

Formulasi dan Uji Penetrasi Sediaan Gel Transfersom yang Mengandung Kojyl 3 Amino Propil Fosfat sebagai Pencerah Kulit

Formulation and Penetration Test of Gel Transfersome Containing Kojyl 3 Amino Propyl Phosphate as Skin Lightening

Septia Andini^{1*}, Mahdi Jufri², Joshita Djajadisastra²

¹Universitas Pakuan, Bogor, Indonesia

²Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

*E-mail: septiaandini85@gmail.com

Diterima: 30 Juni 2016

Direvisi: 21 Juli 2016

Disetujui: 26 Agustus 2016

Abstrak

Kojyl 3 APPA merupakan senyawa yang digunakan untuk pencerah kulit. Kojyl 3 APPA memiliki kelarutan yang baik didalam air. Sifat hidrofilik ini menyebabkan kojyl 3 APPA sukar berpenetrasi melalui kulit. Transfersom merupakan sistem pembawa yang dapat meningkatkan penetrasi efektivitas penghantaran obat. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi, mengkarakterisasi dan mengevaluasi sediaan transfersom yang mengandung kojyl 3 APPA. Selanjutnya transfersom diformulasi dalam sediaan gel. Terhadap sediaan gel tersebut dilakukan uji stabilitas fisik dan uji penetrasi *in vitro* yang dibandingkan terhadap gel kojyl 3 APPA yang tidak dibuat transfersom. Sediaan gel transfersom secara fisik terbukti stabil pada penyimpanan suhu kamar, suhu rendah dan suhu tinggi. Uji penetrasi *in vitro* menunjukkan penetrasi kojyl 3 APPA dari sediaan gel transfersom sebesar 11,16% sedangkan untuk gel non transfersom sebesar 8,02%.

Kata kunci: Transfersom; Kojyl 3 APPA; Uji penetrasi

Abstract

Kojyl 3 APPA is a compound used for skin lightening. Kojyl 3 APPA has a good solubility in water. This causes the hydrophilic nature kojyl 3 APPA difficult to penetrate through the skin. Transfersom is a carrier system that can improve the effectiveness of drug penetration. This study aims to formulate, characterize and evaluate transfersom preparations containing kojyl 3 APPA. Further more transfersom formulated in a gel formulation. Preparation gel was tested its physical stability and in vitro penetration test against non transfersom kojyl 3 APPA. Transfersom gel formulation is physically proven stable at room temperature, low temperature and high temperature storage. In vitro penetration tests showed that kojyl 3 APPA penetration loaded in transfersom gel was 11,16% while for non transfersom gel 8,02%.

Keywords: Transfersome; Kojyl 3 APPA; Penetration test

PENDAHULUAN

Melanogenesis adalah proses pembentukan melanin oleh melanosit yang terjadi di folikel rambut dan kulit. Peningkatan jumlah melanin yang abnormal pada epidermis dapat menyebabkan hiperpigmentasi.

Beberapa penyebab hiperpigmentasi yaitu radiasi sinar ultraviolet, hormon wanita dan faktor genetik.¹ Indonesia merupakan daerah tropis yang banyak memperoleh sinar matahari dibandingkan daerah lainnya. Paparan sinar matahari yang berlebihan pada kulit manusia dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel kulit sehingga kulit akan terlihat lebih gelap, terasa kasar dan lebih mudah berkerut.² Kosmetika yang dapat mencerahkan kulit dan melindungi dari sinar ultraviolet serta meminimalkan efek pemaparan sinar ultraviolet dibutuhkan untuk mengatasi hal tersebut.

Produk pencerah kulit yang ditawarkan di pasaran yang, biasanya mengandung senyawa-senyawa tertentu dengan beberapa keunggulan. Salah satu senyawa tersebut adalah asam kojat. Asam kojat merupakan senyawa yang digunakan sebagai pencerah kulit. Namun sifatnya yang tidak stabil menimbulkan permasalahan dalam sediaan kosmetika.³ Oleh karena itu dikembangkan salah satu senyawa yang merupakan hasil dari sintesis asam kojat dengan 2,6 oxazaphosphyryl chlorida, yaitu kojyl 3 amino propil phosphate (Kojyl 3 APPA). Gillbro dan Olsson mengemukakan bahwa kojyl 3 APPA pada suhu 50°C pada rentang pH 2-8 selama 3 minggu menunjukkan stabilitas yang baik dibandingkan dengan asam kojat. Kojyl 3 APPA memiliki kelarutan yang sangat baik didalam air sehingga menyebabkan kojyl 3 APPA sulit berpenetrasi kekulit. Untuk itu sebagai alternatif mengatasi permasalahan tersebut, kojyl 3 APPA diformulasikan menjadi sediaan transfersom.⁴

Transfersom merupakan salah satu teknologi nano vesikel yang mulai dikembangkan. Transfersom tersusun atas

fosfolipid dan surfaktan. Transfersom memiliki struktur dari gugus hidrofilik dan hidrofobik, sehingga dapat digunakan sebagai pembawa molekul obat dengan berbagai kelarutan.⁵ Transfersom juga memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan liposom konvensional yaitu vesikel transfersom memiliki kemampuan deformabilitas sehingga mudah berpenetrasi yang mudah melalui pori yang lebih kecil dibandingkan ukuran droplet itu sendiri.⁶

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Alomrani et.al, menyatakan bahwa dengan menggunakan *carboxyfluorescein* sebagai model obat dengan kelarutan yang baik didalam air, tetapi permeabilitasnya sangat rendah. *Carboxyfluorescein* yang dimasukkan kedalam transfersom menunjukkan peningkatan penetrasi *carboxyfluorescein* yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan liposom konvensional.⁷

Saat ini kojyl 3 APPA yang diformulasi dalam pembawa transfersom belum diteliti, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk pengembangan formula transfersom yang mengandung kojyl 3 APPA. Pada penelitian ini kojyl 3 APPA diformulasi dalam pembawa transfersom yang akan dibuat dalam sediaan gel, dengan menggunakan fosfolipid (fosfatidilkolin kedelai) sebagai pembentuk vesikel, serta surfaktan (tween 80) untuk meningkatkan elastisitas dari vesikel. Terhadap sediaan gel transfersom tersebut akan dilakukan uji penetrasi *in vitro* dan dibandingkan dengan sediaan gel kojyl 3 APPA tanpa dibuat transfersom.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan timbangan analitik, mikro pipet, Delsa Nano-c *particle size analyzer* Beckmann, pengaduk magnetik, sel difusi *Franz* dengan volume reseptor 13 ml, refrigerator, sonikator, sentrifugator, viskometer *Brookfield*, pH meter, KCKT, oven, lemari pendingin, pengaduk

magnetik, termometer, alat-alat gelas dan alat bedah.

Bahan yang digunakan kojyl 3 APPA (PT. DwiPar Loka Ayu), fosfatidilkolin kedelai (GMBH Lipoid Jerman), tween 80 (Brataco chemical), Karbopol 940 (Lubrizol chemical), Akuademineralisata (Brataco chemical), Propilen glikol (Brataco chemical), Metil paraben (Brataco chemical), Natrium metabisulfid (Brataco chemical) etanol 96% (Merck), NaOH (Merck). Hewan coba: tikus betina galur *Sprague dawley* dengan berat ± 200 g berumur 8 -10 minggu.

Prosedur kerja

Formulasi Transfersom

Ketiga formula dibuat dengan metode modifikasi hidrasi lapis tipis. Transfersom dibuat dengan cara mencampurkan fosfatidilkolin kedelai, tween 80. Campuran kemudian dilarutkan kedalam diklorometana. Larutan kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 1 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 150 rpm untuk menghilangkan pelarut organik. Labu kemudian dilepaskan dari *rotary evaporator* lalu dialiri dengan gas nitrogen dan didiamkan selama 24 jam dalam keadaan tertutup, kemudian dilakukan hidrasi lapis tipis dengan melarutkan buffer fosfat dan kojyl 3 APPA. Labu diletakkan pada *rotary evaporator* suhu 40°C dengan kecepatan 150 rpm serta dengan bantuan *glass beads* agar mudah terkelupas. Suspensi yang dihasilkan dipindahkan dari *rotary evaporator* kemudian didiamkan hingga dingin pada suhu 4°C selama 24 jam. Pemurnian transfersom dilakukan dengan sentrifugasi kecepatan 12000 rpm selama 1 jam.

Karakterisasi Transfersom

Morfologi Bentuk Vesikel

Morfologi karakteristik dan ukuran transfersom dilihat dengan TEM (*Transmission Electron Microscope*) atau mikroskop elektron transmisi. Tahap pengerjaan TEM adalah dengan

meneteskan sampel pada *carbon coated copper grid* sebanyak satu tetes lalu dikeringkan pada suhu ruang, setelah kering dianalisa dengan TEM.⁵

Distribusi Ukuran Partikel Transfersom dan Zeta Potensial

Penetapan distribusi ukuran partikel dan zeta potensial dengan metode *light scattering* (pemendaran cahaya) dengan alat *Particle size analyzer* (PSA) pada suhu 25°C. Larutan akuades dimasukkan kedalam *fluid tank* sebagai *base line*, kemudian sampel dimasukkan kedalam *fluid tank* tetes demi tetes hingga konsentrasi mencukupi, setelah itu akan terukur ukuran partikel globul-globul transfersom. Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan sebelum dan sesudah sonikasi.⁵

Efisiensi Penjerapan

Efisiensi penjerapan diukur dengan memisahkan kojyl 3 APPA yang tidak terjerap dengan menggunakan sentrifugator dengan kecepatan 12000 rpm pada suhu 4°C. Kemudian akan terbentuk supernatan dan endapan. Supernatan yang mengandung kojyl 3 APPA bebas diukur kadarnya menggunakan KCKT dengan fase gerak larutan asetonitril 50% dalam natrium fosfat 50mM dengan laju alir 0,8 ml/menit pada panjang gelombang 254 nm.⁵ Efisiensi penjerapan (EE) diukur dengan menggunakan persamaan berikut:

$$EE (\%) = \frac{\text{Total obat} - \text{Obat bebas}}{\text{Total Obat}} \times 100$$

Uji deformabilitas

Uji deformabilitas diukur dengan metode ekstruksi. Transfersom diekstruksi melalui membran filter dengan ukuran diameter pori 400 nm. Jumlah suspensi yang diekstruksi dalam 5 menit diukur volumenya. Indeks deformabilitas (E) dihitung dengan persamaan berikut:²

$$E = j \times (rv/rp)^2$$

j: tingkat penetrasi, rv: volume ekstruksi, rp: diameter pori.

Formulasi Sediaan Gel

Setelah semua bahan ditimbang, gel dibuat dengan mencampurkan karbopol 940 dengan aquademineralisata bebas CO₂ sampai karbomer terbasahi, kemudian ditambahkan NaOH sampai terbentuk gel dengan konsistensi yang cukup dan pH gel masuk pada rentang pH sediaan kulit. Metil paraben dilarutkan dalam propilen glikol dan natrium metabisulfit dilarutkan dalam sisa aquademineralisata bebas CO₂. Kedua campuran tersebut kemudian dicampurkan kedalam karbomer yang sudah mengental, selanjutnya dilakukan homogenisasi dengan *homogenizer* kecepatan sekitar 500 rpm sampai 1000 rpm yang ditingkatkan secara bertahap.

Penggabungan Formulasi Transfersom ke dalam Formulasi Gel.

Setelah basis gel jadi, suspensi transfersom dimasukkan kedalam basis gel dengan pengadukan perlahan menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan pengadukan sekitar 500 rpm selama 30 menit.

Evaluasi Sediaan Gel

Pengamatan Organoleptis, Pengamatan Homogenitas dan Pengukuran pH.

Pengamatan organoleptis terhadap, warna, bau dan homogenitas serta pengukuran pH dari sediaan gel.⁸

Penentuan Viskositas Dan Sifat Alir

Pengukuran dilakukan dengan viskometer *Brookfield*. Gel transfersom dituang ke dalam wadah *beaker glass*, selanjutnya *spindle* dipasang. Kemudian *spindle* diturunkan ke dalam sediaan hingga batas yang ditentukan. Pengukuran dilakukan dengan viskometer *Brookfield* dengan kecepatan diatur mulai 0,5 ; 2 ; 4 ; 10 dan 20 rpm, lalu dibalik dari 20 ; 10 ; 4 ; 2 dan 0,5 rpm. Data yang diperoleh diplotkan terhadap tekanan geser (dyne/cm²) dan kecepatan geser (/sec). Pemeriksaan viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 dengan penyimpanan pada suhu kamar.⁸

Uji Stabilitas

Uji stabilitas sediaan gel meliputi warna, bau, homogenitas, pH dan sineresis dievaluasi pada suhu rendah, suhu kamar dan suhu tinggi selama 12 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali serta dilakukan *cyclling test* sebanyak 6 siklus.⁸

Uji Penetrasi *Invitro* Menggunakan Sel Difusi Franz

Uji penetrasi sediaan gel dilakukan menggunakan kulit tikus bagian abdomen dengan sel difusi Franz (luas area difusi 1,77 cm², volume kompartemen 13 ml, kompartemen reseptor diisi dapar fosfat pH 7,4 dengan suhu 37±0,5°C). Tikus yang digunakan pada percobaan telah mendapatkan surat keterangan lulus kaji etik (*ethical approval*) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo. Kulit abdomen yang telah dicukur bulunya dan dibersihkan dari lemak dari kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan posisi lapisan tanduk menghadap ke atas.

Gel transfersom kojyl 3 APPA dan gel tanpa transfersom kojyl 3 APPA ditimbang masing-masing sebanyak 1 gram dan diaplikasikan pada kulit. Sebanyak 0,5 ml sampel diambil dari kompartemen reseptor secara periodik selama 8 jam menggunakan *syringe* dan digantikan sejumlah yang sama larutan dapar fosfat pH 7,4. Sampel yang diperoleh diukur serapannya dengan menggunakan KCKT pada panjang gelombang 254 nm.⁸

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Fisik Transfersom Kojyl 3 APPA

Morfologi Vesikel

Hasil evaluasi menggunakan TEM dengan perbesaran 40.000 kali dan 80.000 kali menunjukkan bentuk vesikel yang bulat dengan ukuran partikel yang bervariasi. Gambar ukuran partikel dengan menggunakan TEM dapat dilihat pada Gambar 1.

Distribusi Ukuran Partikel

Penentuan distribusi ukuran vesikel bertujuan untuk mempelajari pola penyebaran ukuran partikel yang dikelompokkan berdasarkan ukuran partikel yang sama. Dari ketiga formula transfersom yang dibuat dihasilkan ukuran vesikel yang berbeda, berturut-turut yaitu 75,90 nm; 87,10 nm dan 64,79 nm. Penentuan indeks polidispersitas sediaan juga dilakukan pada sediaan transfersom dengan menggunakan *Particle analyzer* Delsa Nano C yang bertujuan untuk melihat persebaran ukuran partikel yang terjadi dalam sistem nanopartikel. Berdasarkan hasil pengujian didapatkan nilai indeks polidispersitas untuk tiap formula berturut-turut dari formula 1, 2 yaitu 0,256 : 0,258 : dan 0,261. Nilai indeks polidispersitas yang kecil menunjukkan sebaran ukuran partikel yang merata⁹

Pengukuran Deformabilitas

Pengujian deformabilitas bertujuan untuk mengetahui elastisitas dari transfersom yang dibuat. Pada pengujian deformabilitas menunjukkan formula 1 memiliki indeks deformabilitas sebesar $12,13 \pm 2,86$, formula 2 sebesar $13,73 \pm 2,71$ dan formula 3 sebesar $14,76 \pm 2,25$. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin besar surfaktan yang digunakan

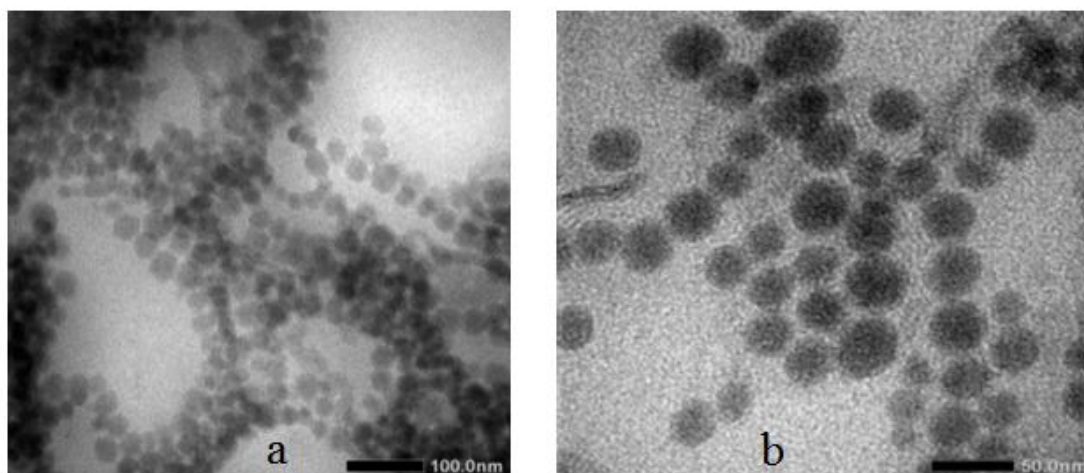
semakin besar pula indeks deformabilitasnya.⁹

Efisiensi Penjerapan.

Penentuan efisiensi penjerapan dilakukan untuk mengetahui jumlah zat aktif yang terjerap didalam transfersom. Hasil efisiensi penjerapan menunjukkan bahwa formula 1 memiliki efisiensi penjerapan 70,78%, formula 2 sebesar 64,52% dan formula 3 sebesar 64,29%. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa makin besar fosfolipid yang digunakan semakin besar pula efisiensi penjerapannya. Fosfolipid merupakan komponen utama pembentuk vesikel. Semakin tinggi fosfolipid yang digunakan maka semakin banyak vesikel yang terbentuk, sehingga penjerapan zat aktif juga diharapkan semakin optimal.⁹

Formulasi Sediaan Gel

Transfersom yang diformulasikan kedalam sediaan gel adalah formula 1 yang merupakan formula yang optimal berdasarkan hasil karakterisasi morfologi vesikel yang sferis, ukuran partikel yang kecil (75,90 nm) serta efisiensi penjerapan paling tinggi (70,78%). Suspensi transfersom yang dimasukkan kedalam gel setara dengan 2% kojyl 3 APPA dalam gel tanpa transfersom



Gambar 1. Morfologi transfersom formula 1 (mengandung kojyl 3 APPA 2%) (a) TEM pada perbesaran 40.000 kali, (b) TEM pada perbesaran 80.000 kali

Evaluasi Sediaan Fisik Gel. Pengamatan Organoleptis, Homogenitas dan pH

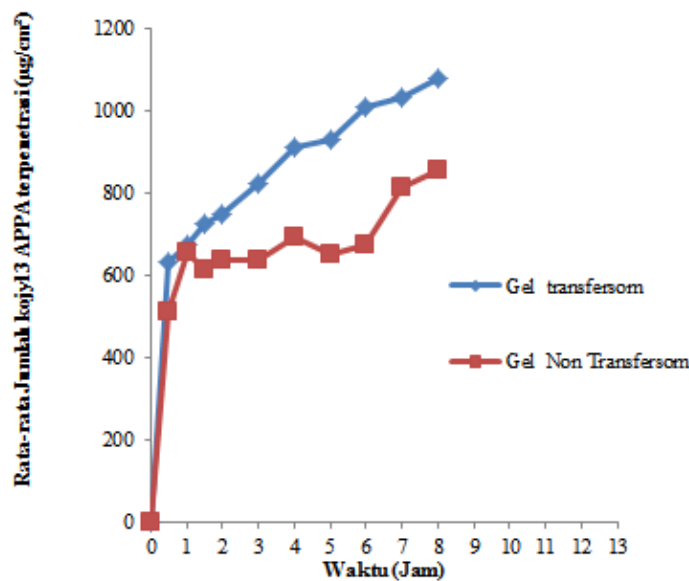
Gel transfersom kojyl 3 APPA memiliki warna transparan, tidak berbau, homogen dan memiliki pH 5,86. Gel tanpa transfersom kojyl 3 APPA memiliki warna transparan, berbau khas fosfatidilkolin, homogen dan memiliki pH 5,87.

Penentuan Viskositas dan Sifat Alir

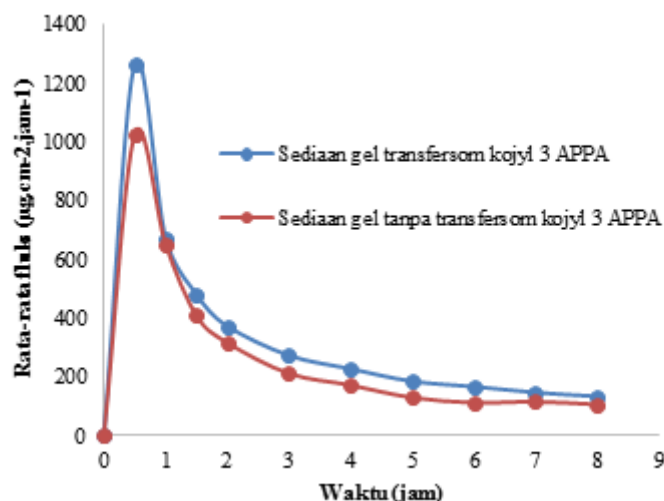
Viskositas sediaan gel transfersom dengan menggunakan spindel 5 pada kecepatan 20 rpm adalah $1,92 \times 10^4$ cps dan viskositas sediaan gel tanpa transfersom yaitu $1,76 \times 10^4$ cps. Sifat aliran pada kedua formula yaitu plastis tiksotropik yaitu apabila kurva aliran ini tidak melalui titik (0,0), tetapi memotong sumbu *shearing stress* dan menunjukkan adanya pemecahan struktur yang tidak terbentuk dengan segera jika stress dikurangi atau dihilangkan.¹⁰

Uji Stabilitas

Hasil pengamatan organoleptis kedua formula sediaan gel pada suhu rendah ($4^\circ \pm 2^\circ\text{C}$), suhu kamar ($27^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu tinggi ($40^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) yang dilakukan selama 12 minggu tidak menunjukkan adanya sineresis, tidak terjadi perubahan warna dan bau. Nilai pH kedua formula sediaan gel menunjukkan nilai yang relatif stabil. Perubahan pH untuk kedua formula sediaan gel yang disimpan selama 12 minggu pada tiga suhu yang berbeda secara umum mengalami penurunan, namun masih berada pada kisaran pH *balance* yaitu 4,5-6,5 dan tidak terjadi perubahan yang cukup besar pada setiap minggunya. *Cycling test* dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi pembentukan kristal serta untuk mengetahui terjadinya sineresis.¹¹ Pada kedua formula diuji menunjukkan bahwa kedua formula mempunyai hasil yang stabil, tidak terbentuk kristal serta tidak terjadi sineresis.



Gambar 2. Hasil jumlah kumulatif zat aktif kojyl 3 APPA yang terpenetrasi dari sediaan gel transfersom dan sediaan gel



Gambar 3. Fluks sediaan gel dengan transfersom dan gel tanpa transfersom

Uji Penetrasi *In vitro* Menggunakan Sel Difusi Franz

Pengujian penetrasi sediaan gel secara *in vitro* dengan menggunakan sel difusi franz ini bertujuan untuk mengetahui jumlah kojyl 3 APPA yang dapat berpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu. Jumlah kumulatif kojyl 3 APPA yang berpenetrasi dan nilai fluksnya selama 8 jam dapat dilihat pada Gambar 2. Dari grafik tersebut dapat terlihat bahwa gel transfersom kojyl 3 APPA memiliki nilai jumlah kumulatif yang terpenetrasi lebih besar dibandingkan dengan sediaan gel tanpa transfersom.¹²

Hasil penetrasi sediaan gel transfersom kojyl 3 APPA adalah $727,98 \pm 1,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan sediaan gel tanpa transfersom kojyl 3 APPA adalah $630,99 \pm 21,52 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Berdasarkan hasil tersebut jumlah kojyl 3 APPA yang berpenetrasi lebih banyak ialah pada sediaan gel transfersom kojyl 3 APPA. Vesikel transfersom dapat dengan baik berpenetrasi ke dalam kulit, hal ini terkait dengan sifat deformabilitas vesikel transfersom kojyl 3 APPA sehingga memberikan kemampuan penetrasi yang lebih baik berdasarkan mekanisme penetrasinya.^{13,14} Hasil jumlah obat yang terpenetrasi dari kedua sediaan dapat dilihat pada gambar 2. Perhitungan yang diperoleh untuk nilai fluks gel tanpa transfersom kojyl 3 APPA adalah

$25,33 \pm 4,72 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}^{-1}$ dan nilai fluks sediaan gel transfersom kojyl 3 APPA adalah $37,74 \pm 3,67 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}^{-1}$, dari hasil ini menunjukkan bahwa formula sediaan gel transfersom memiliki kecepatan penetrasi obat yang lebih tinggi.¹⁵ Hasil fluks dari kedua sediaan gel dapat dilihat pada Gambar 3.

KESIMPULAN

Formulasi transfersom kojyl 3 APPA dengan perbandingan fosfatidilkolin : tween 80 (90:10) menjadi formula yang dipilih untuk dibuat dalam sediaan gel karena memiliki efisiensi penyerapan yang paling besar, stabilitas fisik baik dan daya penetrasi paling besar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti berterima kasih kepada Lipoid GmbH, Jerman yang telah membantu sumbangan (*free gift*) penyediaan *soy phosphatidylcholine* Phospholipon® 90G dan kepada PT.Dwipar Lokaayu yang telah memberikan sumbangan Kojyl 3 APPA.

DAFTAR RUJUKAN

1. Maurya, Sho Datta, Shweta, Vijay, Ram, Aklavya, Ghansyam. 2010. Enhanced Transdermal Delivery of Idinavir Sulfate via Transfersomes. *Pharmacia Global International Journal of Comprehensive Pharmacy*. 2010;1(1):1-7.

2. Misnadiarly AS. Faktor-faktor yang Berpengaruh pada Kesehatan Kulit. *Cermin Dunia Kedokteran*.2006;152:43
3. Kim D, Hwang B, Kim L, Chang. Development of 5-[(3-aminopropyl) phosphinoxy]-2-(hydroxymethyl)-Hypran-4-one as a Novel Whitening Agent. *Cherm Pharm Bull*. 2003;51:113-16.
4. Gillbro JM, Olsson MJ. The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents – existing and new approaches. *International Journal of Cosmetic Science*. 2011;33(3):210-21
5. Prajapati TS, Patel CG, Patel CN. Transfersoms: A vesicular carrier system for transdermal drug delivery. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. 2011;1(2):507-24
6. Walve JR, Bakliwal SR, Rane BR, Pawar SP. Transfersomes: a surrogated carrier for transdermal drug delivery system. *Shahada. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2011;2(1):204-13.
7. Alomrani AH, Al Agamy MH, Badran MM. In vitro skin penetration and antimycotic activity of itraconazole loaded niosomes: Various non-ionic surfactants. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2015;28:37-45.
8. Sugiyati R. Formulasi dan uji penetrasi in vitro sediaan gel transfersom mengandung kofein dengan efek lipolisis dalam penanganan antiselulit [tesis]. Jakarta, Universitas Indonesia; 2015.
9. Kuncari E, Iskandarsyah, Praptiwi. Evaluasi dan uji stabilitas fisik dan seneresis sediaan gel yang mengandung minoksidil, apigenin dan perasan herba seledri (*Apium graveolens* L). *Buletin Penelitian Kesehatan*. 2014;42(4):213-22
10. Martin A, Swarbick, Cammarata. *Farmasi Fisik Jilid II Edisi Ketiga*. Jakarta: UI Press, 2009
11. Badran M, Abdelaziz E. Formulation, characterization and invitro skin penetration of charged flexible liposomes containing carboxyfluorescein as hydrophilic model drug. *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Science*. 2012; 3:640-47.
12. Sachan R, Parashar T, Singh V, Singh G, Tyagi S, Patel C, Gupta A. Drug carrier transfersomes: A novel tool for transdermal drug delivery system. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*. 2013;2(2):309-16.
13. Sarmah PJ, Kalita B, Sharma AK. Transfersomes based transdermal drug delivery: an overview. *IJAPR*. 2013;4(12):2555-63.
14. Rane BR, Gujarathi NA. Transfersomes and protransfersome: ultradeformable vesicular system. *Novel Approaches for Drug Delivery*. 2016 Jul 15:149.
15. Marwah H, Garg T, Rath G, Goyal AK. Development of transferosomal gel for trans-dermal delivery of insulin using iodine complex. *Drug delivery*. 2016 Jun 12;23(5):1636-44.