan sebagai basis gel tidak cukup menahan penjerapan emulsi dalam matriksnya.

Uji penetrasi dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz. Prinsip kerja difusi Franz adalah dengan meletakkan membran semi permeabel di antara kompartemen donor dan reseptor, kemudian senyawa-senyawa yang melewati lapisan epidermis kulit menuju cairan reseptor diukur kadarnya menggunakan teknik analisis spektrofotometri UV-VIS.

Membran yang dipakai pada uji penetrasi adalah kulit tikus betina strain *Sprague-Dawley* yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan  $\pm 200$  gram. Alasan digunakan kulit tikus sebagai membran adalah kulit tersebut lebih mudah didapat dibandingkan kulit manusia dan memiliki permeabilitas yang mirip dengan manusia walaupun tetap lebih

besar dibandingkan manusia. Koefisien permeabilitas kulit manusia sebesar  $92,27 \text{ cm/jam} \times 10^5$ , sedangkan kulit tikus yang sudah dicukur bulunya memiliki koefisien permeabilitas sebesar  $103,08 \text{ cm/jam} \times 10^5$  (Wester & Maibach, 1990).

Kofein yang terpenetrasi diukur konsentrasinya menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 273,5 nm. Selain sediaan yang mengandung zat aktif, sediaan kontrol negatif (tanpa zat aktif) juga perlu diuji untuk mengetahui adanya pengaruh zat-zat lain terhadap penetrasi kofein. Spektrum serapan nipagin, nipasol, dan BHT bertumpuk pada

panjang gelombang maksimum kofein (273,5 nm) sehingga absorbansi kofein menjadi lebih tinggi. Ketiga zat ini memiliki gugus kromofor yang ikut terdeteksi oleh spektrofotometer UV-VIS. Oleh karena itu, dilakukan pengoreksian menggunakan basis tanpa zat aktif. Terdapat kemungkinan bahwa ketiga senyawa pengganggu tersebut (nipagin, nipasol, dan BHT) dapat berpenetrasi dan jumlahnya dapat meningkat seiring bertambahnya waktu, seperti kofein. Oleh karena itu, dilakukan faktor koreksi pada tiap menit pengambilan sampel dengan cara mengurangi serapan kofein dengan serapan kontrol negatif pada panjang gelombang yang sama.

**Tabel 6. Kumulatif Kofein Terpenetrasi dan Fluks Sediaan Selama 8 jam**

Sediaan	Jumlah Kumulatif Terpenetrasi ( $\mu\text{g.cm}^{-2}$ )	Persentase (%) Terpenetrasi	Fluks ( $\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ )
A1	$852,39 \pm 1,13$	$9,40 \pm 0,01$	$198,77 \pm 7,05^*$ ; $53,98 \pm 2,22^{**}$
A2	$1077,65 \pm 11,57$	$11,74 \pm 0,13$	$359,34 \pm 7,34^*$ ; $56,82 \pm 2,16^{**}$
A3	$1405,76 \pm 2,43$	$16,32 \pm 0,03$	$172,06 \pm 2,20$
B1	$1659,02 \pm 1,97$	$19,54 \pm 0,02$	$200,39 \pm 1,70$
B2	$1997,29 \pm 20,12$	$22,99 \pm 0,23$	$248,77 \pm 7,23$
B3	$650,07 \pm 7,38$	$7,42 \pm 0,08$	$366,35 \pm 10,24^*$ ; $57,68 \pm 2,87^{**}$
C1	$917,50 \pm 16,81$	$10,47 \pm 0,19$	$97,19 \pm 1,97$
C2	$1263,93 \pm 11,776$	$13,41 \pm 0,12$	$151,04 \pm 5,57$
C3	$1575,90 \pm 5,49$	$18,42 \pm 0,06$	$191,14 \pm 3,79$

Keterangan:

A = Hidrogel; B = Hidroalkoholik gel; C = Emulgel

1 = Kofein + HPMC 2%; 2 = Kofein + HPMC 2% + NaHA 0,5%; 3 = Kofein + NaHA 2%

\*Fluks fase pertama

\*\*Fluks fase kedua

Sediaan hidrogel A1 memiliki persentase kofein yang terpenetrasi sebesar  $9,41 \pm 0,01\%$ , formula A2 memiliki persentase kofein yang terpenetrasi sebesar  $11,74 \pm 0,13\%$ , dan formula A3 memiliki persentase kofein yang terpenetrasi sebesar  $16,32\% \pm 0,03\%$ . Secara berturut-turut, formula A3 lebih baik penetrasinya dibandingkan formula A2 dan A1. Artinya, sediaan hidrogel yang mengandung NaHA lebih unggul dalam meningkatkan penetrasi kofein dibandingkan sediaan hidrogel tanpa NaHA (A1).

Tabel 6 menunjukkan bahwa profil pelepasan formula A1 lebih rendah dibandingkan A2 dan A3. Formula A2 melepaskan jumlah kofein lebih banyak dibandingkan A3 hingga jam ke-4 meskipun jumlah NaHA pada A2 lebih sedikit dibandingkan A3. Hal ini dapat terjadi akibat viskositas sediaan hidrogel A3 lebih tinggi dibandingkan A2. Walaupun berfungsi sebagai senyawa peningkat penetrasi, NaHA merupakan polimer sehingga pemakaian dalam konsentrasi yang lebih banyak akan meningkatkan viskositasnya. Laju penetrasi berbanding terbalik dengan viskositas, semakin tinggi viskositas maka akan semakin sulit pergerakan molekul zat aktif tersebut untuk berpenetrasi ke dalam kulit sampai kondisi tertentu, yakni struktur 3 dimensi gel menjadi lebih longgar dan memungkinkan zat aktif dapat berpenetrasi ke lapisan kulit yang lebih dalam. Namun, karena A3 memiliki sifat hidrasi yang lebih tinggi, penetrasi zat aktifnya akan semakin meningkat dibandingkan formula lainnya.

Nilai fluks A1, A2 dan B3 terbagi menjadi dua fase. Fase pertama adalah menit ke-10 hingga jam ke-2, sedangkan fase ke dua adalah jam ke-2 hingga jam ke-8. Pelepasan zat aktif secara cepat terjadi pada fase pertama, setelah itu laju penetrasinya menurun. Perubahan nilai fluks ini dapat terjadi karena adanya penjenuhan matriks gel pada tahap awal sehingga pelepasan zat aktif dari pembawanya lebih cepat di awal. Ketika kondisinya tidak jenuh, pelepasan zat aktif menjadi lebih lambat. Selain itu, diduga terjadi rekristalisasi kofein. Kofein yang berada dalam keadaan tidak terlarut, tidak dapat menembus membran. Selain itu, adanya bentuk kristal kofein juga dapat menutupi pori-pori kulit atau permukaan kulit lainnya sehingga menghalangi pelepasan zat aktifnya.

Berdasarkan data yang diperoleh pada penelitian ini, sediaan yang tidak mengandung NaHA, seperti hidrogel A1, hidroalkoholik gel B1, dan emulgel C1, cenderung memiliki penetrasi yang lebih rendah dibandingkan sediaan yang mengandung NaHA. Hal ini menunjukkan bahwa NaHA merupakan salah satu senyawa peningkat penetrasi (*skin penetration enhancer*) yang dapat membantu kofein mencapai jaringan subkutan sehingga berpotensi dalam mengatasi masalah selulit. Akan tetapi, NaHA hanya dapat bekerja sebagai peningkat penetrasi percutan dalam keadaan terlarut, seperti pada sediaan hidrogel A2 dan A3, hidroalkoholik gel B2, dan sediaan emulgel C2 dan C3. NaHA tidak dapat bekerja sebagai senyawa peningkat

penetrasi perkutan dalam keadaan tidak terlarut atau jumlah pelarut yang tersedia tidak cukup untuk melarutkan NaHA, seperti yang terjadi pada sediaan hidroalkoholik gel B3. Dengan demikian, natrium hialuronat (NaHA) dalam keadaan terlarut dapat meningkatkan penetrasi kofein secara perkutan pada berbagai sediaan gel antiselulit (hidrogel, hidroalkoholik gel, dan emulsi gel).

Bentuk sediaan yang terbaik di antara hidrogel, hidroalkoholikgel, dan emulgel ditentukan dengan melihat berbagai faktor, seperti jumlah kumulatif dan persentase kofein yang terpenetrasi, kecepatan penetrasi kofein perkutan, kestabilan sediaan, kenyamanan penggunaan, dan faktor ekonomisnya. Sediaan hidroalkoholik gel B2 memiliki jumlah kumulatif kofein tertinggi ( $1997,29 \pm 20,12 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) dan persentase kofein tertinggi ( $22,99 \pm 0,23\%$ ) selama 8 jam terhadap membran kulit tikus seluas  $1,76625 \text{ cm}^2$  serta kecepatan penetrasi atau fluks tertinggi ( $248,77 \pm 7,23 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$ ). Sediaan ini juga memiliki kestabilan yang baik selama penyimpanan 8 minggu. Dengan demikian, sediaan hidroalkoholik gel B2 merupakan sediaan yang terbaik dan dapat digunakan untuk mengembangkan formula baru sebagai bentuk sediaan gel antiselulit topikal dengan penetrasi kofein yang lebih baik.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji penetrasi kofein secara in vitro menggunakan sel difusi Franz, dapat diperoleh persentase kofein terpenetrasi dari berbagai sediaan gel. Persentase kofein yang terpenetrasi dari sediaan hidrogel formula 1, 2, dan 3 selama 8 jam secara berturut-turut adalah  $9,41 \pm 0,01\%$ ;  $11,74 \pm 0,13\%$ ;  $16,32 \pm 0,03\%$ . Persentase kofein yang terpenetrasi dari sediaan hidroalkoholik gel formula 1, 2, dan 3 setelah 8 jam secara berturut-turut adalah  $19,54 \pm 0,02\%$ ;  $22,99 \pm 0,23\%$ ;  $7,42 \pm 0,08\%$ . Persentase kofein yang terpenetrasi dari sediaan emulsi gel formula 1, 2, dan 3 secara berturut-turut setelah 8 jam adalah  $10,47 \pm 0,19\%$ ;  $13,41 \pm 0,12\%$  dan  $18,42 \pm 0,06\%$ . Natrium hialuronat meningkatkan penetrasi kofein perkutan dari berbagai sediaan gel selama 8 jam, kecuali pada sediaan hidroalkoholik gel formula 3 (B3). Bentuk sediaan gel terbaik dalam meningkatkan penetrasi kofein perkutan selama 8 jam adalah sediaan hidroalkoholik gel formula 2 (B2) yang mengandung basis gel HPMC 2%, natrium hialuronat 0,5% dan etanol 40%.

## DAFTAR ACUAN

1. Anggraeni, C. A. (2008). Pengaruh Bentuk Sediaan Krim, Gel, dan Salep terhadap Penetrasi Aminofilin sebagai Antiselulit secara in vitro Menggunakan Sel Difusi Franz. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.

2. Balazs, E. A., Henry, H., Riverdale, Y. N. (1981). Hyaluronate Based Compositions and Cosmetic Formulations Containing Same. Patent No. 4,303,676. United States of America
3. Balazs, E. A. (2004). *Viscoelastic Properties of Hyaluronan and Its Therapeutic Use*. Netherland: Elsevier Ltd.
4. Barel, A. O. (2001). *Anticellulite Products and Treatments*. Handbook of Cosmetics Science and Technology
5. Barret, C. (1969). Skin Penetration. *Journal Society Cosmetic Chemists*, 20, 487-499.
6. Begoun, P. (2006). *Bumpy Road Ahead*. Washington: Paula's Choice, Inc.
7. Benson, H. A. (2005). Transdermal Drug Delivery: Penetration Enhancement Techniques. *Current Drug Delivery*, 2, 23-33.
8. Bernard, I. J. L. (2008). *Semipadat*. Teori dan Praktek Farmasi Industri. Terj. dari The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. (Edisi Ketiga). Jakarta: UI Press.
9. Bissett, D.L. (2006). *Anti-aging Skin Care Formulations* (Draelos, Z.D., Thaman, L.A.). New York: Taylor&Francis Group.
10. Brown, M., & Jones, S. (2005). Hyaluronic Acid: A Unique Topical Vehicle for the Localized Delivery of Drugs to the Skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 308-318.
11. Brown, T. J., Alcorn, D., & Fraser, J. R. (1999). Absorption of Hyaluronan Applied to the Surface of Intact Skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 740-746.
12. Brum, C. (2010). *Psychological Impact of Cellulite on the Affected Patients* (2<sup>nd</sup> ed). New York: Informa Healthcare. (2<sup>nd</sup> ed., p. 536). New York: Marcel Dekker, Inc.
13. Cho, S.H., Richardson, N.K., Burger, A.R., Brinker, A.M., Rerek, M.E. (1997). Skin Care Composition for Treating Cellulite. Patent No. 5,667,793. United States of America.
14. Djajadisastra, J. (2004). Cosmetic Stability. *Seminar Setengah Hari HIKI*. Jakarta: Hotel Menara Peninsula.
15. Forster, M., Bolzinger, M. A., Fessi, H., & Briancon, S. (2009). Topical Delivery of Cosmetics and Drugs Topical Delivery of Cosmetics and Drugs and Delivery. *European Journal of Dermatology*, 309-323.
16. Gemborys, M., & Wisniewski, S. J. (1992). *Method for percutaneous delivery of ibuprofen using hydroalcoholic gel*. Patent No. 5093133. Pennsylvania.
17. Hadyanti. (2008). Pengaruh Tretionin terhadap Penetrasi Kafein dan Aminofilin sebagai Antiselulit dalam Sediaan Krim, Gel dan Salep secara in vitro. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
18. Hanson, W.A., Schuber, S., Moller, H. (1991). *Handbook of Disolution Testing* (2<sup>nd</sup> ed). Springfield, USA: Aster Publishing Cooperation.
19. Hexsel, D., Prado, D.Z., Goldman, M.P. (2010). *Topical Management of Cellulite* (2<sup>nd</sup> ed). New York: Informa Healthcare.

20. Hoekstra, D. (2011). *Hyaluronan as a Versatile Biomaterial for Surface Treatment of Medical Devices*. Retrieved from Biocoat Incorporated: <http://www.biocoat.com/hyalvers.pdf>.
21. J. Aukunuru, C.B. (2007). Preparation Characterization and Optimization of Ibuprofen Ointment Intended for Topical and Systemic Delivery. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 855-860
22. Lang, E., Mark, D., Miller, F.A., Miller, D., Wik, O. (2011). Shear Flow Characteristics of Sodium Hyaluronate. *Archives Ophthalmol*, 102, 1079-1082.
23. Lueder, M., Morel, J., Tiedtke, J., Marks, O. (2011). *Anti Cellulite Actives, Dream or Reality*. Switzerland: Cosmetochem International.
24. Mortazavi, S.A., Aboofazeli, R. (2003) An Investigation into the Effect of Various Penetration Enhancers on Percutaneous Absorption of Piroxicam. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 137.
25. Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P., & Kolar, J. (2008). Hyaluronic Acid (Hyaluronan): A Review. *Veterinary Medicina*, 397-411.
26. Novitasari. (2008). Pengaruh AHA (AsamLaktat) Terhadap Penetrasi Kofein sebagai Antiselulit dalam Sediaan Krim, Gel dan Salep secara in vitro. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
27. Prehm, P. (1983). Synthesis of Hyaluronate in Differentiated Teratocarcinoma Cells; Mechanism of Chain Growth. *Biochemistry Journal*, 191-198.
28. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Owen, S.C. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6<sup>th</sup> ed). London: The Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
29. Yoshita. (1993). *Farmasi Fisik*. (Martin, A., Swarbrick, J., & Cammarata). Jakarta: UI Press.
30. Thakker, K.D., Chem, W.H. (2003). Development and Validation of In Vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms - Case Study. *Dissolution Technology*, 10-15.
31. Touitou, E. & Barry, B.W. (2006). *Enhancement in Drug Delivery*. New York: CRC Press.