



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI GEL NANOEMULSI FRAKSI AKTIF EKSTRAK
ETANOL DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.) DAN UJI
AKTIVITAS TERHADAP *Candida albicans***

DISERTASI

Kori Yati
1606861914

FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S3 ILMU FARMASI
2023



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI GEL NANOEMULSI FRAKSI AKTIF EKSTRAK
ETANOL DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.) DAN UJI
AKTIVITAS TERHADAP *Candida albicans***

DISERTASI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor

Kori Yati
1606861914

FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI S3 ILMU FARMASI
2023

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Disertasi ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Kori Yati

NPM : 1606861914

Tanda Tangan : 

Tanggal : 18 Juli 2023

HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh :
Nama : Kori Yati
NPM : 1606861914
Program Studi : Doktor Ilmu Farmasi
Judul Disertasi : Formulasi Gel Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol
Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Dan Uji
Aktivitas Terhadap *Candida albicans*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

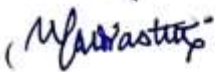
Promotor : Dr. apt. Mahdi Jufri, M. Si

()

Kopromotor : Prof. Ing. Misri Gozan, M. Tech

()

: Dr. dr. Mardiasuti H. Wahid, M.Sc.,
Sp.MK (K)

()

Tim Penguji : Prof. apt. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Ph.D.

(Ketua) ()

: Prof. Dr. apt. Berna Elya, M.Si.

(Anggota) ()

: Dr. apt. Herman Suryadi, M.S.

(Anggota) ()

: Dr. Tommy Julianto Bustami Effendi.

(Anggota) ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 18 Juli 2023

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah saya ucapkan kepada Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Shalawat serta salam tak lupa dihaturkan kepada Nabi Muhammad SAW semoga kita istiqomah dijalannya. Penulisan disertasi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor Farmasi pada Program Studi S3 Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa selesainya disertasi ini atas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu saya mengucapkan terima kasih tak terhingga kepada :

1. Dr. apt. Mahdi Jufri, M.Si. selaku promotor, Prof. Ing. Misri Gozan, M. Tech., dan Dr. dr. Mardiasuti H. Wahid, M.Sc., Sp.MK (K) selaku kopromotor yang telah menyediakan waktu, tenaga, perhatian, pikiran, dan dukungan untuk saya dalam menyelesaikan penyusunan disertasi ini.
2. Prof. apt. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Ph.D., Prof. Dr. apt. Berna Elya, M.Si., Dr. apt. Herman Suryadi, M.S., dan Dr. apt. Tommy Julianto Bustami, M. Sc, selaku penguji yang telah memberikan masukan dalam pelaksanaan dan penyusunan disertasi ini.
3. Prof. Dr. apt. Arry Yanuar, M. Si selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
4. Dr. apt. Herman Suryadi, M.S., selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
5. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Indonesia atas segala ilmu dan arahan yang telah diberikan beserta seluruh Tenaga Kependidikan atas kerjasamanya yang sangat baik selama ini.
6. Prof. Dr. H. Gunawan Suryoputro, M. Hum selaku Rektor UHAMKA beserta Para Wakil Rektor, atas segala dukungan dan doanya.
7. Dr. apt. Hadi Sunaryo, M. Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA beserta Para Wakil Dekan, atas segala doa, dukungan, dan supportnya.
8. Bapak dan Ibu Dosen, Tenaga Kependidikan, dan seluruh sivitas akademika Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA atas dukungan, bantuan, dan doa yang telah diberikan.
9. dr. Yulia Rosa Saharman, Ph.D., Sp.MK (K), selaku Kepala Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah memberikan ijin dan

penggunaan fasilitas beserta seluruh staf yang telah membantu terlaksananya pada penelitian ini.

10. Keluarga tercinta, teruntuk suamiku apt. Agus Priana Diman, S. Si., anak-anakku Najla Shidqiya Putri dan Fadhlurrahman Shidqi, orang tua, Nadifah Febrianti, seluruh keluarga besar di Padang dan Kuningan, yang senantiasa menyertai dengan doa, kasih sayang, dukungan moral, dan material yang tidak terhingga.
11. Teman-teman mahasiswa seperjuangan di Program Studi S3 Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, khususnya angkatan 2016.
12. Yana, Alma, Fuji, dan teman-teman Laboran FFS UHAMKA atas pengorbanan waktu, tenaga, dan pikirannya.

Akhir kata penulis hanya berharap kepada Allah SWT, semoga berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan disertasi ini. Meskipun disertasi ini jauh dari sempurna, penulis berharap semoga disertasi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Farmasi. Aamiin Ya Rabbal'alamin.

Depok, 18 Juli 2023

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kori Yati
NPM : 1606861914
Program Studi : Ilmu Farmasi
Fakultas : Farmasi
Jenis Karya : Disertasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Formulasi Gel Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Dan Uji Aktivitas Terhadap *Candida albicans*

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal: 18 Juli 2023

Yang menyatakan



(Kori Yati)

ABSTRAK

Nama : Kori Yati
Program Studi : Doktor Ilmu Farmasi
Judul : Formulasi Gel Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Dan Uji Aktivitas Terhadap *Candida albicans*
Promotor : Dr. Mahdi Jufri, M. Si., Apt.
Ko-Promotor : Prof. Ing. Misri Gozan, M. Tech.
Dr. dr. Mardiasuti, M. Sc, SpMK (K)

Penyakit yang disebabkan oleh jamur masih terus berkembang luas di Indonesia, salah satunya kandidiasis kulit yang disebabkan oleh genus *Candida* terutama *Candida albicans* (*C. albicans*). Ekstrak etanol daun tembakau merupakan bahan alam yang bermanfaat sebagai antijamur, memiliki banyak kandungan, salah satunya yaitu nikotin sebagai komponen aktif utama. Fraksinasi dilakukan untuk memperoleh fraksi aktif yang berfungsi sebagai antijamur. Fraksi aktif tersebut diformulasikan dalam sediaan gel nanoemulsi agar memiliki kemampuan penetrasi ke dalam lapisan kulit dengan lebih baik. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formula gel nanoemulsi fraksi aktif daun tembakau yang stabil dan memiliki aktivitas antijamur. Sediaan gel nanoemulsi dibuat menggunakan *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebagai fase minyak, kombinasi Tween 80 dan *sucrose palmitate ester* sebagai surfaktan, sorbitol sebagai kosurfaktan, akua destilata sebagai fase air dan Carbopol 940 sebagai *gelling agent*. Evaluasi yang dilakukan yaitu uji karakteristik dan skrining ekstrak dan hasil fraksinasi, penentuan fraksi aktif sebagai antijamur *C. albicans*, pengembangan validasi metode analisis nikotin, uji karakteristik fisika dan kimia sediaan, serta uji aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* (ATCC 90028). Hasil skrining dari fraksi n-butanol mengandung alkaloid dan fenol dengan kandungan Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin sebesar 65,35%. Fraksi n-butanol sebagai fraksi aktif dengan nilai *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) dan *Minimum Fungicidal Concentration* (MFC) fraksi n-butanol sebesar 78,13 µg/mL dan 130,21 µg/mL. Validasi metode analisis diperoleh koefisien korelasi 0,9996, LOD dan LOQ sebesar 6,50 µg/mL dan 19,69 µg/mL. Uji Selektivitas menunjukkan bahwa tidak ada senyawa yang memberikan respon pada waktu yang bersamaan dengan waktu retensi nikotin atau tidak ada interferensi di sekitar daerah uji. Hasil *recovery* dari uji akurasi sebesar 99,656%, presisi menghasilkan koefisien variasi sebesar 0,9%, dan uji kesesuaian sistem memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Hasil uji stabilitas terhadap sediaan gel nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau menunjukkan bahwa sediaan tersebut masih stabil hingga minggu ke 4, gel nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau memiliki aktivitas antijamur ditunjukkan dengan hasil analisis statistik persen inhibisi dengan nilai $p > 0,05$ untuk konsentrasi 281,25-4500 µg/mL. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan, fraksi n-butanol sebagai fraksi aktif terhadap *C. albicans*, dapat diformulasi dalam bentuk gel nanoemulsi yang stabil sampai minggu ke-4.

Kata kunci : Nanoemulsi, fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau, validasi metode analisis, nikotin, *Candida albicans*.

ABSTRACT

Name : Kori Yati
Program Study : Doctor of Pharmaceutical Science
Title : Nanoemulsion Gel Formulation of Active Fraction of Ethanol Extract from Tobacco Leaves (*Nicotiana tabacum L.*) and Its Activity Test Against *Candida albicans*
Promotor : Dr. Mahdi Jufri, M. Si., Apt.
Co-Promotor : Prof. Ing. Misri Gozan, M. Tech.
Dr. dr. Mardiastuti, M. Sc, SpMK (K)

Skin diseases caused by fungi are still common in Indonesia, one is candidiasis caused by the genus *Candida*, especially *Candida albicans* (*C. albicans*). Ethanol extract from tobacco leaves is a natural ingredient that is useful as an antifungal, it has many ingredients, one of which is nicotine as the main active component. Fractionation is carried out to obtain an active fraction that functions as an antifungal. The active fraction is formulated in a nanoemulsion gel preparation to have a better ability to penetrate. This study aimed to obtain a nanoemulsion gel formula of the active fraction of tobacco leaves which is stable and has antifungal activity. Nanoemulsion gel preparations were prepared using Virgin Coconut Oil (VCO) as the oil phase. Tween 80 and sucrose palmitate ester was used as a surfactant, sorbitol as cosurfactant, distillate aqua as water phase, and Carbopol 940 as a gelling agent. The evaluation carried out included testing the active fraction's characteristics, developing the nicotine method's validation, testing the preparations' characteristics, and testing the antifungal activity against *C. albicans* (ATCC 90028). Screening result of n-butanol fraction containing alkaloid and phenol with *Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin)* 65,35%. N-butanol fraction as the active fraction with Minimum Inhibition Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) values of n-butanol fraction of 78.13 µg/mL and 130.21 µg/mL. The validation of the nicotine analysis method obtained coefficient of correlation was 0.9996, LOD and LOQ were 6.50 g/mL and 19.69 g/mL. The selectivity test showed that there were no compounds that respond at the same time as the nicotine retention time or there was no interference around the test area. Meanwhile, the accuracy test was 99.656%, and coefficient of variation precision test was found to be 0.9%, and system suitability test complied the specified requirements. The results of the stability test on the nanoemulsion gel preparation of the n-butanol fraction of the ethanol extract of tobacco leaves showed that the preparation was still stable until the 4th week, and based on statistical analysis, nanoemulsion gel n-butanol fraction of ethanol extract from tobacco leaves showed inhibition percent with sig value > 0,05 for 281.25-4500 µg/mL concentration. From the results obtained, it can be concluded that the n-butanol fraction, as an active fraction against *C. albicans*, can be formulated in the form of a nanoemulsion gel that was stable until the 4th week.

Key words : Nanoemulsion, active fraction of ethanol extract tobacco leaves, validation of analysis method, nicotine, *Candida albicans*.

DAFTAR ISI

BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Model Operasional Penelitian.....	6
1.6 Hipotesis.....	6
1.7 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kulit.....	7
2.2 Tanaman Tembakau.....	11
2.3 Fraksinasi.....	12
2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	13
2.5 Validasi Metode Analisis.....	16
2.6 Nanoemulsi.....	20
2.7 Surfaktan dan Kosurfaktan.....	22
2.8 Gel.....	24
2.9 Difusi.....	25
2.10 Monografi Bahan Tambahan.....	27
BAB 3 METODE PENELITIAN	30
3.1 Tempat Penelitian.....	31
3.2 Alat.....	31
3.3 Bahan.....	31
3.4 Alur Penelitian.....	32
3.5 Cara Kerja.....	32
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	52
4.1 Fraksinasi.....	52
4.2 Evaluasi Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	52
4.3 Formulasi Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau ..	64
4.4 Evaluasi Fisik Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	68
4.5 Formulasi Gel Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	72
4.6 Evaluasi Gel Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	73
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	89
5.1 Kesimpulan.....	89
5.2 Saran.....	89
DAFTAR REFERENSI.....	90

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi Kulit Manusia	8
Gambar 2.2 Daun Tembakau.....	11
Gambar 2.3 Rumus Struktur Nikotin.....	12
Gambar 2.4 Instrumen KCKT	14
Gambar 2.5 Fase Diagram Nanoemulsi.....	21
Gambar 2.6 Struktur Ester Sukrosa Palmitat.....	27
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian	33
Gambar 3.2 Alur Fraksinasi.....	34
Gambar 3.3 Penentuan KHM Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau	40
Gambar 3.4 Penentuan KHM Gel Nanoemulsi	51
Gambar 4.1 Kromatogram Hasil Analisis LC-MS dan <i>Retention Time</i> (Rt) dari Sampel Fraksi n-Butanol Daun Tembakau	58
Gambar 4.2 Spektrum Fragmentasi LC-MS dari Sampel pada Waktu Retensi 12,945 ..	59
Gambar 4.3 Kurva Linearitas Nikotin	62
Gambar 4.4 Hasil Percobaan Basis Nanoemulsi	66
Gambar 4.5 Diagram 3 Fase Nanoemulsi.....	66
Gambar 4.6 Hasil Pengukuran pH Nanoemulsi.....	69
Gambar 4.7 Hasil Pengukuran Bobot Jenis Nanoemulsi.....	69
Gambar 4.8 Hasil Rata-Rata Di90 Pengukuran Ukuran Partikel Nanoemulsi	70
Gambar 4.9 Hasil Pengukuran <i>Polidispersity Index</i> Nanoemulsi	71
Gambar 4.10 Hasil Pengukuran Zeta Potensial Nanoemulsi.....	72
Gambar 4.11 Hasil Pengukuran Kadar Nikotin dalam Nanoemulsi.....	72
Gambar 4.12 Foto Sediaan Gel Nanoemulsi	73
Gambar 4.13 Hasil Pengukuran pH Sediaan Gel Nanoemulsi	74
Gambar 4.14 Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi pada Suhu 25°C ..	75
Gambar 4.15 Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi pada Suhu 40°C ..	75
Gambar 4.16 Grafik Ukuran Partikel (Rata-Rata Di90) F1, F2 dan F3 pada Suhu 25°C	78
Gambar 4.17 Grafik Ukuran Partikel (Rata-Rata Di90) F1, F2 dan F3 pada Suhu 40°C	78
Gambar 4.18 Diagram <i>Polydispersity Index</i> F1, F2 dan F3 pada Suhu 25°C	80
Gambar 4.19 Diagram <i>Polydispersity Index</i> F1, F2 dan F3 pada Suhu 40°C	80
Gambar 4.20 Grafik Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1	83
Gambar 4.21 Grafik Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2	84
Gambar 4.22 Grafik Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3	84
Gambar 4.23 Hasil Pengujian Menggunakan TEM dari F1, F2 dan F3	85

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Rancangan Formula Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau	45
Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	52
Tabel 4.2 Hasil Pengujian Kadar Air, Kadar Abu dan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Tembakau	52
Tabel 4.3 Evaluasi Penetapan Kadar Fenol Total dan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Daun Tembakau.....	53
Tabel 4.4 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau	55
Tabel 4.5 Hasil Pemeriksaan Senyawa dalam Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau	56
Tabel 4.6 Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur	57
Tabel 4.7 Hasil Uji Kesesuaian Sistem (UKS) Nikotin.....	61
Tabel 4.8 Data Uji Linearitas.....	61
Tabel 4.9 Hasil LOD dan LOQ.....	62
Tabel 4.10 Hasil Uji Selektivitas	63
Tabel 4.11 Data Uji Akurasi	63
Tabel 4.12 Data Uji Presisi	64
Tabel 4.13 Kadar Nikotin pada Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau	64
Tabel 4.14 Hasil Optimasi Basis Nanoemulsi	67
Tabel 4.15 Formula Nanoemulsi Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau....	68
Tabel 4.16 Pengamatan Organoleptis	68
Tabel 4.17 Hasil Freeze Thaw Gel Nanoemulsi	76
Tabel 4.18 Hasil Rata-Rata Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi pada Minggu ke-0	81
Tabel 4.19 Hasil Penetapan Kadar Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12.....	81
Tabel 4.20 Optimasi Membran Millipore	82
Tabel 4.21 Kadar Nikotin Terdifusi	82
Tabel 4.22 Jumlah Koloni pada Pengujian Aktivitas Antijamur	86
Tabel 4.23 Persen Inhibisi	86
Tabel 4.24 Hasil Analisis Statistik Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	87
Tabel 4.25 Persen Rata-Rata Penurunan Pertumbuhan Jamur.....	87
Tabel 4.26 Persamaan Regresi Linear dan Nilai IC90.....	87

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Pengujian Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	104
Lampiran 2. Sertifikat Identifikasi Ekstrak Etanol Daun Tembakau	105
Lampiran 3. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Total	106
Lampiran 3. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Total (Lanjutan).....	107
Lampiran 4. Hasil Perhitungan Kadar Fenol Total.....	108
Lampiran 4. Hasil Perhitungan Kadar Fenol Total (Lanjutan).....	109
Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokim Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	110
Lampiran 6. Skrining FitokimiaFraksi DCM Ekstrak Etanol Daun Tembakau	111
Lampiran 7. Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Tembakau .	112
Lampiran 8. Skrining Fitokimia Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau...	113
Lampiran 9. Skrining Fitokimia Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	114
Lampiran 10. Skrining Fitokimia Fraksi Heksan Ekstrak Etanol Daun Tembakau	115
Lampiran 11. Hasil Identifikasi Flavonoid dan Terpenoid Menggunakan KLT	116
Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan Laboratorium GC-MS Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	117
Lampiran 13. Hasil GC-MS.....	118
Lampiran 14. Hasil GC-MS Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau	120
Lampiran 15. Hasil Uji Residu Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau	121
Lampiran 16. Perhitungan Kurva Kalibrasi.....	122
Lampiran 17. Kromatogram Validasi Uji Linearitas	124
Lampiran 18. Kurva Linearitas Nikotin dalam Dapar Fosfat	125
Lampiran 19. Hasil perhitungan data LOD dan LOQ	126
Lampiran 20. Kromatogram Validasi Uji Selektifitas.....	127
Lampiran 21. Kromatogram Validasi Uji Akurasi Presisi	128
Lampiran 22. Perhitungan Penetapan Kadar Nikotin dalam Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	129
Lampiran 23. Hasil Pengukuran pH Nanoemulsi	130
Lampiran 24. Hasil Pengukuran Bobot Jenis Nanoemulsi	131
Lampiran 25. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi	132
Lampiran 26. Hasil Pengujian Indeks Polidispersitas dan Zeta Potensial Nanoemulsi	133
Lampiran 27. Hasil Penetapan Kadar Nikotin dalam Nanoemulsi.....	134
Lampiran 28. Hasil Pengukuran pH Sediaan Gel Nanoemulsi	135
Lampiran 29. Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi.....	136
Lampiran 30. Hasil Pengujian Ukuran Partikel, Polydispersity Index dan Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi.....	137
Lampiran 31. Hasil Rata-Rata Pengukuran Indeks Polidispersitas Gel Nanoemulsi ..	141
Lampiran 32. Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1	142
Lampiran 33. Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2.....	143
Lampiran 34. Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3.....	144
Lampiran 35. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	145
Lampiran 36. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi Formula 1	148
Lampiran 37. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi Formula 2.....	149
Lampiran 38. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi Formula 3	150

Lampiran 39.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-0.....	151
Lampiran 40.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-0.....	152
Lampiran 41.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-0.....	153
Lampiran 42.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-2 Suhu 25°C.....	154
Lampiran 43.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-2 Suhu 40°C.....	155
Lampiran 44.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-2 Suhu 25°C.....	156
Lampiran 45.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-2 Suhu 40°C.....	157
Lampiran 46.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-2 Suhu 25°C.....	158
Lampiran 47.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-2 Suhu 40°C.....	159
Lampiran 48.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-4 Suhu 25°C.....	160
Lampiran 49.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-4 Suhu 40°C.....	161
Lampiran 50.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-4 Suhu 25°C.....	162
Lampiran 51.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-4 Suhu 40°C.....	163
Lampiran 52.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-4 Suhu 25°C.....	164
Lampiran 53.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-4 Suhu 40°C.....	165
Lampiran 54.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-6 Suhu 25°C.....	166
Lampiran 55.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-6 Suhu 40°C.....	167
Lampiran 56.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-6 Suhu 25°C.....	168
Lampiran 57.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-6 Suhu 40°C.....	169
Lampiran 58.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-6 Suhu 25°C.....	170
Lampiran 59.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-6 Suhu 40°C.....	171
Lampiran 60.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-8 Suhu 25°C.....	172
Lampiran 61.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-8 Suhu 40°C.....	173
Lampiran 62.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-8 Suhu 25°C.....	174

Lampiran 63.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-8 Suhu 40°C.....	175
Lampiran 64.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-8 Suhu 25°C.....	176
Lampiran 65.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-8 Suhu 40°C.....	177
Lampiran 66.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-12 Suhu 25°C.....	178
Lampiran 67.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-12 Suhu 40°C.....	179
Lampiran 68.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-12 Suhu 25°C.....	180
Lampiran 69.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-12 Suhu 40°C.....	181
Lampiran 70.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-12 Suhu 25°C.....	182
Lampiran 71.	Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-12 Suhu 40°C.....	183
Lampiran 72.	Hasil Pengujian Zeta Potensial Gel Nanoemulsi	184
Lampiran 73.	Uji Aktivitas Sediaan Gel Nanoemulsi	185

DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATCC	: American Type Culture Collection
BPFI	: Baku Pembanding Farmakope Indonesia
CFU	: Colony Forming Unit
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CMC	: Critical Micell Concentration
DCM	: Dichlorometan
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
DPE	: D Phase Emulsification
GC-FID	: Gas Chromatography-Flame Ionization Detector
HLB	: Hydrophylic Lipophylic Balance
HPH	: High Pressure Homogenizer
ICH	: International Conference on Harmonisation
IPM	: Isopropil Miristat
KB	: Keluarga Berencana
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KHM	: Kadar Hambat Minimal
LC-MS	: Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry
LOD	: Limit of Detection
LOQ	: Limit of Quantification
MCE	: Mixed Cellulose Esters
MFC	: Minimum Fungicidal Concentration
MIC	: Minimum Inhibition Concentration
PdI	: Polydispersity Index
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute
RSD	: Relative Standard Deviation
SD	: Standard Deviation
SDA	: Saboroud Dextrose Agar
TEA	: Triaethanolamin
TEM	: Transmission Electron Microcopy
UHPLC	: Ultra High Performance Chromatography
VCO	: Virgin Coconut Oil

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara beriklim tropis dengan kelembaban yang cukup tinggi, sehingga mudah tumbuh jamur pada kulit bagi orang yang kurang menjaga kebersihan tubuhnya. Sekitar 80.000 spesies jamur telah diidentifikasi, kurang dari 50 spesies merupakan penyebab lebih dari 90% infeksi jamur pada manusia dan hewan (Brooks, Carroll, Butel, Morse, & Mietzner, 2012). Penyakit yang disebabkan oleh jamur terus berkembang luas di Indonesia, salah satunya kandidiasis yang merupakan infeksi primer atau sekunder dari genus *Candida* terutama *Candida albicans* (*C. albicans*) (Karina & Ervianti, 2011). Di Indonesia, berdasarkan penelitian retrospektif di RS Prof. dr. Kandou Manado pada tahun 2009-2011 prevalensi kandidiasis kulit tercatat sebanyak 26,27% dari seluruh kasus baru infeksi jamur (Seru, Suling, & Pandeke, 2013).

Obat yang digunakan untuk pengobatan kandidiasis kulit dan infeksi dermatofita meliputi imidazol, klotrimazol, ketokonazol, flukonazol, ekonazol, sulkonazol, dan tiokonazol (BPOM RI, 2015 ; Burden, Hausammann, Ceschi, Kupferschmidt, & Weiler, 2022). Pengobatan infeksi jamur secara topikal dapat menimbulkan efek samping berupa iritasi kulit dan membran mukosa (Edminister & Jorizzo, 2022; Sinawe & Casadesus, 2022), dilaporkan adanya resistensi ketokonazol pada pasien kandidiasis mukokutan kronis (Pai, Ganavalli, & Kikkeri, 2018). Obat antijamur terutama golongan azole juga dapat menyebabkan resistensi (Denning, 2022; Muhaj, George, Nguyen, & Tyring, 2022). Xu et al., (2021) melaporkan adanya resistensi ketokonazol terhadap *C. albicans* yang dipengaruhi oleh faktor fisiologi dan mekanisme genetik.

Obat antijamur yang menggunakan bahan alami relatif sedikit. Beberapa penelitian melaporkan aktivitas antijamur bahan alam Indonesia antara lain aktivitas ekstrak metanol daun tembakau terhadap *C. albicans* yang menghasilkan zona hambat sebesar $6,90 \pm 0,03$ mm pada konsentrasi 320 $\mu\text{g/mL}$ (Putri, Barid, & Kusumawardani, 2014). Aktivitas ekstrak metanol daun tembakau terhadap *C. albicans* ditunjukkan dengan *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) sebesar 25 mg/mL (Anumudu, Nwachukwu, Obasi, Nwachukwu, & Ihenetu, 2019). Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol daun tembakau dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger* dengan

zona hambat sebesar 7,8 mm pada konsentrasi 4000 µg/mL (Fauzantoro, Amatullah, Muharram, & Gozan, 2016). Melihat potensi yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun tembakau ini, maka dapat dimanfaatkan penggunaannya pada bidang kesehatan khususnya pada penyakit yang disebabkan oleh jamur yang menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Ekstrak etanol daun tembakau mengandung banyak komponen, salah satunya adalah nikotin sebagai komponen aktif utama. Untuk memperoleh fraksi aktif yang berfungsi sebagai antijamur, maka ekstrak harus difraksinasi agar dapat dibuat sediaan farmasi dari fraksi aktif tersebut.

Hingga saat ini, belum banyak ditemukan penelitian yang memformulasikan fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau ke dalam bentuk sediaan farmasi. Bentuk sediaan farmasi untuk pengobatan antijamur secara topikal yang beredar di pasaran sebagian besar berupa sediaan krim. Sediaan krim adalah sediaan yang terbuat dari fase air dan fase minyak yang distabilkan oleh emulgator. Ukuran partikel dari krim biasanya berukuran mikrometer. Untuk meningkatkan penetrasi zat aktif pada lapisan dermis, maka perlu dibuat sediaan dengan ukuran partikel yang lebih kecil (nanometer). Salah satu bentuk sediaan nano yang sedang berkembang adalah sediaan nanoemulsi. Sediaan nanoemulsi memiliki beberapa keuntungan yaitu, ukuran partikel yang kecil dapat mencegah terjadinya flokulasi dan dapat meningkatkan luas permukaan, sehingga meningkatkan penetrasi obat. Nanoemulsi adalah sediaan isotropik dan tidak stabil secara termodinamika, terbuat dari surfaktan, minyak, dan air dengan atau tanpa penambahan kosurfaktan, ukuran *droplet* kecil dari 100 nm (Lu et al., 2017), 20-500 nm (Sarheed, Dibi, & Ramesh, 2020), 50-500 nm (Chaudhari & Kuchekar, 2018), dan 100-500 nm (Teng et al., 2020).

Minyak yang digunakan untuk pembuatan basis nanoemulsi dapat berupa minyak nabati, minyak hewani dan minyak mineral. Pada penelitian ini menggunakan *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebagai fase minyak. VCO merupakan minyak nabati memiliki beberapa manfaat lain, di antaranya sebagai emolien (Castro & Apostol, 2020; Chew, 2018), antioksidan (Nor et al., 2021; Wiyani, Aladin, Rahmawati, & Mustafiah, 2021), antimikroba (Suryani et al., 2020) dan peningkat penetrasi (Arifin et al., 2022; Lestari & Binarjo, 2013; Satheeshan, Seema, & Manjusha, 2020).

Surfaktan yang sering digunakan dalam nanoemulsi adalah golongan polisorbitat (Tween 20, 40, 60, dan 80). Polisorbitat merupakan surfaktan nonionik yang memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak toksik, meningkatkan stabilitas dari sediaan, dan meningkatkan solubilisasi zat aktif (Cheng et al., 2017; Namratha Vinaya, Mary John, Mangsatabam, & Anna Philip, 2021). Pengembangan penggunaan surfaktan saat ini salah satunya adalah penggunaan sukrosa ester, yaitu asam lemak (laurat, palmitat, stearat, dan oleat) yang dapat membentuk nanoemulsi pada konsentrasi rendah (Maria, Ibadurrohman, & Slamet, 2020). Ester sukrosa merupakan pengemulsi ramah lingkungan yang dapat diperoleh dari esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak baik secara kimiawi maupun secara enzimatis. Sorbitol banyak digunakan sebagai kosurfaktan dalam sediaan nanoemulsi karena memiliki beberapa manfaat antara lain sebagai humektan dan memiliki daya sebar yang baik (Sravan & Spandana, 2021).

Pada sistem nanopartikel terdapat kemungkinan terjadinya agregat (Shrestha, Wang, & Dutta, 2020). Masalah agregasi dapat diatasi dengan memformulasikan nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau ke dalam bentuk sediaan gel dengan menambahkan *Carbopol* sebagai *gelling agent*. *Carbopol* memiliki beberapa keuntungan antara lain dapat membentuk gel pada suhu ruang dan mampu menghasilkan gel yang baik (Safitri, Nawangsari, & Febrina, 2021). Gel nanoemulsi dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau harus stabil secara fisika dan kimia. Stabilitas fisika dan kimia dapat dilihat melalui uji organoleptik, pH, viskositas, pemisahan fase, ukuran partikel, *polydispersity index*, zeta potensial, penetapan kadar dan uji difusi. Gel nanoemulsi dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau juga memiliki aktivitas terhadap *C. albicans*.

Pengembangan dan validasi metode analisis dilakukan untuk memeriksa kandungan nikotin dalam fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau dan dalam sediaan gel nanoemulsi. Beberapa parameter analisis yang harus dilakukan dalam validasi metode analisis yaitu uji kesesuaian sistem, uji kalibrasi dan linieritas, akurasi, presisi, selektivitas serta penentuan *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ) (Harmita 2004, Branch 2005). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menentukan fraksi aktif dari ekstrak etanol daun tembakau yang memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* serta dapat diformulasi dalam sediaan gel nanoemulsi yang memenuhi persyaratan secara fisika dan kimia. Hal ini diharapkan dapat menghasilkan sediaan gel nanoemulsi yang dapat digunakan dalam pengobatan kandidiasis kulit yang disebabkan oleh *C. albicans*.

1.2 Perumusan Masalah

- a. Kandidiasis kulit yang disebabkan oleh *C. albicans* masih banyak ditemukan di Indonesia. Pengobatan untuk penyakit tersebut masih menggunakan obat-obatan kimia yang menyebabkan efek samping. Pemanfaatan bahan alam dalam tatalaksana kandidiasis kulit masih relatif terbatas. Ekstrak daun tembakau merupakan salah satu bahan alam yang memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*, sehingga perlu dilakukan analisis kandungan senyawa aktif pada ekstrak dan hasil fraksinasi ekstrak etanol daun tembakau.
- b. Aktivitas antijamur fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau terhadap *C. albicans* belum diketahui sehingga perlu dilakukan pengujian untuk memperoleh fraksi aktif dengan nilai MIC dan MFC yang terbaik.
- c. Data validasi metode analisis nikotin pada fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau belum tersedia secara lengkap sehingga perlu dilakukan pengembangan validasi metode analisis untuk menguji kandungan nikotin dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau.
- d. Sediaan farmasi dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau belum banyak dikembangkan di masyarakat sehingga perlu dilakukan formulasi sediaan gel nanoemulsi dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau yang memenuhi persyaratan fisika, kimia.
- e. Sediaan farmasi dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau belum dapat dibuktikan memberikan aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap *C. albicans*.

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada proses fraksinasi ekstrak etanol daun tembakau, melakukan skrining terhadap kandungan senyawa dalam fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau, menganalisis kandungan nikotin dalam fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau, memformulasi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau dalam sediaan gel nanoemulsi, mengevaluasi sediaan gel nanoemulsi dan menentukan aktivitasnya terhadap *C. albicans*.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Memformulasi sediaan gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau yang memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*.

1.4.2 Tujuan Khusus

- a. Menganalisis kandungan senyawa aktif hasil fraksinasi ekstrak etanol daun tembakau
- b. Menentukan fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau terhadap *C. albicans*.
- c. Memvalidasi metode analisis nikotin untuk memeriksa kandungan nikotin dalam fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau.
- d. Memformulasi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau dalam sediaan gel nanoemulsi untuk sediaan topikal dan menganalisis hasil evaluasi sediaan gel nanoemulsi secara fisika dan kimia.
- e. Menentukan aktivitas sediaan gel nanoemulsi terhadap *C. albicans*.

1.5 Model Operasional Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 3 tahapan besar, yaitu :

- a. Pengujian syarat mutu ekstrak etanol daun tembakau, pembuatan fraksi ekstrak etanol daun tembakau, pengujian karakteristik fraksi ekstrak etanol daun tembakau, skrining kandungan senyawa pada fraksi ekstrak etanol daun tembakau, analisis kandungan nikotin di dalam fraksi ekstrak etanol daun tembakau serta pengujian aktivitas ekstrak dan hasil fraksinasi daun tembakau terhadap *C. albicans* sehingga diperoleh data untuk menentukan fraksi aktif dan konsentrasinya yang akan digunakan dalam sediaan gel nanoemulsi.
- b. Formulasi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau dalam bentuk nanoemulsi, dengan bantuan VCO sebagai fase minyak, Tween 80 dan mono sukrosa ester sebagai surfaktan, sorbitol sebagai kosurfaktan. Formula akan dioptimasi untuk mendapatkan formula yang stabil secara fisika dan kimia.
- c. Evaluasi sediaan gel nanoemulsi secara fisika dan kimia sehingga diperoleh sediaan yang memenuhi persyaratan farmasetika, serta penentuan aktivitas nanoemulsi gel terhadap *C. albicans*.

1.6 Hipotesis

- f. Ekstrak etanol daun tembakau dapat difraksinasi dan dianalisis kandungan senyawanya untuk memperoleh fraksi aktif.
- g. Fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*.
- h. Metode analisis nikotin dapat divalidasi dan digunakan untuk menganalisis kandungan nikotin dalam fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau.
- i. Fraksi aktif ekstrak etanol daun dapat diformulasi dalam sediaan gel nanoemulsi sehingga menghasilkan sediaan yang memenuhi persyaratan secara fisika dan kimia.
- j. Sediaan gel nanoemulsi dari fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau memiliki aktivitas terhadap *C. albicans*.

1.7 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan alternatif pengobatan penyakit kandidiasis kulit secara topikal menggunakan fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau.
- b. Memberikan informasi tentang pemanfaatan fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau untuk sediaan farmasi dalam bentuk gel nanoemulsi.
- c. Memberikan inovasi bentuk sediaan gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau yang memenuhi persyaratan farmasetika untuk pemakaian topikal.
- d. Memberikan informasi penggunaan gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau sebagai antijamur.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Sistem penghantaran obat yang digunakan secara topikal, lokal maupun sistemik sangat dipengaruhi oleh kulit. Kulit merupakan organ yang melindungi permukaan tubuh, terdiri dari selaput lendir yang melapisi pori-pori tubuh. Kulit memiliki banyak fungsi karena di dalam kulit banyak terdapat ujung saraf peraba sehingga mampu mengatur suhu dan mengendalikan hilangnya air dari tubuh. Kulit mempunyai sedikit kemampuan eksretori, sekretori dan absorpsi. Stratum korneum merupakan *barrier* utama dari permeasi obat untuk penghantaran obat melalui kulit. Oleh karena itu, zat berbahaya dan obat yang diformulasi secara topikal tidak bisa masuk begitu saja ke dalam tubuh. Diperlukan sediaan yang mengandung zat aktif dalam ukuran kecil (nanometer) dan senyawa peningkat penetrasi (*penetration enhancers*) yang lazim digunakan di dalam sediaan untuk mempermudah transfer obat melewati stratum korneum (Kahraman, Kaykın, Bektay, & Güngör, 2019; Souto et al., 2022).

Kulit manusia terdiri dari beberapa lapisan, yaitu :

a. Epidermis

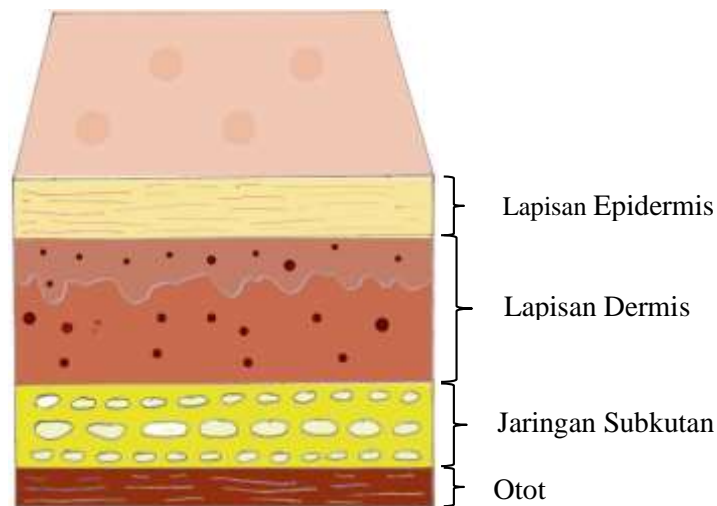
Lapisan epidermis yang perlu diperhatikan dalam sistem penghantaran transdermal yaitu stratum korneum. Stratum korneum terdiri dari beberapa lapis sel mati, berbentuk pipih, tidak memiliki nukelus, tidak mengalami proses metabolisme dan tidak berwarna. Stratum korneum memiliki kadar air hanya 20%. Stratum korneum ini digambarkan sebagai satu-satunya penghalang yang membatasi laju penetrasi obat melalui kulit (Kahraman, Kaykın, Bektay, & Güngör, 2019; Souto et al., 2022).

b. Dermis

Lapisan dermis merupakan tempat penyerapan sistemik. Tebal lapisan dermis yaitu 0,2-0,3 cm dan terbuat dari matriks protein berserat, terutama kolagen, elastin dan retikulum. Dermis merupakan tempat pembuluh darah, saraf sensorik, kelenjar keringat dan unit pilosebacea. Pembuluh darah memasok darah ke rambut (Kahraman, Kaykın, Bektay, & Güngör, 2019; Souto et al., 2022).

c. Jaringan Subkutan

Bantalan epidermis dan dermis merupakan jaringan lemak atau lapisan subkutan tempat lemak diproduksi dan disimpan. Jaringan subkutan pada dasarnya tidak berpengaruh pada penyerapan perkutan obat karena terletak di bawah sistem vaskular (Kahraman, Kaykın, Bektay, & Güngör, 2019; Souto et al., 2022).



[sumber: dokumen pribadi]

Gambar 2.1 Anatomi Kulit Manusia

2.1 Penyakit Kandidiasis

2.1.1 Kandidiasis

Kandidiasis adalah infeksi primer atau sekunder dari genus *Candida*, terutama *C. albicans*. Manifestasi klinis dari kandidiasis sangat bervariasi, mulai dari akut, subakut dan kronis ke episodik. Kelainan dapat terletak di mulut, tenggorokan, kulit, kepala, vagina, jari-jari tangan, kuku, bronkhi, paru, atau saluran pencernaan, atau bersifat sistemik, seperti septikemia, endokarditis, dan meningitis. Proses patologis yang timbul akibat kandidiasis juga bermacam-macam, mulai dari iritasi dan peradangan hingga supurasi akut, kronis atau reaksi granulomatosa. Penyakit kandidiasis merupakan infeksi oportunistik karena *C. albicans* merupakan spesies endogen (Barantsevich & Barantsevich, 2022; Talapko et al., 2021; Tamo, 2020; Lopes & Lionakis, 2022).

Candida albicans dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Pada kondisi anaerob, *C. albicans* mempunyai waktu generasi yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Walaupun *C. albicans* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan

pertumbuhan lebih tinggi pada media cair yang digoyang pada suhu 37°C. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali. Pada media Sabaroud dextrose agar atau *glucose-yeast extract-peptone water*, *C. albicans* berbentuk bulat atau oval yang biasa disebut dengan bentuk khamir dengan ukuran (3,5-6) x (6-10) µm. Koloni berwarna krem, agak mengkilat dan halus. Kemampuan *C. albicans* untuk tumbuh baik pada suhu 37°C memungkinkannya tumbuh pada sel hewan dan manusia (Soedarto, 2015).

Bentuk *C. albicans* yang dapat berubah, bentuk khamir dan filamen, sangat berperan dalam proses infeksi ke tubuh inang. *Candida albicans* merupakan mikroorganisme yang bersifat heterotrofik dan merupakan penyebab utama (80%) kasus infeksi jamur pada manusia (Barantsevich & Barantsevich, 2022; Talapko et al., 2021; Tamo, 2020; Lopes & Lionakis, 2022).

Kandidiasis kulit terutama disebabkan oleh *C. albicans* merupakan kandidiasis superfisial (kutaneus dan mukosa) ditegakkan melalui adanya peningkatan jumlah populasi *Candida* setempat dan kerusakan terhadap kulit atau epitel yang memungkinkan invasi setempat oleh ragi dan pseudohifa. Faktor risiko yang berkaitan dengan kandidiasis superfisial di antaranya AIDS, kehamilan, diabetes, usia muda atau tua, pil KB, dan trauma (luka bakar, maserasi kulit). Kandidiasis kutaneus dapat menginvasi kulit, terjadi di bagian-bagian tubuh yang hangat dan lembab seperti ketiak, lipatan paha, yang sering ditemui pada orang gemuk atau diabetes. Area yang terinfeksi menjadi berwarna merah dan lembab, serta dapat timbul vesikel (Brooks et al., 2012).

2.1.2 Pengobatan Kandidiasis

Terapi kandidiasis mukokutan biasanya menggunakan nistatin lokal, ketokonazol atau flukonazol oral (BPOM RI, 2015). Penyembuhan lesi kulit dipercepat dengan menghilangkan faktor pendukung (kelembaban berlebih, penggunaan obat antibakteri). Kandidiasis mukokutan kronis menunjukkan respon yang baik terhadap ketokonazol oral dan azol lainnya, tetapi penderitanya memiliki efek imun sel genetik sehingga sering memerlukan terapi seumur hidup (Brooks et al., 2012).

2.1.3 Pengujian Aktivitas Antijamur

Uji kepekaan antijamur sangat penting dilakukan untuk mengetahui efektifitas obat antijamur agar pemberian pengobatan lebih efektif dan optimal. Beberapa metode untuk menguji kerentanan jamur pada infeksi *Candida* antara lain: metode dilusi (*broth dilution*), metode difusi agar, dan metode otomatis komersial misalnya Vitek. Pada metode dilusi, jamur ditumbuhkan dalam media cair yang dibuat dengan pengenceran bertingkat, kemudian ditentukan konsentrasi hambat terendah, yang dapat diartikan sebagai konsentrasi terendah yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan jamur. Nilai MIC dapat diperoleh dengan pembacaan visual atau spektrofotometri. Kelemahan metode ini adalah memakan waktu dan tidak praktis di laboratorium klinik (Papon et al., 2007).

Berdasarkan CLSI atau EUCAST yang paling umum digunakan untuk uji kepekaan antijamur adalah metode dilusi kaldu menggunakan sumur. Metode berbasis dilusi ini mengandung pewarna kolorimetri rezazurin (amarBlue), yang diubah menjadi resorufin (merah tua menjadi merah) oleh sel jamur yang aktif secara metabolik. Ketika aktivitas metabolisme dihambat, sumur tampak biru dan perubahan dari merah muda/merah menjadi biru adalah titik akhir yang digunakan untuk membaca MIC dalam pengujian ini (Alastruey-Izquierdo, Melhem, Bonfietti, & Rodriguez-Tudela, 2015).

Metode difusi agar merupakan metode untuk mendeteksi kerentanan jamur dengan menggunakan media agar *Mueller Hinton* dan disk. Metode ini relatif murah dan mudah digunakan. Disk antijamur ditempatkan pada media agar yang ditanami jamur, agen antijamur akan berdifusi ke media agar dan menghambat pertumbuhan jamur, yang dapat dilihat dengan pembentukan zona atau area yang menunjukkan hambatan pertumbuhan jamur pada permukaan media agar (Clinical, 2012).

Metode komersial juga tersedia untuk mendeteksi kerentanan jamur menggunakan beberapa sistem yang tersedia secara komersial seperti *Sensitive YeastOne* (TREK *Diagnostic Systems*, Cleveland, USA), sistem Vitek dan strip uji (ETest, bioMerieux; MIC, Oxoid). Kontrol kualitas juga dilakukan untuk sistem komersial ini dan semua nilai MIC berada dalam kisaran yang sesuai (Papon et al., 2007).

2.2 Tanaman Tembakau

Tembakau dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Integrated Taxonomic Information System, 2023; Kasahara, 1995)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Solanales
Suku	: <i>Solanaceae</i>
Marga	: <i>Nicotiana</i> L.
Jenis	: <i>Nicotiana tabaccum</i> L.
Nama Indonesia	: Tembakau
Nama Daerah	: Bakong (Ac); Bako (Gy); Mbako, Timbako, Timbaho (Bt); Bago, Faniso (Ns); Tembakau, Embakau, Goyang, Tembakaw, Tabaku (My)

Daun tembakau merupakan tumbuhan semak semusim, tinggi lebih kurang 2 m. Akar tunggang, putih, berkayu. Daun tunggal, berbulu, tepi rata, dan ujung runcing, dengan penampakan seperti pada Gambar 2.2.



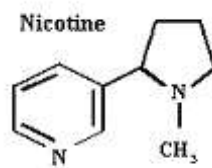
[sumber: Kemenkes RI 2017]

Gambar 2.2 Daun Tembakau (Kemenkes RI, 2017a)

Berdasarkan Fukumoto (2005), nikotin merupakan suatu alkaloid dengan nama kimia Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin dengan rumus molekul $C_{10}H_{14}N_2$, merupakan komponen aktif utama tembakau, *Nicotiana tabacum*. Nikotin memiliki bobot molekul

sebesar 162,23 g/mol dengan rumus struktur tertera pada Gambar 2.3. Saat diekstraksi dari daun tembakau, nikotin tak berwarna, tetapi segera menjadi coklat ketika bersentuhan dengan udara. Sifat fisik nikotin yaitu cairan berminyak yang higroskopik, bercampur dengan air baik dalam bentuk basa bebas atau dalam bentuk garamnya. Nikotin mempunyai dua sistem cincin nitrogen, satu piridin dan yang lain pirolidin, sehingga dapat dikelompokkan dalam alkaloid piridin, maupun pirolidin (O'Neil, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, ekstrak etanol dari daun tembakau mengandung alkaloid, tanin, flavonoid dan steroid (Oeung et al., 2017). Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun tembakau mengandung terpenoid, steroid, alkaloid dan tannin (Prommaban et al., 2022).



[sumber: USP 41, 2018]

Gambar 2.3 Rumus Struktur Nikotin

2.3 Fraksinasi

Fraksinasi berasal dari kata *fraction* atau bagian, dapat diartikan sebagai mekanisme untuk memilah-milah atau memisah-misahkan suatu kumpulan menjadi beberapa bagian (*fraction/part*). Fraksinasi dapat ditujukan untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian ini merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuan lainnya adalah untuk mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu. Fraksinasi juga diperlukan ketika melakukan isolasi atau pemisahan satu senyawa metabolit sekunder tunggal (Agung, 2017).

Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa teknik, di antaranya adalah (Agung, 2017) :

a. *Liquid-liquid extraction* (ekstraksi cairan-cairan)

Fraksinasi dengan *liquid-liquid extraction* adalah pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan

cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat bercampur antara keduanya (*immiscible*).

Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (*separating funnel*). Dua pelarut yang berbeda sifat, baik polaritas maupun masa jenisnya, pada sebuah sistem dalam labu pemisah menyebabkan terbentuknya dua fase/fraksi yang terpisah pada bagian atas dan bawah. Kedua fase tersebut terbentuk setelah kedua pelarut beserta ekstrak yang ada di dalamnya itu dicampur dengan cara dikocok dan kemudian didiamkan selama beberapa saat. Fase bagian atas ditempati oleh pelarut yang memiliki masa jenis lebih rendah, dan fase bagian bawah ditempati oleh pelarut dengan masa jenis lebih tinggi. Senyawa-senyawa dari ekstrak tersebut akan bergerak dan terpisah dengan dua kecenderungan mengikuti kedekatan sifat dari senyawa dengan pelarutnya. Sejumlah senyawa akan bergabung bersama fase bagian atas dan ada sejumlah senyawa lainnya akan bergabung dengan fase bagian bawah.

b. Kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak tertentu.

Teknik fraksinasi lainnya adalah dengan metode kromatografi kolom. Pada dasarnya, prinsip kerjanya hampir sama dengan *liquid-liquid extraction*, yang membedakan adalah media yang digunakan. Pada fraksinasi dengan kromatografi kolom, maka proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi di mana sama-sama mengaplikasikan prinsip tingkat kepolaran/polaritas, prinsip yang sama seperti pada *liquid-liquid extraction*.

2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

2.4.1 Pengertian Umum KCKT

Menurut Farmakope Indonesia, kromatografi merupakan prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses perpindahan karena adanya perbedaan secara dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dengan arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (Kemenkes, 2020).

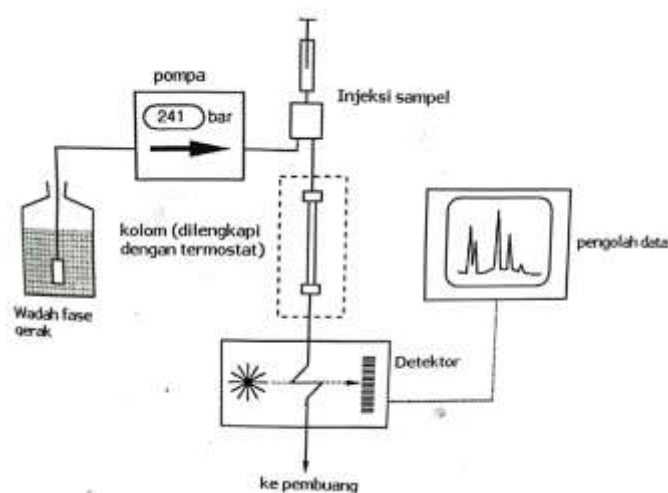
Kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif membuat kromatografi kolom cair menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Metode ini dikenal sebagai Kromatografi Cair

Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan Teknik (Kemenkes, 2020). Fungsi KCKT, yaitu memisahkan dan memurnikan senyawa obat, menganalisis secara kuantitatif senyawa obat dalam sediaan farmasetika, dan mengidentifikasi secara kualitatif senyawa obat dengan mendasarkan pada parameter waktu retensi senyawa obat standar dan senyawa obat dalam sampel (Gandjar & Rohman, 2017).

2.4.2 Cara Kerja KCKT

Kromatografi bekerja berdasarkan teknik pemisahan yang mana senyawa-senyawa kimia atau senyawa obat terpisah akibat adanya perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan senyawa-senyawa ini melewati kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut terjadi karena adanya distribusi solute dalam fasa gerak dan fasa diam. Jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom dan ukuran sampel merupakan kondisi yang harus diperhatikan agar penggunaan kromatografi cair terhadap suatu masalah yang dihadapi sukses (Gandjar & Rohman, 2017).

2.4.3 Instrumen KCKT



[sumber: (Gandjar & Rohman, 2017)]

Gambar 2.4 Instrumen KCKT

Komponen utama pada KCKT ada 8 bagian yakni wadah fase gerak, pompa untuk mengalirkan fase gerak, alat untuk memasukan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan suatu komputer atau integrator

untuk mengolah data sinyal sehingga diperoleh suatu kromatogram (Gandjar & Rohman, 2017).

a. Wadah fase gerak

Wadah fase gerak merupakan tempat yang digunakan untuk menampung fase gerak yang digunakan selama proses pemisahan berjalan. Wadah ini harus selalu bersih dan tidak boleh bereaksi dengan komponen fase gerak. Adanya pengotor dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. (Gandjar & Rohman, 2017).

b. Fase Gerak

Fase gerak atau eluen terdiri dari beberapa pelarut yang mampu bercampur dan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. (Gandjar & Rohman, 2017).

c. Pompa pada KCKT

Pompa yang digunakan pada KCKT merupakan pompa yang memiliki syarat aman sebagai tempat untuk pelarut, yaitu: pompa tidak boleh bereaksi dengan fase gerak. Gelas, baja tahan karat, teflon dan batu nilam merupakan jenis bahan yang biasanya digunakan untuk pompa KCKT. (Gandjar & Rohman, 2017).

d. Kolom pada KCKT

Kolom yang digunakan pada proses pemisahan dalam KCKT umumnya memiliki diameter yang kecil (2-4 mm), kolom yang berdiameter lebih besar digunakan untuk keperluan preparatif (Kemenkes, 2020).

e. Fase Diam pada KCKT

Fase diam yang banyak digunakan pada KCKT berupa silica yang tidak dimodifikasi, silica yang dimodifikasi secara kimiawi, atau polimer-polimer stiren dan divinil benzene. Silika merupakan penjerap yang sangat baik. Silika tidak mudah untuk disintesis karena silika merupakan bahan yang amorf dengan permukaan yang heterogen. (Gandjar & Rohman, 2017).

f. Detektor KCKT

Detektor yang digunakan pada KCKT dibagi menjadi 2 jenis, yaitu: Detektor universal. Detektor ini mampu mendeteksi zat secara umum. Contoh dari detektor ini yaitu detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa. Detektor yang

hanya bisa mendeteksi analit secara spesifik dan selektif. Contoh dari detektor ini yaitu, detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia (Gandjar & Rohman, 2017).

g. Komputer, Integrator, atau Rekorder

Komputer, integrator atau rekorder dihubungkan dengan detektor berfungsi sebagai alat pengukur data. Alat ini mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu mem-plotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis (pengguna) (Gandjar & Rohman, 2017).

2.5 Validasi Metode Analisis

2.5.1 Pengertian

Validasi suatu prosedur analisis adalah proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium agar kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya (Kemenkes, 2020). Validasi metode analisis dilakukan untuk menjamin mutu analisis kuantitatif (Gandjar & Rohman, 2017). Karakteristik kinerja analitik yang digunakan dalam validasi metode dalam Farmakope Indonesia, yaitu akurasi, presisi, spesifikasi, batas deteksi, batas kuantifikasi, linearitas, rentang, ketegaran (Kemenkes, 2020; Harron, 2013).

Validasi metode analisis dilakukan untuk memverifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya mampu untuk mengatasi problem analisis. Metode analisis harus divalidasi ketika (Gandjar & Rohman, 2017):

- a. Dilakukan pengembangan metode baru untuk mengatasi problem analisis tertentu.
- b. Dilakukan revisi pada metode yang sudah baku atau munculnya permasalahan dari metode tersebut sehingga metode tersebut harus direvisi.
- c. Metode baku berubah ketika dilakukan penjaminan mutu.
- d. Metode baku dikerjakan pada laboratorium yang berbeda, analis yang berbeda dan alat yang berbeda.
- e. Untuk mendenstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

2.5.2 Akurasi

Akurasi suatu prosedur analisis dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil pengujian dengan metode yang sedang divalidasi terhadap nilai yang benar. Akurasi

prosedur analisis harus ditetapkan meliputi rentang yang benar. Pengujian akurasi dari senyawa obat ditetapkan dengan penerapan prosedur dari bahan pembanding yang telah diketahui kemurniannya atau dengan membandingkan hasil analisis dengan prosedur lain yang akurasinya telah ditetapkan. Akurasi dihitung dengan melihat perolehan kembali dari pengukuran sejumlah analit yang ditambahkan dan diketahui keberadaannya didalam sampel, atau sebagai selisih antara hasil rata-rata dengan hasil sesungguhnya yang diterima bersama batas kepercayaannya (Kemenkes, 2020).

Dokumen ICH merekomendasikan pengujian akurasi ditetapkan dengan menggunakan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 tingkat konsentrasi yang berbeda dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi (Branch 2005). Penilaian akurasi dapat dilakukan dengan berbagai cara termasuk menilai persen perolehan kembali dari berbagai rentang pengujian, atau menilai linearitas hubungan konsentrasi yang dihitung terhadap konsentrasi sebenarnya. Arah garis lurus hubungan tersebut harus sekitar 1,0 atau mendekati 1,0 (Kemenkes, 2020).

2.5.3 Presisi (Keterulangan)

Presisi prosedur analisis dilakukan untuk melihat tingkat kesesuaian antara hasil uji sampel bila diterapkan metode secara berulang kali terhadap sampling ganda atau sampel yang homogen. Presisi dinyatakan dalam bentuk simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) dari satu seri pengukuran. Presisi dilakukan pada tingkatan ketertiruan atau keterulangan prosedur analisis dalam kondisi kerja normal. Penetapan presisi prosedur analisis di tetapkan dengan menentukan kadar sejumlah sampel dari larutan sampel homogen yang diuji beberapa kali, sehingga hasil pengujian dapat dihitung secara statistik dengan perkiraan yang sesuai dari simpang baku relatif (koefisien variasi). Penetapan kadar dalam kaitan ini adalah analisis bebas terhadap sampel yang dilakukan lengkap mulai dari penyiapan sampel hingga diperoleh hasil akhir pengujian (Kemenkes, 2020).

Dokumen ICH merekomendasikan bahwa keterulangan ditentukan dengan menggunakan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan rentang konsentrasi tertentu dengan 3 tingkat konsentrasi yang berbeda dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi, atau minimal 6 penetapan pada konsentrasi uji 100%) (Kemenkes, 2020).

Berdasarkan pedoman ICH, presisi mungkin dipertimbangkan pada tiga tingkatan: keterulangan, presisi antara, dan ketertiruan (Watson, 2013).

Keterulangan menyatakan presisi yang diperoleh dibawah kondisi-kondisi pelaksanaan yang sama baik orang, peralatan, tempat maupun waktunya selama interval waktu yang singkat. Keterulangan juga dapat disebut sebagai presisi intra- penetapan kadar (Watson, 2013).

Presisi intermediat menyatakan variasi presisi dalam laboratorium pada saat analisis tersebut dilakukan pada kondisi percobaan yang salah satunya berbeda missal oleh analis yang berbeda, pada hari-hari yang berbeda, dan dengan menggunakan perlengkapan yang berbeda. Jadi suatu laboratorium akan menghilangkan kemungkinan adanya variasi-variasi tersebut menjadi besar sehingga akan melakukan standarisasi terhadap bagian-bagian tertentu pada perlengkapan, metode tertentu dalam penanganan data, dan memastikan bahwa semua analisisnya dilatih dengan standart yang sama (Watson, 2013).

Reprodusibilitas menyatakan presisi antar laboratorium seperti uji banding atau uji profisiensi. Uji tersebut dilakukan bila suatu metode sedang diganti dari satu bagian perusahaan ke bagian yang lain. Data yang diperoleh selama penggantian metode tersebut biasanya tidak menjadi bagian dari dokumen pemasaran yang diajukan dalam rangka memperoleh izin produk (Watson, 2013).

2.5.4 Uji kesesuaian sistem

Seorang analis harus dapat memastikan bahwa sistem dan metode yang digunakan mampu memberikan data yang bisa diterima. Hal ini dapat dilakukan dengan uji kesesuaian sistem yang didefinisikan sebagai uji yang dilakukan untuk menjamin bahwa metode yang digunakan dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Persyaratan-persyaratan kesesuaian sistem biasanya dilakukan setelah dilakukan pengembangan metode dan validasi metode. United States Pharmacopeia (USP) menentukan parameter yang digunakan pada uji kesesuaian sistem meliputi HETP (N), kapasitas (k atau α) dan nilai standar deviasi relatif (RSD) tinggi puncak dan luas puncak dari serangkaian injeksi. Pada umumnya, minimal ada 2 syarat yang biasanya harus dipenuhi untuk menunjukkan kesesuaian sistem suatu metode. Nilai RSD tinggi puncak atau luas puncak dari 5 kali injeksi larutan baku pada dasarnya dapat diterima sebagai

salah satu kriteria baku untuk pengujian komponen yang jumlahnya banyak (komponen mayor) jika nilai RSD $\leq 2\%$ untuk 5 kali injeksi. Sementara untuk senyawa-senyawa dengan kadar sekelumit, nilai RSD dapat diterima jika antara 5-15% (Gandjar & Rohman, 2017).

2.5.5 Linearitas dan rentang

Linearitas adalah kemampuan untuk menunjukkan hasil uji yang dilakukan secara langsung atau dengan melalui perubahan yang tepat proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel dalam rentang yang diberikan. Dalam kaitan ini linearitas mengacu pada hubungan linear antara konsentrasi atau hasil pengukuran (Kemenkes, 2020). Linearitas ditentukan dengan mengukur senyawa pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang didapat selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar & Rohman, 2017).

Penetapan linearitas dapat ditentukan sesuai rentang analisis. Linearitas dapat digambarkan secara visual antara tanda sebagai fungsi dari konsentrasi analit. Bila hasil pengujian diperoleh hasil yang linear, hasil uji dapat ditentukan dengan metode statistik yang memadai (misalnya dengan perhitungan garis regresi kuadrat terkecil). Data dari garis regresi dapat membantu menunjukkan perkiraan derajat linearitas, seperti koefisien korelasi, perpotongan sumbu y, arah regresi dan jumlah kuadrat residu garis regresi yang dapat diterima. Rentang prosedur divalidasi dengan membuktikan bahwa prosedur analisis memberikan presisi, akurasi dan linearitas yang dapat diterima ketika diterapkan pada sampel yang mengandung analit pada konsentrasi ekstrim yang berada pada rentang (Kemenkes, 2020).

2.5.6 Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi adalah karakteristik uji batas. Ini merupakan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang mampu dideteksi oleh alat, meskipun tidak kuantitatif dalam kondisi percobaan yang ditentukan. Batas deteksi umumnya dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen, bpj, bpm) dalam sampel (Kemenkes, 2020).

Penetapan untuk prosedur non instrumental, batas deteksi umumnya ditetapkan dalam analisis sampel yang mengandung sejumlah analit dalam kadar yang diketahui dan

menentukan kadar analit terendah yang dapat dideteksi oleh alat dengan baik. Untuk prosedur instrumental, pendekatan yang sama dapat digunakan pendekatan non-instrumental. Batas deteksi cukup ditunjukkan dengan analisis sampel yang mengandung kadar analit di atas atau di bawah batas deteksi yang dipersyaratkan. Dalam kasus prosedur analisis instrumental yang menunjukkan adanya gangguan latar belakang, dokumen ICH menguraikan pendekatan umum dengan membandingkan *peak* dari sampel dengan konsentrasi analit rendah yang diketahui dengan *peak* blanko. Konsentrasi minimum analit yang masih dapat dideteksi dapat ditentukan pada perbandingan “*signal to noise*” 2:1 atau 3:1 (Kemenkes, 2020).

Batas kuantitasi adalah karakteristik penetapan kuantitatif terendah dari senyawa dalam matriks sampel, seperti cemaran dalam senyawa obat ruahan dan hasil degradasi dalam sediaan farmasi akhir yang masih dapat dideteksi dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima” (Kemenkes, 2020). “Metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan slope (S) kurva baku sesuai rumus: $LOQ = 10 (SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linear atau dengan standar deviasi intersep-y pada garis regresi” (Gandjar & Rohman, 2017).

2.6 Nanoemulsi

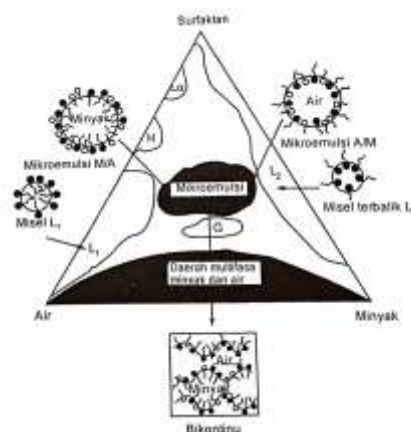
2.6.1 Pengertian

Nanoemulsi merupakan suatu sistem dispersi koloidal dengan ukuran *droplet* kecil dari 100 nm (Lu et al., 2017), 20-500 nm (Sarheed et al., 2020), 50-500 nm (Chaudhari & Kuchekar, 2018), dan 100-500 nm (Teng et al., 2020), stabil secara kinetik (Safaya & Rotliwala, 2020) dan tidak stabil secara termodinamik (Teng et al., 2020). Nanoemulsi mampu meningkatkan kelarutan suatu senyawa karena nanoemulsi memiliki kapasitas pelarutan obat yang tinggi. Formulasi nanoemulsi dapat digunakan untuk sediaan obat dengan sistem pelepasan zat aktif terkendali dan dapat melindungi zat aktif terlarut dari degradasi yang tidak diinginkan (Ashaolu, 2021; Sabjan, Munawar, Rajendiran, Vinoji, & Kasinathan, 2020)

Nanoemulsi dikelompokkan menjadi 3 tipe, yaitu: nanoemulsi air dalam minyak (w/o), nanoemulsi minyak dalam air (o/w), nanoemulsi *bicontinuous*. Tipe nanoemulsi yang terbentuk bergantung pada bahan pembentuknya. Nanoemulsi minyak

dalam air terbentuk jika fase minyak tersebar dalam fase air. Nanoemulsi air dalam minyak terbentuk jika fase air tersebar dalam minyak. Nanoemulsi *bicontinuous* terjadi jika air dan minyak memiliki jumlah yang hampir sama (Ashaolu, 2021; Gurpreet & Singh, 2018; Sabjan, Munawar, Rajendiran, Vinoji, & Kasinathan, 2020).

Hubungan perilaku fase (*phase behaviour*) dari setiap komponen yang terdapat di dalam sistem nanoemulsi dapat dilihat dengan bantuan diagram fase (*phase diagram*). Hal ini dimaksudkan untuk menentukan komposisi yang tepat dari fase air, minyak dan surfaktan yang membentuk suatu sistem nanoemulsi. Perilaku fase dari nanoemulsi sederhana yang mengandung minyak, air dan surfaktan dapat dipelajari menggunakan diagram 3 fase (*Ternary phase diagram*), setiap sudutnya mewakili 100% dari setiap komponen (Swarbick & Boylan, 1995).



[sumber: Agoes, 2012]

Gambar 2.5 Fase Diagram Nanoemulsi

2.6.2 Metode pembuatan nanoemulsi

Pembuatan nanoemulsi dengan metode ini menggunakan alat diantaranya, *microfluidizers*, *high pressure homogenizer* (HPH), dan ultrasonikator sehingga dapat dihasilkan *droplet* dalam ukuran nano. Metode ini biasanya digunakan untuk pembuatan nanoemulsi skala industri karena membutuhkan jumlah energi yang besar dan biaya produksi yang tinggi. Metode ini dapat menggunakan minyak dengan bobot molekul yang tinggi dan jumlah surfaktan yang lebih sedikit jika disbanding dengan metode lainnya. Namun, metode ini tidak dapat digunakan untuk bahan yang tidak tahan panas (McClements, 2012b; Safaya & Rotliwala, 2020).

2.6.3 Ketidakstabilan emulsi

Emulsi tidak stabil secara fisika jika pada saat didiamkan. Fase terdispersi akan beragregasi, agregatnya naik ke permukaan, atau turun ke dasar emulsi membentuk lapisan yang lebih pekat, serta terdapat fase diam yang tidak teremulsikan sehingga membentuk lapisan yang lain (Allen, Popovich, and Ansel 2014; Lachman, Lieberman, and Kanig 2012). Bentuk ketidakstabilan nanoemulsi dapat dikelompokkan sebagai berikut (Allen et al., 2014):

a. *Creaming*

Agregat dari bulatan fase dalam mempunyai kecenderungan yang lebih besar untuk naik ke permukaan nanoemulsi atau jatuh ke dasar nanoemulsi daripada partikel-partikelnya sendiri.

b. Flokulasi

Flokulasi adalah agregasi globul menjadi kelompok besar. Gejala ini dapat meningkatkan *creaming*

c. *Coalescence (breaking, cracking)*

Kerusakan yang lebih besar dari *creaming* pada suatu nanoemulsi yaitu jika terjadi penggabungan bulatan-bulatan fase dalam (*coalescence*) dan pemisahan fase tersebut menjadi suatu lapisan. Pemisahan fase dalam dari nanoemulsi tersebut disebut “pecah” atau “retak” (*cracked*). Hal ini bersifat *irreversible*, karena lapisan pelindung di sekitar bulatan-bulatan fase terdispersi tidak ada lagi.

2.7 Surfaktan dan Kosurfaktan

Surfaktan atau zat aktif permukaan merupakan molekul yang struktur kimianya terdiri dari 2 bagian dan mempunyai perbedaan afinitas terhadap berbagai pelarut yaitu bagian hidrofilik dan lipofilik. Surfaktan bekerja terhadap hidrofilik, lipofilik atau berada antara minyak air. Surfaktan yang menyebabkan zat teradsorpsi pada antarmuka merupakan surfaktan Ampifilik., Surfaktan harus diimbangi dengan gugus-gugus yang larut air dan minyak agar surfaktan terpusat pada antarmuka. Efek antarmuka tidak akan terjadi jika molekul terlalu hidrofilik atau lipofilik. Tegangan permukaan akan turun bila terjadi adsorpsi molekul surfaktan di permukaan cairan, dan tegangan antarmuka akan turun jika terjadi adsorpsi di antara cairan (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1993).

Tegangan permukaan adalah gaya per satuan panjang yang harus diberikan sejajar dengan permukaan cairan untuk mengimbangi tarikan ke dalam. Tegangan antarmuka adalah gaya per satuan panjang yang terdapat pada antarmuka dua fase cair yang tidak bercampur. Gaya adhesif antar dua fase cair yang membentuk suatu antarmuka lebih besar daripada bila suatu fase cair dan suatu fase gas berada bersama-sama, oleh karena itu tegangan antarmuka selalu lebih kecil daripada tegangan permukaan (Martin et al., 1993).

Critical Micell Concentration (CMC) merupakan peristiwa yang terjadi karena surfaktan berkelompok membentuk suatu substansi yang disebut misel. Meningkatkan kelarutan zat-zat yang biasanya sukar larut atau sedikit larut dalam pelarut yang digunakan merupakan sifat terpenting misel. Proses ini disebut solubilisasi yang terbentuk antara molekul zat yang sukar larut berasosiasi dengan misel surfaktan membentuk larutan yang jernih dan stabil secara termodinamika (Martin et al., 1993).

Surfaktan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu (Sinko, 2015) :

a. Surfaktan tipe anionik

Surfaktan tipe anionik dapat terpisah ionnya jika dimasukkan ke dalam air dan bagian anionnya mampu berfungsi sebagai surfaktan. Jenis surfaktan tipe anionik antara lain sabun (senyawa sejenis sabun) dan senyawa tersulfatasi (natrium lauril sulfat, natrium setil sulfat, natrium stearil sulfat). Senyawa sejenis sabun terdiri dari sabun alkali (natrium palmitat, natrium stearat) dan sabun amin (trietanolamin stearat). Contoh senyawa tersulfonasi sebagai surfaktan yaitu setil sulfonat.

b. Surfaktan tipe kationik

Surfaktan tipe kationik dapat terpisah ionnya jika dimasukkan ke dalam air dan bagian kationnya dapat berfungsi sebagai surfaktan, contoh setrimid dan setil piridinium klorida

c. Surfaktan tipe nonionik

Surfaktan tipe nonionik tidak dapat terpisah ionnya jika dimasukkan ke dalam air, contoh ester parsial asam lemak dari sorbitan (span) dan ester parsial asam lemak dari polioksietilen sorbitan (tween).

d. Surfaktan tipe amfoterik

Surfaktan tipe amfoterik mempunyai gugus kationik dan anionik dalam molekulnya dan dapat terionisasi dalam larutan air. Gugus yang dilepaskan tergantung kondisi mediumnya. Surfaktan tipe amfoterik yaitu protein dan lesitin.

Kosurfaktan merupakan alkohol rantai sedang (pentanol atau n-butanol). Kosurfaktan biasanya ditambahkan ke dalam formula nanoemulsi yang dibuat dengan surfaktan ionik karena kosurfaktan dapat meningkatkan kemungkinan terbentuknya nanoemulsi. Peran kosurfaktan dalam pembuatan nanoemulsi yaitu dapat membantu menurunkan tegangan antar muka dibandingkan dengan surfaktan biasa, meningkatkan fleksibilitas film antarmuka yang dibentuk oleh surfaktan pada globul emulsi, menurunkan viskositas nanoemulsi dan mengurangi konsentrasi surfaktan yang diperlukan (Swarbick & Boylan, 1995).

2.8 Gel

Gel merupakan suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan. Karakteristik dari gel yaitu strukturnya yang kaku. Gel dapat berupa sediaan yang jernih atau buram, polar, atau non polar, dan hidroalkoholik tergantung konstituennya. Komponen dari gel, yaitu: zat aktif, *gelling agent*, bahan tambahan (humektan, pengawet dan pelarut). Keuntungan dari gel dibanding sediaan topikal lain yaitu mampu menyebar dengan baik pada kulit, tidak ada penghambatan fungsi rambut secara fisiologis, memberikan rasa dingin, mudah dicuci dengan air, dan pelepasan obatnya yang baik (Allen et al., 2014).

Gel tersusun atas gom alami (tragakan, guar, atau xanthan), bahan semisintetis (misal: *methyl cellulose*, *carboxy methyl cellulose*, atau *hydroxy ethyl cellulose*), bahan sintetis (misal : carbomer), atau *clay* (misal : silikat). Viskositas dari gel berbanding lurus dengan jumlah dan berat molekul bahan pengental yang ditambahkan. Jenis-jenis gel, yaitu: *lipophilic gels* dan *hydrophilic gels*. *Lipophilic gels* (oleogel) merupakan gel dengan basis yang terdiri dari paraffin cair, polietilen atau minyak lemak yang ditambah dengan silika koloid atau sabun-sabun aluminium atau seng. Sedangkan *hydrophylic gels*, basisnya terbuat dari air, gliserol atau propilen glikol, yang ditambah *gelling agent* misalnya amilum, turunan selulosa, carbomer dan magnesium-aluminium silikat (Agoes, 2012).

Berdasarkan sifat pelarut terdiri dari hidrogel, organogel, dan xerogel. Hidrogel (sering disebut juga aquagel) merupakan bentuk jaringan tiga dimensi rantai polimer hidrofilik yang tidak larut dalam air tapi dapat mengembang di dalam air. Karena sifat

hidrofil dari rantai polimer, hidrogel dapat menahan air dalam jumlah banyak di dalam struktur gelnya (superabsorbent) (Agoes, 2012).

2.9 Difusi

2.9.1 Pengertian

Difusi merupakan suatu proses perpindahan massa molekul suatu zat yang dibawa oleh gerakan molekular secara acak (*Brownian*) dan berhubungan dengan adanya perbedaan konsentrasi aliran molekul melalui suatu pembatas, misalnya suatu membran polimer. Perpindahan suatu zat melalui *barrier* terjadi karena adanya permeasi molekular sederhana atau oleh gerakan melalui pori. Koefesien difusi, koefesien partisi dan gradien kosentrasi merupakan faktor penting yang mempengaruhi penetrasi obat di kulit. Disolusi dari molekul yang menembus dalam keseluruhan membran mampu mempengaruhi difusi molekular atau penetrasi melalui media yang tidak berpori. Proses selanjutnya, menyangkut perjalanan suatu zat melalui pori suatu membran, yang berisi pelarut dan dipengaruhi ukuran relatif molekul yang menembusnya, serta diameter dari pori tersebut (Martin et al., 1993).

Dalam hukum Fick's, secara matematika dapat dijelaskan secara umum proses difusi molekul pada suatu membran. Afinitas terhadap stratum korneum harus dimiliki oleh molekul obat yang terlarut dalam solven agar dapat berdifusi. Perpindahan terjadi dari kosentrasi tinggi ke kosentrasi yang rendah oleh karena itu, perpindahan molekul obat tersebut tidak secara acak. Proses difusi molekul obat pada stratum korneum dapat dilihat dari hukum Fick's. Pada hukum Fick's D adalah koefisien difusi penetran (cm^2/detik) dan C adalah kosentrasi (gram/cm^3). Konstanta difusi dapat berubah pada kosentrasi yang lebih tinggi. Nilai konstanta juga dipengaruhi oleh temperatur, tekanan, sifat pelarut dan sifat kimia dari difusan (Martin et al., 1993).

2.9.2 Uji Penetrasi Menggunakan Sel Difusi Franz Secara *In Vitro*

Penelitian daya penetrasi kulit *in vitro* dilakukan pada pengembangan formula untuk sediaan topikal. Pelepasan obat yang optimal dan deposisi obat ke dalam lapisan kulit yang ingin dicapai (stratum korneum, epidermis, atau dermis) dapat terjadi jika formulasi yang dibuat sangat baik. Kecepatan dan jumlah senyawa yang melewati kulit diukur melalui studi penetrasi kulit secara *in vitro*. Hal tersebut bergantung pada obat,

bentuk sediaan, bahan eksipien, bahan peningkat penetrasi, dan variabel formulasi lainnya (Salamanca, Barrera-Ocampo, Lasso, Camacho, & Yarce, 2018).

Salah satu metode *in vitro* untuk mengukur jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit yaitu menggunakan sel difusi *Franz*. Sel difusi ini terbagi atas 2 kompartemen, yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor yang dipisahkan oleh suatu pelapis atau potongan kulit. Membran berupa kulit manusia, kulit hewan atau membran artifisial merupakan membran yang banyak digunakan dalam uji penetrasi antara lain. Membran yang digunakan, diletakkan di antara kedua kompartemen untuk menjaga posisi membrane kemudian kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dipertahankan dengan sirkulasi air menggunakan *water jacket* di sekeliling kompartemen reseptor. Sampel yang diuji dioleskan pada membran kulit. Cairan dari kompartemen reseptor diambil beberapa milliliter (mL) pada interval waktu tertentu dan segera digantikan dengan cairan yang sama, sejumlah cairan yang diambil. Jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dianalisis dengan metode yang sesuai (Salamanca et al., 2018).

Uji penetrasi secara *invitro* menggunakan sel difusi Franz mengikuti hukum Fick's. Kinetika pelepasan obat dari sediaan transdermal patch dapat dinilai dari fluks maksimum dari jumlah obat yang mampu melewati kulit. Rumus dari hukum Fick's yaitu (Alkilani, McCrudden, & Donnelly, 2015; Paul, Laurila, Vuorinen, & Divinski, 2014) :

$$J = \frac{dM}{dt.A} = -D \frac{dC}{dX} \dots\dots\dots (2.1)$$

Keterangan :

J : Fluks ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{jam}$)

dM : Jumlah obat yang berpentrasi

dt : waktu

A : Luas membran

D : koefisien difusi

dC : Perbedaan konsen

dX : Tebal membran

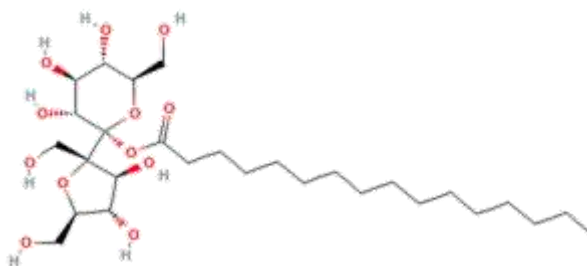
2.10 Monografi Bahan Tambahan

2.10.1 Tween 80

Tween 80 merupakan golongan surfaktan nonionik yang memiliki tingkat toksisitas dan iritasi yang relatif rendah dibandingkan dengan surfaktan lain. Selain itu pada penelitian sebelumnya (Yati, Lucida, & Ben, 2011) telah membuktikan bahwa penggunaan tween 80 sebagai surfaktan menghasilkan mikroemulsi yang transparan. Tween 80 memiliki HLB 15 (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009) yang cocok digunakan untuk sistem nanoemulsi tipe minyak dalam air (M/A).

2.10.2 Ester Sukrosa Palmitat

Ester sukrosa dapat digunakan pada industri farmasi, kosmetik dan makanan (Kelemen et al., 2020; Maria, Ibadurrohman, & Slamet, 2020; Chen, Hanning, Falconer, Locke, & Wen, 2019). Ester sukrosa mengandung tidak kurang 80% asam lemak. Asam lemak yang terkandung adalah mono-, di-, dan tri-ester seperti ester sukrosa palmitat (Committee, 2017). Ester sukrosa dihasilkan dari asam lemak, umumnya dikenal sebagai ester sukrosa, dan sukrosa oligo ester yang digunakan sebagai pengemulsi (Trabelsi, Essid, & Frikha, 2020). Habo ester sukrosa palmitat (P90) memiliki rumus molekul $C_{28}H_{52}O_{12}$ mengandung lebih dari 90% sukrosa monopalmitat murni dan memiliki nilai HLB 18 (Food, 2022). ester sukrosa palmitat memiliki sifat hidrofilik karena mengandung banyak gugus OH (Medicine, 2022).

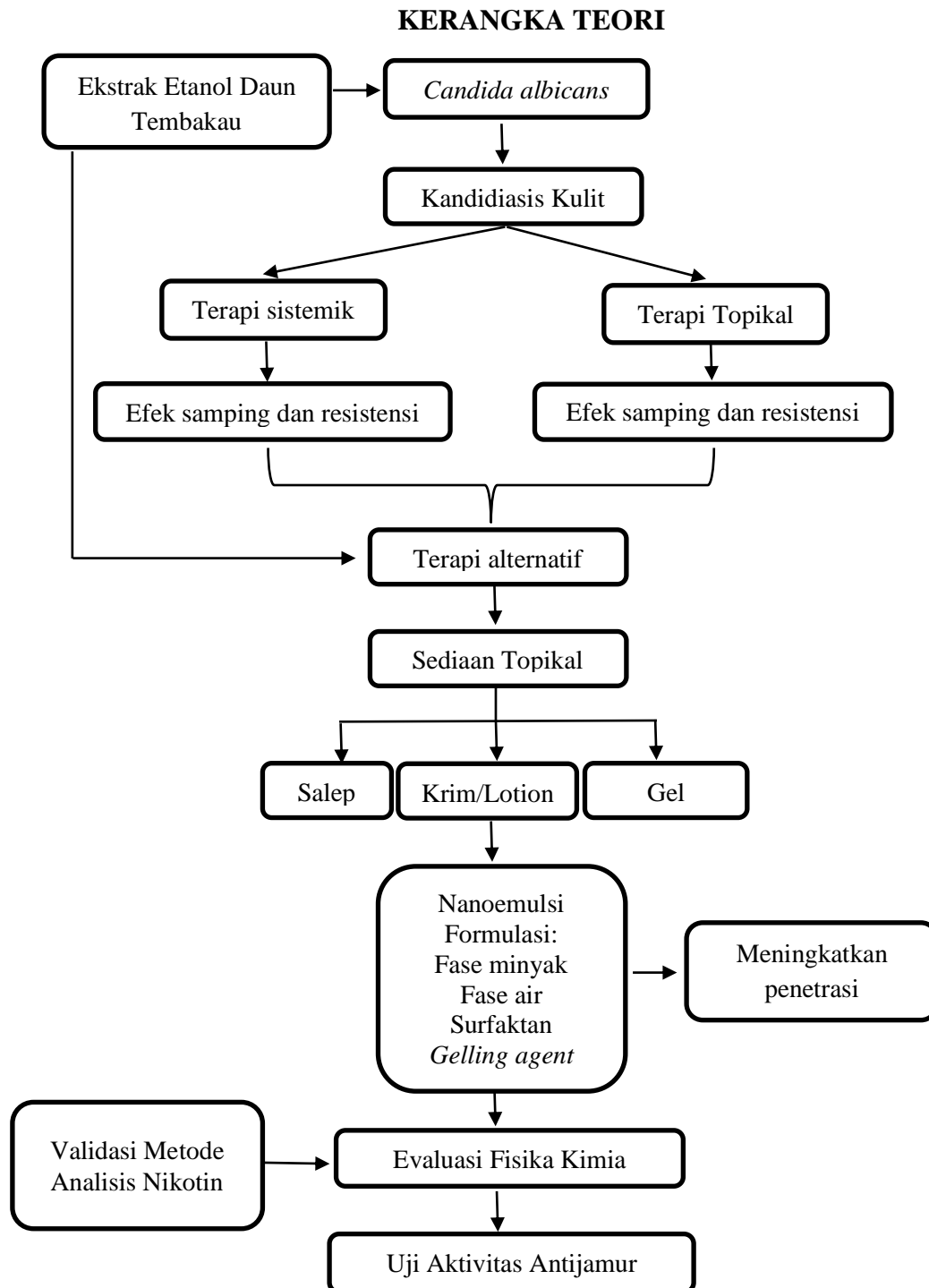


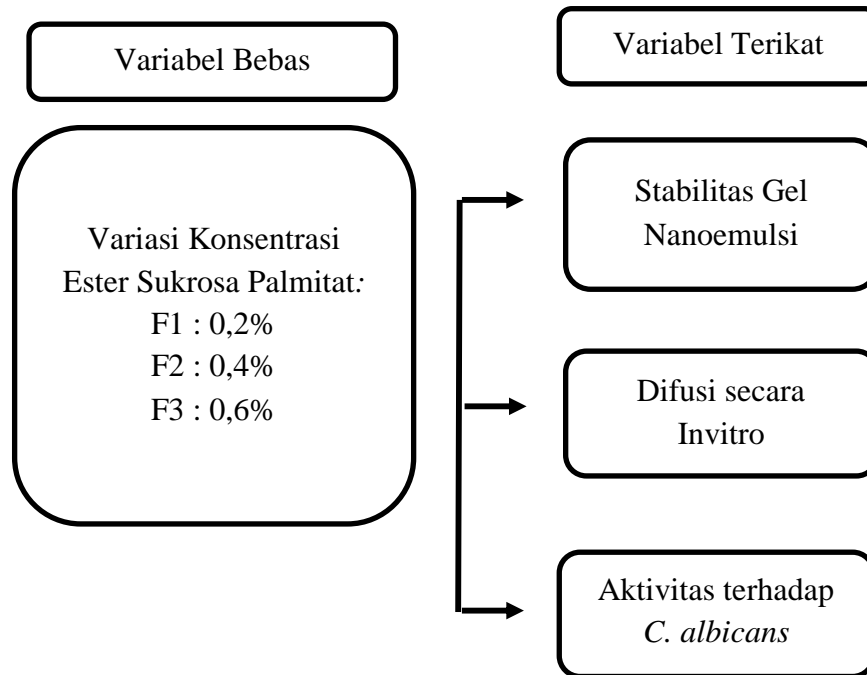
Gambar 2.6 Struktur Ester Sukrosa Palmitat

2.10.3 Carbopol

Carbopol larut dalam air setelah penetralan, dalam ethanol 95% dan dalam gliserin. Dalam pelarut tersebut, carbopol mengembang karena carbopol merupakan mikrogel. Dalam pembuatan gel menggunakan carbopol, harus menggunakan wadah yang besar untuk menghindari masuknya gelembung udara ke dalam gel. Viskositas yang

baik dihasilkan carbopol pada pH 6-11. Viskositas carbopol jauh berkurang bila dibuat dalam kondisi pH 3 dan pH diatas 12 (Rowe et al., 2009).



KERANGKA KONSEP EKSPERIMENTAL**Tahap Penentuan Fraksi Aktif**

BAB 3

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental, terdiri dari beberapa tahap. Tahap pertama adalah proses fraksinasi ekstrak etanol daun tembakau, evaluasi fraksi ekstrak etanol daun tembakau dan uji aktivitas terhadap *C. albicans*, validasi metode analisis nikotin, pra-formulasi sediaan nanoemulsi, formulasi sediaan gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau, evaluasi sediaan gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau, dan penentuan aktivitas antijamur gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau.

Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolarannya untuk memperoleh fraksi aktif dari ekstrak etanol daun tembakau. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut non-polar (n-heksana), semi-polar (diklorometana dan etil asetat), dan polar (n-butanol dan air). Hasil dari fraksinasi tersebut dilakukan evaluasi mutu dan penetapan parameter fisikokimia, serta penentuan aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*. Berdasarkan evaluasi tersebut ditentukan fraksi aktif dari ekstrak etanol daun tembakau yang digunakan untuk tahap kedua.

Tahapan kedua diawali dengan validasi metode analisis nikotin meliputi uji linearitas, LOD, LOQ, selektivitas, akurasi, dan presisi. Selanjutnya pra-formulasi sistem nanoemulsi menggunakan metode pra-eksperimental untuk mendapatkan formula yang optimal dari perbandingan fase minyak, perbandingan surfaktan-kosurfaktan dan fase air. Karakteristik sediaan hasil pra-formulasi dievaluasi yang meliputi organoleptis, pH, BJ, viskositas, pengukuran ukuran partikel, indeks polidispersitas, potensial zeta dan penetapan kadar nikotin. Penentuan daerah nanoemulsi pada diagram 3 fase dilakukan dengan menggunakan program dari *Chemix* seri 10.00.

Tahap terakhir adalah formulasi sediaan gel nanoemulsi menggunakan komposisi nanoemulsi yang diperoleh dari hasil optimasi pada pra-formulasi. Sediaan yang telah disiapkan dievaluasi meliputi organoleptis, pH, viskositas, pengukuran ukuran partikel, indeks polidispersitas, potensial zeta, uji difusi menggunakan Sel Difusi Franz, penetapan kadar nikotin, TEM, dan uji aktivitas antijamur *C. albicans*. Pengujian tersebut dilakukan selama 12 minggu pada suhu 25°C dan 40°C untuk mengetahui stabilitas dari sediaan gel

nanoemulsi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium PPM Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Laboratorium Penelitian Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Laboratorium PT. Farmalab Indoutama, Laboratorium Kesehatan Daerah DKI Jakarta, Unit Layanan TEM Departemen Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada, dan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro).

3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium PPM Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Laboratorium Penelitian Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Laboratorium PT. Farmalab Indoutama, Laboratorium Kesehatan Daerah DKI Jakarta, Unit Layanan TEM Departemen Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada, dan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro).

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: timbangan analitik (Ohaus), *Magnetic Heating Stirrer* (Thermo Scientific), pH meter (Hanna), viskometer *Anton Paar ViscoQC 300*, oven (Mettler), lemari pendingin (AQUA Japan), *Centrifuge*, *Particle size analyzer* (Malvern), sentrifuse (VELP Scientifica), seperangkat alat difusi *Franz* (PermeGear), instrument Transmission Electron Microcopy (TEM) (Jeol tipe jem 1400) instrumen UHPLC (Waters), kolom C18 (4,6 mm x 100 mm, 5 µm) (XBridge[®]), membran Millipore 0,45 µm, piknometer, dan alat-alat gelas.

3.3 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah ekstrak etanol daun tembakau yang diperoleh dari Balai Biotek BPPT Serpong (sekarang menjadi BRIN), n-heksana (Merck), dichlorometan (DCM) (Merck), etil asetat (Merck), n-butanol (Merck), *Virgin Coconut Oil* (VCO) (Brataco), Nikotin (Sigma), Tween 80 (Kao Corporation, Japan), Ester sukrosa palmitat (Habo[®]), nipagin, nipasol, Carbopol 940 (Spectrum), TEA

(*Triaethanolamin*), *Aqua destillata*, medium RPMI 1640 (Sigma), *C. albicans* ATCC 90028, ketokonazol BPFI (BPOM), DMSO (Merck), methanol pa (Merck), etanol 95% pa (Merck), asam asetat (Merck), HCl, pereaksi Bouchardat, pereaksi Meyer.

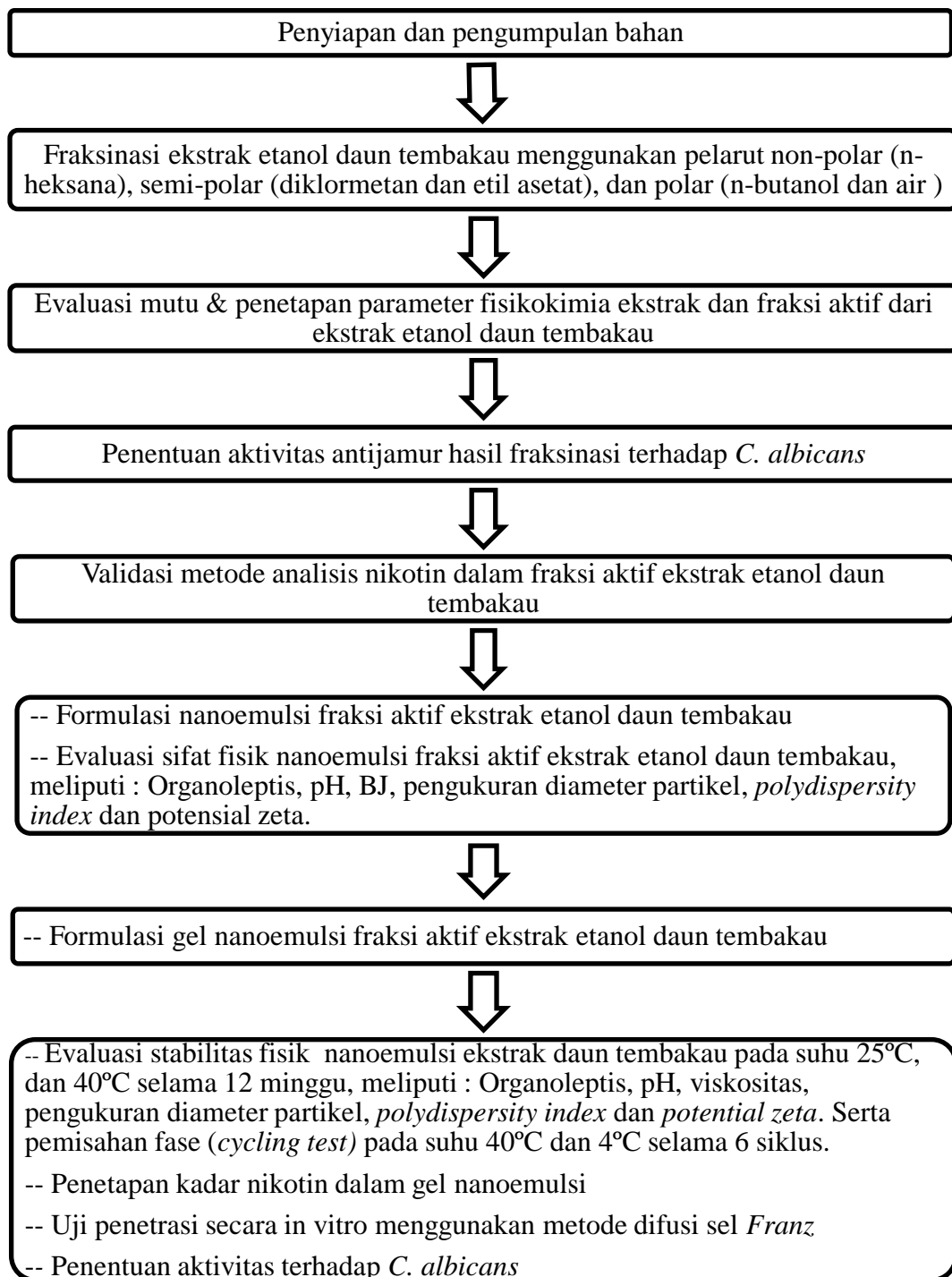
3.4 Alur Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan fraksinasi ekstrak etanol daun tembakau menggunakan pelarut yang bersifat non-polar (n-heksana), semi-polar (diklormetan dan etil asetat), dan polar (n-butanol dan air). Fraksi yang diperoleh dari masing-masing pelarut ditentukan aktivitasnya terhadap *C. albicans* ATCC 90028. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antijamur ini, ditentukan satu fraksi yang memiliki aktivitas tertinggi (fraksi aktif). Evaluasi mutu dan penetapan parameter fisikokimia dilakukan terhadap fraksi aktif tersebut. Fraksi aktif diformulasi menjadi gel nanoemulsi ekstrak etanol daun tembakau, dan dievaluasi secara fisika, kimia dan aktivitasnya terhadap *C. albicans* ATCC 90028. Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Fraksinasi

Ekstrak etanol daun tembakau yang diperoleh difraksinasi menggunakan pelarut yang bersifat non-polar (n-heksana), semi-polar (diklormetan dan etil asetat), dan polar (n-butanol dan air). Fraksinasi pertama menggunakan pelarut n-heksana. Ditimbang sebanyak 10 g ekstrak etanol daun tembakau, kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol di dalam *beaker glass*, lalu ditambahkan air hingga 100 mL, diaduk sampai ekstrak larut. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 100 mL n-heksana, dikocok perlahan-lahan sebanyak 3-5 kali. Campuran didiamkan sampai larutan membentuk dua lapisan. Lapisan bawah (air) dikeluarkan dengan hati-hati sampai yang tersisa hanya lapisan atas (n-heksana), ditampung dalam wadah. Lapisan air kemudian ditambahkan kembali 100 mL n-heksana, dikocok perlahan-lahan, didiamkan dan dipisahkan lapisan n-heksana yang terbentuk. Hal ini dilakukan sampai larutan n-heksan jernih. Lapisan n-heksan dikumpulkan, kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* dan penangas air (BPOM, 2010).

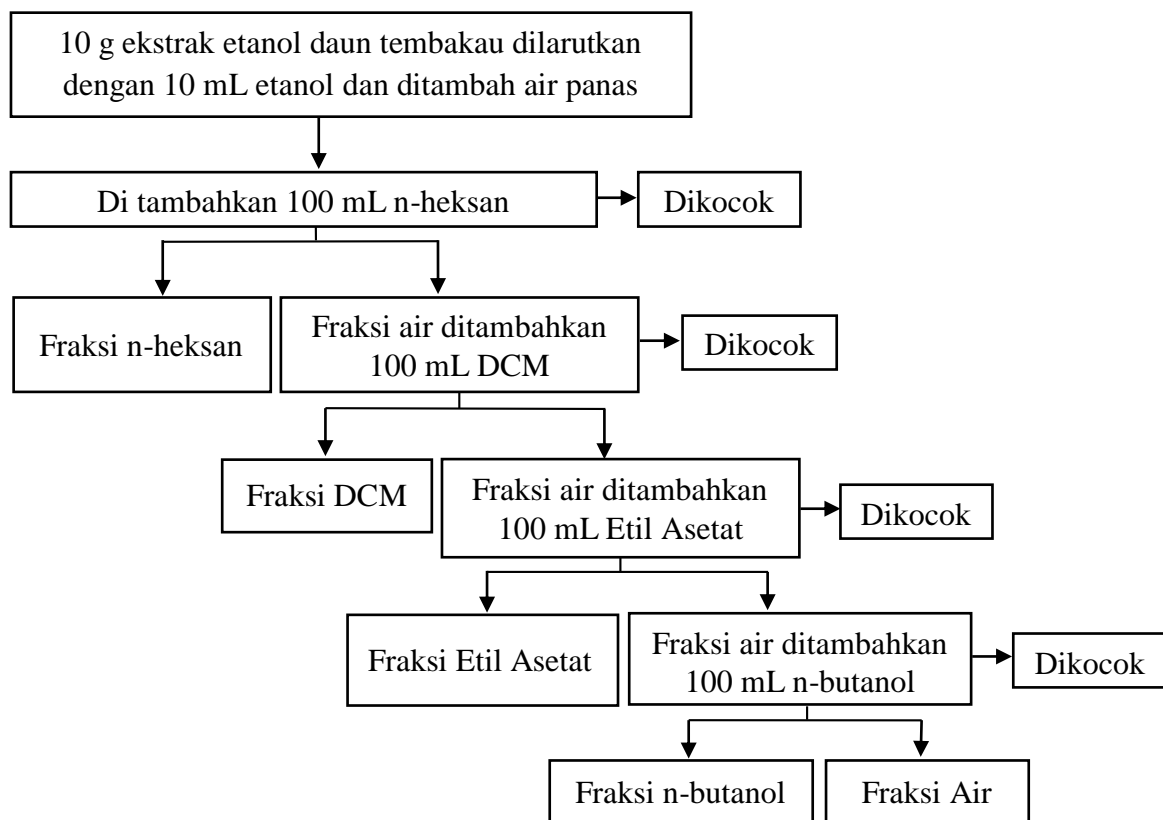


Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

Lapisan air difraksinasi kembali menggunakan pelarut diklorometan sebanyak 100 mL. Proses ini dilakukan seperti prosedur di atas sampai lapisan diklormetana jernih. Fraksi diklorometan dikumpulkan, kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary vacuum*

evaporator dan penangas air, setelah itu diuji kadar sisa pelarutnya (BPOM, 2010). Fraksinasi dilanjutkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 100 mL. Fraksi etil asetat dikumpulkan, kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* dan penangas air (BPOM, 2010).

Fraksi air kemudian dilakukan proses fraksinasi akhir dengan pelarut n-butanol sebanyak 100 mL. Sama seperti proses sebelumnya, prosedur di atas diulangi sampai lapisan n-butanol jernih. Fraksi n-butanol dikumpulkan, kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* (BPOM, 2010). Prosedur lebih lengkap dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Alur Fraksinasi

3.5.2 Evaluasi Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

3.5.2.1 Kadar Air, Kadar Abu, dan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Pengujian kadar air dan kadar abu dari ekstrak etanol daun tembakau dilakukan di Balitro menggunakan metode Aufhauser untuk kadar air dan metode Gravimetri untuk kadar abu.

Sampel yang berupa ekstrak kental ditimbang secara seksama sebanyak 2,5 g dan dilarutkan dengan 50 mL larutan asam asetat 10% (dalam etanol). Larutan dikocok dengan *magnetic stirrer* selama 4 jam, kemudian disaring. Filtrat kemudian dievaporasi. Kemudian ditetesi dengan ammonium hidroksida hingga terjadi endapan alkaloid. Ditimbang dahulu kertas saring yang digunakan untuk menyaring endapan. Kemudian endapan disaring dan dicuci dengan menggunakan larutan ammonium hidroksida 1%. Kertas saring yang mengandung endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 30 menit. Setelah dingin, endapan ditimbang hingga didapatkan bobot yang konstan. Rendemen alkaloid ditetapkan dari presentasi bobot endapan alkaloid yang diperoleh terhadap bobot penimbangan awal sampel. Pengujian diulang sebanyak 3 kali.

Analisis data dilakukan secara univariat dimana kadar alkaloid yang dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ kadar} = \frac{X_2 - X_1}{A} \times 100\% \dots\dots\dots 3.1$$

Keterangan :

X₁= kertas saring

X₂= kertas saring + endapan alkaloid

A = bobot ekstrak etanol daun tembakau

3.5.2.2 Penetapan Kadar Fenol Total dan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

a. Penetapan Kadar Fenol Total

Asam galat sebanyak 50,0 mg dilarutkan dalam 0,5 mL etanol p.a, lalu diencerkan dengan akuades hingga volume 100,0 mL. Sebanyak 300 µL larutan asam galat ditambahkan 1,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10), kemudian dikocok dan didiamkan selama 3 menit. Larutan Na₂CO₃ 7,5% ditambahkan sebanyak 1,2 mL kemudian dikocok hingga homogen, dan didiamkan pada suhu kamar pada range *operating time*, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal. Kurva kalibrasi ditentukan dari persamaan regresi linear antara konsentrasi asam galat (x) dan absorbansi dari asam galat yang bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* (y). Sebanyak 10,0 mg sampel dilarutkan dengan campuran metanol : air suling (1:1) hingga volume 10,0 mL. Larutan yang diperoleh diambil sebanyak 300 µL dan ditambah 15 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan dikocok. Larutan tersebut didiamkan selama 3 menit, kemudian ditambahkan larutan Na₂CO₃ 7,5% sebanyak 1,2 mL dan didiamkan kembali pada range *operating time* pada

suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum. Dilakukan 3 kali pengulangan (Saifudin, Rahayu, & Teruna, 2011; Lim & Murtijaya, 2007; Khan, Yusufzai, Rafatullah, Sarjadi, & Razlan, 2018; Abdeltaif, Sirelkhatim, & Hassan, 2018).

b. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Larutan standar dibuat dengan konsentrasi 5 µg/mL kemudian ditambahkan 3 mL etanol p.a, 0,2 mL larutan AlCl₃ 10%, 0,2 mL Natrium Asetat 1M, dan akuades hingga volume 10 mL. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimal. Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan dengan etanol hingga 10 mL pada di labu ukur. Dari larutan tersebut diambil 1 mL, lalu ditambahkan 3 ml etanol, kemudian ditambahkan 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mL Natrium Asetat 1M dan akuades hingga volume 10 mL, larutan didiamkan pada suhu kamar pada range *operating time*. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal. Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan jumlah kuersetin yang ditentukan dari persamaan regresi linear antara konsentrasi kuersetin (x) dan absorban (y) (Saifudin, Rahayu, & Teruna, 2011; Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002; Khan, Yusufzai, Rafatullah, Sarjadi, & Razlan, 2018; Abdeltaif, Sirelkhatim, & Hassan, 2018).

3.5.2.3 Skrining Fitokimia

a. Identifikasi alkaloid

Ditimbang dengan seksama 0,5 g sampel ditambahkan dengan HCl 2N 1 mL dan aquadest, dipanaskan 2 menit kemudian dibagi menjadi 3 tabung. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Bouchardat menghasilkan warna endapan coklat sampai hitam. Tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendorff menghasilkan warna jingga. Tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih atau kuning (Depkes, 1995).

b. Identifikasi fenolik dan tanin

Ditimbang dengan seksama 0,5 g sampel ditambahkan aquadest panas dan diaduk, setelah dingin larutan dibagi menjadi 2 tabung. Tabung pertama ditambahkan FeCl₃ terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa Fenol. Tabung kedua ditambahkan larutan gelatin 1% terbentuk endapan putih maka positif tanin (Hanani, 2016).

c. Identifikasi flavonoid

Silika gel tanpa CaSO_4 digunakan sebagai adsorben untuk menguji terpenoid menggunakan KLT. Sampel dibuat dengan konsentrasi masing-masing 10.000 ppm dan larutan standar Kuersetin dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Etil asetat-metanol-asam formiat digunakan sebagai eluen dengan perbandingan 95:5:0,5 menggunakan reagen AlCl_3 1% untuk penampakan bercak (Gogoi et al., 2016; Khasanah & Nastiti, 2021).

d. Identifikasi terpenoid

Silika gel tanpa CaSO_4 digunakan sebagai adsorben untuk menguji terpenoid menggunakan KLT. Sampel dibuat dengan konsentrasi masing-masing 10.000 ppm dan larutan standar β -Sitosterol dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. N-heksan:Etil Asetat digunakan sebagai eluen dengan perbandingan 7:3. Reagen anisaldehyd: H_2SO_4 digunakan untuk penampakan bercak (Gogoi et al., 2016; Kemenkes RI, 2017b).

e. Identifikasi saponin

Ditimbang dengan seksama 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan aquadest panas sebanyak 10 mL dan didinginkan. Campuran tersebut dikocok kuat selama 10 menit maka terbentuk buih, diamkan selama 2 menit ditambahkan HCl 2N jika buih tidak hilang maka positif saponin (Depkes, 1995).

3.5.2.4 Identifikasi Senyawa

Identifikasi senyawa pada ekstrak etanol dan fraksi ekstrak etanol daun tembakau dilakukan menggunakan GC-MS dan LC-MS di Laboratorium Kesehatan Daerah (LABKESDA), DKI Jakarta.

3.5.2.5 Uji Aktivitas Antijamur

a. Pembuatan Suspensi Inokulum *C. Albicans*

Candida albicans ATCC 90028 yang akan digunakan diremajakan dari stok turunan ke-3, dengan cara diambil satu jarum ose biakan murni kemudian digoreskan pada medium *Sabouraud Deztrose Agar* (SDA) kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Satu ose biakan *C. albicans* ATCC 90028 yang berusia 24 jam diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 5 mL NaCl 0,9%, divortex 15 detik hingga homogen. Diukur pada panjang gelombang 530 nm hingga kekeruhannya setara dengan 0,5 McFarland. Konsentrasi yang diperoleh adalah 1×10^6 sampai 5×10^6 CFU/mL. Stok

suspensi tersebut diencerkan 1:100 kemudian diencerkan kembali 1:20 dengan RPMI 1640 sehingga diperoleh hasil 5×10^2 sampai $2,5 \times 10^3$ CFU/mL (Berkow, Lockhart, & Ostrosky-Zeichner, 2020; CLSI, 2010).

b. Pembuatan Stok Suspensi Ketokonazol

Ditimbang sebanyak 5 mg ketokonazol BPFI, dilarutkan dalam 1 mL DMSO, kemudian ditambahkan 30,25 mL RPMI 1640 sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 160 $\mu\text{g/mL}$ (Lorian, 1996).

c. Penentuan Kadar Hambat Minimal Ketokonazol terhadap *C. albicans*

Ketokonazol dibuat dengan konsentrasi yang 160 $\mu\text{g/mL}$. Disiapkan tabung reaksi dan diberi tanda no 1-10. Tabung 1 berisi 2 mL ketokonazol (160 $\mu\text{g/mL}$), tabung 2 sampai 11 masing-masing diisi dengan 1 mL medium RPMI 1640. Sebanyak 1 mL ketokonazol (160 $\mu\text{g/mL}$) diambil dari tabung 1 dan dimasukkan ke tabung 2, kemudian dari tabung 2 diambil 1 mL suspensi dan dimasukkan ke tabung 3, setelah homogen diambil 1 mL dari tabung 3 dan dimasukkan ke tabung 4, begitu seterusnya sampai tabung 10, dari tabung 10 diambil 1 mL suspensi dan dibuang (Lorian, 1996).

Sebanyak 100 μL suspensi *C. albicans* ATCC 90028 dimasukkan ke dalam masing-masing tabung. Tabung yang sudah berisi suspensi *C. albicans* ATCC 90028 dan antijamur diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Kontrol negatif yang digunakan hanya medium RPMI 1640 dan kontrol positif menggunakan jamur *C. albicans* ATCC 90028. Semua sampel diuji tiga kali dan setiap pengujian dilakukan duplo (Lorian, 1996).

Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan *Minimum Inhibition Concentration (MIC)* dengan cara melihat kekeruhan dan endapan pada tabung dan membandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif secara visual. Setelah diamati kekeruhannya, campuran tersebut ditanam pada medium *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)*. Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, kemudian diamati dan dihitung jumlah pertumbuhan koloninya untuk melihat *Minimum Fungicidal Concentration (MFC)* (Lorian, 1996).

d. Penentuan Kadar Hambat Minimal Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Ekstrak dibuat dalam konsentrasi 500.000 $\mu\text{g/ml}$. Tabung reaksi diberi no 1-10, tabung 1 berisi 2 mL ekstrak. Tabung 2 sampai 10 masing-masing diisi dengan 1 mL

medium RPMI 1640. Sebanyak 1 mL ekstrak diambil dari tabung 1 dan dimasukkan ke tabung 2, kemudian dari tabung 2 diambil 1 mL suspensi dan dimasukkan ke tabung 3, setelah homogen diambil 1 mL dari tabung 3 dan dimasukkan ke tabung 4, begitu seterusnya sampai tabung 10, dari tabung 10 diambil 1 mL suspensi dan dibuang.

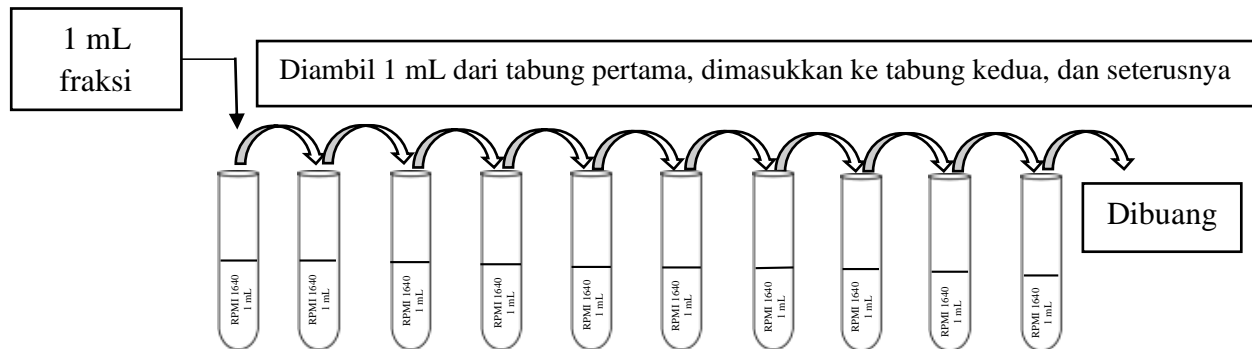
Sebanyak 100 μ L suspensi *C. albicans* ATCC 90028 dimasukkan ke dalam masing-masing tabung, diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Kontrol negatif yang digunakan hanya medium RPMI 1640 dan kontrol positif menggunakan *C. albicans* ATCC 90028. Semua sampel diuji tiga kali dan setiap pengujian dilakukan duplo. Penentuan kadar hambat minimum dilakukan pada hari ke 2 masa inkubasi dengan cara melihat kekeruhan dan endapan pada tabung dan membandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif secara visual. Setelah diamati kekeruhannya, campuran tersebut ditanam pada medium. Satu ose hasil inkubasi dari tabung, diinokulasi pada medium *Saboroud Dextrose Agar* (SDA), diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam (Lorian, 1996).

e. Penentuan Kadar Hambat Minimal Hasil Fraksinasi n-heksana, DCM, Etil Asetat, n-butanol dan Air terhadap *C. albicans*

Pengenceran serial fraksi aktif dibuat dengan berbagai konsentrasi yang diinginkan. Fraksi n-heksana dibuat dalam konsentrasi 10.000 μ g/mL, DCM, etil asetat dan n-butanol dibuat dalam konsentrasi 20.000 μ g/mL. Fraksi air dibuat dalam konsentrasi 50.000 μ g/mL. Tabung reaksi diberi no 1-10, tabung 1 berisi 2 mL fraksi. Tabung 2 sampai 10 masing-masing diisi dengan 1 mL medium RPMI 1640. Sebanyak 1 mL fraksi aktif diambil dari tabung 1 dan dimasukkan ke tabung 2, kemudian dari tabung 2 diambil 1 mL suspensi dan dimasukkan ke tabung 3, setelah homogen diambil 1 mL dari tabung 3 dan dimasukkan ke tabung 4, begitu seterusnya sampai tabung 10, dari tabung 10 diambil 1 mL suspensi dan dibuang. Sebanyak 100 μ L suspensi *C. albicans* ATCC 90028 dimasukkan ke dalam masing-masing tabung, diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 hari. Kontrol negatif yang digunakan hanya medium RPMI 1640 saja dan kontrol positif menggunakan jamur *C. albicans* ATCC 90028. Semua sampel diuji tiga kali dan setiap pengujian dilakukan duplo (Lorian, 1996).

Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan MIC dengan cara melihat kekeruhan dan endapan pada tabung dan membandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif secara visual. Setelah diamati kekeruhannya, campuran tersebut ditanam pada medium

Sabouraud Dextrose Agar (SDA). Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, kemudian diamati dan dihitung jumlah pertumbuhan koloninya untuk melihat MFC (Lorian, 1996).



Gambar 3.3 Penentuan KHM Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

3.5.2.6 Uji Komponen Aktif Fraksi Aktif Daun Tembakau

Setelah dilakukan evaluasi terhadap ekstrak etanol dan fraksi ekstrak etanol daun tembakau, maka dipilih satu fraksi aktif terbaik, lalu dilakukan uji komponen aktif terhadap fraksi tersebut. Uji komponen aktif dilakukan menggunakan LC-MS di Laboratorium Kesehatan Daerah DKI Jakarta.

3.5.2.7 Uji Residu Fraksi Aktif Daun Tembakau

Uji residu dilakukan terhadap fraksi aktif terpilih dari fraksi ekstrak etanol daun tembakau. Uji residu dilakukan menggunakan GC-FID di Laboratorium PPM Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

3.5.2.8 Penetapan Kadar Nikotin pada Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

a. Pembuatan Larutan Induk nikotin dan Dapar Fosfat 7,4

Ditimbang sejumlah 2,5 mg nikotin, dilarutkan dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 hingga volume 5 mL, diperoleh konsentrasi 500 µg/mL. Nikotin terlarut didiamkan dan dilihat ada atau tidak endapan, kemudian disaring bila terdapat endapan. Dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi tertentu (Rehder Silinski et al., 2020).

Ditimbang kalium fosfat monobasa (KH_2PO_4) 1,3609 g. Dilarutkan KH_2PO_4 dengan *aqua pro injeksi* sampai volume 50 mL dalam beker gelas. Ditimbang 0,4 g natrium

hidroksida (NaOH) kemudian dilarutkan dengan *aqua pro injeksi* sampai volume 50 mL. Larutan KH_2PO_4 dan larutan NaOH dihomogenkan. Dilakukan pemeriksaan pH sehingga mencapai 7,4 dengan pH meter (Kemenkes, 2020).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Nikotin

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, disiapkan larutan nikotin dengan konsentrasi $2 \mu\text{g/mL}$ sebagai berikut: sebanyak 0,02 mL larutan induk nikotin ($500 \mu\text{g/mL}$) dipipet, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan tersebut ditambah dengan dapar fosfat hingga volume akhir 5 mL. Diukur pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan detektor UV, ditentukan panjang gelombang maksimumnya (Alhusban & Ata, 2020).

c. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Analisis Nikotin.

Larutan standart nikotin dibuat pada konsentrasi $50 \mu\text{g/mL}$. Larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,4 hingga volume akhir 5 mL. Diinjeksikan sebanyak $20 \mu\text{g}$ pada komposisi fase gerak asetonitril:air pH 9 (80:20) dengan kecepatan alir $1,0 \text{ mL/menit}$ dan dideteksi pada panjang gelombang 260 nm, kemudian dicatat waktu retensi, luas puncak, jumlah plat teoritis. *HETP (Height Equivalent Theoretical Plate)*, asimetrisitas, dan % *RSD (Relative Standard Deviation)* (Gholap, Kosmider, & Halquist, 2018; Gandjar dan Rohman 2017).

d. Uji Kesesuaian Sistem

Sebanyak $20 \mu\text{L}$ larutan standar nikotin pada konsentrasi $50 \mu\text{g/mL}$ diinjeksikan ke alat KCKT dengan fase gerak terpilih, diulangi sebanyak lima kali. Dihitung jumlah plat teoritis, *HETP (Height Equivalent Theoretical Plate)*, asimetrisitas, dan % *RSD (Relative Standard Deviation)* dari waktu retensi dan luas puncak (Gandjar & Rohman, 2017)

e. Validasi metode analisis

o Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Serangkaian konsentrasi berbeda mulai dari 0,5 hingga $500 \mu\text{g/mL}$ dibuat dari larutan stok $500 \mu\text{g/mL}$. Lalu larutan standar sebanyak $20 \mu\text{L}$ diinjeksikan ke dalam alat KCKT pada kondisi terpilih. Regresi perbandingan luas puncak dianalisis terhadap konsentrasi nikotin dari masing-masing konsentrasi dan dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan garis regresi linear ($y = a + bx$). Dihitung koefisien korelasi (r) dari kurva tersebut (Liu et al., 2019; Ghosh, Woolum, Knopp, & Kumar, 2020; Kemenkes, 2020).

o *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantification (LOQ)*

LOQ dihitung melalui persamaan garis regresi linear dari kurva kalibrasi. Dapat dihitung dengan mengukur respon standar beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon standar dengan formula di bawah ini (Gandjar dan Rohman 2017) :

$$LOQ = \frac{10 SD}{S} \dots\dots\dots(3.1)$$

Sedangkan nilai batas deteksi (LOD) diperoleh dengan rumus :

$$LOD = \frac{3,3 SD}{S} \dots\dots\dots(3.2)$$

Keterangan:

SD = Standart deviasi

S = *Slope*

Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linear atau dengan standar deviasi intersep pada garis regresi (Alhusban, Hammad, & Alzaghari, 2022).

o Selektivitas

Larutan standar nikotin konsentrasi 10 µg/mL diinjeksikan ke dalam KCKT sebanyak 20 µL. *Peak* nikotin diamati dari kromatogram yang dihasilkan, pada waktu retensi berapa *peak* tersebut muncul. Sampel sebanyak 0,1 mL dipipet kemudian dilarutkan dalam dapar fosfat 7,4 sampai 5 mL dalam labu ukur, lalu divorteks selama 2 menit, didiamkan selama 1 menit, diambil lapisan bagian atas. Sampel disaring dengan *Millipore* berukuran 0,45 µm dan diinjeksikan ke dalam KCKT dengan volume 20 µL. Kromatogram yang dihasilkan diamati *peak* nikotinnya, apakah waktu retensinya sama dengan waktu retensi pada larutan standar (Harmita 2004; Kemenkes 2020).

o Akurasi

Untuk uji akurasi dibuat 3 seri larutan dengan menggunakan metoda *spiking* standar dengan sampel yang sudah diketahui pasti konsentrasinya. Ditimbang sebanyak 5 mg Nikotin, dilarutkan ke dalam metanol hingga volume akhir 5 mL sehingga konsentrasi larutan induk 1000 µg/mL. Seri 1 (*spiking* sampel ditambah standar 80 µg/mL): dipipet 8 mL larutan induk nikotin dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 50 µL sampel, dan dilarutkan dengan larutan dapar pH 7,4 hingga 10 mL. Seri 2 (*spiking* sampel ditambah standar 200 µg/ml) : dipipet 2 mL larutan induk nikotin dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 50 µL sampel, dan dilarutkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sampai volume 10 mL. Seri 3 (*spiking* sampel ditambah standar 375 µg/mL): dipipet 3,75 mL larutan induk nikotin dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 50 µL sampel, dan

dilarutkan dengan dapar fosfat hingga 10 mL. Masing-masing seri dihomogenkan dengan vortex selama 2 menit, didiamkan selama 1 menit, diambil lapisan bagian atas (Alhusban 2020).

Sampel disaring menggunakan *Millipore* berukuran 0,45 μm . Masing-masing seri diinjeksikan ke dalam KCKT dengan volume injeksi 20 μL . Luas puncak yang didapat disubstitusikan ke dalam persamaan regresi pada kurva kalibrasi sebagai nilai Y, sehingga didapat konsentrasi dari masing-masing seri. Dihitung % *diff* dan nilai perolehan kembali (Harmita 2004; Kemenkes 2020).

o Presisi

Untuk uji presisi dibuat 3 seri larutan dengan menggunakan metode *spiking* standar dengan sampel yang sudah diketahui pasti konsentrasinya. Ditimbang sebanyak 5 mg nikotin. Dilarutkan hingga volume akhir 5 mL sehingga konsentrasi larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$. Seri 1 (*spiking* sampel ditambah standar 80 $\mu\text{g/ml}$): dipipet 0,8 mL larutan induk nikotin dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 50 μL sampel, dan dilarutkan dengan dapar fosfat sampai volume 10 mL. Seri 2 (*spiking* sampel ditambah standar 200 $\mu\text{g/mL}$): dipipet 2 mL larutan induk nikotin dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 50 μL sampel, dan dilarutkan dengan dapar fosfat sampai 10 mL. Seri 3 (*spiking* sampel ditambah standar 375 $\mu\text{g/mL}$) : dipipet 3,75 mL larutan induk nikotin ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 50 μL sampel, dan dilarutkan dengan dapar fosfat sampai volume 10 mL. Masing-masing seri dihomogenkan dengan vortex selama 2 menit, didiamkan selama 1 menit, diambil lapisan bagian atas (Alhusban & Ata, 2020).

Sampel disaring menggunakan *Millipore* berukuran 0,45 μm . Masing-masing seri diinjeksikan ke dalam KCKT dengan volume injeksi 20 mL, kemudian diamati luas puncaknya. Nilai luas puncak kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan linear dari kurva kalibrasi sebagai nilai Y, sehingga didapat konsentrasi dari masing-masing nilai luas puncak. Dihitung besarnya simpangan deviasi dari masing-masing konsentrasi dengan rumus (Gandjar & Rohman, 2017) :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{(N-1)}} \dots\dots\dots(3.3)$$

Keterangan :

- SD = Standar deviasi
- X = Nilai masing-masing pengukuran
- \bar{X} = Rata-rata dari pengukuran
- N = Banyaknya data

Setelah mendapat nilai SD kemudian dihitung nilai RSD dengan rumus:

$$RSD = \frac{SD \times 100}{\bar{x}} \dots \dots \dots (3.4)$$

Syarat dari nilai RSD adalah < 2% (Gandjar & Rohman, 2017).

f. Penetapan Kadar Nikotin dalam Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Sampel ditimbang ± 10 mg, dimasukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan pelarut dapar fosfat pH 7,4 sebanyak hingga 10 mL, disonifikasi selama 1 menit sampai sampel larut, kemudian ditambahkan pelarut hingga tanda batas, homogenkan. Sampel dimasukkan ke dalam *microtube*, disentrifuse dengan kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Sampel dimasukkan ke dalam vial dan diinjeksikan ke UHPLC-UV.

3.4.3 Formulasi Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Formula nanoemulsi pada penelitian ini menggunakan VCO sebagai fase minyak dan Tween 80:Sorbitol sebagai surfaktan:kosurfaktan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, didapatkan konsentrasi VCO sebagai fase minyak sebesar 5% dan Tween 80:Sorbitol (2:1) sebagai surfaktan:kosurfaktan sebesar 45% (Yati et al., 2011). Dari penelitian tersebut maka dilakukan pre-formulasi nanoemulsi dengan beberapa variasi konsentrasi minyak, air, surfaktan dan kosurfaktan seperti pada Tabel 3.1. Hasil dari pre-formulasi tersebut dimasukkan ke dalam *software Chemix 10.0* untuk memperoleh daerah nanoemulsi yang terbentuk dari diagram 3 fase (Abdullah, Jufri, Mun'im, & Saputri, 2022).

Nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau dibuat dengan cara sebagai berikut: aquadest dipanaskan hingga suhu 85°C lalu ditambahkan Tween 80, sorbitol dan nipagin, diaduk hingga larut (masa 1), didiamkan sampai suhunya mencapai 50°C, lalu ditambahkan fraksi n-butanol, diaduk hingga larut. VCO dan Nipasol dicampur hingga larut lalu ditambahkan ke masa 1, diaduk dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit.

Tabel 3.1 Rancangan Formula Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No	Fase Minyak (%)	Surfaktan + kosurfaktan (%)	Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan	Fase Air sampai dengan (%)
1	5	45	2:1	50
2	5	35	3:1	60
3	5	25	4:1	70
4	5	15	5:1	80
5	6	45	2:1	49
6	6	35	3:1	59
7	6	25	4:1	69
8	6	15	5:1	79
9	7	45	2:1	48
10	7	35	3:1	58
11	7	25	4:1	68
12	7	15	5:1	78
13	8	45	2:1	47
14	8	35	3:1	57
15	8	25	4:1	67
16	8	15	5:1	77

3.4.4 Evaluasi Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Sediaan nanoemulsi yang telah terbentuk kemudian dilakukan serangkaian uji evaluasi fisik, antara lain: organoleptis, pengukuran pH, pengukuran bobot jenis, pengukuran viskositas, pengukuran tegangan permukaan, uji pengukuran partikel dan potensial zeta.

3.4.4.1 Organoleptis

Bentuk, warna dan bau dari sediaan diamati pada suhu kamar. Bentuk sediaan dilihat dari kemampuan sediaan mengalir di dalam wadah. Warna sediaan dilihat dengan latar belakang kertas putih disertai penerangan lampu. Bau sediaan dicium dengan cara dikibaskan di atas sediaan yang telah jadi.

3.4.4.2 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter, pada suhu 25°C. Pengukuran pH dilakukan dengan cara elektroda dicuci dan dibilas dengan air suling, kemudian dikeringkan. Alat pH meter dikalibrasi dengan larutan dapar standar pH 4 dan pH 7.

Elektroda dimasukkan ke dalam gel nanoemulsi, dan dicatat pHnya. Pengukuran diulangi sebanyak tiga kali (Kemenkes, 2020).

3.4.4.3 Pengukuran Bobot Jenis

Bobot jenis (BJ) diukur menggunakan piknometer cara sebagai berikut : piknometer dibersihkan, dikeringkan, dan dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan, pada suhu 25°C. Pikno kosong ditimbang pada suhu 25°C, catat bobotnya (W₀). Piknometer diisi dengan *aquadestillata* pada suhu 25°C, lalu ditimbang dan dicatat beratnya (W₁). Piknometer diisi dengan nanoemulsi pada suhu 25°C, lalu ditimbang dan dicatat hasilnya sebagai (W₂). Bobot jenis dihitung dengan rumus (Kemenkes, 2020) :

$$BJ = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \dots\dots\dots(3.5)$$

3.4.4.4 Pengukuran Ukuran Partikel dan Zeta Potensial

Ukuran partikel diukur pada suhu kamar menggunakan *Particle Size Analyzer*. Larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet, kuvet yang telah diisi sampel dimasukkan ke dalam *sample holder*. Alat dinyalakan dan dipilih menu *particle size*. Alat mengukur sampel. Alat menghasilkan ukuran partikel dan zeta potensial (Sandhu, Singh, Dhankhar, Kama, & Sharma, 2018).

3.4.4.5 Penetapan Kadar Nikotin dalam Nanoemulsi

Sampel dipipet sebanyak 100 µL, dimasukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan pelarut dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 900 µL, divortex selama 30 detik dan diinjeksikan ke UHPLC-UV.

3.4.5 Formulasi Gel Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Dari percobaan pendahuluan ditentukan daerah pembentuk nanoemulsi, selanjutnya formula tersebut dipilih untuk proses selanjutnya, yaitu pembuatan gel nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau. Pembuatan gel dimulai dengan pembuatan mucilago Carbopol 940 1% dengan penambahan TEA hingga pH 6 dan terbentuk gel (Rowe et al., 2009). Sebanyak 90 bagian nanoemulsi fraksi aktif ekstrak

etanol daun tembakau dicampur dengan 10 bagian mucilago Carbopol 940 (Miastkowska, 2020).

3.4.6 Evaluasi Sediaan Gel Nanoemulsi Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Sediaan gel nanoemulsi dilakukan pengujian stabilitas fisik pada suhu 25°C dan 40°C selama 12 minggu, meliputi : organoleptis, pH, viskositas, pengukuran diameter partikel, *polydispersity index*, potensial zeta, serta pemisahan fase (*cycling test* pada suhu 40°C dan 4°C selama 6 siklus. Dilakukan juga penetapan kadar (nikotin), uji penetrasi secara *in vitro* menggunakan metode difusi sel *Franz* dan penentuan aktivitas gel nanoemulsi terhadap *C. albicans*.

3.4.6.1 Organoleptis

Bentuk, warna dan bau dari sediaan diamati pada suhu kamar. Bentuk sediaan dilihat dari kemampuan sediaan mengalir di dalam wadah. Warna sediaan dilihat dengan latar belakang kertas putih disertai penerangan lampu. Bau sediaan dicium dengan cara dikibaskan di atas sediaan yang telah jadi.

3.4.6.2 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter, pada suhu 25°C. Pengukuran pH dilakukan dengan cara elektroda dicuci dan dibilas dengan air suling, kemudian dikeringkan. Alat pH meter dikalibrasi dengan larutan dapar standar pH 4 dan pH 7. Elektroda dimasukkan ke dalam gel nanoemulsi, dan dicatat pHnya. Pengukuran diulangi sebanyak tiga kali (Kemenkes, 2020).

3.4.6.3 Pengukuran Viskositas

Pengukuran dilakukan menggunakan viskometer *Anton Paar ViscoQC 300* dengan kecepatan yang sesuai. Sebanyak 20 mL gel nanoemulsi dimasukkan ke dalam wadah kemudian wadah tersebut dipasang ke alat viskometer *Anton Paar ViscoQC 300*. Dicatat viskositas yang tertera pada alat (Paar, 2018).

3.4.6.4 Pengukuran Ukuran Partikel, *Polydispersity Index* dan Zeta Potensial

Ukuran partikel diukur pada suhu kamar menggunakan *Particle Size Analyzer*. Sampel dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dimasukkan ke dalam *sample holder*.

Dicatat nilai ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial yang diperoleh (Malvern, 2011).

3.4.6.5 Pemisahan Fase

Siklus pemisahan fase dengan metode *cycling test* dilakukan dengan penyimpanan 4°C dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu 40°C. Pengamatan perubahan organoleptis dilakukan selama 6 siklus. Satu siklus disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke oven bersuhu 40°C selama 24 jam. Diamati perubahan fisik yang terjadi (Lachman et al., 2012).

3.4.6.6 Penetapan Kadar Nikotin dalam Sediaan Gel Nanoemulsi

Sampel dipipet sebanyak 100 µL, dimasukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan pelarut dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 900 µL, divortex selama 30 detik dan diinjeksikan ke UHPLC-UV.

3.4.6.7 Uji Penetrasi Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Difusi Sel *Franz*

a. Pembuatan membran.

Membran milipore 0,45 µm yang digunakan ditimbang kemudian diimpregnasikan dalam cairan isopropyl miristat (IPM) dengan cara merendam membran selama 10, 30, 45, 60, 75 menit. Membran diambil dan dikeringkan diatas kertas saring. Bobot membran sebelum dan sesudah impregnasi ditimbang untuk mendapatkan kondisi yang sama pada setiap membran (Gieszinger, Kiss, Szabó-Révész, & Ambrus, 2021).

$$\text{Presentase impregnasi} = \frac{(Bt - B0)}{B0} \times 100\% \dots\dots\dots(3.6)$$

Bt adalah bobot membran sesudah impregnasi dan Bo adalah bobot membran sebelum impregnasi. Waktu dimana membran mencapai berat konstan ditetapkan sebagai waktu optimum dan selanjutnya waktu tersebut digunakan untuk mengimpregnasi membran milipore dengan IPM (Gieszinger et al., 2021).

b. Pembuatan cairan penerima

Cairan penerima berupa larutan dapar fosfat pH 7,4 dibuat dengan cara menimbang kalium fosfat monobasa (KH₂PO₄) 1,3609 g. Dilarutkan KH₂PO₄ dengan *aqua pro injeksi* sampai volume 50 mL dalam beker gelas. Ditimbang 0,4 g natrium hidorksida (NaOH) kemudian dilarutkan dengan *aqua pro injeksi* sampai volume 50 mL. Larutan KH₂PO₄

dan larutan NaOH dihomogenkan. Dilakukan pemeriksaan pH sehingga mencapai 7,4 dengan pH meter (Kemenkes, 2020).

c. Uji penetrasi

Uji penetrasi dilakukan menggunakan seperangkat alat dari sel difusi *franz* yang terdiri dari sel difusi, pompa peristaltik, pengaduk, gelas piala, tangas air penampung reseptor, termometer, dan selang. Sebanyak 0,75 mL sediaan kemudian dioleskan secara merata dan tipis di atas membran. Suhu sistem diatur $37\pm 1^\circ\text{C}$ dengan 15 mL cairan reseptor. Pompa peristaltik menarik cairan reseptor dari gelas kimia, kemudian dipompa ke sel difusi. Cairan dialirkan langsung ke reseptor, proses dilakukan selama 8 jam, cuplikan diambil dari cairan reseptor sebanyak 500 μL dan setiap pengambilan dilakukan dengan penggantian larutan yang sama sebanyak 500 μL . Pengambilan cuplikan dilakukan pada menit ke- 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 150, 180 dan 240. Cuplikan disaring dengan membran Millipore ukuran pori 0,45 μm , kemudian dianalisis dengan menggunakan KCKT kolom C18 (diameter 150x4,6mm, 5 μm) pada panjang gelombang 261 nm. Fase gerak terdiri dari asetonitril:air pH 9 (80:20); laju aliran 1,0 mL/menit (Gieszinger, Kiss, Szabó-Révész, & Ambrus, 2021; Rahardjo, Fauzantoro, & Gozan, 2018).

3.4.6.8 Pengukuran Morfologi Globul

Morfologi dan ukuran *droplet* dari nanoemulsi dapat diketahui melalui pengukuran menggunakan TEM. Pengujian bentuk partikel dari sediaan gel nanoemulsi fraksi ekstrak etanol daun tembakau menggunakan TEM dilakukan di Departemen Kimia FMIPA UGM (Ho, Abik, & Mikkonen, 2022).

3.4.6.9 Penentuan Aktivitas Gel Nanoemulsi terhadap *C. albicans* ATCC 90028

Pembuatan suspensi inokulum *C. Albicans* ATCC 90028, pembuatan stok suspensi ketokonazol, dan penentuan aktivitas ketokonazol terhadap *C. albicans* ATCC 90028 dilakukan seperti pengujian aktivitas ekstrak etanol dan hasil fraksinasi ekstrak etanol daun tembakau.

Penentuan aktivitas gel nanoemulsi terhadap *C. albicans* ATCC 90028 dilakukan sebagai berikut: pengenceran gel nanoemulsi dibuat dengan konsentrasi yang diinginkan (Gambar 3.4). Tabung reaksi diberi no 1-5, tabung 1 berisi 500 μL sediaan lalu ditambahkan 500 μL medium RPMI 1640, dihomogenkan menggunakan vortex.

Sebanyak 500 μL diambil dari tabung 1 dan dimasukkan ke tabung 2 lalu ditambahkan 500 μL medium RPMI 1640 dihomogenkan menggunakan vortex. Sebanyak 500 μL diambil dari tabung 2 dan dimasukkan ke tabung 3 lalu ditambahkan 500 μL medium RPMI 1640 dihomogenkan menggunakan vortex. Sebanyak 500 μL diambil dari tabung 3 dan dimasukkan ke tabung 4 lalu ditambahkan 500 μL medium RPMI 1640 dihomogenkan menggunakan vortex. Sebanyak 500 μL diambil dari tabung 4 dan dimasukkan ke tabung 5 lalu ditambahkan 500 μL medium RPMI 1640 dihomogenkan menggunakan vortex. Diambil 0,5 mL dari tabung 5 dan dibuang (Lorian, 1996).

Setelah dilakukan pengenceran, masing-masing tabung ditambahkan 50 μL suspensi *C. albicans* ATCC 90028 dan 450 μL medium RPMI 1640, dihomogenkan menggunakan vortex. Tabung yang sudah berisi suspensi *C. albicans* ATCC 90028 dan gel nanoemulsi diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Kontrol negatif yang digunakan hanya medium RPMI 1640 dan kontrol positif menggunakan jamur *C. albicans* ATCC 90028. Semua sampel diuji tiga kali dan setiap pengujian dilakukan *duplo* (Lorian, 1996).

Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan *Minimum Inhibition Concentration (MIC)* dengan cara melihat kekeruhan dan endapan pada tabung dan membandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif secara visual. Setelah diamati kekeruhannya, campuran tersebut ditanam pada medium *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)*. Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, kemudian diamati dan dihitung jumlah pertumbuhan koloninya untuk melihat *Minimum Fungicidal Concentration (MFC)* (Lorian, 1996).

Persen inhibisi dihitung menggunakan rumus (Rizwana, Al Kubaisi, Al-Meghailaith, Moubayed, & Albasher, 2019; Buzón-Durán et al., 2020).

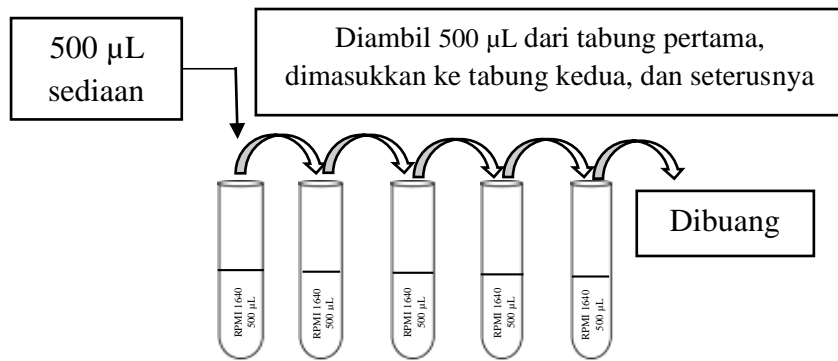
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \dots\dots\dots (3.7)$$

Keterangan:

A : Jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif

B : Jumlah koloni yang tumbuh pada sampel uji

Setelah didapat persen inhibisi, kemudian dianalisis menggunakan statistik *one-way ANOVA*. Hasil dari statistik tersebut digunakan untuk menampilkan tabel dari persen rata-rata penurunan pertumbuhan jamur dan dilanjutkan dengan menghitung IC50 menggunakan persamaan regresi linear.



Gambar 3.4 Penentuan KHM Gel Nanoemulsi

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Fraksinasi

Ekstrak etanol daun tembakau yang digunakan diperoleh dari Balai Biotek BPPT (sekarang menjadi BRIN). Berdasarkan penelitian sebelumnya rendemen dari ekstrak daun tembakau sebesar 22,5% (Fauzantoro et al., 2016). Ekstrak etanol daun tembakau yang telah didapat, kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana, DCM, etil asetat, n-butanol, dan air. Pemilihan pelarut dari non polar ke polar ditujukan agar diperoleh bahan aktif yang spesifik terlarut pada pelarut yang digunakan, sehingga diperoleh fraksi yang mempunyai aktivitas optimal sebagai antijamur *C. albicans*. Rendemen dari hasil fraksinasi ekstrak daun tembakau pada Tabel 4.1, menunjukkan bahwa rendemen terbesar diperoleh pada fraksi air karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol (Fauzantoro et al., 2016).

Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No	Pengujian	Hasil (%)
1.	Rendemen Fraksi n-Heksana	0,2822
2.	Rendemen Fraksi DCM	3,8515
3.	Rendemen Fraksi Etil Asetat	2,6288
4.	Rendemen Fraksi n-butanol	8,7264
5.	Rendemen Fraksi Air	25,7918

4.2 Evaluasi Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

4.2.1 Kadar Air dan Kadar Abu Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Ekstrak yang telah diperoleh, diuji karakteristiknya. Hasil evaluasi ekstrak pada Tabel 4.2, menunjukkan bahwa ekstrak yang digunakan termasuk dalam kategori ekstrak kental karena memiliki kadar air 5-30% (Saifudin et al., 2011).

Tabel 4.2 Hasil Pengujian Kadar Air, Kadar Abu dan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No.	Pengujian	Hasil (%)
1.	Kadar Air	16,43
2.	Kadar Abu	7,56
3.	Kadar Alkaloid Total	10,78

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengukur jumlah air yang terkandung dalam ekstrak. Kadar air yang tinggi dapat memacu tumbuhnya mikroba didalam ekstrak sehingga ekstrak tidak lagi menjadi stabil, rusak dan dapat menimbulkan bau tengik (Depkes RI, 2000).

Penetapan kadar abu dapat digunakan untuk memberikan gambaran kandungan mineral ekstrak, mulai dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak, sehingga parameter kadar abu terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kadar abu yang diperoleh sebesar 7,56%. Kadar abu pada ekstrak daun tembakau masih memenuhi syarat simplisia yang baik yaitu kadar abu tidak lebih dari 12% (Depkes RI, 2000).

Tabel 4.3 Evaluasi Penetapan Kadar Fenol Total dan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Daun Tembakau

No	Pengujian	Hasil	Satuan
1.	Kadar Fenol Total pada Ekstrak	153,74	mgGAE/g Ekstrak
2.	Kadar Fenol Total pada Fraksi DCM	191,23	mgGAE/g Fraksi
3.	Kadar Fenol Total pada Fraksi Etil Asetat	201,29	mgGAE/g Fraksi
4.	Kadar Fenol Total pada Fraksi n-Butanol	180,57	mgGAE/g Fraksi
5.	Kadar Fenol Total pada Fraksi Air	212,87	mgGAE/g Fraksi
6.	Kadar Flavonoid pada Ekstrak	2,39	mgQE/g Ekstrak
7.	Kadar Flavonoid Fraksi DCM	6,09	mgQE/g Fraksi
8.	Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat	6,97	mgQE/g Fraksi
9.	Kadar Flavonoid Fraksi n-butanol	5,11	mgQE/g Fraksi
10.	Kadar Flavonoid Fraksi Air	8,33	mgQE/g Fraksi

Flavonoid termasuk dalam kelompok fenolik yang terdiri dari dua cincin aromatik dengan 3 atom karbon (C6-C3-C6), seperti flavon, isoflavon, flavonol, flavan, flavanon dan antosianidin (Yati et al., 2022). Hasil analisis pada Tabel 4.3 memberikan informasi yang bisa digunakan untuk pengembangan ekstrak dan fraksi ekstrak daun tembakau untuk antijamur, antivirus dan antibakteri (Jin, 2019).

Senyawa fenolik secara umum memiliki potensi sebagai bakterisidal, antiseptik, antioksidan, dan sebagainya. Beberapa senyawa yang termasuk dalam kelompok fenolik adalah fenol sederhana, kumarin, tanin, saponin, dan flavonoid. Senyawa tersebut biasanya berada dalam bentuk glikosida atau ester pada tanaman (Babenko, Smirnov, Romanenko, Trunova, & Kosakivska, 2019).

4.2.2. Evaluasi Skrining Fitokimia

Ekstrak dan hasil fraksinasi yang diperoleh diidentifikasi kandungan kimianya secara kualitatif. Skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada sampel. Hasil uji kualitatif pada Tabel 4.4 dan Lampiran 5-10, menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan seluruh fraksi mengandung alkaloid. Ekstrak etanol dan seluruh fraksi mengandung flavonoid, kecuali fraksi air yang bersifat sangat polar sehingga tidak bisa menarik flavonoid yang bersifat semi polar. Ekstrak etanol dan seluruh fraksi kecuali fraksi heksan mengandung fenol. Polaritas n-heksana dalam ekstraksi terbatas pada komponen non polar, seperti lemak dan minyak menguap. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang cenderung punya polaritas yang tinggi sehingga kelarutannya relatif pada pelarut-pelarut yang sifatnya cenderung lebih polar seperti etanol dan metanol (Abubakar & Haque, 2020).

Hasil identifikasi terpenoid menggunakan KLT dengan pembanding β -sitosetrol (Lampiran 11), setelah disemprot dengan Anisaldehyd-asam sulfat menunjukkan bahwa ekstrak etanol ($R_f = 0,52$) dan fraksi n-heksan ($R_f = 0,53$) mengandung terpenoid, terlihat dari bercak yang berwarna biru violet dibandingkan standar yaitu 0,54. Terpenoid bersifat non polar, pada pemisahan menggunakan pelarut yang cenderung non polar n-heksan:etil asetat (7:3) (Kemenkes RI, 2017b).

Hasil identifikasi flavonoid menggunakan KLT dengan menggunakan pembanding kuersetin (Lampiran 11) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan seluruh fraksi mengandung flavonoid kecuali fraksi air, terlihat dari bercak setelah penyemprotan dengan $AlCl_3$ 1% menghasilkan fluoresen kuning. Hasil R_f sebesar 0,65 (ekstrak etanol), 0,68 (fraksi n-butanol), 0,64 (fraksi etil asetat) dan 0,64 (fraksi n-heksan), 0,64 (fraksi DCM) mendekati nilai R_f dari standar yaitu 0,65. Kuersetin merupakan flavonoid aglikon, tidak berikatan dengan gula, pemisahan dapat menggunakan fase gerak polar campuran dari etil asetat-metanol-asam formiat (95:5:0,5) (Khasanah & Nastiti, 2021). Kuersetin merupakan aglikon yang tidak terikat gula sehingga tidak terdeteksi difraksi air.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, ekstrak etanol dari daun tembakau mengandung alkaloid, tanin, flavonoid dan steroid (Oeung et al., 2017). Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun tembakau mengandung terpenoid, steroid, alkaloid dan tannin (Prommaban et al., 2022).

Tabel 4.4 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Evaluasi	Ekstrak	Fraksi Heksan	Fraksi DCM	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-butanol	Fraksi Air
Alkaloid	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	-
Fenol	+	-	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	-	-	+
Tanin	-	-	-	-	-	+
Terpenoid	+	+	-	-	-	-

Ket : (+) : mengandung senyawa (-) : tidak mengandung senyawa

4.2.3 Identifikasi Senyawa

Untuk mengidentifikasi senyawa pada ekstrak dan hasil fraksinasi digunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry* (GC-MS). Analisis GC-MS dapat memberikan informasi tentang komponen senyawa yang bersifat volatile, non-ionik dan stabil (Beale et al., 2018; Yang, Zhang, Yang, & Xie, 2022). Hasil GC-MS dapat digunakan untuk menentukan kandungan utama dari masing-masing fraksi sehingga dapat ditentukan senyawa marker yang digunakan untuk validasi metode analisis.

Hasil GC-MS seperti pada Tabel 4.5 menunjukkan kandungan tertinggi ekstrak tembakau adalah nikotin 100%, fraksi DCM mengandung 1,2- Asam Benzenedicarboxylic, bis 70,53%, fraksi etil asetat mengandung 1,2-Asam benzenedikarboksilat, bis 46,84%, fraksi n-butanol mengandung Piridine, 3-(1-metil-2-pirolidin 65,35%, dan fraksi air mengandung Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin 84,47%. Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin merupakan nama lain dari nikotin (European Molecular Biology Laboratory, 2017), hasil analisis GCMS menunjukkan waktu retensi 17, 97 dan 18,119 dengan masa 162 g/mol.

Tabel 4.5 Hasil Pemeriksaan Senyawa dalam Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No	Sampel	Waktu Retensi	Senyawa	Kandungan (%)
1.	Ekstrak Etanol	18,119	Nikotin	100
2.	Fraksi Heksan	34,061	mono (2-etilheksil) 1,2 asam benzen dikarboksilat	8,04
		32,937	Siklotetrakosana	3,36
		34,274	1-Dokosanol, metil-eter	2,91
3.	Fraksi Dichloromethane	35,91	1,2-Asam benzen dikarboksilat, bis	70,53
		17,94	Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin	6,56
		17,94	Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin	6,56
4.	Fraksi Etil Asetat	35,94	1,2-Asam benzen dikarboksilat, bis	46,84
		31,48	Asam heksadekanoat	8,37
		24,44	2,6-di-tert-butyl-toluen	6,94
5.	Fraksi n-butanol	17,97	Piridin, 3-(1-metil-2-pirolidin	65,35
		27,82	Kolestan-3-amina, Nm,N,4,4-tetrame	14,07
		17,56	Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin	2,76
6.	Fraksi Air	17,85	Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin	84,47
		43,00	6-Hidroksi-powelline-N-nitroso, ald	6,96
		17,56	Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin	2,17

4.2.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur

Setelah dilakukan percobaan pendahuluan, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antijamur dari ekstrak etanol dan fraksi ekstrak daun tembakau menggunakan tabung reaksi agar lebih mudah untuk diamati. Konsentrasi ekstrak etanol daun tembakau dimulai dari 500.000 µg/mL. Konsentrasi fraksi DCM, etil asetat dan n-butanol dimulai dari 20.000 µg/mL. Konsentrasi ketokonazol yang digunakan dimulai dari 160 µg/mL. Konsentrasi fraksi air yang digunakan dimulai dari 50.000 µg/ml dan konsentrasi fraksi heksan dimulai dari 10.000 µg/mL.

Setelah ekstrak dan fraksi ekstrak etanol daun tembakau ditanam pada tabung reaksi yang berisi medium RPMI 1640 dan *C. albicans* ATCC 90028, tabung tersebut diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, kemudian tabung tersebut diamati kekeruhannya untuk melihat nilai MIC seperti yang tertera pada Tabel 4.6. Seratus mikroliter sampel dari tabung dengan nilai MIC, ditanam ke dalam cawan petri yang berisi medium SDA, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam untuk menentukan nilai MFC. Pengerjaan tersebut dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan

(CLSI 2010; Lorian 1996). Pada sampel nikotin hanya dilakukan dua kali pengulangan dikarenakan ketersediaan bahan yang terbatas.

Hasil pengujian aktivitas antijamur pada Tabel 4.6, menunjukkan bahwa fraksi n-butanol memiliki aktivitas antijamur yang terbaik dari fraksi lainnya, dengan nilai MIC dan MFC fraksi n-butanol adalah 78,13 $\mu\text{g/mL}$ dan 130,21 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut juga lebih baik jika dibandingkan penelitian lainnya yang melakukan uji aktivitas antijamur ekstrak metanol daun tembakau terhadap *C. albicans* ATCC 90028 dengan nilai MIC sebesar 50 mg/mL dan MFC sebesar 200 mg/mL (Anumudu et al., 2019). Kandungan dari fraksi n-butanol memberikan aktifitas antijamur terhadap *C. albicans* lebih baik dari nikotin (dalam bentuk murni).

Tabel 4.6 Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur

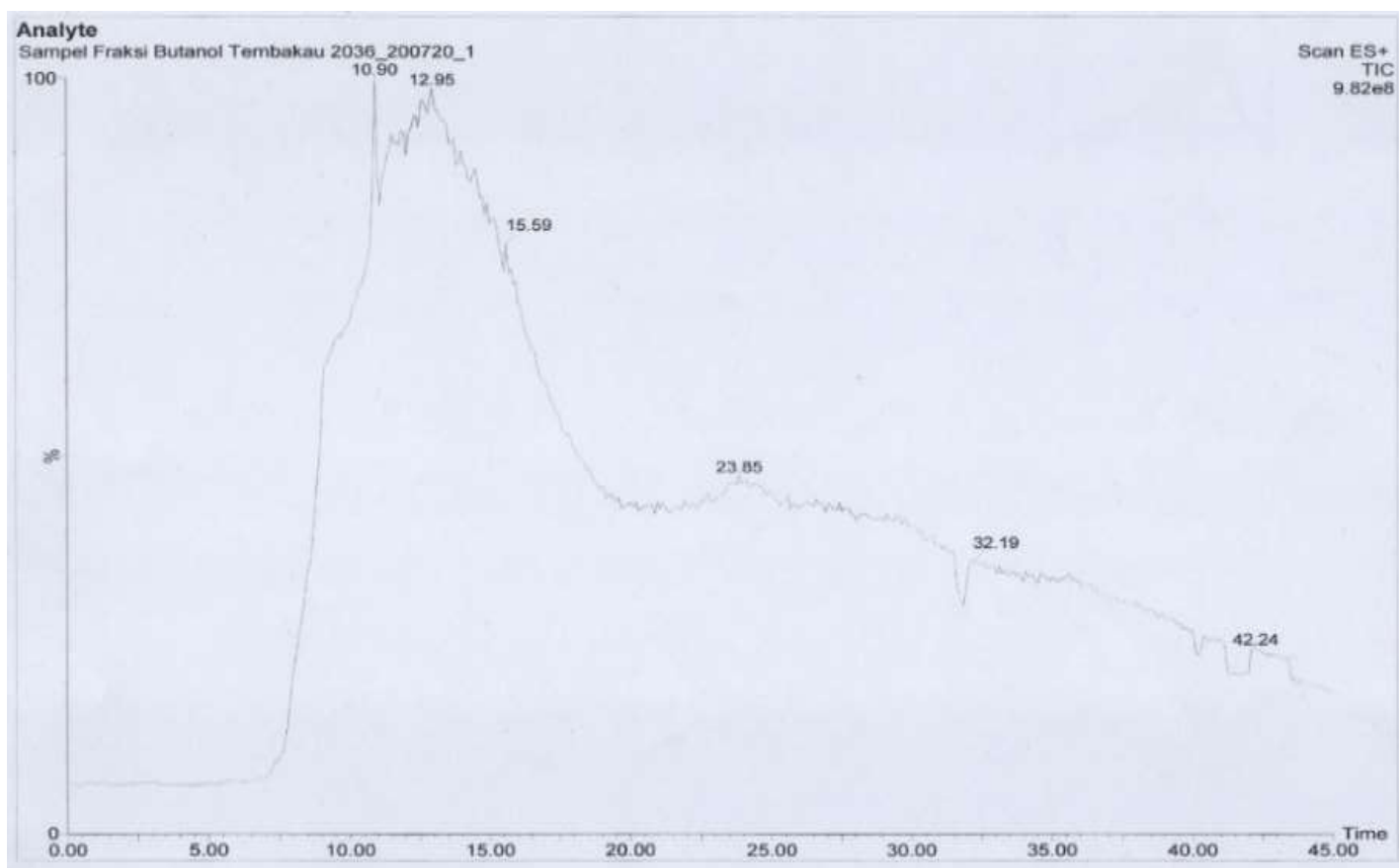
	R1	R2	R3	Rata-Rata	SD
Ekstrak					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	250000	250000	250000	250000	0
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	500000	500000	500000	500000	0
Fraksi Heksan					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	1250	1250	1250	1250	0
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	1250	1250	1250	1250	0
Fraksi DCM					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	312,50	156,25	625	364,58	238,68
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	625	625	312,50	520,83	180,42
Fraksi Etil Asetat					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	2500	2500	2500	2500	0
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	1250	1250	1250	1250	0
Fraksi n-Butanol					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	78,13	78,13	78,13	78,13	0
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	156,25	156,25	78,13	130,21	45,10
Fraksi Air					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	>50000	>50000	>50000	>50000	0
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	50000	50000	50000	50000	0
Ketokonazol					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	80	80	160	106,67	46,19
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	160	160	160	160	0
Nikotin					
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	2500	2500	-	2500	0
MFC ($\mu\text{g/mL}$)	5000	5000	-	5000	0

Keterangan : R1-R3 : Pengulangan 1-3

4.2.5 Uji Komponen Aktif dalam Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

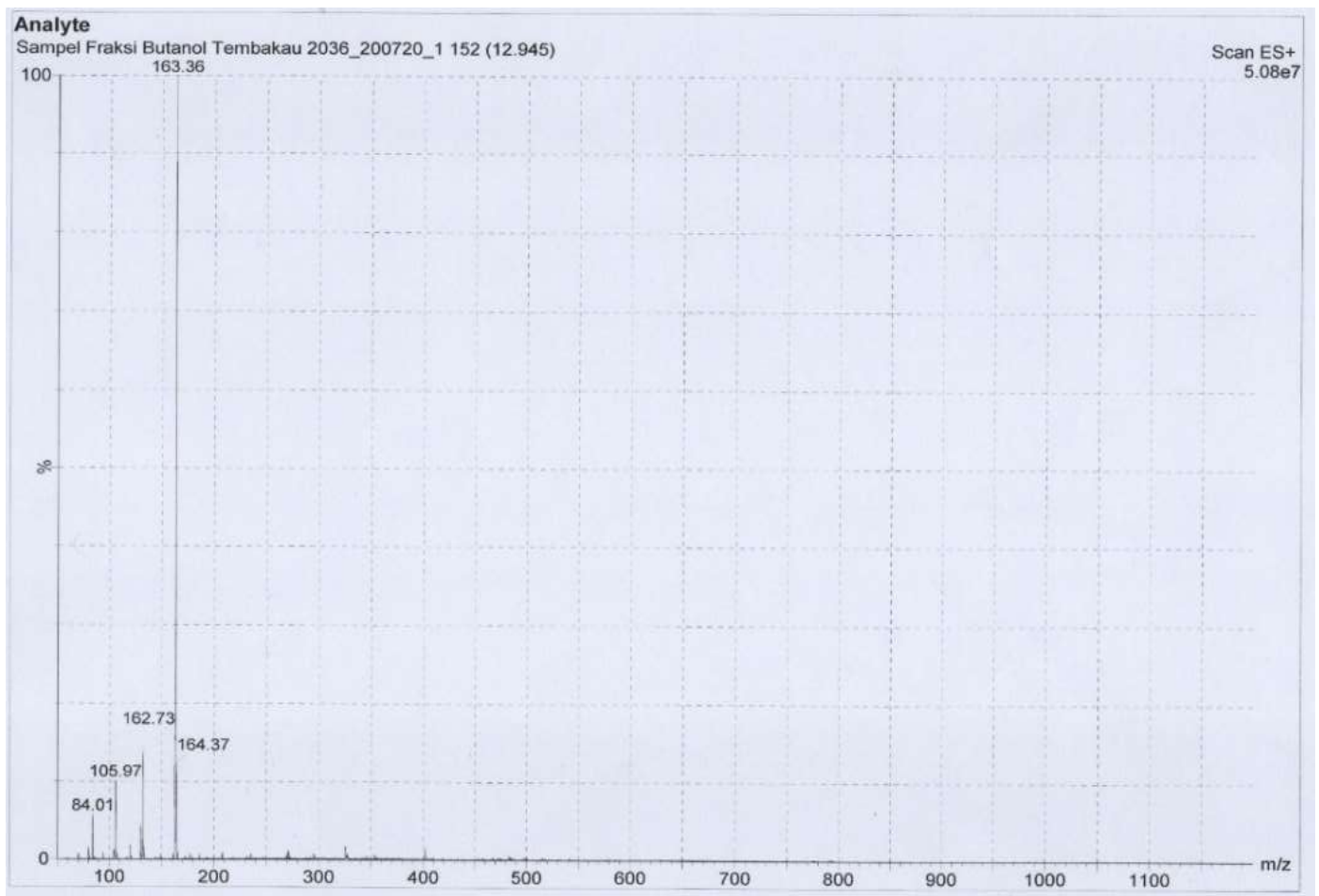
Setelah dilakukan evaluasi terhadap ekstrak etanol dan fraksi ekstrak daun tembakau, fraksi n-butanol merupakan fraksi terpilih sebagai antijamur yang selanjutnya diformulasi menjadi sediaan gel nanoemulsi. Hasil GC-MS dari fraksi n-butanol ekstrak daun tembakau pada Lampiran 14 menunjukkan kandungan tertinggi adalah Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin yang terdapat pada waktu retensi 17,97. Fraksi n-butanol tersebut diuji komponen aktifnya menggunakan LC-MS.

LC-MS merupakan teknik analisis kombinasi dari kromatografi cair sebagai pemisah komponen-komponen analit dalam sampel dengan spektrometri massa sebagai detektor. Penganalisis massa digunakan untuk menentukan rasio massa terhadap muatan (rasio m/z) tertentu dari ion induk, kemudian pada sel kolision ion induk bertabrakan dengan molekul gas dan terfragmentasi menjadi ion yang lebih kecil dan diperoleh rasio m/z pada penganalisis masa kedua sebagai ion produk (Harmita, Harahap, & Supandi, 2019). Kromatogram LC-MS fraksi n-butanol daun tembakau memberikan fragmentasi pada nilai waktu retensi yang dapat dilihat pada Gambar 4.1. Puncak kromatogram tertinggi berada pada waktu retensi 12,95.



Gambar 4.1 Kromatogram Hasil Analisis LC-MS dan *Retention Time* (Rt) dari Sampel Fraksi n-Butanol Daun Tembakau

Waktu retensi pada wilayah 12,945 memberikan satu puncak spektrogram massa tertinggi dengan m/z 163,36 (dapat dilihat pada Gambar 4.2). Waktu retensi pada wilayah 15,59; 23,85; 32,19; dan 42,24 memberikan satu puncak spektrogram massa dengan m/z 163,36. Puncak spektrogram masa ini jelas merupakan $[M+H]^+$ dari fraksi n-butanol daun tembakau karena nikotin memiliki BM sebesar 162,23 g/mol (United States Pharmacopeial Convention, 2018).



Gambar 4.2 Spektrum Fragmentasi LC-MS dari Sampel pada Waktu Retensi 12,945

4.2.6 Uji Residu terhadap Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Uji residu dilakukan untuk mengetahui sisa pelarut yang terdapat pada fraksi. ekstrak dan/atau fraksi diperbolehkan menggunakan pelarut selain etanol dan air pada batas residu yang ditetapkan. Batas residu untuk ekstrak dan/atau fraksi yang menggunakan pelarut n-butanol adalah 5000 ppm (BPOM RI, 2017). Pada penelitian ini, uji residu dilakukan menggunakan GC-FID. Hasil uji residu (Lampiran 15) menunjukkan bahwa sisa pelarut yang terdapat pada fraksi n-butanol yaitu 1300 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi n-

butanol ekstrak etanol daun tembakau pada penelitian ini memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh BPOM RI.

4.2.7 Penetapan Kadar Nikotin dalam Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

4.2.7.1 Uji Kesesuaian Sistem (UKS)

Uji kesesuaian sistem (UKS) dilakukan untuk memeriksa sensitivitas, resolusi, dan reproduktifitas sistem kromatografi untuk analisis yang dilakukan (Sharma, Goyal, & Chauhan, 2018). Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk memastikan kesesuaian dan keefektifan dengan fase gerak terpilih sehingga mampu memberikan data yang dapat diterima. Parameter-parameter yang ditentukan dalam uji kesesuaian sistem yaitu jumlah plat teoritis, faktor ikutan, faktor kapasitas kolom dari luas area yang dihasilkan, % *RSD* terhadap luas area dan waktu retensi dari serangkaian penyuntikan (minimal 6 kali penyuntikan). Syarat utama adalah %*RSD* (*Relative Standar Deviation*) dari luas area, yaitu $\leq 2\%$ (Gandjar and Rohman 2017; Kemenkes 2020; Dadhich, Goyal, Agarwal, & Gandhi, 2020).

Hasil uji kesesuaian sistem dapat dikatakan memenuhi persyaratan yang ditetapkan karena pada masing-masing parameter mampu memenuhi nilai persyaratan yaitu $\leq 2\%$. Data uji kesesuaian sistem ditetapkan pada tabel 4.7. Nilai tersebut menggambarkan bahwa sistem yang digunakan mampu memberikan nilai keterulangan yang baik. Jumlah plat teoritis menunjukkan efisiensi atau tidaknya suatu kolom, apabila kolom yang digunakan semakin panjang maka nilai lempeng yang dihasilkan semakin tinggi. Sehingga dapat menandakan bahwa proses pemisahan semakin baik (Ornaf & Dong, 2005).

Dari hasil uji kesesuaian system menunjukkan bahwa fase gerak optimal yang dapat digunakan adalah asetonitril:air pH 9 dengan perbandingan 80:20, kolom yang digunakan adalah kolom C18 dengan kecepatan alir 1,5 mL/menit dan dideteksi pada panjang gelombang 260 nm.

Tabel 4.7 Hasil Uji Kesesuaian Sistem (UKS) Nikotin

No	Luas Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)	Waktu Retensi (menit)	Jumlah Plat Teoritis	Faktor Ikutan
1	1197815	4,089	9338	1,348
2	1193143	4,087	9296	1,344
3	1193128	4,093	9286	1,346
4	1192510	4,089	9258	1,348
5	1193182	4,091	9281	1,352
6	1190209	4,086	9230	1,349
<i>Mean</i>	1193338,420	4,089	9281,386	1,348
<i>Stdev</i>	2490,377	0,002	36,365	0,003
<i>% RSD</i>	0,2	0,1	0,4	0,2
Syarat	$\% RSD \leq 2,0 \%$	$\% RSD \leq 2,0 \%$	Jumlah Plat Teoritis ≥ 2000	Faktor Ikutan $\leq 2,0 \%$

4.2.7.2 Validasi Metode Analisis Nikotin

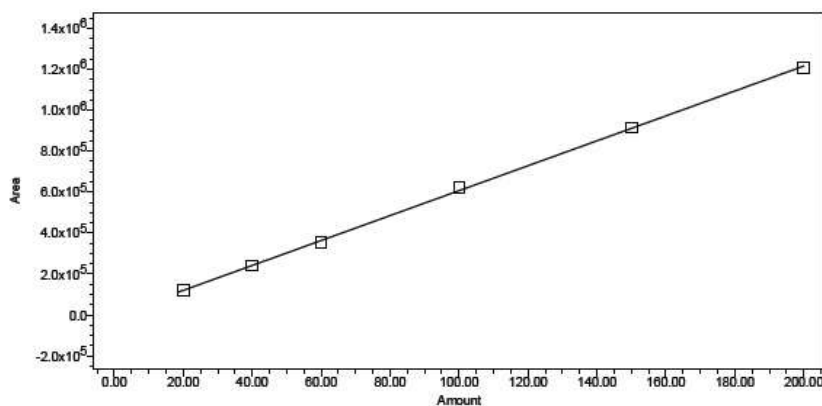
a. Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Harmita 2004). Hasil uji linearitas terdapat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data Uji Linearitas

No	C Teoritis ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Luas Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	20	122622
2	40	240379
3	60	355861
4	100	621383
5	150	913419
6	200	1208447

Hasil uji linearitas menunjukkan bahwa uji linearitas mampu memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan dari kurva linearitas yang terbentuk secara linear, yaitu mempunyai koefisien korelasi lebih besar dari 0,99 (Kemenkes 2020; Gandjar and Rohman 2017; Sharma, Goyal, & Chauhan, 2018). Kurva kalibrasi dibuat dengan cara membuat seri larutan standar nikotin dengan konsentrasi 20-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kurva linearitas dapat dilihat pada Gambar 4.3. Dari hasil tersebut diperoleh persamaan regresi linear $y = 436,86 + 6069,3x$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9996. Hasil ini menunjukkan bahwa respon analit dengan konsentrasi yang terukur terdapat hubungan yang proporsional.



Gambar 4.3 Kurva Linearitas Nikotin

b. Uji *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ)

Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan larutan blangko (pada penelitian ini larutan blangko menggunakan dapar fosfat pH 7,4). Batas deteksi (LOD) adalah parameter uji batas dan batas kuantifikasi (LOQ) adalah parameter pada analisis renik dan dapat diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria (Gandjar and Rohman 2017). Hasil LOD dan LOQ terdapat pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil LOD dan LOQ

No	Parameter	Nilai ($\mu\text{g/mL}$)
1	LOD	6,50
2	LOQ	19,69

Dari kurva regresi linear nikotin yang dapat dilihat pada gambar X, didapatkan persamaan regresi linear nikotin adalah $y = 1709 + 6084 x$. Dari persamaan tersebut didapatkan batas deteksi nikotin sebesar $6,50 \mu\text{g/mL}$ dan batas kuantifikasi sebesar $19,69 \mu\text{g/mL}$ (Hasil perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 19).

c. Uji Selektivitas

Selektivitas didefinisikan sebagai kemampuan yang hanya mengukur zat tertentu secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel (Zaenudin, Situmorang, & Supandi, 2021; Gandjar and Rohman 2017). Selektivitas senyawa dapat dilihat dari tidak adanya *peak* yang berhimpit dan nilai waktu retensi yang dihasilkan. Hasil uji selektivitas dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Hasil Uji Selektivitas

No	Parameter Uji	Waktu Retensi (menit)	Senyawa	Luas Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)	Resolusi	Selektifitas
1	Blanko	4,194	-	-	-	-
2	Sampel	4,111	Nikotin	54616	-	-
	Syarat/ <i>Requirement</i>	Tidak ada senyawa yang memberikan respon pada waktu yang bersamaan dengan waktu retensi Nikotin atau tidak ada interferensi di sekitar daerah uji.			Resolusi $\geq 2,0$	-

d. Uji Akurasi

Akurasi dinyatakan sebagai persentase (%) perolehan kembali (*% Recovery*) analit yang ditambahkan. Kriteria penerimaan uji akurasi adalah (*% Recovery*) sebesar 98,0-102,0%. Berbeda dengan presisi yang artinya ketelitian, akurasi memiliki pengertian ketepatan (kecermatan). Kriteria kecermatan sangat tergantung kepada konsentrasi analit dalam matriks sampel dan pada keseksamaan metode (*RSD*) (Harmita, 2004; Gandjar 2017). Hasil uji akurasi dapat dilihat pada Tabel 4.11. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata *%RSD* yang didapat adalah 1,348% dengan rata-rata *recovery* sebesar 99,656%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji akurasi memenuhi persyaratan.

Tabel 4.11 Data Uji Akurasi

No	Konsentrasi Target ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Luas Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)	Jumlah	<i>Recovery</i> (%)
1	30	180578	29,960	99,867
2	30	177382	29,434	98,113
3	30	181522	30,115	100,383
4	80	490616	80,916	101,145
5	80	485875	80,137	100,171
6	80	493232	81,346	101,683
7	160	949827	156,390	97,744
8	160	963185	158,585	99,116
9	160	963945	157,895	98,684
		Rata-rata <i>Recovery</i>		99,656
	<i>Stdev</i>			1,343
	<i>% RSD</i>			1,348
	<i>Syarat/Requirement</i>			$RSD \leq 2,0 \%$ <i>Recovery</i> 98 % - 102 %

e. Uji Presisi

Uji presisi merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk menunjukkan kedekatan dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampel homogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji presisi yang dilakukan memenuhi syarat karena memiliki rata-rata %RSD $\leq 2,0\%$ yaitu 0,9% (Gandjar and Rohman 2017). Hasil uji presisi dapat dilihat pada tabel 4.12.

Tabel 4.12 Data Uji Presisi

No	Konsentrasi Target ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)	Jumlah	RSD (%)
1	30	180578	29,960	
2	30	177382	29,434	1,2
3	30	181522	30,115	
4	80	490616	80,916	
5	80	485875	80,137	0,8
6	80	493232	81,346	
7	160	949827	156,390	
8	160	963185	158,585	0,8
9	160	963945	157,895	
Rata-rata % RSD				0,9
Syarat/Requirement				RSD $\leq 2,0\%$

4.2.7.3 Penetapan Kadar Nikotin dalam Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Hasil pengembangan validasi metode analisis diperoleh bahwa metode tersebut bisa digunakan untuk mengukur kadar nikotin yang terkandung dalam fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau. Hasil penetapan kadar nikotin dalam fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau pada Tabel 4.13, menunjukkan bahwa nikotin yang terkandung pada fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau sebesar 22,27%.

Tabel 4.13 Kadar Nikotin pada Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Replika	Luas Area	Kadar (%)
Fraksi 1	1278771	23,17
Fraksi 2	1179606	21,38
Rata-Rata		22,27
SD		1,27

3.3 Formulasi Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Tahap pertama dalam pembuatan nanoemulsi adalah penentuan perbandingan antara minyak:surfaktan:kosurfaktan. Penentuan konsentrasi surfaktan dan ko-surfaktan dilakukan

dengan uji pendahuluan menggunakan beberapa konsentrasi dari minyak, surfaktan, kosurfaktan dan air untuk memperoleh formula yang menghasilkan nanoemulsi yang memenuhi syarat. Rancangan formula dibuat menggunakan 16 formula dengan konsentrasi minyak sebesar 5-8%, konsentrasi surfaktan:kosurfaktan sebesar 15-45% dan air hingga 100%. Perbandingan konsentrasi surfaktan:kosurfaktan dimulai dari 2:1 hingga 5:1. Hasil dari percobaan basis nanoemulsi didapatkan nanoemulsi yang transparan dan ukuran partikel yang memenuhi persyaratan pada formula nomor 4, 5, 6 dan 7 seperti yang tertera pada Tabel 4.14 dan Gambar 4.4. Hasil tersebut dianalisis menggunakan *software Chemix 10.0* seperti pada Gambar 4.5.

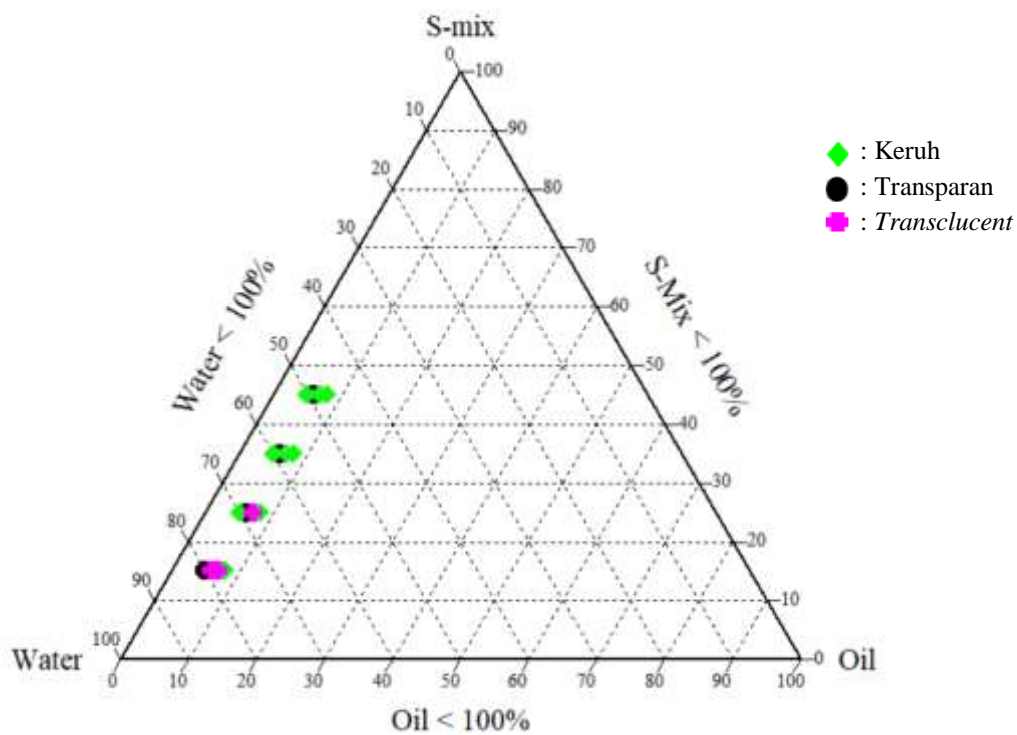
Berdasarkan diagram 3 fase, maka ditentukan daerah formula nanoemulsi yang menghasilkan ukuran partikel yang memenuhi persyaratan yaitu pada konsentrasi VCO sebesar 6%, Tween 80:Sorbitol sebesar 25% dan air hingga 100%. Namun, penggunaan Tween 80 dalam formula tersebut konsentrasinya sangat besar. Penggunaan Tween 80 dengan konsentrasi diatas 20% dapat menyebabkan iritasi pada kulit, sehingga pada penelitian ini formulanya dikembangkan dengan menggunakan ester sukrosa palmitat sebagai surfaktan tambahan seperti yang tertera pada Tabel 4.15. Ester sukrosa palmitat memiliki beberapa keuntungan diantaranya, menurunkan tegangan permukaan minyak dan air, tidak toksik, *biodegradable*, dan tersertifikasi halal (Food, 2022).

Ester sukrosa palmitat merupakan surfaktan non-ionik yang dapat membantu meningkatkan penetrasi dari obat karena mampu melarutkan lemak pada subkutan sehingga bisa meningkatkan penyerapan obat. Mekanisme ester sukrosa palmitat dalam meningkatkan penetrasi obat yaitu, surfaktan tersebut mampu memasuki daerah antar sel subkutan lalu terjadi pelarutan lemak pada subkutan, setelah itu surfaktan tersebut menembus matriks antar sel, berinteraksi dan berikatan dengan filamen keratin sehingga mampu meningkatkan penetrasi obat ke dalam lapisan kulit (Shaker, Ishak, Ghoneim, & Elhuoni, 2019).



Gambar 4.4 Hasil Percobaan Basis Nanoemulsi

Gambar Diagram 3 Fase Nanoemulsi



Gambar 4.5 Diagram 3 Fase Nanoemulsi

Tabel 4.14 Hasil Optimasi Basis Nanoemulsi

No	Fase Minyak (%)	Surfaktan + kosurfaktan (%)	Perbandingan Surfaktan: Kosurfaktan	Fase Air sampai dengan (%)	Ukuran Partikel Di90 (nm)	Pd Index	Zeta Potensial (mV)	Fisik
1	5	45	2:1	50	572,00	0,797	-23,30	Keruh
					491,00	0,695	-21,30	Keruh
2	5	35	3:1	60	98,10	1,000	-24,70	Keruh
					148,00	1,000	-23,00	Keruh
3	5	25	4:1	70	0,40	1,000	-15,40	Keruh
					0,40	0,016	-18,90	Keruh
4	5	15	5:1	80	103,00	0,237	-14,50	Transparan
					116,00	0,251	-16,20	Transparan
5	6	45	2:1	49	66,90	0,250	-13,60	Transparan
					67,30	0,240	-15,60	Transparan
6	6	35	3:1	59	83,50	0,248	-10,30	Transparan
					79,50	0,249	-16,90	Transparan
7	6	25	4:1	69	120,00	0,280	-11,00	Transparan
					123,00	0,301	-13,50	Transparan
8	6	15	5:1	79	323,00	0,499	-21,60	<i>Translucent</i>
					251,00	0,585	-16,60	<i>Translucent</i>
9	7	45	2:1	48	784,00	0,979	-17,70	Keruh
					706,00	1,000	-17,10	Keruh
10	7	35	3:1	58	506,00	1,000	-19,00	Keruh
					565,00	1,000	-18,80	Keruh
11	7	25	4:1	68	242,00	0,428	-21,30	<i>Translucent</i>
					282,00	0,505	-20,70	<i>Translucent</i>
12	7	15	5:1	78	4180,00	1,000	-19,50	<i>Translucent</i>
					4440,00	1,000	-21,20	<i>Translucent</i>
13	8	45	2:1	47	3340,00	0,529	-22,10	Keruh
					3430,00	0,848	-21,70	Keruh
14	8	35	3:1	57	438,00	0,782	-27,00	Keruh
					370,00	0,991	-23,40	Keruh
15	8	25	4:1	67	85,80	1,000	-17,70	Keruh
					307,00	0,772	-17,00	Keruh
16	8	15	5:1	77	151,00	0,567	-20,50	Keruh
					210,00	0,427	-20,80	Keruh

Keterangan : Pengukuran dilakukan dua kali (duplo)

Pembuatan nanoemulsi (Tabel 4.14) dengan penambahan ester sukrosa palmitat sebagai berikut : akudes dipanaskan hingga suhu 85°C lalu ditambahkan ester sukrosa palmitat, Tween 80, sorbitol dan nipagin, diaduk hingga larut (masa 1), didiamkan sampai suhunya mencapai 50°C, lalu ditambahkan fraksi n-butanol, diaduk hingga larut. VCO dan Nipasol dicampur hingga larut lalu ditambahkan ke masa 1, diaduk dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit.

Tabel 4.15 Formula Nanoemulsi Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Bahan	Jumlah		
	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau	1	1	1
Ester sukrosa palmitat (Habo [®])	0,2	0,4	0,6
Tween 80	5	5	5
Sorbitol	20	20	20
VCO	6	6	6
Nipagin	0,2	0,2	0,2
Nipasol	0,02	0,02	0,02
Air suling sampai	100	100	100

4.4 Evaluasi Fisik Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Evaluasi secara fisika dilakukan 24 jam setelah pembuatan sediaan nanoemulsi, meliputi pengamatan organoleptis, pengukuran pH, penentuan bobot jenis, dan pengukuran ukuran partikel, zeta potensial dan indeks polidispersitas.

4.4.1 Organoleptis

Pengamatan organoleptis sediaan dilakukan pada suhu ruang dan sediaan disimpan dalam wadah tertutup rapat. Pengamatan organoleptis meliputi pengamatan bentuk, tekstur, bau dan warna. Hasilnya menunjukkan bahwa seluruh formula memiliki bentuk cairan jernih berwarna coklat berbau khas tembakau seperti yang tertera pada Tabel 4.16.

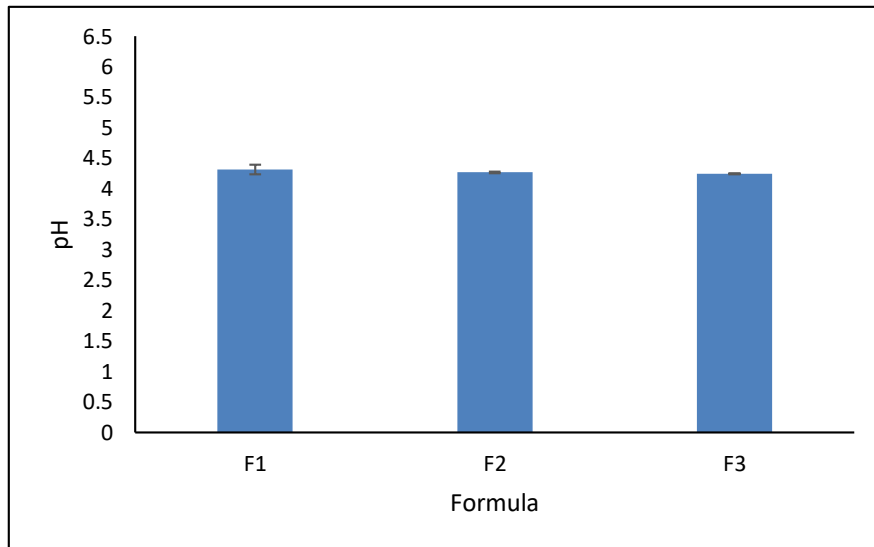
Tabel 4.16 Pengamatan Organoleptis

Formula	Bentuk	Bau	Warna
F1	Cairan	Khas tembakau	Coklat
F2	Cairan	Khas tembakau	Coklat
F3	Cairan	Khas tembakau	Coklat

4.4.2 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui sifat asam dan basa dari sediaan nanoemulsi agar dapat memberikan rasa nyaman saat digunakan dan tidak menimbulkan iritasi kulit. Nilai pH ideal untuk kulit yaitu 4,5-6,5 (Sinko, 2015). Data mengenai hasil pengukuran pH terdapat pada Gambar 4.6 dan Lampiran 23. Hasil pengukuran pH dari ketiga formula lebih rendah dari syarat pH kulit. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh pH dari seluruh bahan yang digunakan. VCO memiliki pH sebesar 6,5, ester sukrosa palmitat memiliki pH sebesar 4-8, tween 80 memiliki pH sebesar 6-8 dan sorbitol memiliki pH sebesar 3,5-7 (Rowe et al., 2009). Data statistik ANOVA menyebutkan bahwa formula 1, formula 2 dan formula 3 tidak memiliki perbedaan bermakna karena memiliki nilai sig sebesar 0,293 seperti yang tertera pada

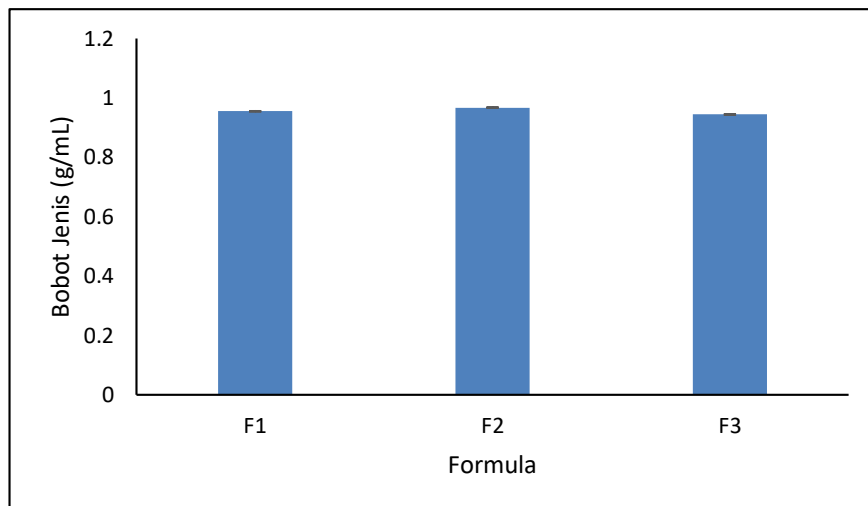
Lampiran 23. Sediaan nanoemulsi tersebut selanjutnya ditambahkan gel yang terbuat dari Carbopol 940 dengan penambahan TEA, sehingga pH dari sediaan sesuai dengan pH ideal untuk kulit.



Gambar 4.6 Hasil Pengukuran pH Nanoemulsi

4.4.3 Pengukuran Bobot Jenis

Semakin tinggi konsentrasi surfaktan yang digunakan maka bobot jenis semakin besar, karena semakin tinggi konsentrasi surfaktan, proses solubilisasi akan meningkat karena konsentrasi misel yang terbentuk semakin besar (Lachman et al., 2012). Data pengukuran bobot jenis diperoleh nilai sebesar 0,9440-0,9663 g/mL seperti pada Gambar 4.7 dan Lampiran 24.



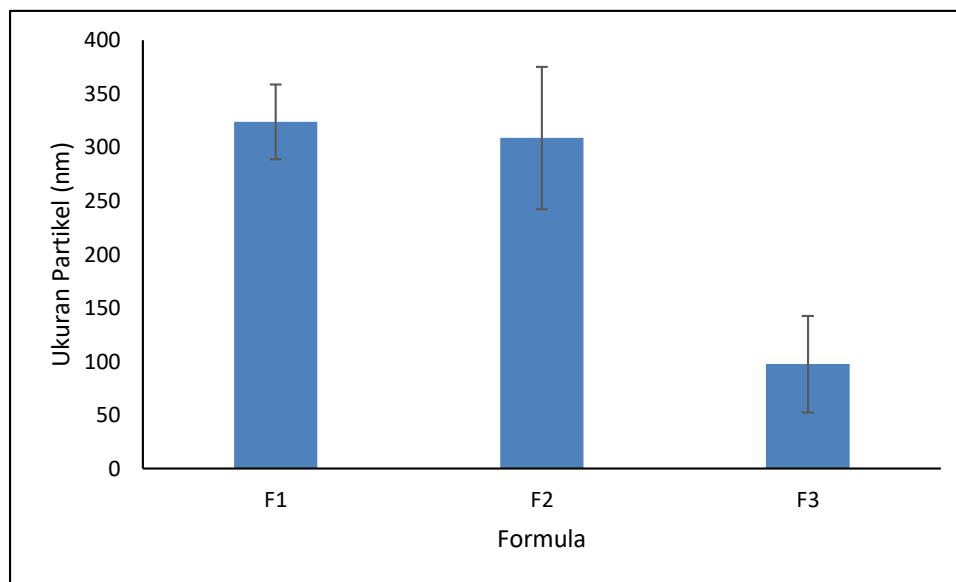
Gambar 4.7 Hasil Pengukuran Bobot Jenis Nanoemulsi

4.4.4 Pengukuran Ukuran Partikel, *Polydispersity Index*, dan Zeta Potensial

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* yang mempunyai prinsip yaitu penghamburan cahaya sinar laser pada partikel sampel yang dideteksi oleh

photodiode detector pada sudut tertentu secara cepat maka dapat menentukan ukuran partikel dalam suatu sampel (Sandhu et al. 2018; Malvern 2011). Nanoemulsi adalah sediaan isotropik dan tidak stabil secara termodinamika, terbuat dari surfaktan, minyak, dan air dengan atau tanpa penambahan kosurfaktan, ukuran *droplet* kecil dari 20-500 nm (Sarheed et al., 2020), 50-500 nm (Chaudhari & Kuchekar, 2018), dan 100-500 nm (Teng et al., 2020).

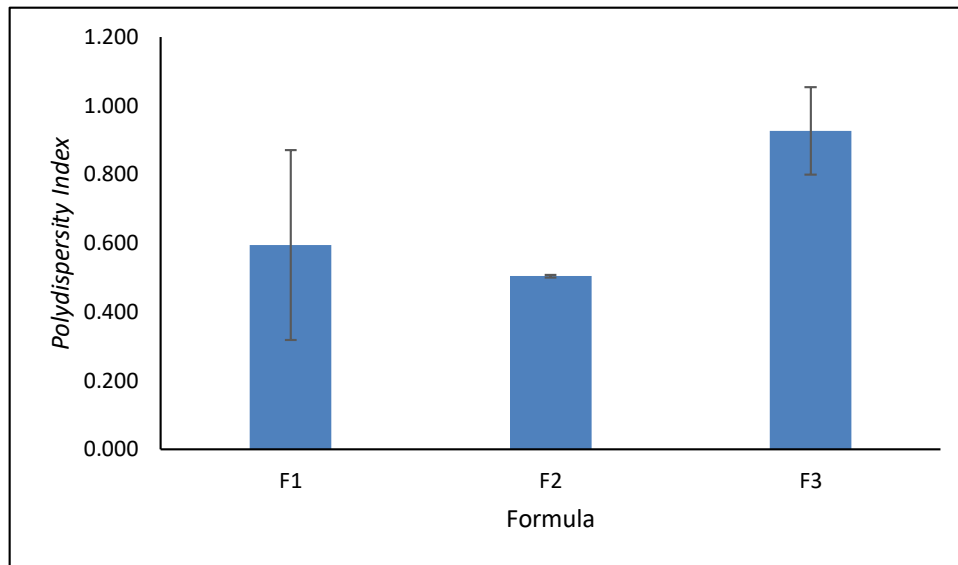
Hasil ukuran partikel nanoemulsi yang mengandung fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau pada Gambar 4.8 dan Lampiran 25, menunjukkan bahwa ukuran partikel dari formula 1, formula 2 dan formula 3 berada dibawah 500 nm, sesuai dengan persyaratan ukuran partikel untuk nanoemulsi. Hasil yang diperoleh menunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi surfaktan, ukuran partikel nanoemulsi semakin kecil. Peningkatan konsentrasi surfaktan akan menurunkan tegangan permukaan dan menstabilkan permukaan partikel yang terbentuk selama proses pengadukan sehingga menghasilkan partikel yang berukuran lebih kecil (McClements, 2012a).



Gambar 4.8 Hasil Rata-Rata Di90 Pengukuran Ukuran Partikel Nanoemulsi

Polydispersity index (PdI) menunjukkan kualitas kehomogenan atau kestabilan suatu ukuran partikel. Semakin kecil nilai *polydispersity index* maka ukuran droplet semakin seragam dan homogen. Nilai *polydispersity index* ideal berkisar antara 0,2-0,7 (Asmawati, Wan Mustapha, Yusop, Maskat, & Shamsuddin, 2015; Sail, Wan Mustapha, Yusop, Maskat, & Shamsuddin, 2018). Hasil pengujian *polydispersity index* dari ketiga formula nanoemulsi pada Gambar 4.9 dan Lampiran 26, menunjukkan bahwa formula 1 dan formula 2 memenuhi syarat sedangkan formula 3 tidak memenuhi syarat. Hal ini menunjukkan bahwa formula 1 dan 2,

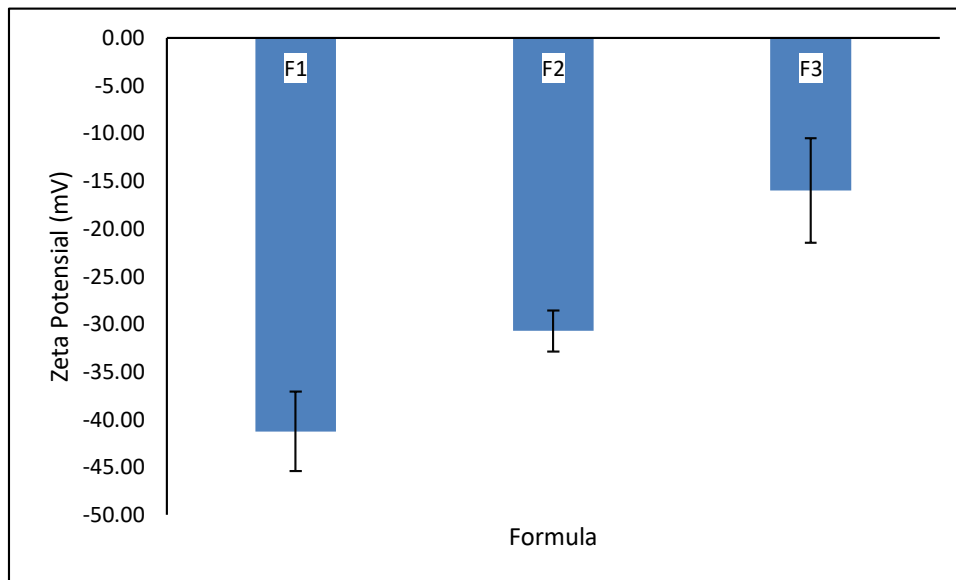
memiliki ukuran droplet yang seragam sedangkan formula 3 memiliki ukuran droplet yang tidak seragam.



Gambar 4.9 Hasil Pengukuran *Polidispersity Index* Nanoemulsi

Pengujian zeta potensial bertujuan untuk menentukan muatan permukaan partikel koloid dan tingkat kestabilan suatu sediaan. Zeta potensial merupakan nilai yang menunjukkan gaya tolak menolak antar partikel. Semakin besar gaya tolak menolak maka partikel sulit berdekatan untuk membentuk agregat. Partikel dianggap stabil jika memiliki nilai zeta potensial lebih besar dari +30 mV atau -30 mV (Malvern, 2015).

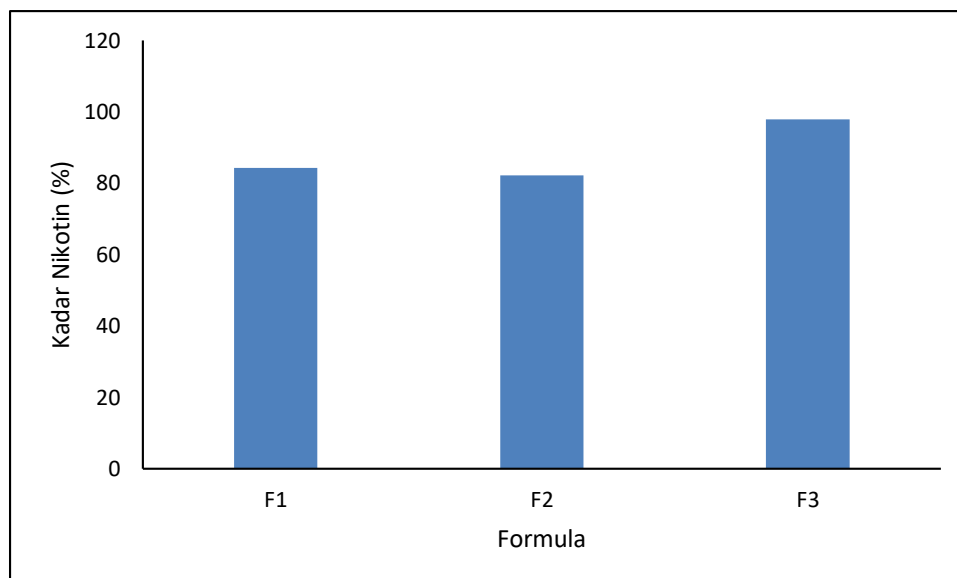
Hasil uji zeta potensial pada Gambar 4.10 dan Lampiran 26, menunjukkan bahwa ketiga formula nanoemulsi memiliki nilai zeta potensial yang bervariasi. Suatu sistem dikatakan stabil apabila memiliki nilai zeta potensial lebih dari ± 20 mV dan memiliki stabilitas yang tinggi jika memiliki nilai zeta potensial mencapai ± 40 mV (Zeng et al., 2021). Berdasarkan hasil yang diperoleh maka F1 dan F2 merupakan sistem nanoemulsi yang stabil karena memiliki nilai zeta potensial lebih dari 20 mV. Nilai zeta potensial nanoemulsi ekstrak tembakau memiliki muatan negatif dikarenakan pada bagian terluar sistem nanoemulsi terdapat surfaktan ester sukrosa palmitat memiliki gugus hidroksil yang akan terionisasi menjadi OH^- ketika kontak dengan air. Tingkat kestabilan nanoemulsi yang menggunakan surfaktan nonionik dipengaruhi oleh muatan permukaan surfaktan dimana muatan permukaan suatu sediaan nanoemulsi bergantung pada muatan elektrolit pada fase continue, pH dan fase minyak (Onaizi, 2022).



Gambar 4.10 Hasil Pengukuran Zeta Potensial Nanoemulsi

4.4.5 Penetapan Kadar Nikotin dalam Nanoemulsi

Belum ada literatur yang menyebutkan persyaratan dari penetapan kadar nikotin di dalam fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau. Berdasarkan hasil pada Gambar 4.11 dan Lampiran 27, menunjukkan bahwa kadar nikotin dalam nanoemulsi sebesar 82,23-97,87% dari kandungan nikotin dalam fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau.

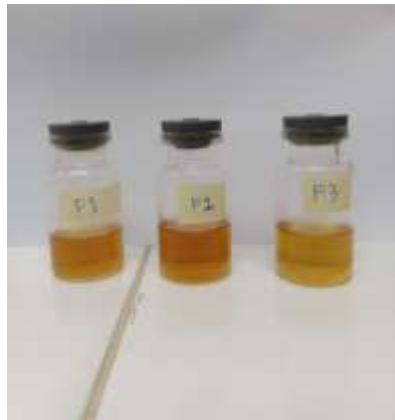


Gambar 4.11 Hasil Pengukuran Kadar Nikotin dalam Nanoemulsi

3.5 Formulasi Gel Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Nanoemulsi yang sudah dibuat, di *loading* dalam gel (Gambar 4.12). Gel merupakan sediaan setengah padat yang tersusun atas dispersi molekul kecil atau besar dengan pembawa berair. *Gelling agent* yang digunakan adalah Carbopol 940 dengan penambahan TEA sebagai

pengatur pH hingga terbentuk gel karena Carbopol 940 dapat membentuk gel jika dalam kondisi pH 6 (Rowe et al., 2009). Sebanyak 90 bagian nanoemulsi fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau dicampur dengan 10 bagian mucilago Carbopol 940. Penambahan gel ke dalam nanoemulsi dapat meningkatkan kekentalan dari nanoemulsi sehingga dapat memperpanjang waktu kontak sediaan dengan kulit. Penambahan gel juga dapat memperbaiki konsistensi, kemampuan penyebaran sediaan, laju absorpsi dan dapat memberikan rasa nyaman pada kulit (Miastkowska, 2020).



Gambar 4.12 Foto Sediaan Gel Nanoemulsi

4.6 Evaluasi Gel Nanoemulsi Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Evaluasi secara fisik dilakukan pada suhu 25°C selama 10 minggu, meliputi pengamatan organoleptis, pengukuran pH, pengukuran viskositas, pemisahan fasa, pengukuran ukuran partikel, zeta potensial dan polidispersitas, penetapan kadar, dan uji penetrasi.

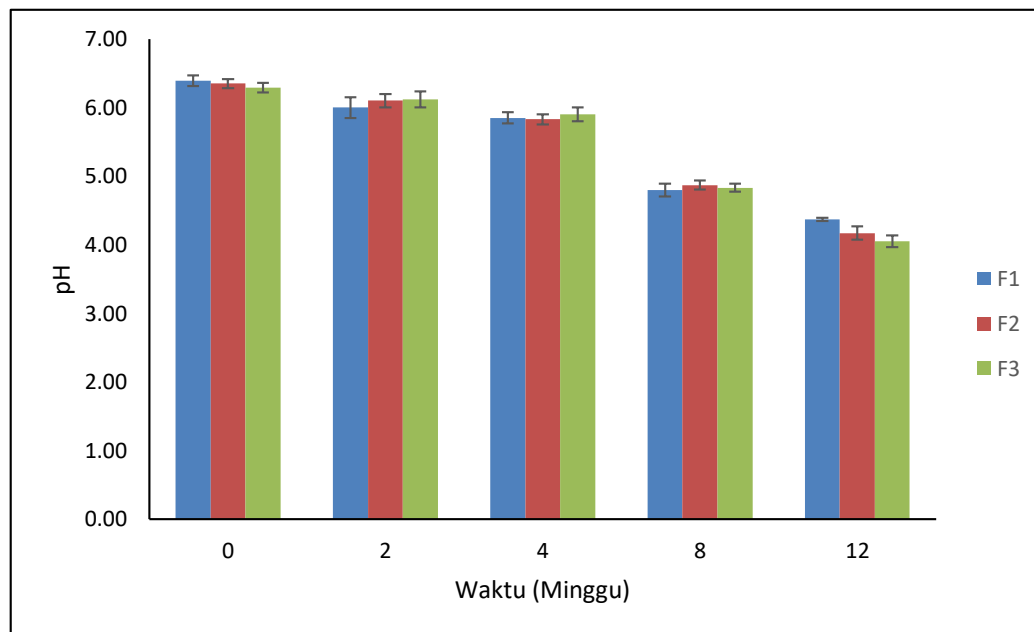
4.6.1 Organoleptis

Pengamatan organoleptis sediaan dilakukan pada suhu ruang dan sediaan disimpan dalam wadah tertutup rapat. Pengamatan organoleptis meliputi pengamatan bentuk, tekstur, bau dan warna. Sediaan berbentuk cairan jernih, agak kental, berwarna coklat yang menunjukkan tidak ada perubahan selama penyimpanan 12 minggu.

4.6.2 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui sifat asam dan basa dari sediaan gel agar dapat memberikan rasa nyaman saat digunakan dan tidak menimbulkan iritasi kulit. Nilai pH ideal untuk kulit yaitu 4,5-6,5 (Sinko, 2015). Data mengenai hasil pengukuran pH terdapat pada Gambar 4.13 dan Lampiran 28. Hasil pengukuran pH dari ketiga formula masuk ke dalam

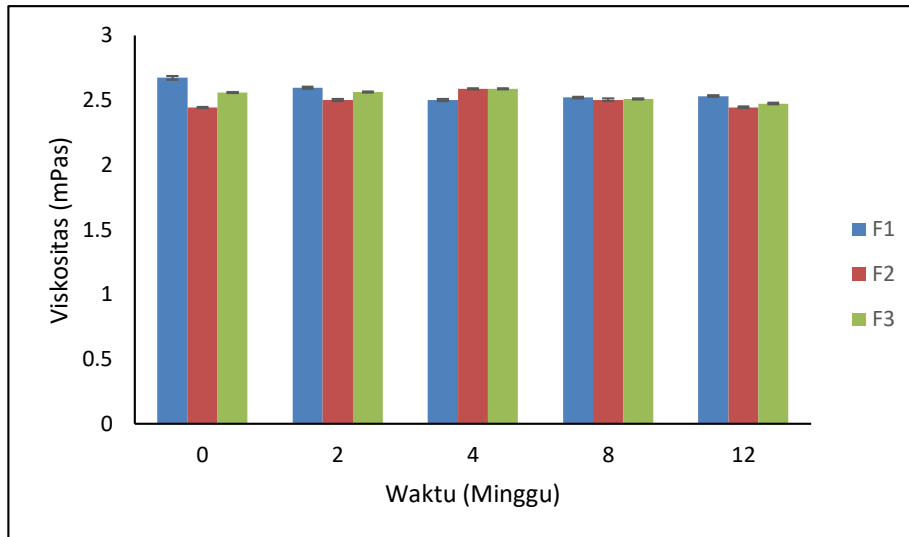
syarat pH kulit. Selain itu, hasilnya juga menunjukkan bahwa *gelling agent* yang digunakan meningkatkan nilai pH dari sediaan gel nanoemulsi, karena carbopol setelah menjadi gel memiliki pH 6-11 karena dibasakan oleh TEA (Rowe et al., 2009). Dari hasil pengujian pH menunjukkan terjadi penurunan pH sediaan dari minggu ke-0 hingga minggu ke-12 di setiap formula. Penurunan pH terjadi karena hidrolisis ester asam lemak (ion H^+ dari VCO terdisosiasi) menjadi asam lemak bebas yang terdegradasi (Bernardi et al., 2011; Yani, Aladin, Wiyani, & Modding, 2018), meningkatkan jumlah asam lemak bebas dalam VCO.



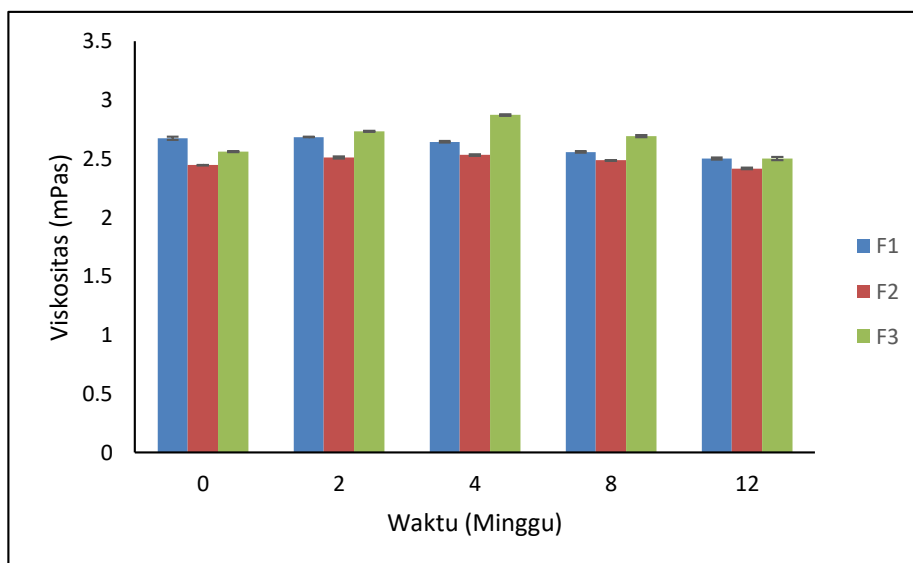
Gambar 4.13 Hasil Pengukuran pH Sediaan Gel Nanoemulsi

4.6.3 Pengukuran Viskositas

Viskositas merupakan pernyataan tentang tahanan dari suatu cairan untuk mengalir. Semakin besar tahanan maka semakin tinggi viskositas tersebut (Sinko, 2015). Pengujian viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan sediaan, diukur menggunakan viskometer *Anton Paar ViscoQC 300*. Uji viskositas dilakukan setelah sediaan disimpan pada suhu 25°C dan suhu 40°C. Hasil uji viskositas pada Lampiran 29, Gambar 4.14 dan Gambar 4.15, menunjukkan bahwa viskositas yang dihasilkan dari semua formula memiliki nilai yang kecil. Hal tersebut karena jumlah *gelling agent* yang digunakan juga sedikit sehingga menghasilkan sediaan yang berbentuk cair. Dari hasil uji stabilitas menunjukkan bahwa viskositas seluruh formula tidak mengalami perubahan pada penyimpanan suhu 25°C dan suhu 40°C dari minggu ke-0 hingga minggu ke-12.



Gambar 4.14 Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi pada Suhu 25°C



Gambar 4.15 Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi pada Suhu 40°C

4.6.4 Pemisahan Fase

Pemisahan fase dilakukan dengan metode *Cycling test* untuk melihat apakah terjadi pemisahan fase minyak dan fase air terhadap pengaruh suhu dari suatu sediaan nanoemulsi. Uji *cycling test* dilakukan selama 6 siklus dengan menyimpan nanoemulsi pada suhu 4°C selama 24 jam dan pada suhu 40°C selama 24 jam hal tersebut terhitung sebagai 1 siklus. Hasil pengujian pemisahan fase dapat dilihat pada Tabel 4.17. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi pemisahan antara fase minyak dan fase air pada ke tiga formula yang disimpan pada suhu 4°C maupun pada suhu 40°C. Dapat disimpulkan bahwa seluruh formula tahan terhadap perubahan suhu yang ekstrim.

Tabel 4.17 Hasil Freeze Thaw Gel Nanoemulsi

Formula		Siklus ke-1		Siklus ke-2		Siklus ke-3		Siklus ke-4		Siklus ke-5		Siklus ke-6	
		4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C
F1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
F2	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
F3	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Keterangan:

+ = terjadi perubahan

– = tidak terjadi perubahan

4.6.5 Hasil Pengukuran Ukuran Partikel, *Polydispersity Index* dan Zeta Potensial

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* yang mempunyai prinsip yaitu penghamburan cahaya sinar laser pada partikel sampel yang dideteksi oleh *photodiode detector* pada sudut tertentu secara cepat maka dapat menentukan ukuran partikel dalam suatu sampel (Sandhu et al. 2018; Malvern 2011). Nanoemulsi adalah sediaan isotropik dan tidak stabil secara termodinamika, terbuat dari surfaktan, minyak, dan air dengan atau tanpa penambahan kosurfaktan, ukuran *droplet* kecil dari 20-500 nm (Sarheed et al., 2020), 50-500 nm (Chaudhari & Kuchekar, 2018), dan 100-500 nm (Teng et al., 2020). Hasil ukuran partikel gel nanoemulsi yang mengandung fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau pada Gambar 4.16, 4.17 dan Lampiran 30, menunjukkan bahwa penambahan *gelling agent* meningkatkan ukuran partikel dari sediaan gel nanoemulsi.

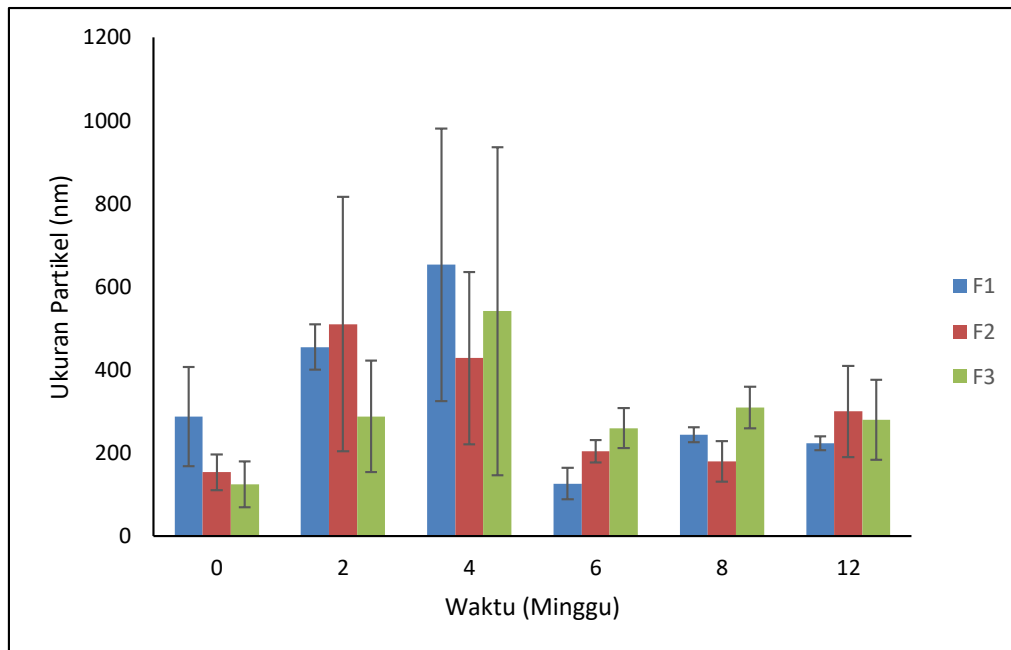
Pada F1, pengujian ukuran partikel Di90 pada minggu ke-0 menunjukkan nilai sebesar $288 \pm 119,15$ nm. Sediaan disimpan pada suhu 25°C dan suhu 40°C selama 12 minggu. Pada penyimpanan di suhu 25°C, hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan ukuran partikel hingga minggu ke-4 yaitu sebesar $653 \pm 327,87$ nm, lalu menurun hingga minggu ke-12 yaitu sebesar $224 \pm 16,44$ nm. Pada penyimpanan di suhu 40°C, hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan ukuran partikel hingga minggu ke-4 yaitu sebesar $596 \pm 483,43$ nm, lalu menurun pada minggu ke-6 sebesar $219 \pm 5,29$ nm, meningkat kembali pada minggu ke-8 sebesar $2387 \pm 2792,75$ nm, kemudian menurun kembali pada minggu ke-12 yaitu sebesar $255 \pm 34,67$ nm.

Pada F2, pengujian ukuran partikel Di90 pada minggu ke-0 menunjukkan nilai sebesar $154\pm 43,31$ nm. Pada penyimpanan di suhu 25°C , hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan ukuran partikel pada minggu ke-2 yaitu sebesar $510\pm 306,05$ nm, lalu menurun hingga minggu ke-8 yaitu sebesar $180\pm 48,59$ nm, kemudian meningkat kembali pada minggu ke-12 yaitu sebesar $300\pm 109,61$ nm. Pada penyimpanan di suhu 40°C , hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan ukuran partikel pada minggu ke-2 yaitu sebesar $501\pm 200,14$ nm, lalu menurun hingga minggu ke-8 yaitu sebesar $275\pm 10,82$ nm, kemudian meningkat kembali pada minggu ke-12 yaitu sebesar $605\pm 175,64$ nm.

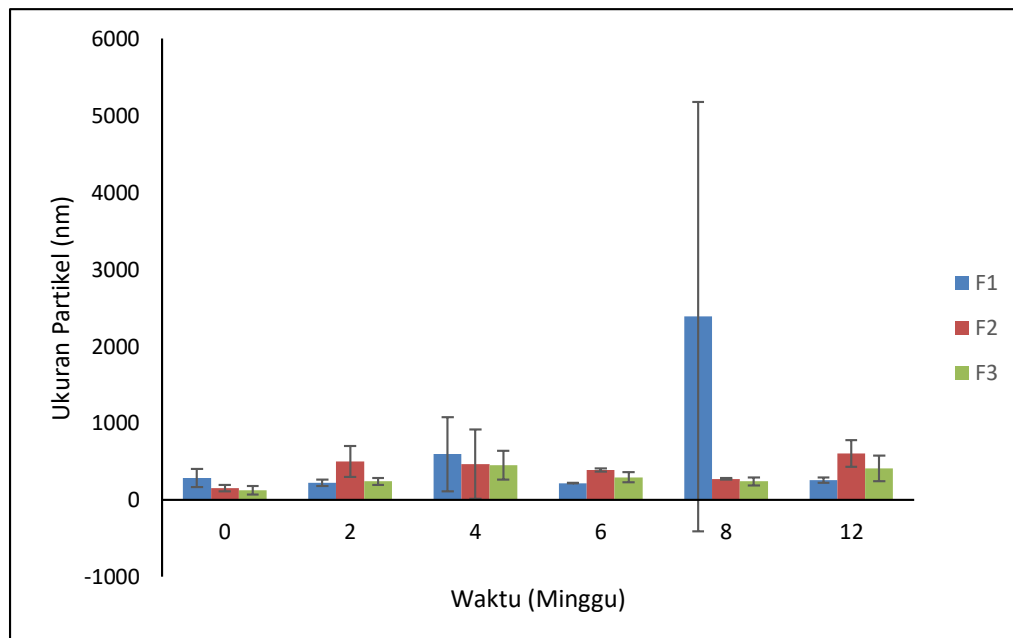
Pada F3, pengujian ukuran partikel Di90 pada minggu ke-0 menunjukkan nilai sebesar $125\pm 55,64$ nm. Pada penyimpanan suhu 25°C , hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan ukuran partikel hingga minggu ke-4 yaitu sebesar $541\pm 394,41$ nm, lalu menurun pada minggu ke-6 yaitu sebesar $260\pm 48,12$ nm, lalu meningkat kembali pada minggu ke-8 yaitu sebesar $309\pm 50,24$ nm, kemudian menurun pada minggu ke-12 yaitu sebesar $280\pm 96,36$ nm. Pada penyimpanan suhu 40°C , terjadi peningkatan ukuran partikel hingga minggu ke-4 yaitu sebesar $453\pm 187,01$ nm, lalu menurun hingga minggu ke-8 yaitu sebesar $241\pm 48,64$ nm, kemudian meningkat kembali pada minggu ke-12 yaitu sebesar $411\pm 164,63$ nm.

Terjadinya peningkatan dan penurunan ukuran partikel pada formula 1, 2 dan 3 menunjukkan bahwa sediaan gel nanoemulsi tidak stabil pada penyimpanan selama 12 minggu, baik pada suhu 25°C maupun pada suhu 40°C . Peningkatan ukuran partikel dapat disebabkan oleh terjadinya fenomena *Ostwald ripening* sedangkan penurunan ukuran partikel dapat disebabkan oleh terjadinya fenomena solubilisasi (Agoes, 2012). Ketidakstabilan ukuran partikel dari sediaan gel nanoemulsi dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya, metode pembuatan nanoemulsi, konsentrasi surfaktan yang digunakan dan jenis pelarut yang digunakan. Nanoemulsi yang baik, dibuat menggunakan *high energy method* agar menghasilkan ukuran partikel yang seragam dan stabil. Dalam penelitian ini menggunakan *low energy method* sehingga ukuran partikel yang dihasilkan tidak seragam, dapat dilihat dari nilai *polydispersity index* yang tinggi sehingga menyebabkan ketidakstabilan dari sediaan nanoemulsi (Safaya & Rotliwala, 2020). Ketidakstabilan dari nanoemulsi juga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi surfaktan yang digunakan rendah, sehingga ukuran partikel yang dihasilkan tidak seragam dan memicu terjadinya peristiwa *Ostwald ripening* (Ee, Duan, Liew, & Nguyen, 2008). Jenis pelarut yang digunakan juga mampu mempengaruhi ketidakstabilan dari nanoemulsi. Pada penelitian ini, air yang digunakan adalah *aqua destillata*, sedangkan pada penelitian lainnya untuk mendapatkan sediaan nanoemulsi yang stabil, pada umumnya menggunakan air yang sudah dipurifikasi (Jusril et al., 2022; Wik, Bansal, Assmuth, Rosling,

& Rosenholm, 2020; Anuar, Sabri, Bustami Effendi, & Abdul Hamid, 2020; Alliod et al., 2018) atau dideionisasi (Fu et al., 2022).



Gambar 4.16 Grafik Ukuran Partikel (Rata-Rata Di90) F1, F2 dan F3 pada Suhu 25°C



Gambar 4.17 Grafik Ukuran Partikel (Rata-Rata Di90) F1, F2 dan F3 pada Suhu 40°C

Polydispersity index (PDI) menunjukkan kualitas kehomogenan atau kestabilan suatu ukuran partikel. Semakin kecil nilai *polydispersity index* maka ukuran droplet semakin seragam dan homogen. Nilai *polydispersity index* ideal berkisar antara $<0,7$ (Asmawati, Wan Mustapha,

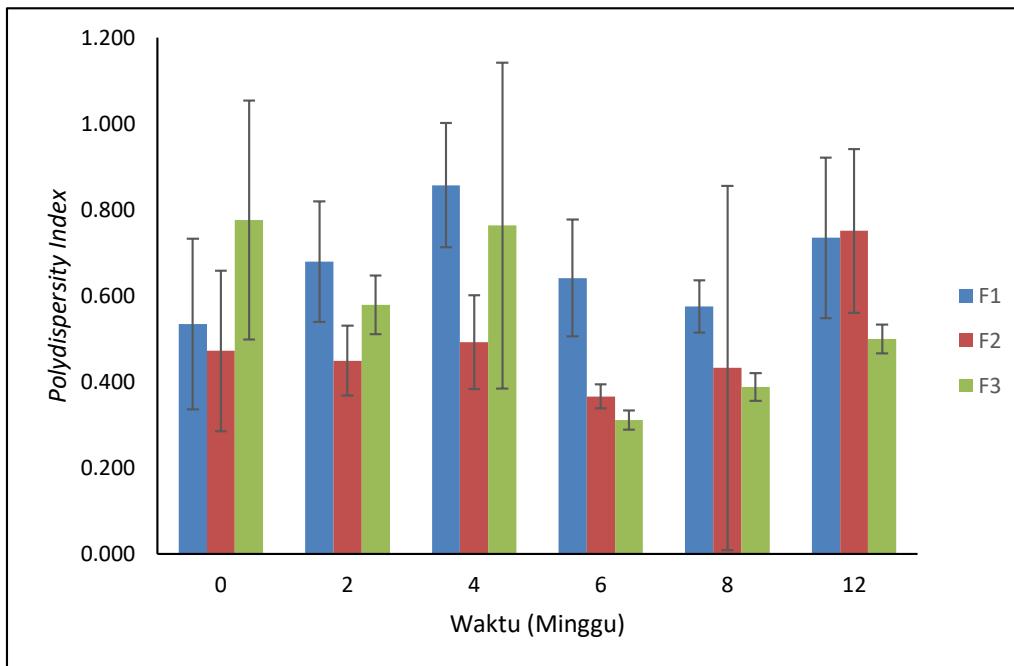
Yusop, Maskat, & Shamsuddin, 2015; Sail, Wan Mustapha, Yusop, Maskat, & Shamsuddin, 2018). Hasil pengujian *polydispersity index* dari ketiga formula nanoemulsi pada Gambar 4.18, Gambar 4.19 dan Lampiran 30, menunjukkan bahwa *gelling agent* mampu menurunkan nilai *polydispersity index* dari sediaan gel nanoemulsi. Hasilnya juga menunjukkan terjadinya peningkatan dan penurunan *polydispersity index* dari sediaan gel nanoemulsi yang disimpan selama 12 minggu yang berarti bahwa sediaan gel nanoemulsi tidak stabil pada penyimpanan selama 12 minggu, baik pada suhu 25°C maupun pada suhu 40°C.

Pada F1, pengujian *polydispersity index* pada minggu ke-0 menunjukkan nilai sebesar $0,535 \pm 0,20$. Sediaan disimpan pada suhu 25°C dan suhu 40°C selama 12 minggu. Pada penyimpanan suhu 25°C, hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan *polydispersity index* hingga minggu ke-4 yaitu sebesar $0,857 \pm 0,14$, lalu menurun hingga minggu ke-8 yaitu sebesar $0,576 \pm 0,06$, kemudian meningkat lagi pada minggu ke-12 yaitu sebesar $0,735 \pm 0,19$. Pada penyimpanan di suhu 40°C, hasilnya menunjukkan terjadinya peningkatan *polydispersity index* hingga minggu ke-4 yaitu sebesar $0,958 \pm 0,0$, lalu menurun pada minggu ke-6 sebesar $0,400 \pm 0,09$, meningkat kembali pada minggu ke-8 sebesar $0,976 \pm 0,04$, kemudian menurun kembali pada minggu ke-12 yaitu sebesar $0,567 \pm 0,22$.

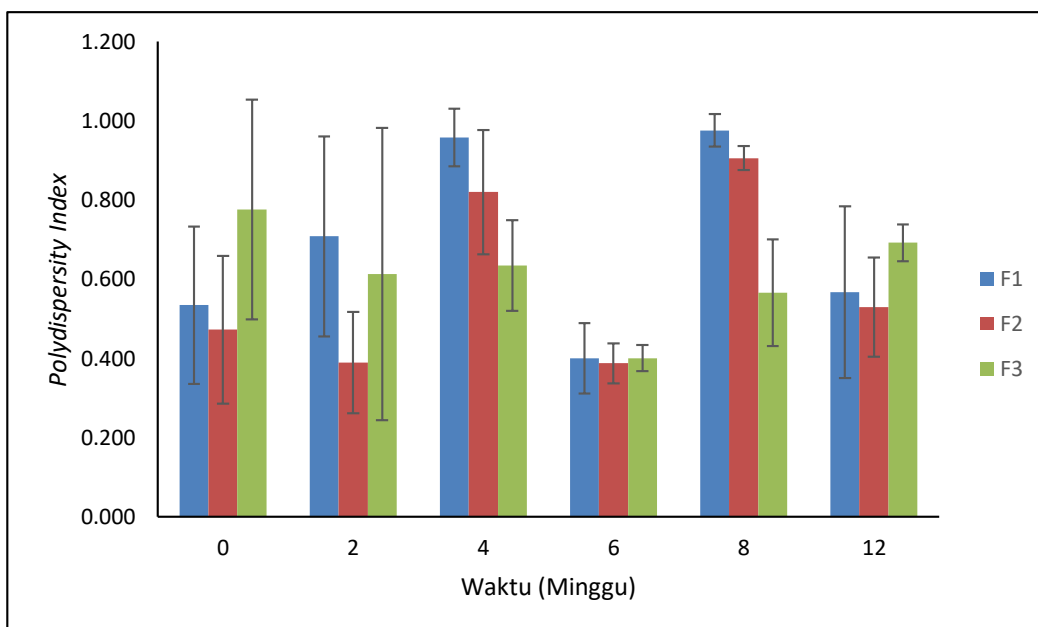
Pada F2, pengujian *polydispersity index* pada minggu ke-0 menunjukkan nilai sebesar $0,472 \pm 0,19$. Pada penyimpanan di suhu 25°C, hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan *polydispersity index* pada minggu ke-2 yaitu sebesar $0,449 \pm 0,08$, lalu meningkat pada minggu ke-4 yaitu sebesar $0,493 \pm 0,11$, kemudian menurun kembali pada minggu ke-6 yaitu sebesar $0,366 \pm 0,03$, lalu meningkat hingga minggu ke-12 yaitu sebesar $0,751 \pm 0,19$. Pada penyimpanan di suhu 40°C, hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan *polydispersity index* pada minggu ke-2 yaitu sebesar $0,389 \pm 0,13$, lalu meningkat pada minggu ke-4 yaitu sebesar $0,820 \pm 0,16$, kemudian menurun kembali pada minggu ke-6 yaitu sebesar $0,388 \pm 0,05$, lalu meningkat pada minggu ke-8 yaitu sebesar $0,906 \pm 0,03$, kemudian menurun pada minggu ke-12 yaitu sebesar $0,529 \pm 0,12$.

Pada F3, pengujian *polydispersity index* pada minggu ke-0 menunjukkan nilai sebesar $0,776 \pm 0,28$. Pada penyimpanan di suhu 25°C, hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan *polydispersity index* pada minggu ke-2 yaitu sebesar $0,579 \pm 0,07$, lalu meningkat pada minggu ke-4 yaitu sebesar $0,763 \pm 0,38$, kemudian menurun kembali pada minggu ke-6 yaitu sebesar $0,312 \pm 0,02$, lalu meningkat hingga minggu ke-12 yaitu sebesar $0,500 \pm 0,03$. Pada penyimpanan di suhu 40°C, hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan *polydispersity index* pada minggu ke-2 yaitu sebesar $0,613 \pm 0,37$, lalu meningkat pada minggu ke-4 yaitu sebesar $0,634 \pm 0,11$,

kemudian menurun kembali pada minggu ke-6 yaitu sebesar $0,401 \pm 0,03$, lalu meningkat hingga minggu ke-12 yaitu sebesar $0,692 \pm 0,05$.



Gambar 4.18 Diagram *Polydispersity Index* F1, F2 dan F3 pada Suhu 25°C



Gambar 4.19 Diagram *Polydispersity Index* F1, F2 dan F3 pada Suhu 40°C

Pengujian zeta potensial bertujuan untuk menentukan muatan permukaan partikel koloid dan tingkat kestabilan suatu sediaan. Zeta potensial merupakan nilai yang menunjukkan gaya tolak menolak antar partikel. Semakin besar gaya tolak menolak maka partikel sulit

berdekatan untuk membentuk agregat. Partikel dianggap stabil jika memiliki nilai zeta potensial lebih besar dari +30 mV atau -30 mV. Hasil pengujian zeta potensial sediaan gel nanoemulsi pada Tabel 4.18, menunjukkan bahwa sediaan gel nanoemulsi F1 dan F3 memiliki partikel yang stabil, sedangkan F2 memiliki kecenderungan untuk membentuk agregat selama penyimpanan (Malvern, 2015).

Tabel 4.18 Hasil Rata-Rata Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi pada Minggu ke-0

Formula	Zeta Potensial (mV)
1	-36,13 ± 2,974
2	14,43 ± 5,460
3	-33,27 ± 4,907

n = 3

4.6.6 Penetapan Kadar Nikotin dalam Sediaan Gel Nanoemulsi

Hasil penetapan kadar nikotin dalam sediaan gel nanoemulsi pada Tabel 4.19, menunjukkan bahwa pada minggu ke-0 kadar yang didapat tidak terlalu jauh dari kadar nikotin pada sediaan nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau. Setelah disimpan selama 12 minggu hasilnya menunjukkan penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan tersebut tidak stabil untuk disimpan selama 12 minggu. Bansal et al., (2018) melaporkan bahwa nikotin terdegradasi sebanyak 17% setelah penyimpanan 5-10 hari pada suhu 60°C karena mengalami hidrolisis.

Tabel 4.19 Hasil Penetapan Kadar Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12

Formula	Suhu (°C)	Kadar (%)	
		Minggu ke-0	Minggu ke-12
F1	25	81,84	5,98
	40		12,56
F2	25	87,12	7,53
	40		14,71
F3	25	99,13	58,77
	40		3,39

4.6.7 Uji Difusi

4.6.7.1 Optimasi Impregnasi Membran

Optimasi waktu impregnasi membran *millipore* dalam larutan Isopropil miristat (IPM), bertujuan untuk mendapatkan waktu optimum pada membran. Membran yang digunakan adalah membran *millipore MCE* atau *Mixed Cellulose Esters* dengan ukuran pori 0,45 µm yang kemudian dijenuhkan dengan IPM. Hasil optimasi impregnasi membran didapatkan waktu yang optimal yaitu pada menit ke 45 seperti pada Tabel 4.20.

Tabel 4.20 Optimasi Membran Millipore

Waktu (menit)	Rata-rata Impregnasi (%)
10	124,3407
30	126,4108
45	107,2970
60	120,2422
75	140,5576

4.6.7.2 Difusi

Uji difusi dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan sel difusi Franz. Pengujian dilakukan untuk mengetahui jumlah bahan aktif yang terpenetrasi kedalam kulit selama kurun waktu 240 menit. Membran yang digunakan yaitu membran *millipore* 0,45 μm yang telah diimpregnasi menggunakan *isopropyl miristate*, pelarut yang digunakan adalah dapar fosfat pH 7,4 sebagai cairan reseptor karena simulasi kondisi pH cairan biologi manusia. Membran diletakkan diantara kompartemen donor dan reseptor, cairan reseptor harus menyentuh membran agar sediaan yang dioleskan pada membran dapat berpenetrasi dan masuk kedalam cairan reseptor. Selama proses berlangsung, suhu dijaga pada $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ dimana suhu tersebut menggambarkan suhu tubuh manusia.

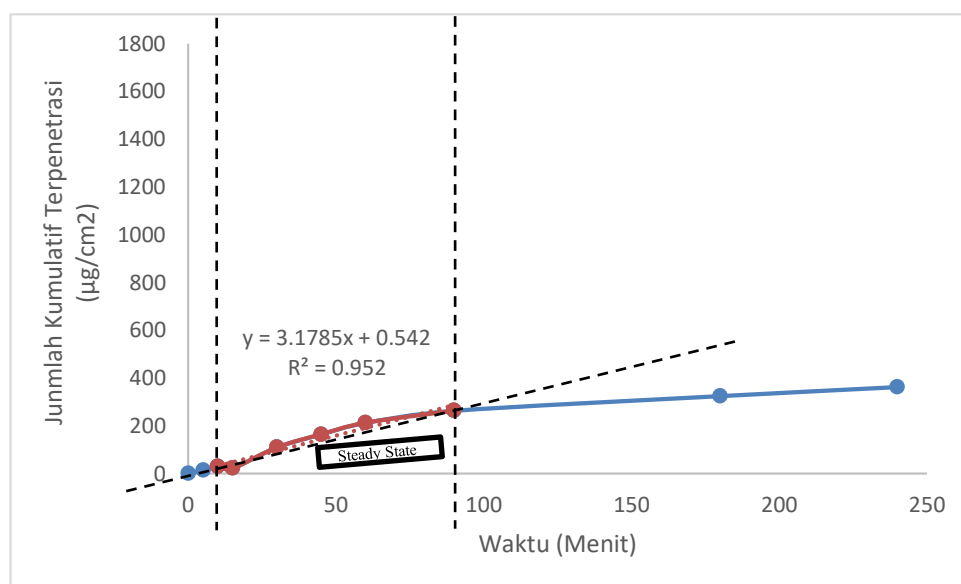
Tabel 4.21 Kadar Nikotin Terdifusi

Waktu (Menit)	Kadar Nikotin Terdifusi (%)		
	F1	F2	F3
0	0,00	0,00	0,00
5	0,57	0,68	1,75
10	1,19	6,45	8,50
15	0,91	12,41	13,51
30	4,62	17,90	23,23
45	6,93	29,02	29,81
60	8,97	33,28	33,12
90	11,13	42,06	46,96
180	13,73	53,84	68,43
240	15,34	58,25	73,77

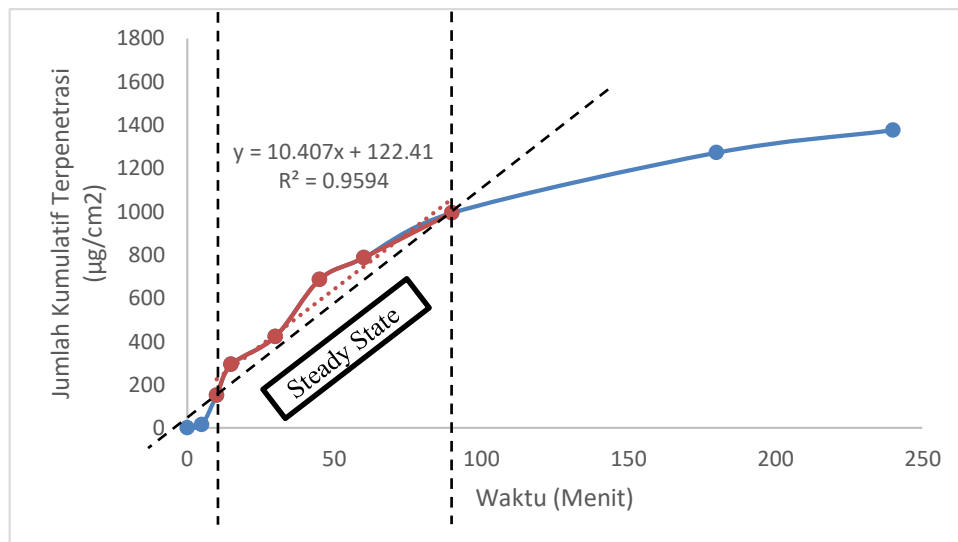
Berdasarkan Tabel 4.21, menunjukkan bahwa jumlah nikotin yang terdifusi pada menit ke 240 dari F1 sebesar 15,34%, F2 sebesar 58,25% dan F3 sebesar 73,77%. Kecepatan pelepasan pada keadaan *steady state* pada F1, F2 dan F3 yaitu $3,1785 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ menit, $10,4070 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ menit dan $10,8270 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ menit seperti pada Gambar 4.20, 4.21, dan 4.22. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formula 3 memiliki nilai jumlah nikotin yang terdifusi lebih tinggi dibandingkan dengan formula 1 dan 2. Formula 3 mampu berdifusi lebih banyak dibandingkan dengan formula 1 dan 2, disebabkan karena penggunaan ester sukrosa palmitat pada formula 3

lebih banyak dibandingkan dengan formula 1 dan 2. Ester sukrosa palmitat dapat berfungsi sebagai peningkat penetrasi dalam sediaan nanoemulsi karena memiliki gugus OH (Chen et al., 2019; Vasyuchenko, Orekhov, Armeev, & Bozdaganyan, 2021; Golodnizky & Davidovich-Pinhas, 2020), merupakan surfaktan non-ionik yang dapat membantu meningkatkan penetrasi dari obat karena mampu melarutkan lemak pada subkutan sehingga bisa meningkatkan penyerapan obat (Shaker et al., 2019). Ukuran partikel juga mampu mempengaruhi hasil difusi. Formula 3 memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan formula 1 dan 2, sehingga jumlah nikotin yang terdifusi lebih tinggi dibandingkan dengan formula 1 dan 2 (Richard, Cassel, & Blanzat, 2020).

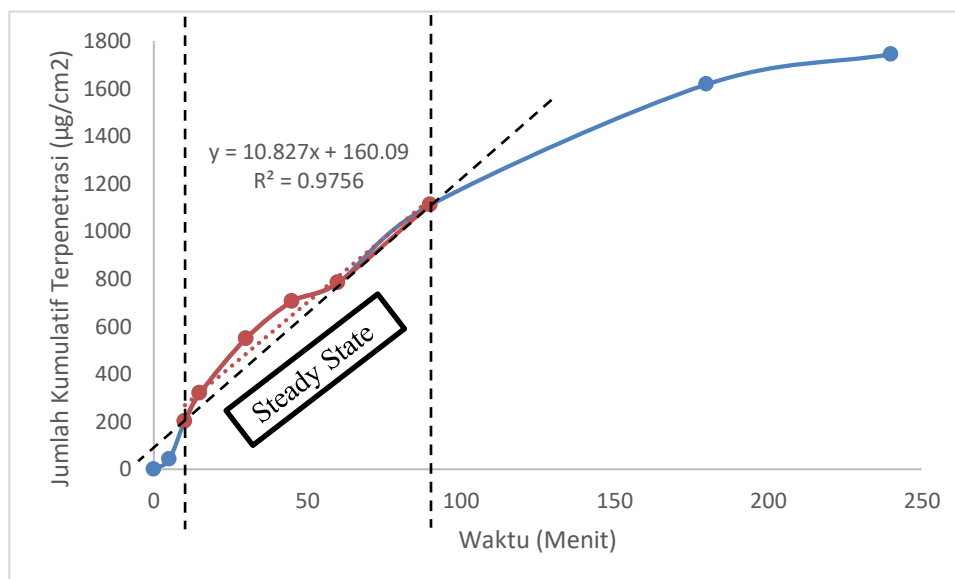
Faktor lain yang mempengaruhi difusi yaitu ukuran partikel, ketebalan membran, luas area, jarak, suhu, konsentrasi obat, koefisien difusi, viskositas dan koefisien partisi. Difusi yang melalui pori suatu membran yang berisi pelarut, dipengaruhi oleh ukuran molekul yang menembus membran serta diameter dari pori tersebut, karena hal itu dapat terjadi penghambatan obat pada pori-pori membran untuk masuk kedalam kompartemen reseptor. Ketebalan membran dapat menjadi faktor difusi karena semakin tebal membran maka semakin lambat obat berdifusi (Richard, Cassel, & Blanzat, 2020; Shaker, Ishak, Ghoneim, & Elhuoni, 2019; Yu, Yang, Wu, & Fan, 2021; Jeong, Kwon, Choi, & Kim, 2021).



Gambar 4.20 Grafik Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1



Gambar 4.21 Grafik Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2

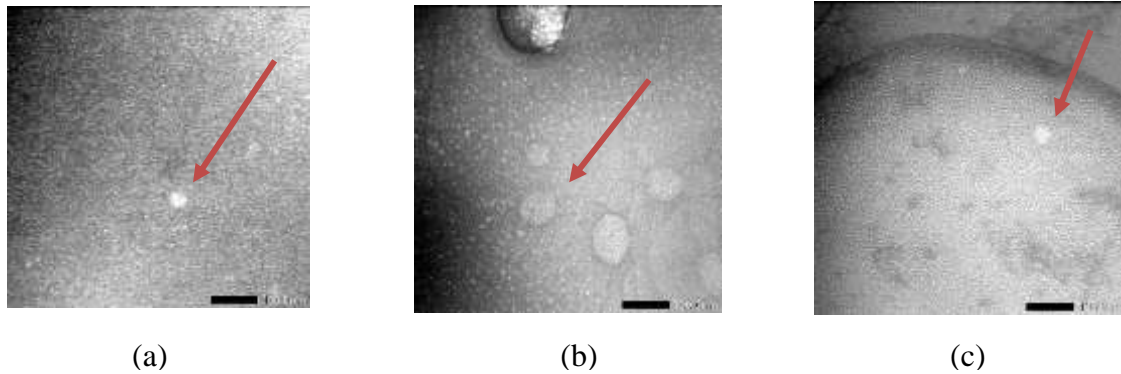


Gambar 4.22 Grafik Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3

4.6.8 Pengukuran Morfologi Globul

TEM digunakan untuk melihat bentuk dari partikel sediaan gel nanoemulsi. Nanoemulsi merupakan sistem termodinamika mengalami ketidakstabilan karena berbagai fenomena. Hasil pengujian menggunakan TEM dapat dilihat pada Gambar 4.23. Hasil pengukuran menggunakan TEM pada perbesaran 40000 menunjukkan bahwa partikel dalam gel nanoemulsi berbentuk spheris dengan ukuran yang tidak seragam mengindikasikan bahwa sediaan nanoemulsi merupakan sediaan yang tidak stabil. Hal tersebut sangat berpengaruh pada penyimpanan

karena sediaan nanoemulsi dapat mengalami flokulasi dimana tetesan-tetesan dari minyak dapat menyatu, namun dapat kembali lagi ke bentuk semula (Trivana, Suyatma, Hunaefi, & Munarso, 2021).



Gambar 4.23 Hasil Pengujian Menggunakan TEM dari F1, F2 dan F3

4.6.9 Uji Aktivitas Antijamur Sediaan Gel Nanoemulsi

Sediaan gel nanoemulsi yang mengandung fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau, diuji aktivitas antijamurnya. Konsentrasi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau yang digunakan adalah 4500 µg/mL. Untuk memperoleh nilai MIC, digunakan metode dilusi. Sediaan gel nanoemulsi ditanam pada tabung reaksi yang berisi medium RPMI 1640 dan *C. albicans* ATCC 90028, tabung tersebut diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, kemudian tabung tersebut diamati kekeruhannya untuk melihat nilai MIC. Nilai MIC tidak dapat ditentukan karena fraksi n-butanol yang digunakan keruh sehingga hanya dapat diamati kekeruhannya. Seratus mikroliter sampel dari tabung dengan nilai MIC, ditanam ke dalam cawan petri yang berisi medium SDA, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam untuk menentukan nilai MFC. Kontrol negatif yang digunakan adalah *C. albicans* ATCC 90028 yang diinokulasi ke dalam medium SDA. Kontrol positif yang digunakan adalah *C. albicans* ATCC 90028 dan ketokonazol yang diinokulasi ke dalam medium SDA.

Hasil uji aktivitas antijamur sediaan gel nanoemulsi pada Tabel 4.22, menunjukkan terjadinya penurunan jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri yang berisi sediaan gel nanoemulsi formula 1, formula 2 dan formula 3 jika dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif. Persen inhibisi dihitung menggunakan rumus (Rizwana, Al Kubaisi, Al-Meghailaith, Moubayed, & Albasher, 2019; Buzón-Durán et al., 2020).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \dots\dots\dots (4.1)$$

Keterangan:

A : Jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif

B : Jumlah koloni yang tumbuh pada sampel uji

Tabel 4.22 Jumlah Koloni pada Pengujian Aktivitas Antijamur

Tabung	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah Koloni							
		F1		F2		F3		Kontrol Positif	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	4500,00	568	574	618	584	590	478	177	188
2	2250,00	586	643	1132	1052	763	774	238	238
3	1125,00	964	892	1520	1304	1700	1680	330	259
4	562,50	1048	989	1904	1656	2360	2124	490	384
5	281,25	1196	1110	2360	2180	2916	2940	540	459
Kontrol Negatif		5740							

Keterangan : R1-R2 : Pengulangan 1 dan 2

Persen inhibisi tertinggi pada Tabel 4.23 menunjukkan penghambatan pertumbuhan adalah pada konsentrasi 4500 $\mu\text{g/mL}$. Setelah didapat persen inhibisi, kemudian dianalisis normalitasnya menggunakan statistik *Shapiro-Wilk*. Hasil analisis statistik persen inhibisi dengan nilai $p > 0,05$ untuk konsentrasi 281-4500 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan data tersebut terdistribusi normal, seperti pada Tabel 4.24. Berdasarkan data yang diperoleh, dapat ditentukan nilai persen rata-rata penurunan pertumbuhan jamur pada Tabel 4.25.

Tabel 4.23 Persen Inhibisi

Tabung	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Penurunan Pertumbuhan Jamur (%)					
		F1		F2		F3	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	4500,00	90,10	90,00	89,23	89,83	89,72	91,67
2	2250,00	89,79	88,80	80,28	81,67	86,71	86,52
3	1125,00	83,21	84,46	73,52	77,28	70,38	70,73
4	562,50	81,74	82,77	66,83	71,15	58,89	63,00
5	281,25	79,16	80,66	58,89	62,02	49,20	48,78

Keterangan : R1-R2 : Pengulangan 1 dan 2

Tabel 4.24 Hasil Analisis Statistik Normalitas Shapiro-Wilk

	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.
Jumlah Koloni	281	.866	6	.211
	563	.916	6	.474
	1125	.881	6	.273
	2250	.898	6	.365
	4500	.829	6	.105

Tabel 4.25 Persen Rata-Rata Penurunan Pertumbuhan Jamur

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Penurunan Pertumbuhan Jamur (%)
4500,00	90,09 \pm 0,83
2250,00	85,63 \pm 3,84
1125,00	76,60 \pm 6,14
562,50	70,73 \pm 9,82
281,25	63,12 \pm 14,03

Berdasarkan persen inhibisi tersebut dihitung persamaan regresi linearnya untuk mendapatkan nilai IC90 seperti yang tertera pada Tabel 4.26. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formula 3 memiliki nilai IC90 yang lebih rendah jika dibandingkan formula 1 dan 2. Hal ini mungkin disebabkan oleh hasil penetapan kadar nikotin dan jumlah nikotin yang terpenetrasi pada formula 3 yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan formula 1 dan 2.

Tabel 4.26 Persamaan Regresi Linear dan Nilai IC90

Formula	Replika	Persamaan	r	IC90 ($\mu\text{g/mL}$)
F1	1	$y = 0,0025x + 80,359$	$R^2 = 0,7901$	3860,00
	2	$y = 0,0021x + 81,632$	$R^2 = 0,8448$	3985,71
F2	1	$y = 0,0065x + 62,484$	$R^2 = 0,8911$	4233,23
	2	$y = 0,0056x + 66,559$	$R^2 = 0,8442$	4185,89
F3	1	$y = 0,009x + 55,256$	$R^2 = 0,7846$	3860,00
	2	$y = 0,0091x + 56,295$	$R^2 = 0,7969$	3703,85

Alkaloid merupakan golongan metabolit sekunder terbesar dari tumbuhan, mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik (Hanani, 2016). Nikotin merupakan suatu alkaloid dengan nama kimia Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin dengan rumus molekul $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2$, merupakan komponen aktif utama tembakau, *Nicotiana tabacum* (Fukumoto, 2005). Penelitian ini menggunakan fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau dengan komponen terbesar, berdasarkan hasil analisis GC-MS dan LC-MS, berupa nikotin.

Hasil uji terhadap aktivitas antijamur fraksi tersebut menunjukkan bahwa fraksi n-butanol memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* yang terbaik dibandingkan fraksi lain yang diujikan, yaitu dengan MIC dan MFC senilai 78,13 µg/mL dan 130,21 µg/mL. Hasil uji aktivitas antijamur ini menkonfirmasi penelitian sebelumnya dengan menggunakan ekstrak metanol daun tembakau pada konsentrasi 320 µg/mL yang menghasilkan zona hambat sebesar 6,90±0,03 mm pada jamur *C. albicans* (Putri et al., 2014). Penelitian tersebut dilakukan untuk mendapatkan informasi apakah ekstrak metanol daun tembakau yang berasal dari bahan alam dapat digunakan sebagai antijamur sehingga lebih aman digunakan jika dibandingkan dengan bahan kimia lain yang digunakan sebagai antijamur. Hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun tembakau memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dengan MIC sebesar 25 mg/mL (50000 µg/mL) dan MFC sebesar 200 mg/mL (200000 µg/mL) (Anumudu et al., 2019). Dari beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa penelitian yang dilakukan saat ini, menghasilkan nilai MIC dan MFC yang lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya dengan bahan yang sama terhadap jamur yang sama.

Hingga saat ini, belum banyak ditemukan penelitian yang memformulasikan fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau ke dalam bentuk sediaan gel nanoemulsi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan gel nanoemulsi. Namun, sediaan yang diperoleh belum menunjukkan stabilitas fisik yang baik selama penyimpanan 12 minggu. Kadar nikotin pada minggu ke-0 adalah 81,84-99,13 %. Hasil pengukuran kadar nikotin pada minggu ke-12 menunjukkan penurunan menjadi 5,98-58,77% pada penyimpanan suhu 25°C, dan menjadi 3,39-14,71% pada penyimpanan 40°C.

Uji difusi secara in vitro menunjukkan jumlah nikotin yang terpenetrasi sebesar 17,66-67,48% selama 4 jam. Hal ini menunjukkan hasil yang lebih baik jika dibandingkan penelitian sebelumnya yang menguji penetrasi dari ekstrak akar mulberry dalam sistem nanoemulsi yang menggunakan VCO sebagai fase minyak, Tween 80 dan polietilenglikol 400 sebagai surfaktan serta propilenglikol sebagai kosurfaktan. Pada penelitian tersebut dihasilkan jumlah oxyresveratrol yang terdifusi sebesar 25,44% selama 8 jam (Fadhila, Mun'in, & Jufri, 2019).

Gel nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau memiliki aktivitas antijamur, ditunjukkan dengan hasil analisis statistik persen inhibisi dengan nilai $p > 0,05$ untuk konsentrasi 281-4500 µg/mL.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini, secara umum mengkonfirmasi hipotesis yaitu fraksi aktif ekstrak etanol daun tembakau dapat diformulasi dalam sediaan gel nanoemulsi, sehingga menghasilkan sediaan yang memenuhi persyaratan secara fisika dan kimia, serta memberikan aktivitas terhadap *C. albicans*. Adapun beberapa tujuan penelitian telah tercapai yaitu:

- a. Hasil skrining dari fraksi n-butanol dari ekstrak daun tembakau menunjukkan bahwa fraksi tersebut mengandung alkaloid dan fenol. Kandungan Piridin, 3- (1-metil-2-pirolidin, pada fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau sebesar 65,35%.
- b. Ekstrak etanol daun tembakau hasil fraksinasi menggunakan beberapa pelarut, menunjukkan fraksi n-butanol memberikan aktivitas antijamur yang terbaik (MIC dan MFC masing-masing 78,13 dan 130,21 $\mu\text{g/mL}$).
- c. Validasi metode analisis dilakukan untuk menetapkan kadar nikotin pada fraksi n-butanol dan sediaan gel nanoemulsi. Uji linearitas diperoleh koefisien korelasi 0,9996, LOD dan LOQ sebesar 6,50 $\mu\text{g/mL}$ dan 19,69 $\mu\text{g/mL}$. Uji Selektivitas menunjukkan bahwa tidak terdapat senyawa yang memberikan respon pada waktu yang bersamaan dengan waktu retensi nikotin atau tidak terdapat interferensi di sekitar daerah uji. Hasil *recovery* dari uji akurasi sebesar 99,656%, presisi menghasilkan koefisien variasi sebesar 0,9%, dan uji kesesuaian sistem memenuhi persyaratan yang ditetapkan.
- d. Hasil uji stabilitas terhadap sediaan gel nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau menunjukkan bahwa sediaan tersebut masih stabil hingga minggu ke 4.
- e. Gel nanoemulsi fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau memiliki aktivitas antijamur, ditunjukkan dengan hasil analisis statistik persen inhibisi dengan nilai $p > 0,05$ untuk konsentrasi 281-4500 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan uji stabilitas terhadap fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau agar diketahui stabilitas aktivitas antijamur dari fraksi tersebut.
- b. Perlu dilakukan optimasi formula sehingga diperoleh sediaan gel nanoemulsi dengan stabilitas fisik dan kimia yang memenuhi persyaratan.
- c. Perlu dilakukan uji iritasi dari sediaan gel nanoemulsi.

DAFTAR REFERENSI

- Abdeltaif, S. A., Sirelkhatim, K. A., & Hassan, A. B. (2018). Estimation of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity of spent coffee and black tea (Processing) waste for potential recovery and reuse in Sudan. *Recycling*, 3(2). <https://doi.org/10.3390/recycling3020027>
- Abdullah, N. A., Jufri, M., Mun'im, A., & Saputri, F. C. (2022). Formulation and Evaluation of Two Celastrol Nanoemulsions Prepared From Two Oils: Isopropyl Myristate and Virgin Coconut Oil. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 14(2), 267–275. <https://doi.org/10.22159/ijap.2022v14i2.43509>
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* |, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS>
- Agoes, G. (2012). *Seri Farmasi Industri-7: Sediaan Farmasi Likuida-Semisolid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Agung, N. (2017). *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Alastruey-Izquierdo, A., Melhem, M. S. C., Bonfietti, L. X., & Rodriguez-Tudela, J. L. (2015). Teste de suscetibilidade para fungos: Correlações clínicolaboratoriais em Micologia médica. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 57(1), 57–64. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000700011>
- Alhusban, A. A., & Ata, S. A. (2020). Simple HPLC method for rapid quantification of nicotine content in e-cigarettes liquids. *Acta Chromatographica*, 33(3), 302–307. <https://doi.org/10.1556/1326.2020.00832>
- Alhusban, A. A., Hammad, A. M., & Alzaghari, L. F. (2022). Simple HPLC method for simultaneous quantification of nicotine and cotinine levels in rat plasma after exposure to two different tobacco products. *Acta Chromatographica*. <https://doi.org/10.1556/1326.2022.01054>
- Alkilani, A. Z., McCrudden, M. T. C., & Donnelly, R. F. (2015). Transdermal drug delivery: Innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*, 7(4), 438–470. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics7040438>
- Allen, L. V, Popovich, N. G., & Ansel, H. C. (2014). *Bentuk Sediaan Farmasetis & Sistem Penghantaran Obat. Edisi 9* (L. Hendriati & K. Foe, Eds.). Jakarta: EGC.

- Alliod, O., Valour, J. P., Urbaniak, S., Fessi, H., Dupin, D., & Charcosset, C. (2018). Preparation of oil-in-water nanoemulsions at large-scale using premix membrane emulsification and Shirasu Porous Glass (SPG) membranes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 557(April), 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.04.045>
- Anuar, N., Sabri, A. H., Bustami Effendi, T. J., & Abdul Hamid, K. (2020). Development and characterisation of ibuprofen-loaded nanoemulsion with enhanced oral bioavailability. *Heliyon*, 6(7), e04570. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04570>
- Anumudu, C., Nwachukwu, M., Obasi, C., Nwachukwu, I., & Ihenetu, F. (2019). Antimicrobial Activities of Extracts of Tobacco Leaf (*Nicotiana tabacum*) and Its Grounded Snuff (Utaba) on *Candida albicans* and *Streptococcus pyogenes*. *J.Trop Dis*, 7(2). <https://doi.org/10.4172/2329-891X.1000300>
- Arifin, N. A. M., Mahamod, W. R. W., Bakar, N. A., Hashim, N., Isnolamran, N. H., & Shamsudin, S. A. (2022). the Effect of Virgin Coconut Oil Content on the Rheological Profile of Virgin Coconut Oil-Based Lamellar Liquid Crystal of Mixed Tween 80:Brij 30 System. *Malaysian Journal of Microscopy*, 17(2), 195–207.
- Ashaolu, T. J. (2021). Nanoemulsions for health, food, and cosmetics: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 3381–3395. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01216-9>
- Asmawati, Wan Mustapha, W. A., Yusop, S. M., Maskat, M. Y., & Shamsuddin, A. F. (2015). Characteristics of cinnamaldehyde nanoemulsion prepared using APV-high pressure homogenizer and ultra turrax. *AIP Conference Proceedings*, 1614(February 2015), 244–250. <https://doi.org/10.1063/1.4895203>
- Babenko, L. M., Smirnov, O. E., Romanenko, K. O., Trunova, O. K., & Kosakivska, I. V. (2019). Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. *Ukrainian Biochemical Journal*, 91(3), 5–18. <https://doi.org/10.15407/ubj91.03.005>
- Bansal, M., Sharma, M., Bullen, C., & Svirskis, D. (2018). A stability indicating HPLC method to determine actual content and stability of nicotine within electronic cigarette liquids. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(8), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ijerph15081737>
- Barantsevich, N., & Barantsevich, E. (2022). Diagnosis and Treatment of Invasive Candidiasis. *Antibiotics*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060718>
- Beale, D. J., Pinu, F. R., Kouremenos, K. A., Poojary, M. M., Narayana, V. K., Boughton, B. A., ... Dias, D. A. (2018). Review of recent developments in GC–MS approaches to metabolomics-based research. In *Metabolomics* (Vol. 14).

- <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1449-2>
- Berkow, E. L., Lockhart, S. R., & Ostrosky-Zeichner, L. (2020). Antifungal susceptibility testing: Current approaches. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3). <https://doi.org/10.1128/CMR.00069-19>
- Bernardi, D. S., Pereira, T. A., Maciel, N. R., Bortoloto, J., Viera, G. S., Oliveira, G. C., & Rocha-Filho, P. A. (2011). Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: In vitro and in vivo assessments. *Journal of Nanobiotechnology*, 9(44), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-9-44>
- BPOM. (2010). *Acuan Sediaan Herbal Vol 5 Edisi I*. Jakarta: BPOM.
- BPOM RI. (2015). Anti Jamur. Retrieved March 2, 2018, from Pusat Informasi Obat Nasional website: <https://pionas.pom.go.id/ioni/bab-5-infeksi/53-anti-jamur>
- BPOM RI. (2017). *Pelarut yang Diizinkan Digunakan dalam Proses Ekstraksi/Fraksinasi Tumbuhan dalam Produk Obat bahan Alam dan Suplemen Kesehatan beserta Batasan Residunya* (pp. 1–4). pp. 1–4.
- Branch, S. K. (2005). Guidelines from the International Conference on Harmonisation (ICH). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38(5 SPEC. ISS.), 798–805. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.02.037>
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2012). *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg* (25th ed.; W. K. N. Aryandhito Widhi Nugroho, Dian Ramadhani, Hunardja Santasa, Nella Yesdelita, Ed.). Jakarta: EGC.
- Burden, A. M., Hausammann, L., Ceschi, A., Kupferschmidt, H., & Weiler, S. (2022). Observational cross-sectional case study of toxicities of antifungal drugs. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 29, 520–526. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.11.010>
- Buzón-Durán, L., Martín-Gil, J., Ramos-Sánchez, M. D. C., Pérez-Lebeña, E., Marcos-Robles, J. L., Fombellida-Villafruela, Á., & Martín-Ramos, P. (2020). Antifungal activity against fusarium culmorum of stevioside, silybum marianum seed extracts, and their conjugate complexes. *Antibiotics*, 9(8), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9080440>
- Castro, G. C., & Apostol, J. G. (2020). A randomized double-blind study on the efficacy of 20% VCO cream versus a commercial emollient for atopic dermatitis in children. *Acta Medica Philippina*, 54(2), 175–180. <https://doi.org/10.47895/amp.v54i2.1546>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.

- Chaudhari, P. M., & Kuchekar, M. A. (2018). Development and evaluation of nanoemulsion as a carrier for topical delivery system by box-behnken design. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *11*(8), 286–293. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i8.26359>
- Chen, S., Hanning, S., Falconer, J., Locke, M., & Wen, J. (2019). Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): Fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *144*(May), 18–39. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.08.015>
- Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Yang, C., Lai, C., Zhang, C., & Liu, Y. (2017). Advantages and challenges of Tween 80 surfactant-enhanced technologies for the remediation of soils contaminated with hydrophobic organic compounds. *Chemical Engineering Journal*, *314*, 98–113. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.135>
- Chew, Y.-L. (2018). The Beneficial Properties of Virgin Coconut Oil in Management of Atopic Dermatitis. *Pharmacognosy Reviews* |, *1*(2), 24–27. <https://doi.org/10.4103/phrev.phrev>
- Clinical, A. L. S. I. (2012). Document M27-A4. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Suscetibility Testing of Yeasts*.
- CLSI. (2010). *References Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard. Third Edition*. (pp. 7–9). pp. 7–9. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Committee, F. E. (2017). Sucrose Esters of Fatty Acids. <https://doi.org/10.1002/9780470995327.ch107>
- Dadhich, B., Goyal, R., Agarwal, D., & Gandhi, M. (2020). Review On: Development and Validation of HPLC in Pharmaceutical Dosage Form. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, *8*(4), 110–121.
- Denning, D. W. (2022). Antifungal drug resistance: an update. *European Journal of Hospital Pharmacy*, *29*(2), 109–112. <https://doi.org/10.1136/ejhpharm-2020-002604>
- Depkes. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Depkes RI.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Edminister, J. R., & Jorizzo, J. L. (2022). Mucosal Candidiasis Medication. Retrieved May 30, 2023, from WebMD LLC website: <https://emedicine.medscape.com/article/1075227-medication#1>
- Ee, S. L., Duan, X., Liew, J., & Nguyen, Q. D. (2008). Droplet size and stability of nano-emulsions produced by the temperature phase inversion method. *Chemical Engineering Journal*, *140*(1–3), 626–631. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.12.016>

- European Molecular Biology Laboratory. (2017). (S)-nicotine. Retrieved November 17, 2022, from ChEBI website: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:17688>
- Fadhila, M., Mun'in, A., & Jufri, M. (2019). a Preparation, Characterization, and in Vitro Skin Penetration of Morus Alba Root Extract Nanoemulsion. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(8), 292–296. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i18.34313>
- Fauzantoro, A., Amatullah, A., Muharram, Y., & Gozan, M. (2016). Proceedings of Biotechnology International Congress (BIC) 2016. *Production of Nicotiana Tabacum L. Extract: From Laboratory-to Pilot-Scale and Its Antifungal Activity against Aspergillus Niger*.
- Food, C. (2022). Habo monoester P90. Retrieved September 14, 2022, from <https://www.compassfoods.com/habo-monoester-p90.html>
- Fu, X., Gao, Y., Yan, W., Zhang, Z., Sarker, S., Yin, Y., ... Chen, J. (2022). Preparation of eugenol nanoemulsions for antibacterial activities. *RSC Advances*, 12(6), 3180–3190. <https://doi.org/10.1039/d1ra08184e>
- Fukumoto, M. (2005). Nicotine and cotinine. In *Drugs and Poisons in Human* (pp. 499–508). https://doi.org/10.1007/3-540-27579-7_56
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2017). *Analisis Obat secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gholap, V. V., Kosmider, L., & Halquist, M. S. (2018). A Standardized Approach to Quantitative Analysis of Nicotine in e-Liquids Based on Peak Purity Criteria Using High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1720375>
- Ghosh, A., Woolum, K., Knopp, M. V., & Kumar, K. (2020). Validation of a reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) method for analysis of [11C]Nicotine. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 326(3), 1719–1725. <https://doi.org/10.1007/s10967-020-07467-0>
- Gieszinger, P., Kiss, T., Szabó-Révész, P., & Ambrus, R. (2021). The development of an in vitro horizontal diffusion cell to monitor nasal powder penetration inline. *Pharmaceutics*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060809>
- Gogoi, J., Nakhuru, K. S., Policegoudra, R. S., Chattopadhyay, P., Rai, A. K., & Veer, V. (2016). Isolation and characterization of bioactive components from *Mirabilis jalapa* L. radix. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.028>

- Golodnizky, D., & Davidovich-Pinhas, M. (2020). The effect of the hlb value of sucrose ester on physiochemical properties of bigel systems. *Foods*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/foods9121857>
- Gurpreet, K., & Singh, S. K. (2018). Review of nanoemulsion formulation and characterization techniques. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(5), 781–789.
- Hanani, E. (2016). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117–135.
- Harmita, K., Harahap, Y., & Supandi. (2019). *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MC/MS)*. Jakarta: ISFI Penerbitan.
- Harron, D. W. G. (2013). Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process. *The Textbook of Pharmaceutical Medicine*, 1994(October 1994), 447–460. <https://doi.org/10.1002/9781118532331.ch23>
- Ho, T. M., Abik, F., & Mikkonen, K. S. (2022). An overview of nanoemulsion characterization via atomic force microscopy. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(18), 4908–4928. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1879727>
- Integrated Taxonomic Information System. (2023). *Nicotiana tabacum L.* Retrieved July 4, 2023, from Integrated Taxonomic Information System website: <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>
- Jeong, W. Y., Kwon, M., Choi, H. E., & Kim, K. S. (2021). Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review. *Biomaterials Research*, 25(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40824-021-00226-6>
- Jin, Y. S. (2019). Recent advances in natural antifungal flavonoids and their derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 29(19), 126589. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.07.048>
- Jusril, N. A., Abu Bakar, S. I., Khalil, K. A., Md Saad, W. M., Wen, N. K., & Adenan, M. I. (2022). Development and Optimization of Nanoemulsion from Ethanolic Extract of *Centella asiatica* (NanoSECA) Using D-Optimal Mixture Design to Improve Blood-Brain Barrier Permeability. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3483511>
- Kahraman, E., Kaykın, M., Bektay, H. Ş., & Güngör, S. (2019). Recent advances on topical application of ceramides to restore barrier function of skin. *Cosmetics*, 6(3). <https://doi.org/10.3390/COSMETICS6030052>

- Karina, D., & Ervianti, E. (2011). Kandidiasis Vulvovaginalis di Divisi Infeksi Menular Seksual Unit Rawat Jalan Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr . Soetomo Surabaya Periode 2007 – 2009. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*, 23(3).
- Kasahara, Y. S. (1995). *Medicinal Herb Index in Indonesia (Second Edition)* (Y. S. Kasahara & S. Mangunkawatja, Eds.). Jakarta: PT. Eisai Indonesia.
- Kelemen, A., Katona, B., Módra, S., Aigner, Z., Sebe, I., Pintye-Hódi, K., ... Kristó, K. (2020). Effects of Sucrose Palmitate on the Physico-Chemical and Mucoadhesive Properties of Buccal Films. *Molecules*, 25(22). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25225248>
- Kemkes. (2020). Farmakope Indonesia edisi VI. In *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kemkes RI. (2017a). *Acuan Bahan Baku Obat Tradisional dari Tumbuhan Obat di Indonesia*. Jakarta: Kemkes RI.
- Kemkes RI. (2017b). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Khan, M. S., Yusufzai, S. K., Rafatullah, M., Sarjadi, M. S., & Razlan, M. (2018). Determination of total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of various organic crude extracts of Licuala spinosa leaves from Sabah, Malaysia. *ASM Science Journal*, 11(Special Issue 3), 53–58.
- Khasanah, A. U., & Nastiti, S. J. (2021). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) ebagai Antibakteri erhadap *S. aureus* (ATCC 25923). *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1), 19–32. <https://doi.org/10.21580/ah.v4i1.6320>
- Lachman, L., Lieberman, H. A., & Kanig, J. L. (2012). *Teori dan Praktek Farmasi Industri. Edisi III* (S. Suyatmi, Ed.). Jakarta: UI Press.
- Lestari, M., & Binarjo, A. (2013). Formulasi Cold Cream Propranolol Untuk Pengantaran Transdermal Dengan Basis Emulsi Yang Mengandung Vco (Virgin Coconut Oil). *Pharmaciana*, 3(2). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v3i2.429>
- Lim, Y. Y., & Murtijaya, J. (2007). Antioxidant properties of Phyllanthus amarus extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1664–1669. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.013>
- Liu, Y., Zhang, D., Du, J., Qin, Y., Zhao, Z., Shi, Y., ... Liu, Y. (2019). Simultaneous determination of plasma nicotine and cotinine by UHPLC–MS/MS in C57BL/6 mice and its application in a pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography*, 33(10), 1–9. <https://doi.org/10.1002/bmc.4634>

- Lopes, J. P., & Lionakis, M. S. (2022). Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*, *13*(1), 89–121. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950>
- Lorian, V. (1996). *Antibiotics in Laboratory Medicine, fourth edition*. Hong Kong: Baltimore, MD: Williams & Wilkins.
- Lu, W. C., Huang, D. W., Wang, C. C. R., Yeh, C. H., Tsai, J. C., Huang, Y. T., & Li, P. H. (2017). Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. *Journal of Food and Drug Analysis*, *26*(1), 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.018>
- Malvern. (2011). Zetasizer Nano Series. Retrieved from Malvern Instruments Limited website: https://www.malvernpanalytical.com/en/assets/MRK1839_tcm50-17228.pdf
- Malvern. (2015). Zeta potential: An Introduction in 30 minutes. Retrieved from Zetasizer Nano Serles Technical Note. MRK654-01 website: <https://www.research.colostate.edu/wp-content/uploads/2018/11/ZetaPotential-Introduction-in-30min-Malvern.pdf>
- Maria, Ibadurrohman, M., & Slamet. (2020). Synthesis of sucrose ester surfactant by utilizing molasses and waste cooking oil. *AIP Conference Proceedings*, *2255*(September). <https://doi.org/10.1063/5.0013809>
- Martin, A., Swarbick, J., & Cammarata, A. (1993). *Farmasi Fisik II. Edisi 3* (Yoshita, Ed.). Jakarta: UI Press.
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, *4*(2), 119–128. <https://doi.org/10.1093/benz/9780199773787.article.b00119352>
- McClements, D. J. (2012a). Crystals and crystallization in oil-in-water emulsions: Implications for emulsion-based delivery systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, *174*, 1–30. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.03.002>
- McClements, D. J. (2012b). Nanoemulsions versus Microemulsions: Terminology, Differences, and Similarities. *Soft Matter*, *8*(6), 1719–1729. <https://doi.org/10.1039/c2sm06903b>
- Muhaj, F. F., George, S. J., Nguyen, C. D., & Tying, S. K. (2022). Antimicrobials and resistance part II: Antifungals, antivirals, and antiparasitics. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *86*(6), 1207–1226. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2021.11.065>
- Namratha Vinaya, K., Mary John, A., Mangsatabam, M., & Anna Philip, M. (2021). Ultrasound-assisted synthesis and characterization of sesame oil based nanoemulsion. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *1114*(1), 012085. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1114/1/012085>

- Nor, N. F. A., Ya'akob, H., Idris, A., Ngadiran, S., Anuar, N. S., & Sarmidi, M. R. (2021). Evolutions in virgin coconut oil: Liquid to powder. *Jurnal Teknologi*, 83(3), 119–132. <https://doi.org/10.11113/JURNALTEKNOLOGI.V83.16265>
- O'Neil, M. J. (2006). *The Merck Index Fourteenth Edition*. U.S.A: Merck & Co., INC.
- Oeung, S., Nov, V., Ung, H., Roum, K., Yin, V., Koe, S., & Chea, S. (2017). Phytochemical Analysis of Different Extracts of Leaves of *Nicotiana tabacum* L. of Cambodia. *Asian Journal of Pharmacognosy*, 1(3), 18–26.
- Onaizi, S. A. (2022). Characteristics and pH-Responsiveness of SDBS–Stabilized Crude Oil/Water Nanoemulsions. *Nanomaterials*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/nano12101673>
- Ornaf, R. M., & Dong, M. W. (2005). Key Concepts of HPLC in Pharmaceutical Analysis. In *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC* (p. 27). United Kingdom: Elsevier.
- Paar, A. (2018). *Instruction Manual and Safety Information ViscoQC 300*. Austria: Anton Paar GmbH.
- Pai, V., Ganavalli, A., & Kikkeri, N. N. (2018). Antifungal Resistance in Dermatology. *Indian Journal of Dermatology*, 63(5), 361–368. https://doi.org/10.4103/ijjd.IJD_131_17
- Papon, N., Noël, T., Florent, M., Gibot-Leclerc, S., Jean, D., Chastin, C., ... Chapeland-Leclerc, F. (2007). Molecular mechanism of flucytosine resistance in *Candida lusitanae*: Contribution of the FCY2, FCY1, and FUR1 genes to 5-fluorouracil and fluconazole cross-resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(1), 369–371. <https://doi.org/10.1128/AAC.00824-06>
- Paul, A., Laurila, T., Vuorinen, V., & Divinski, S. V. (2014). *Thermodynamics, diffusion and the kirkendall effect in solids*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-07461-0>
- Pichayakorn, W., Suksaeree, J., Boonme, P., Taweepreda, W., Amnuait, T., & Ritthidej, G. C. (2013). Deproteinised natural rubber used as a controlling layer membrane in reservoir-type nicotine transdermal patches. *Chemical Engineering Research and Design*, 91(3), 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2012.09.011>
- Prommaban, A., Kheawfu, K., Chittasupho, C., Sirilun, S., Hemsuwimon, K., & Chaiyana, W. (2022). Phytochemical, Antioxidant, Antihyaluronidase, Antityrosinase, and Antimicrobial Properties of *Nicotiana tabacum* L. Leaf Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5761764>
- Putri, R. H., Barid, I., & Kusumawardani, B. (2014). Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Stomatognathic (Journal Kedokteran Gigi Unej)*, 11(2), 27–31.

- Rahardjo, A. P., Fauzantoro, A., & Gozan, M. (2018). Fractionation and characterization of semi polar and polar compounds from leaf extract *Nicotiana tabaccum* L. reflux ethanol extraction results. *AIP Conference Proceedings*, 1933(February), 0300221–0300229. <https://doi.org/10.1063/1.5023969>
- Rehder Silinski, M. A., Uenoyama, T., Coleman, D. P., Blake, J. C., Thomas, B. F., Marusich, J. A., ... Gahl, R. F. (2020). Analysis of Nicotine and Non-nicotine Tobacco Constituents in Aqueous Smoke/Aerosol Extracts by UHPLC and Ultraperformance Convergence Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Chemical Research in Toxicology*, 33(12), 2988–3000. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00312>
- Richard, C., Cassel, S., & Blanzat, M. (2020). Vesicular systems for dermal and transdermal drug delivery. *RSC Advances*, 11(1), 442–451. <https://doi.org/10.1039/d0ra09561c>
- Rizwana, H., Al Kubaisi, N., Al-Meghailaith, N., Moubayed, N. M. S., & Albasher, G. (2019). Evaluation of Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Activity of *Laurus nobilis* L Grown in Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2073–2085. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.19>
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients. *Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association*, 633–643. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820007-0.00032-5>
- Sabjan, K. B., Munawar, S. M., Rajendiran, D., Vinoji, S. K., & Kasinathan, K. (2020). Nanoemulsion as Oral Drug Delivery - A Review. *Current Drug Research Reviews*, 12(1), 4–15. <https://doi.org/10.2174/2589977511666191024173508>
- Safaya, M., & Rotliwala, Y. C. (2020). Nanoemulsions: A review on low energy formulation methods, characterization, applications and optimization technique. *Materials Today: Proceedings*, 27(xxxx), 454–459. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.11.267>
- Safitri, F. I., Nawangsari, D., & Febrina, D. (2021). Overview: Application of Carbopol 940 in Gel. *Proceedings of the International Conference on Health and Medical Sciences (AHMS 2020)*, 34, 80–84. <https://doi.org/10.2991/ahsr.k.210127.018>
- Saifudin, A., Rahayu, V., & Teruna, H. Y. (2011). *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sail, A. M., Wan Mustapha, W. A., Yusop, S. M., Maskat, M. Y., & Shamsuddin, A. F. (2018). Optimisation of cinnamaldehyde-in-water nanoemulsion formulation using central composite rotatable design. *Sains Malaysiana*, 47(9), 1999–2008. <https://doi.org/10.17576/jsm-2018-4709-07>

- Salamanca, C. H., Barrera-Ocampo, A., Lasso, J. C., Camacho, N., & Yarce, C. J. (2018). Franz diffusion cell approach for pre-formulation characterisation of ketoprofen semi-solid dosage forms. *Pharmaceutics*, *10*(3), 1–10. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030148>
- Sandhu, R., Singh, N., Dhankhar, J., Kama, G., & Sharma, R. (2018). Dynamic light scattering (DLS) technique, principle, theoretical considerations and applications. *Nanotechnological and Biochemical Techniques for Assessing the Quality and Safety of Milk and Milk Products*, (February 2019), 135–137. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/331022012_Dynamic_light_scattering_DLS_technique_principle_theoretical_considerations_and_applications
- Sarheed, O., Dibi, M., & Ramesh, K. V. R. N. S. (2020). Studies on the effect of oil and surfactant on the formation of alginate-based O/W lidocaine nanocarriers using nanoemulsion template. *Pharmaceutics*, *12*(12), 1–21. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121223>
- Satheeshan, K. N., Seema, B. R., & Manjusha, A. V. M. (2020). Development of virgin coconut oil based body lotion. *The Pharma Innovation Journal*, *9*(5), 96–101. Retrieved from <http://www.thepharmajournal.com>
- Seru, R. S., Suling, P. L., & Pandeke, H. E. J. (2013). Profil Kandidiasis Kutis Di Poliklinik Kulit Dan Kelamin Rsup Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Periode 2009-2011. *Jurnal E-Biomedik*, *1*(1), 561–565. <https://doi.org/10.35790/ebm.1.1.2013.4599>
- Shaker, D. S., Ishak, R. A. H., Ghoneim, A., & Elhuoni, M. A. (2019). Nanoemulsion: A review on mechanisms for the transdermal delivery of hydrophobic and hydrophilic drugs. *Scientia Pharmaceutica*, *87*(3). <https://doi.org/10.3390/scipharm87030017>
- Sharma, S., Goyal, S., & Chauhan, K. (2018). A review on analytical method development and validation. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, *10*(6), 8–15. <https://doi.org/10.22159/ijap.2018v10i6.28279>
- Shrestha, S., Wang, B., & Dutta, P. (2020). Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation. *Advances in Colloid and Interface Science*, *279*, 102162. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102162>
- Sinawe, H., & Casadesus, D. (2022). Ketoconazole. Retrieved June 5, 2023, from NCBI website: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559221/>
- Sinko, P. J. (2015). *Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika Martin* (5th ed.; J. Djajadisastra, Ed.). Jakarta: EGC.
- Soedarto. (2015). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto.

- Souto, E. B., Fangueiro, J. F., Fernandes, A. R., Cano, A., Sanchez-Lopez, E., Garcia, M. L., ... Silva, A. M. (2022). Physicochemical and biopharmaceutical aspects influencing skin permeation and role of SLN and NLC for skin drug delivery. *Heliyon*, 8(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08938>
- Sravan, T., & Spandana, K. (2021). Sorbitol – Its Applications in Different Fields. *Agriculture & Food: E-Newsletter*, (March), 2–4.
- Suryani, S., Sariyani, S., Earnestly, F., Marganof, M., Rahmawati, R., Sevindrajuta, S., ... Fudholi, A. (2020). A comparative study of virgin coconut oil, coconut oil and palm oil in terms of their active ingredients. *Processes*, 8(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/PR8040402>
- Swarbick, J., & Boylan, J. C. (1995). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Vol. 9*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). Candida albicans-the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, 7(2), 1–19. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
- Tamo, S. P. B. (2020). Candida Infections: Clinical Features, Diagnosis and Treatment. *Infectious Diseases and Clinical Microbiology*, 2(2), 91–102. <https://doi.org/10.36519/idcm.2020.0006>
- Teng, F., He, M., Xu, J., Chen, F., Wu, C., Wang, Z., & Li, Y. (2020). Effect of ultrasonication on the stability and storage of a soy protein isolate-phosphatidylcholine nanoemulsions. *Scientific Reports*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70462-8>
- Trabelsi, I., Essid, K., & Frikha, M. H. (2020). Synthesis of sucrose fatty acid esters by using mixed carboxylic-fatty anhydrides. *Journal of Oleo Science*, 69(7), 693–701. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19239>
- Trivana, L., Suyatma, N. E., Hunaefi, D., & Munarso, S. J. (2021). Effect of Surfactant Addition on The Physico-Chemical Properties and Stability of Virgin Coconut Oil Nanoemulsions. *Buletin Palma*, 22(1), 31. <https://doi.org/10.21082/bp.v22n1.2021.31-42>
- United States Pharmacopeial Convention. (2018). *USP 41 Vol. 1*. United States: United Book Press.
- Vasyuchenko, E. P., Orekhov, P. S., Armeev, G. A., & Bozdaganyan, M. E. (2021). Cpe-db: An open database of chemical penetration enhancers. *Pharmaceutics*, 13(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010066>
- Watson, D. G. (2013). *Analisis Farmasi Edisi 2* (W. R. Syarief & A. H. Hadinata, Eds.). Jakarta: EGC.

- Wik, J., Bansal, K. K., Assmuth, T., Rosling, A., & Rosenholm, J. M. (2020). Facile methodology of nanoemulsion preparation using oily polymer for the delivery of poorly soluble drugs. *Drug Delivery and Translational Research*, *10*(5), 1228–1240. <https://doi.org/10.1007/s13346-019-00703-5>
- Wiyani, L., Aladin, A., Rahmawati, & Mustafiah, A. (2021). The physical and chemical properties of VCO emulsion with citrus extract. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *712*(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/712/1/012046>
- Xu, Y., Lu, H., Zhu, S., Li, W.-Q., Jiang, Y., Berman, J., & Yang, F. (2021). Multifactorial Mechanisms of Tolerance to Ketoconazole in *Candida albicans*. *Microbiology Spectrum*, *9*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00321-21>
- Yang, X., Zhang, T., Yang, D., & Xie, J. (2022). Application of gas chromatography-ion mobility spectrometry in the analysis of food volatile components. *Acta Chromatographica*, 1–11. <https://doi.org/10.1556/1326.2022.01005>
- Yani, S., Aladin, A., Wiyani, L., & Modding, B. (2018). Evaluation of viscosity and pH on Emulsions of Virgin Coconut Oil Beverages. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *175*(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/175/1/012026>
- Yati, K., Gozan, M., Mardiasut, M., Anggia, V., Prastiwi, R., & Jufri, M. (2022). Phytochemical Evaluation and Antioxidant Activity of Virginia tobacco Leaves (*Nicotiana tabacum* L. var *virginia*) Fractions with DPPH and FTC Methods. *Pharmacognosy Journal*, *14*(3), 544–548. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.69>
- Yati, K., Lucida, H., & Ben, E. S. (2011). Evaluasi Stabilitas Fisik Mikroemulsi Natrium Askorbil Fosfat Berbasis Minyak Kelapa Murni (Virgin coconut oil). *Farmasains*, *1*(4), 107–111.
- Yu, Y. Q., Yang, X., Wu, X. F., & Fan, Y. Bin. (2021). Enhancing Permeation of Drug Molecules Across the Skin via Delivery in Nanocarriers: Novel Strategies for Effective Transdermal Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*(March), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.646554>
- Zaenudin, M., Situmorang, A., & Supandi, S. (2021). Optimization and Validation Methods for Assay of Acyclovir Cream Determination by High Performance Liquid Chromatography. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *819*(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/819/1/012055>

Zeng, F., Wang, D., Tian, Y., Wang, M., Liu, R., Xia, Z., & Huang, Y. (2021). Nanoemulsion for Improving the Oral Bioavailability of Hesperetin: Formulation Optimization and Absorption Mechanism. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(6), 2555–2561. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.02.030>

Lampiran 1. Sertifikat Pengujian Ekstrak Etanol Daun Tembakau



Kementerian Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
 Jalan Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111
 Telepon : (0251) 8321879 Faximile : (0251) 8327010 E-mail: balitro@netkom.net

SERTIFIKAT PENGUJIAN

CERTIFICATE OF ANALYSIS
 No. Adm : :700/TI/LAB/X/18

DF 5.10.1.2.

Kepada Yth
Kori Yati
 Universitas Indonesia

Kondisi / Identifikasi Contoh : Ekstrak
 Tanggal Penerimaan : 2 Oktober 2018
 Tanggal Pengujian : 10 – 19 Oktober 2018

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian / Pemeriksaan	Hasil Pengujian /Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Ekstrak Tembakau	- Kadar Air (%)	16,43	Aufhauser
		- Kadar Abu (%)	7,56	Gravimetri

Bogor, 7 November 2018
 Manajer Mutu


Dr. Dono Wahyuno

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
 - Hasil Pengujian / di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian / Balitro.

Lambar kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 2. Sertifikat Identifikasi Ekstrak Etanol Daun Tembakau



KAN
Kantor Nasional
17-867-008



FARMALAB
Your Partner in Health Care Product Development

SERTIFIKAT PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS
No.01/FL-IU/VI/2017

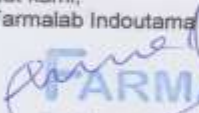
Kepada Yth.
Kori Yati, M. Farm., Apt
Fakultas Farmasi UI

Kondisi / Identifikasi Sampel : Ekstrak Tembakau
Tanggal Penerimaan : 24 Mei 2017
Tanggal pengujian : 29 Mei 2017

No	Sampel	Jenis pengujian/ pemeriksaan	Hasil pengujian	Metode pengujian
1	Ekstrak Tembakau	Alkaloid	+	Kualitatif
		Flavonoid	+	Kualitatif
		Saponin	+	Kualitatif
		Tanin	+	Kualitatif
		Triterpenoid dan steroid	+	Kualitatif

Jakarta, 01 Juni 2017

Hormat kami,
PT. Farmalab Indoutama



FARMALAB
Your Partner in Health Care Product Development

Dr. Priyanto, M. Blomed, Apt
Direktur

PT. FARMALAB INDOUTAMA
Laboratorium Bioavailabilitas-Bioekivalen dan Disolusi Terbanding
Laboratorium Terpadu Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Jl Delima 2, Malaka Sari, Duren Sawit, Jakarta Timur 13460
Telp. 021-86617112, HP 0882 1338 4027 / 0898 6229 338, Email: farmalabindoutama@gmail.com / info@farmalab-iu.com
Website: www.farmalab-iu.com

Lampiran 3. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Total

1. Pembuatan Larutan Induk Baku Kuersetin

$$10 \text{ mg} / 10 \text{ ml} = 1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

2. Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

$$\text{Panjang gelombang} = 434, 50 \text{ nm}$$

$$\text{Absorbansi} = 0,3682$$

$$C \text{ (Konsentrasi)} = 5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$a = \frac{A}{b \times c} + \frac{0,3682}{1 \text{ cm} \times 5 \text{ } \mu\text{g/ml}} = 0,0736$$

$$C \text{ min} = \frac{0,15}{1 \text{ cm} \times 0,0736} = 2,0380 \sim 2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$C \text{ max} = \frac{0,85}{1 \text{ cm} \times 0,0736} = 11,5490 \sim 12 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Kurva Baku

$$3 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{3 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1000 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,03 \text{ ml} / 30 \text{ } \mu\text{l} = 0,258$$

$$5 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{5 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1000 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,05 \text{ ml} / 50 \text{ } \mu\text{l} = 0,408$$

$$7 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{7 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1000 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,07 \text{ ml} / 70 \text{ } \mu\text{l} = 0,561$$

$$9 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{9 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1000 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml} / 90 \text{ } \mu\text{l} = 0,710$$

$$11 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{11 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1000 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,11 \text{ ml} / 110 \text{ } \mu\text{l} = 0,848$$

Hasil Absorbansi kurva kalibrasi kuersetin

Konsentrasi Baku ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
4	0,390
5	0,424
6	0,463
7	0,492
8	0,523

Diperoleh :

$$a = 0,0383$$

$$b = 0,0741$$

$$r = 0,9998$$

Lampiran 3. Hasil Perhitungan Kadar Flavonoid Total (Lanjutan)

3. Perhitungan Kadar

Faktor Pengenceran

$$10.000 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml} = X \times 10 \text{ ml}$$

$$10.000 \mu\text{g/ml} = X \times 10 \text{ ml}$$

$$X = 1.000 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{10.000}{1.000} = 10 \text{ kali}$$

a. Fraksi n-butanol

1) Sampel yang di timbang = 100,3 mg ~ 0,1003 g

$$\text{Absorbansi (y1)} = 0,412$$

$$y1 = b \cdot x \pm a$$

$$0,412 = 0,0741 \cdot x \pm 0,0383$$

$$0,412 - 0,0383 = \frac{0,3737}{0,0741}$$

$$x = 5,0432 \mu\text{g} / \text{mL}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{X (\mu\text{g} / \text{ml}) \times \text{Faktor Pengenceran} \times \text{Volume (mL)}}{\text{Massa Sampel (g)}}$$

$$= \frac{5,0432 \mu\text{g} / \text{ml} \times 10 \times 10}{0,1005 \text{ g}}$$

$$= \frac{504,32}{0,1003 \text{ g}}$$

$$= 5028,1156 \mu\text{g}$$

$$= 5,0281 \text{ mgQE/g fraksi}$$

2) Sampel yang di timbang = 100,1 mg ~ 0,1001 g

$$\text{Absorbansi (y2)} = 0,417$$

$$x = 5,1107 \mu\text{g} / \text{mL}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = 5,1055 \text{ mgQE/g fraksi}$$

3) Sampel yang di timbang = 100,1 mg ~ 0,1001 g

$$\text{Absorbansi (y3)} = 0,424$$

$$x = 5,2051 \mu\text{g} / \text{mL}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = 5,1999 \text{ mgQE/g fraksi}$$

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Kadar Fenol Total

1. Pembuatan Larutan Induk Baku asam galat

$$50 \text{ mg} / 100 \text{ ml} = 500 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

2. Pembuatan Kurva Kalibrasi asam galat

$$\text{Panjang gelombang} = 743,50 \text{ nm}$$

$$\text{Absorbansi} = 0,5195$$

$$C \text{ (Konsentrasi)} = 50 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$a = \frac{A}{b \times c} = \frac{0,5195}{1 \text{ cm} \times 50 \text{ } \mu\text{g/ml}} = 0,0104$$

$$C_{\text{min}} = \frac{0,15}{1 \text{ cm} \times 0,0104} = 14,4231 \sim 14 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$C_{\text{max}} = \frac{0,85}{1 \text{ cm} \times 0,0104} = 81,7308 \sim 82 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Kurva Baku

$$15 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{15 \text{ } \mu\text{g/ml}}{500 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$$

$$30 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{30 \text{ } \mu\text{g/ml}}{500 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

$$45 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{45 \text{ } \mu\text{g/ml}}{500 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$$

$$60 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{60 \text{ } \mu\text{g/ml}}{500 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 1,2 \text{ ml}$$

$$75 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{75 \text{ } \mu\text{g/ml}}{500 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 10 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

Hasil Absorbansi kurva kalibrasi kuersetin

Diperoleh :

$$a = 0,0786$$

$$b = 0,0089$$

$$r = 0,9997$$

Konsentrasi Baku ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
15	0,208
30	0,354
45	0,475
60	0,614
75	0,746

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Kadar Fenol Total (Lanjutan)

3. Perhitungan Kadar

Faktor Pengenceran

$$1.000 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml} = X \times 10 \text{ ml}$$

$$1.000 \mu\text{g/ml} = X \times 10 \text{ ml}$$

$$X = 100 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1.000}{100} = 10 \text{ kali}$$

a. Ekstrak

1) Sampel yang di timbang = 10,1mg ~ 0,0101 g

$$\text{Absorbansi (y1)} = 0,540$$

$$y1 = b \cdot x \pm a$$

$$0,540 = 0,0089 \cdot x + 0,0786$$

$$0,0089 \cdot x = 0,4614$$

$$x = 51,8427 \mu\text{g} / \text{ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Fenol} &= \frac{X (\mu\text{g} / \text{ml}) \times \text{Faktor Pengenceran} \times \text{Volume (mL)}}{\text{Massa Sampel (g)}} \\ &= \frac{51,8427 \mu\text{g} / \text{ml} \times 10 \times 3}{0,0101 \text{ g}} \\ &= 153988,2178 \mu\text{g} \\ &= 153,9882 \text{ mgQE/g ekstrak} \end{aligned}$$

2) Sampel yang di timbang = 10,2mg ~ 0,0102 g

$$\text{Absorbansi (y2)} = 0,544$$

$$x = 52,2921 \mu\text{g} / \text{ml}$$

$$\text{Kadar Fenol} = 153,8003 \text{ mgQE/g ekstrak}$$

3) Sampel yang di timbang = 10,4 mg ~ 0,0104 g








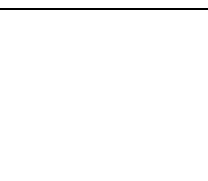
$$\text{Absorbansi (y2)} = 0,552$$

$$x = 53,1910 \mu\text{g} / \text{ml}$$








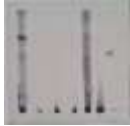
$$\text{Kadar Fenol} = 153,4356 \text{ mgQE/g ekstrak}$$

Rata-rata kadar fenol ekstrak = 153,7414 mgQE/g ekstrak.

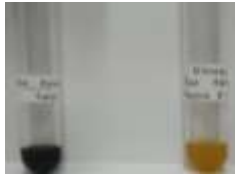




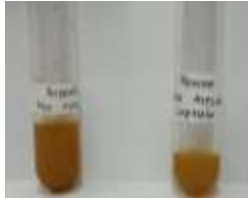
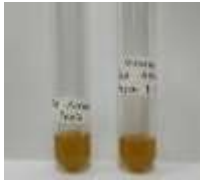
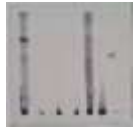
Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokim Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No	Pengujian	Cara Pengujian	Hasil	Gambar
1	Alkaloid	Ekstrak + HCl dan + pereaksi Meyer	Negatif (-) Alkaloid tidak ada endapan putih	
		Ekstrak + HCl dan + pereaksi Dragendroff	Positif (+) Alkaloid Endapan Jingga hingga Coklat	
		Ekstrak + HCl dan + pereaksi Bouchardat	Positif (+) Alkaloid Endapan Coklat	
2	Fenolik	Ekstrak + FeCl ₃ 10 tetes	Positif (+) Fenol terjadi perubahan warna menjadi kehijauan	
3	Tanin	Ekstrak + Gelatin 10 tetes	Negatif (-) tannin tidak ada endapan putih	
4	Flavonoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,647	
5	Terpenoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,517	
6	Saponin	Ekstrak + Aquadest panas 10 mL dinginkan lalu kocok kuat dan + HCl 2N	Positif (+) Saponin terbentuk busa	








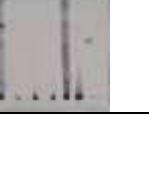
Lampiran 6. Skrining Fitokimia Fraksi DCM Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No.	Metabolit Sekunder	Bahan Penguji	Hasil	Gambar
1	Uji Alkaloid	Sampel + pereaksi Bouchardat	(endapan coklat sampai hitam) positif	
		Sampel + pereaksi Dragendorff	(warna jingga) positif	
		Sampel + Pereaksi Mayer	(endapan putih atau kuning) positif	
2	Uji Flavonoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,635	
3	Uji Fenol	Sampel + FeCl ₃	(warna hijau kehitaman) positif	
4	Uji Saponin	Sampel + Aquadest panas + HCl	(Berbentuk buih lalu hilang) Negatif	
5	Uji Tanin	Sampel + Gelatin	(Tidak terbentuk endapan putih) Negatif	
6	Uji Terpenoid	Metode KLT	Negatif (-)	








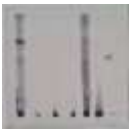
Lampiran 7. Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No.	Metabolit Sekunder	Bahan Uji	Hasil	Gambar
1.	Uji Fenol	Aquadest panas + FeCl ₃	warna hijau kehitaman (positif)	
2.	Uji Flavonoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,635	
3.	Uji Alkaloid	HCl 2N 1 mL + aquadest lalu dipanaskan + Pereaksi Bouchardat	Bouchardat : endapan coklat sampai hitam (positif)	
		HCl 2N 1 mL + aquadest lalu dipanaskan + pereaksi Dragendroff	Dragendroff : warna jingga (positif)	
		HCl 2N 1 mL + aquadest lalu dipanaskan + pereaksi Mayer	Mayer : endapan putih atau kuning (positif)	
4.	Uji Saponin	Aquadest panas 10 ml lalu didinginkan + kocok kuat 10 menit + diamkan selama 2 menit + HCl	Muncul buih lalu buih hilang (negatif)	
5.	Uji Tanin	Ditambahkan Gelatin	Tidak terbentuk endapan putih (negatif)	
6.	Uji Terpenoid	Metode KLT	Negatif (-)	






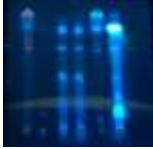
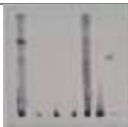

Lampiran 8. Skrining Fitokimia Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No	Metabolit Sekunder	Bahan Uji	Hasil	Gambar
1	Uji Alkaloid	Sampel + Perekasi Mayer	(endapan putih atau kuning) positif	
		Sampel + Dragendroff	(warna jingga) positif	
		Sampel + Lieberman Bouchardat	(endapan coklat sampai hitam) positif	
2	Uji Fenol	Sampel + Aquadest panas + FeCl ₃	(warna hijau kehitaman) positif	
3	Uji Flavonoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,688	
4	Uji Saponin	Aquadest panas 10 ml lalu didinginkan + kocok kuat 10 menit + diamkan selama 2 menit + HCl	(Muncul buih lalu buih hilang) negatif	
5	Uji Tanin	Sampel + Gelatin	Tidak terbentuk endapan putih (negatif)	
6	Uji Terpenoid	Metode KLT	Negatif	

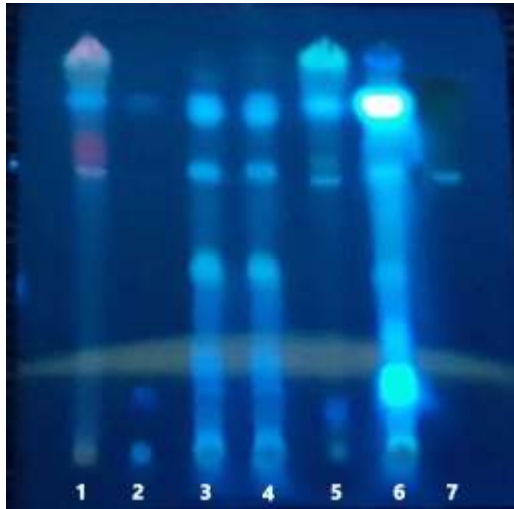
Lampiran 9. Skrining Fitokimia Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Tembakau

No.	Metabolit Sekunder	Bahan Penguji	Hasil	Gambar
1	Uji Alkaloid	Sampel + pereaksi Bouchardat	(endapan coklat sampai hitam) positif	
		Sampel + pereaksi Dragendorff	(warna jingga) positif	
		Sampel + Pereaksi Mayer	(endapan putih atau kuning) negatif	
2	Uji Flavonoid	Metode KLT	Negatif	
3	Uji Fenol	Sampel + FeCl ₃	(warna hijau kehitaman) positif	
4	Uji Saponin	Sampel + Aquadest panas + HCl	(Berbentuk buih) positif	
5	Uji Tanin	Sampel + Gelatin	(Endapan putih) positif	
6	Uji Terpenoid	Metode KLT	Negatif	

Lampiran 10. Skrining Fitokimia Fraksi Heksan Ekstrak Etanol Daun Tembakau

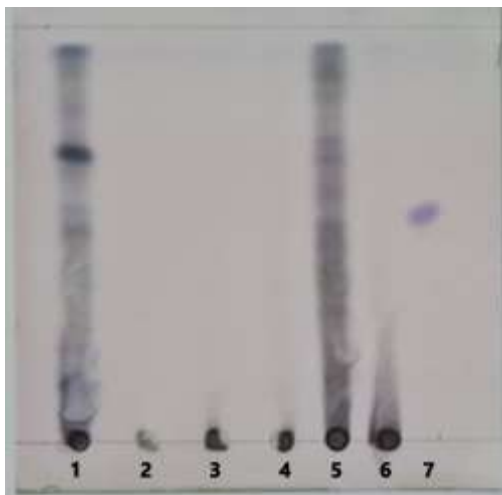
No	Pengujian	Cara Pengujian	Hasil	Gambar
1	Alkaloid	Fraksi n-heksan + HCl dan + pereaksi Meyer	Negatif (-) Alkaloid tidak ada endapan putih	
		Fraksi n-heksan + HCl dan + pereaksi Dragendroff	Positif (+) Alkaloid Endapan Jingga hingga Coklat	
		Fraksi n-heksan + HCl dan + pereaksi Bouchardat	Positif (+) Alkaloid Endapan Coklat	
2	Fenolik	Fraksi n-heksan + FeCl ₃ 10 tetes	Negatif (-) Fenol tidak ada perubahan warna	
3	Tanin	Fraksi n-heksan + Gelatin 10 tetes	Negatif (-) Tanin tidak ada endapan putih	
4	Flavonoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,647	
5	Terpenoid	Metode KLT	Positif (+). Nilai Rf 0,517	
6	Saponin	Fraksi n-heksan + Aquadest panas 10 mL dinginkan lalu kocok kuat dan + HCl 2N	Negatif (-) Saponin tidak ada busa yang terbentuk	

Lampiran 11. Hasil Identifikasi Flavonoid dan Terpenoid Menggunakan KLT



Keterangan gambar hasil uji flavonoid :




1. Ekstrak etanol (Rf=0,65)
2. Fraksi air
3. Fraksi n-butanol (Rf=0,68)
4. Fraksi etil asetat (Rf=0,64)
5. Fraksi n-heksana (Rf=0,64)
6. Fraksi DCM (Rf=0,64)
7. Pembanding Kuersetin (Rf=0,65)
8. Fase gerak etil asetat-metanol-asam formiat (95:5:0,5)
9. Penampak bercak: AlCl_3 1%



Keterangan gambar hasil uji terpenoid:

1. Ekstrak etanol (Rf=0,52)
2. Fraksi air
3. Fraksi butanol
4. Fraksi etil asetat
5. Fraksi n-heksana (Rf=0,52)
6. Fraksi DCM
7. Pembanding β -sitosetrol (Rf=0,54)
8. Fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3)
9. Penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat

Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan Laboratorium GC-MS Ekstrak Etanol Daun Tembakau

 PEMERINTAH PROVINSI DAERAH KHUSUS IBUKOTA JAKARTA DINAS KESEHATAN LABORATORIUM KESEHATAN DAERAH Jl. Rawasari Selatan No. 2 Jakarta 10510, E-mail : dkklabs@gmail.com Telp. (021) 4247408, 4247432, 4247404, 42889512, Fax. : (021) 4247364, 42873697					
HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM					
PENGAMBILAN SAMPEL			PENERIMAAN DI LABORATORIUM		
Tanggal	-		Tanggal	: 08 Maret 2018	
Ofch	: Kori Yati		No. Lab	: 23 / 0257	
Jenis Sampel	: Ekstrak Tembakau		Batch / Kode	: +/-	
DIKIRIM OLEH					
Nama / Instansi	: Kori Yati				
Alamat	: Farmasi UI				
Pengambilan sampel di luar / atas *) tanggung jawab LABKESDA					
HASIL LABORATORIUM					
NO	JENIS/KODE SAMPEL	RT	QUALITY	SENYAWA	KANDUNGAN (%)
1	Ekstrak Tembakau	18.119	93	Nicotine	100
Keterangan: 1. Metode GCMSD (Gas Chromatography Spectrometri Mass) 2. Data yang diperoleh dibandingkan terhadap database library pada alat					
				Jakarta, 13 Maret 2018  Laboratorium Kimia & Doping	
				 Dr. Dra. Ernawati, MSi NIP. 196810302014012002	
Laporan ini dilarang diperbanyak tanpa persetujuan tertulis dari Labkesda This report shall not be reproduced without the written approval from Labkesda					
					Halaman 1 dari 2

Lampiran 13. Hasil GC-MS

Hasil pemeriksaan senyawa dalam ekstrak etanol daun tembakau

No	Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
1	Ekstrak Etanol Daun Tembakau	18.119	93	<i>Nicotine</i>	100

Hasil pemeriksaan senyawa dalam fraksi n-heksana ekstrak etanol daun tembakau

No	Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
1	Fraksi n-heksana	32.378	98	<i>TRICOSANE</i>	1,00
		32.937	98	<i>CYCLOTETRACOSANE</i>	3,36
		32.964	98	<i>Tetracosane</i>	2,44
		33.585	97	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester</i>	1,07
		34.061	91	<i>2,3'-Bypyridine</i>	8,04
		34.274	94	<i>1-Docosanol, methyl eter</i>	2,91
		34.302	97	<i>Tetracosane</i>	2,16
		36.067	98	<i>1-Nonadecene</i>	2,62
		36.102	97	<i>NONADECANE</i>	1,39

Hasil pemeriksaan senyawa dalam fraksi DCM ekstrak etanol daun tembakau

No	Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
1	Fraksi Dichloromethane	17.94	95	<i>Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin</i>	6,56
		24.35	97	<i>Butyl Hydroxy Toluene</i>	1,08
		29.71	78	<i>2-ethenyl-4,5(methylenedioxy)benz</i>	1,11
		30.02	99	<i>Isopropyl myristate</i>	2,09
		31.31	96	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibu</i>	1,10
		31,48	96	<i>2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-6</i>	1,70
		35.91	91	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis</i>	70,53
		17.94	95	<i>Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin</i>	6,56
		36.63	53	<i>6-oxo-3-benzoyl-1,2-dicarbomethoxy</i>	1,51

Lampiran 13. Hasil GC-MS (Lanjutan)

Hasil pemeriksaan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun tembakau

No	Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
1	Fraksi Etil Asetat	4.40	33	<i>1,2-Ethanediol, monoacetate</i>	3,70
		4.80	72	<i>Protoanemonine</i>	3,00
		5.00	72	<i>2-Propanol, 1-butoxy-</i>	2,04
		13.09	83	<i>2-Propenoic acid, 6-methylheptyl</i>	5,04
		22.78	94	<i>2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-methyl</i>	1,67
		24.44	97	<i>Butylated hydroxytoluene</i>	6,94
		26.46	98	<i>MEGASTIGMA TRIENONE 2</i>	1,19
		27.45	98	<i>MEGASTIGMA TRIENONE 2</i>	3,12
		28.40	91	<i>Acrylic acid dodecanyl ester</i>	1,48
		29.65	99	<i>1-Octadecene</i>	1,04
		31.34	96	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid</i>	2,05
		31.48	97	<i>Hexadecanoic acid</i>	8,37
		32.83	99	<i>Octadecanoic acid</i>	2,97
		32.90	99	<i>1-Nonadecene</i>	1,40
35.94	91	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis</i>	46,84		

Hasil pemeriksaan senyawa dalam fraksi n-butanol ekstrak etanol daun tembakau

No	Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
1	Fraksi n-butanol	11.23	93	<i>4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-di</i>	2,69
		17.56	95	<i>Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin</i>	2,76
		17.97	95	<i>Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin</i>	65,35
		24.82	11	<i>8.exo.-cyanobicyclo [3.2.2]nona-3,6</i>	1,73
		25.20	72	<i>2,3'-Bypyridine</i>	1,09
		27.82	39	<i>Cholestan-3-amine, Nm,N,4,4-tetrame</i>	14,07
		30.01	99	<i>Isopropyl myristate</i>	2,22
		35.70	91	<i>Di-2(-ethylhexyl) phthalate</i>	1,00

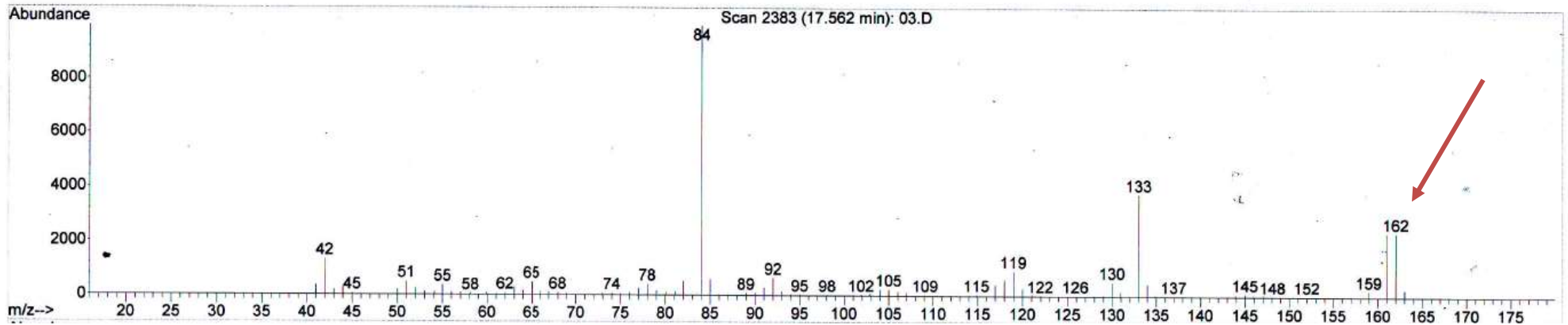
Hasil pemeriksaan senyawa dalam fraksi air ekstrak etanol daun tembakau

No	Jenis/Kode Sampel	RT	Quality	Senyawa	Kandungan (%)
1	Fraksi Air	10.30	91	<i>4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-di</i>	2,00
		17.56	95	<i>Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin</i>	2,17
		17.85	95	<i>Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidin</i>	84,47
		19.25	78	<i>L-Proline, 5-oxo-, methyl ester</i>	1,91
		43.00	50	<i>6-Hydroxy-powelline-N-nitroso, ald</i>	6,96

Lampiran 14. Hasil GC-MS Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Library Searched : C:\DATABASE\WILEY275.L

Quality : 95

ID : **Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-, (S)-** (CAS) \$\$ Nicotine \$\$ 1-METHYL-2-(3-PYRIDYL)-PYRROLIDINE \$\$ Flux Maag

Lampiran 15. Hasil Uji Residu Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau



UNIVERSITAS INDONESIA
LABORATORIUM FAKULTAS FARMASI

Gedung Program Pascasarjana dan Profesi Apoteker
Fakultas Farmasi Universitas Indonesia
Kampus UI, Depok 16424
T. 021-78849003 ext.303
E. ppm@farmasi.ui.ac.id

SERTIFIKAT HASIL UJI
No. Sampel: 174/PPM-FFUI/II/2022

IDENTITAS SAMPEL:

Nama Sampel Uji : Ekstrak Daun Tembakau
Nomor Batch : -
Wadah : Pot kaca, cairan
Kondisi Sampel : Sampel dikemas dengan baik dalam keadaan tersegel
Nama Produsen : -

IDENTITAS PEMILIK SAMPEL/INSTANSI:

Nama Perusahaan/Perorangan : Ibu. Kori Yati
Alamat : Prodi S3 Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

Pemerian : Cairan berwarna coklat

No	Parameter	Satuan	Hasil Uji	Metode
1	Uji residu n butanol	%	0,13	GC-FID

Depok, 23 Februari 2022
Kepala Laboratorium PPM FFUI,

Prof. Drs. Dr. Hayun M.Si., Apt
NIP.195706131988111001

Lampiran 16. Perhitungan Kurva Kalibrasi

Larutan Induk 1000 µg/ml

$$V1 \text{ mL} \cdot C1 \text{ µg/ml} = V2 \text{ mL} \cdot C2 \text{ µg/ml}$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000.000 \text{ µg/ml} = 10 \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml}$$

$$X = 10 \text{ µL}$$

Dipipet sebanyak 10 µL dari larutan baku nikotin 1000.000 µg/ml, kemudian ad 10 mL dengan dapar fosfat pH 7,4 dalam labu ukur 10 mL.

1) Standar 10 µg/ml

$$V1 \text{ mL} \cdot C1 \text{ µg/ml} = V2 \text{ mL} \cdot C2 \text{ µg/ml}$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 10 \text{ µg/ml}$$

$$X = 10 \text{ µL}$$

Dipipet 10 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL.

2) Standar 20 µg/ml

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 20 \text{ µg/ml}$$

$$X = 20 \text{ µL}$$

Dipipet 20 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL.

3) Standar 40 µg/ml

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 40 \text{ µg/ml}$$

$$X = 40 \text{ µL}$$

Dipipet 40 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL.

4) Standar 60 µg/ml

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 60 \text{ µg/ml}$$

$$X = 60 \text{ µL}$$

Dipipet 60 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL.

Lampiran 16. Perhitungan Kurva Kalibrasi (Lanjutan)**5) Standar 100 µg/ml**

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 100 \text{ µg/ml}$$

$$X = 100 \text{ µL}$$

Dipipet 100 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL.

6) Standar 150 µg/ml

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 150 \text{ µg/ml}$$

$$X = 150 \text{ µL}$$

Dipipet 150 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL.

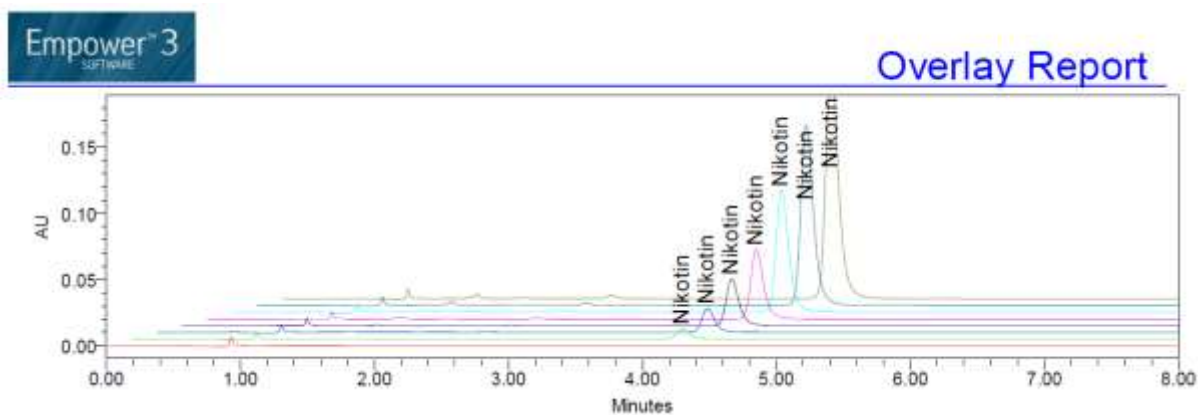
7) Standar 200 µg/ml

$$X \text{ mL} \cdot 1000 \text{ µg/ml} = 1 \text{ mL} \cdot 200 \text{ µg/ml}$$

$$X = 200 \text{ µL}$$

Dipipet 200 µL dari larutan induk di ad hingga 1 mL

Lampiran 17. Kromatogram Validasi Uji Linearitas



System Suitability Summary Results
Name: Nikotin

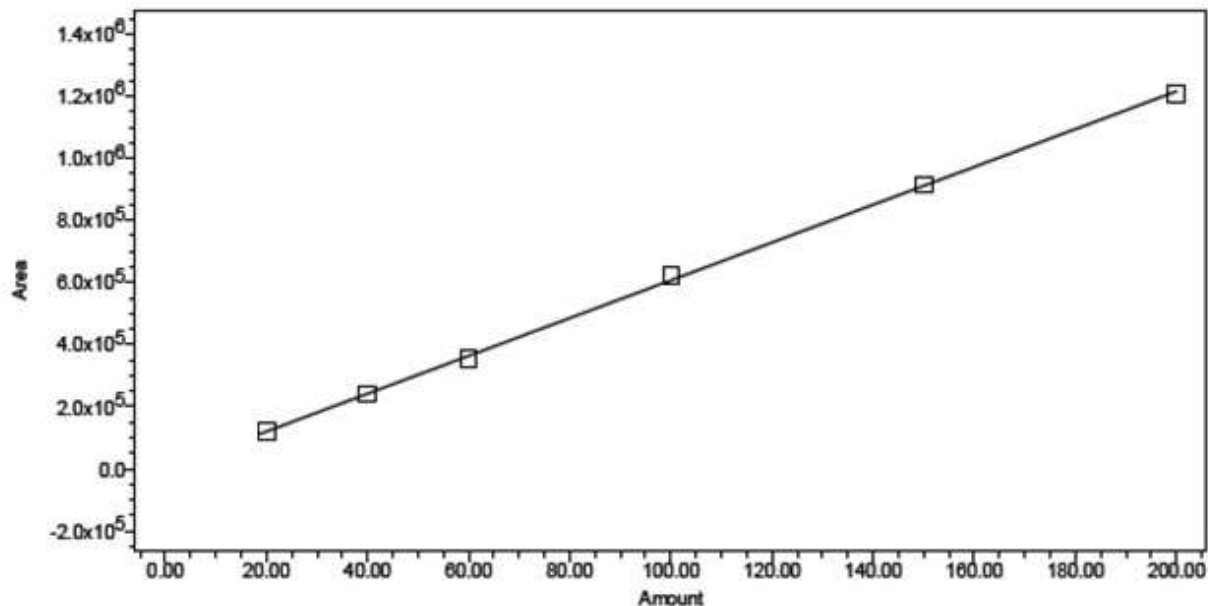
	Sample Name	Name	Vial	RT	Area	USP Resolution	USP Tailing	K Prime	USP Plate Count	Amount
1	Kurva Blank	Nikotin	1:A,2	4.194						
2	Kurva 10 ppm	Nikotin	1:B,1	4.112	54877		1.300	2.748	8732	10.000
3	Kurva 20 ppm	Nikotin	1:B,2	4.109	122622		1.312	2.745	8939	20.000
4	Kurva 40 ppm	Nikotin	1:B,3	4.103	240379		1.323	2.740	9101	40.000
5	Kurva 60 ppm	Nikotin	1:B,4	4.098	355861		1.327	2.735	9099	60.000
6	Kurva 100 ppm	Nikotin	1:B,5	4.099	621383		1.334	2.736	9133	100.000
7	Kurva 150 ppm	Nikotin	1:B,6	4.095	913419		1.342	2.733	9188	150.000
8	Kurva 200 ppm	Nikotin	1:B,7	4.092	1208447		1.352	2.731	9208	200.000
Mean				4.113	502426.696		1.327	2.738	9057.183	82.857
Std. Dev.				0.034	431322.162		0.018	0.006	167.808	70.879
% RSD				0.8	85.8		1.3	0.2	1.9	85.5

Lampiran 18. Kurva Linearitas Nikotin dalam Dapar Fosfat

Empower³
3.11.0000

LC Calibration Report

Processing Method:	Nikotin	System:	Arc_Acquity
Processing Method ID:	4096	Channel:	W2489 ChA
Calibration ID:	4155	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 260nm
Date Calibrated:	03/09/2020 13:25:08 WIT		



No	C Teoritis ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	20	122622
2	40	240379
3	60	355861
4	100	621383
5	150	913419
6	200	1208447

Persamaan regresi linear $y = 436,86 + 6069,3x$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9996

Lampiran 19. Hasil perhitungan data LOD dan LOQ

Tabel. Hasil Perhitungan LOD dan LOQ

No	C Teoritis (µg/ml)	Luas Area (y)	Area Teoritis (yi)	(y-yi) ²
1	10	54877	62552,5359	58913851,3522
2	20	122622	123396,4709	599805,1749
3	40	240379	245084,3409	22140232,9852
4	60	355861	366772,2109	119054523,3043
5	100	621383	610147,9509	126226328,2794
6	150	913419	914367,6259	899891,0982
7	200	1208447	1218587,3009	102825702,3425
$\Sigma(y_i - y)^2$				430660334,5367

Perhitungan (LOD)

$$\sigma^2 = \frac{\Sigma(y - y_i)^2}{n - 2}$$

$$\sigma^2 = \frac{430660334,5367}{3}$$

$$\sigma^2 = 143553445$$

$$\sigma = 11981,38$$

$$LOD = \frac{3,3 \sigma}{S}$$

$$LOD = \frac{3,3 \times 11981,38}{6084}$$

$$LOD = 6,50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

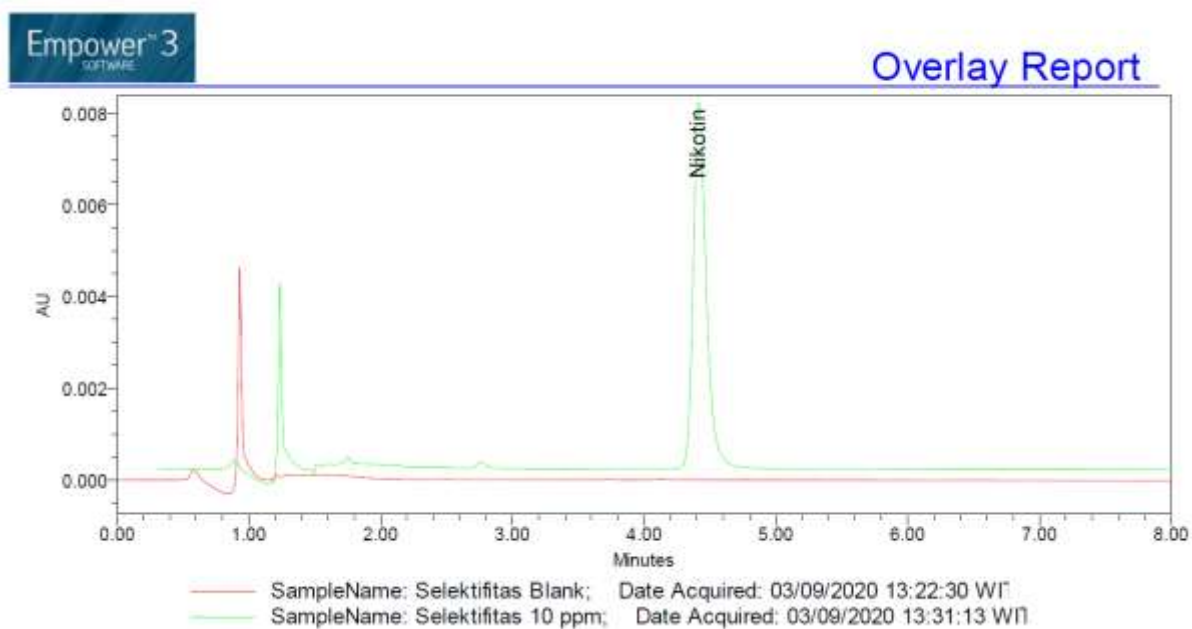
Perhitungan (LOQ)

$$LOD = \frac{10 \sigma}{S}$$

$$LOD = \frac{10 \times 11981,38}{6084}$$

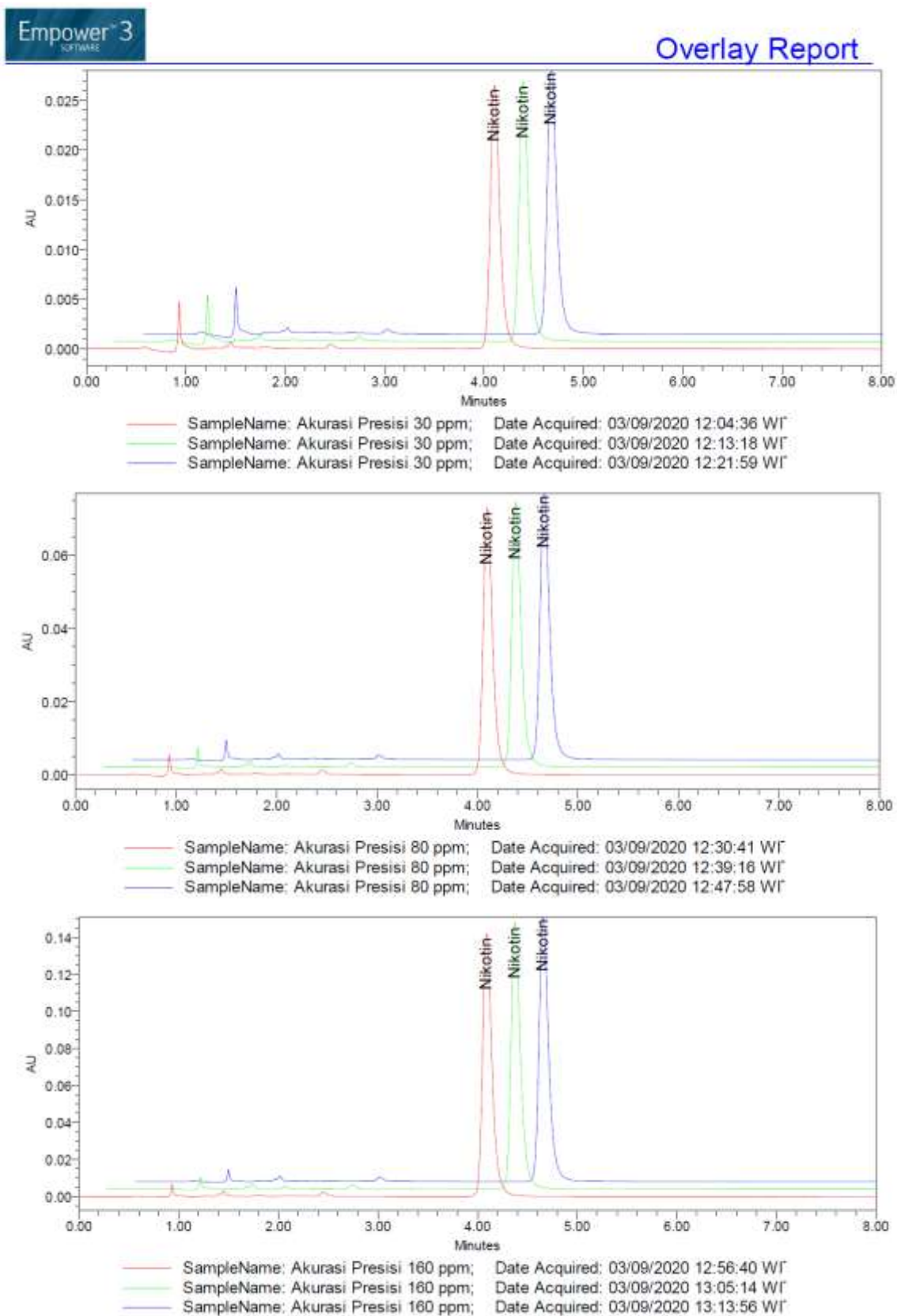
$$LOD = 19,69 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

Lampiran 20. Kromatogram Validasi Uji Selektifitas



	Sample Name	Name	Vial	RT	Area	USP Resolution	USP Tailing	K Prime	USP Plate Count	Amount
1	Selektifitas Blank	Nikotin	1:D,2	4.194						
2	Selektifitas 10 ppm	Nikotin	1:D,3	4.111	54616		1.292	2.748	8795	9.257
Mean				4.153	54616.094		1.292	2.748	8795.093	9.257
Std. Dev.				0.059						
% RSD				1.4						

Lampiran 21. Kromatogram Validasi Uji Akurasi Presisi



Lampiran 22. Perhitungan Penetapan Kadar Nikotin dalam Fraksi n-Butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Hasil Penetapan Kadar Nikotin dalam Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Replika	Luas Area	% Kadar
Fraksi 1	1278771	23,17
Fraksi 2	1179606	21,38
Rata-Rata		22,17
SD		1,27

Contoh Perhitungan Kadar Nikotin pada Fraksi n-butanol Ekstrak Etanol Daun Tembakau dalam Medium Dapar Fosfat pH 7,4 :

Fraksi 1

$$y = 1278771$$

$$y = bx + a$$

$$1278771 = 5533x + 3149$$

$$x = 231,6863 \mu\text{g/mL}$$

mg zat dalam sampel = $(x) \times FP$

$$231,6863 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 2316,8625 \mu\text{g} \sim 2,3169 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{2,3169 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= 23,17 \%$$

Fraksi 2

$$y = 1179606$$

$$y = bx + a$$

$$1179606 = 5533x + 3149$$

$$x = 213,7638 \mu\text{g/mL}$$

mg zat dalam sampel = $(x) \times FP$

$$213,7638 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 2137,638 \mu\text{g} \sim 2,1376 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{2,1376 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= 21,38 \%$$

Lampiran 23. Hasil Pengukuran pH Nanoemulsi

Replika	Formula		
	F1	F2	F3
1	4,30	4,27	4,25
2	4,40	4,26	4,24
3	4,25	4,28	4,26
Rata-Rata	4,32	4,27	4,25
SD	0,08	0,01	0,01

Tabel Hasil Analisis Statistik

ANOVA

Sin_pH						
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	.001	2	.001	1.833	.239	
Within Groups	.002	6	.000			
Total	.003	8				

Lampiran 24. Hasil Pengukuran Bobot Jenis Nanoemulsi

Replika	Bobot Jenis (g/ml)		
	F1	F2	F3
1	0,9526	0,9675	0,9432
2	0,9552	0,9655	0,9448
3	0,9548	0,9660	0,9440
Rata-Rata	0,9542	0,9663	0,9440
SD	0,0014	0,0010	0,0008

Lampiran 25. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi

Formula	Replika	Ukuran Partikel (nm)			Rata-Rata Di 90	SD
		Di10	Di50	Di90		
F1	1	199	254	325	323,67	35,02
	2	171	229	288		
	3	221	286	358		
F2	1	127	128	232	308,67	66,40
	2	86,6	244	347		
	3	86,6	244	347		
F3	1	44,3	51,2	58,6	97,37	45,19
	2	102	123	147		
	3	62,6	73,6	86,5		

Lampiran 26. Hasil Pengujian Indeks Polidispersitas dan Zeta Potensial Nanoemulsi

Replika	<i>Polidispersity Index</i>			<i>Zeta Potensial (mV)</i>		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
1	0,361	0,499	0,780	-36,50	-30,60	-11,50
2	0,521	0,506	1,000	-44,20	-28,60	-14,40
3	0,899	0,506	1,000	-38,30	-32,90	-22,10
Rata-Rata	0,594	0,504	0,927	-41,25	-30,70	-16,00
SD	0,280	0,000	0,130	4,17	2,15	5,48

Lampiran 27. Hasil Penetapan Kadar Nikotin dalam Nanoemulsi

Formula	Luas Area	Kadar Nikotin (%)
F1	1034519	84,21
F2	1010065	82,23
F3	1202753	97,87

Lampiran 28. Hasil Pengukuran pH Sediaan Gel Nanoemulsi

Formula	Replika	Minggu Ke				
		0	2	4	8	12
F1	1	6,45	6,15	5,75	4,77	4,36
	2	6,30	5,85	5,90	4,90	4,35
	3	6,41	6,00	5,89	4,72	4,40
Rata-Rata		6,39	6,00	5,85	4,80	4,37
SD		0,08	0,15	0,08	0,09	0,03
F2	1	6,27	6,00	5,90	4,95	4,26
	2	6,38	6,20	5,75	4,85	4,07
	3	6,39	6,10	5,83	4,82	4,18
Rata-Rata		6,35	6,10	5,83	4,87	4,17
SD		0,07	0,10	0,08	0,07	0,10
F3	1	6,37	6,00	5,91	4,90	4,00
	2	6,27	6,23	5,80	4,80	4,15
	3	6,24	6,12	6,00	4,80	4,01
Rata-Rata		6,29	6,12	5,90	4,83	4,05
SD		0,07	0,12	0,10	0,06	0,08

Lampiran 29. Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi

Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi Setelah Penyimpanan pada Suhu 25°C

Formula	Replika	Viskositas (mPas) pada Minggu Ke-				
		0	2	4	8	12
F1	1	2,685	2,588	2,510	2,528	2,526
	2	2,677	2,600	2,496	2,520	2,538
	3	2,658	2,599	2,501	2,516	2,530
Rata-Rata		2,673	2,596	2,502	2,521	2,531
SD		0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
F2	1	2,448	2,509	2,588	2,501	2,440
	2	2,441	2,500	2,59	2,493	2,451
	3	2,446	2,495	2,582	2,515	2,444
Rata-Rata		2,445	2,501	2,587	2,503	2,445
SD		0,000	0,010	0,000	0,010	0,010
F3	1	2,562	2,558	2,590	2,514	2,479
	2	2,560	2,568	2,581	2,505	2,475
	3	2,554	2,562	2,589	2,512	2,469
Rata-Rata		2,559	2,563	2,587	2,510	2,474
SD		0,000	0,010	0,000	0,000	0,010

Hasil Pengukuran Viskositas Sediaan Gel Nanoemulsi Setelah Penyimpanan pada Suhu 40°C

Formula	Replika	Viskositas (mPas) pada Minggu Ke-				
		0	2	4	8	12
F1	1	2,685	2,687	2,650	2,561	2,492
	2	2,677	2,685	2,640	2,550	2,51
	3	2,658	2,681	2,642	2,560	2,503
Rata-Rata		2,673	2,684	2,644	2,557	2,502
SD		0,010	0,000	0,010	0,010	0,010
F2	1	2,448	2,518	2,525	2,489	2,423
	2	2,441	2,502	2,535	2,485	2,415
	3	2,446	2,510	2,532	2,488	2,412
Rata-Rata		2,445	2,510	2,531	2,487	2,417
SD		0,000	0,010	0,010	0,000	0,010
F3	1	2,562	2,728	2,879	2,700	2,490
	2	2,560	2,736	2,870	2,684	2,515
	3	2,554	2,738	2,866	2,695	2,500
Rata-Rata		2,559	2,734	2,872	2,693	2,502
SD		0,000	0,010	0,010	0,010	0,010

Lampiran 30. Hasil Pengujian Ukuran Partikel, Polydispersity Index dan Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi

Hasil Pengujian Ukuran Partikel Di90 Sediaan Gel Nanoemulsi

Formula	Rata-Rata Ukuran Partikel Di90 (nm) pada Minggu Ke					
	0	2	4	6	8	12
Suhu 25°C						
F1	288±119,15	455±54,86	653±327,87	127±37,92	244±18,58	224±16,44
F2	154±43,31	510±306,05	429±207,15	204±26,58	180±48,59	300±109,61
F3	125±55,64	288±133,84	541±394,41	260±48,12	309±50,24	280±96,36
Suhu 40°C						
F1	288±119,15	222±41,62	596±483,43	219±5,29	2387±2792,75	255±34,67
F2	154±43,31	501±200,14	463±450,97	391±22,27	275±10,82	605±175,64
F3	125±55,64	241±47,38	453±187,01	296±66,43	241±48,64	411±164,63

Hasil pengukuran ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial formula 1, formula 2, formula 3 pada minggu ke-0

Formula	Replika	Diameter (nm)				Polydispersity Index	Zeta Potensial (mV)
		D10	D50	D90	Rata-Rata		
F1	1	99,1	127	152	126,03	0,756	-33,4
	2	58,9	231	338	209,30	0,371	-35,7
	3	70,6	256	374	233,53	0,477	-39,3
F2	1	81,5	96,5	114	97,33	0,597	20,7
	2	96,5	122	148	122,17	0,562	11,9
	3	103	147	200	150,00	0,258	10,7
F3	1	70,4	82,5	97,1	83,33	0,921	-36,1
	2	29,4	148	189	122,13	0,456	-27,6
	3	63,7	76,6	88,7	76,33	0,951	-36,1

Lampiran 30. Hasil Pengujian Ukuran Partikel, Polydispersity Index dan Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi (Lanjutan)

Hasil pengukuran ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial formula 1, formula 2, formula 3 pada minggu ke-2

Formula	Replika	Suhu (°C)	Diameter (nm)				Polydispersity Index
			D10	D50	D90	Rata-Rata	
F1	1	25	51,8	316	432	266,60	0,824
	2		55,9	320	416	263,97	0,545
	3		44,3	414	518	325,43	0,669
F1	1	40	46,9	173	218	145,97	1,000
	2		58,6	188	265	170,53	0,567
	3		101	140	182	141,00	0,558
F2	1	25	93,7	445	863	467,23	0,516
	2		171	245	348	254,67	0,359
	3		157	223	319	233,00	0,473
F2	1	40	152	270	526	316,00	0,393
	2		131	201	290	207,33	0,259
	3		127	323	688	379,33	0,516
F3	1	25	79,4	206	430	238,47	0,518
	2		107	136	164	135,67	0,653
	3		133	198	271	200,67	0,566
F3	1	40	12,2	139	212	121,07	0,245
	2		12,7	140	216	122,90	0,611
	3		11,2	129	296	145,40	0,983

Hasil pengukuran ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial formula 1, formula 2, formula 3 pada minggu ke-4

Formula	Replika	Suhu (°C)	Diameter (nm)				Polydispersity Index
			D10	D50	D90	Rata-Rata	
F1	1	25	23,8	352	432	269,27	1,000
	2		141	787	1030	652,67	0,712
	3		262	385	498	381,67	0,860
F1	1	40	7,88	28,9	39,4	25,39	1,000
	2		9,06	683	913	535,02	0,874
	3		8,58	667	835	503,53	1,000
F2	1	25	11,8	160	318	163,27	0,553
	2		11,5	136	301	149,50	0,367
	3		12,3	311	668	330,43	0,558
F2	1	40	9,19	13,3	472	164,83	0,708
	2		5,27	6,18	7,21	6,22	1,000
	3		11,2	24,8	909	315,00	0,752
F3	1	25	10,9	207	991	402,97	1,000
	2		11,2	169	379	186,40	0,326
	3		10,8	170	254	144,93	0,964
F3	1	40	11	310	411	244,00	0,744
	2		9,96	103	657	256,65	0,644
	3		10,1	171	290	157,03	0,515

Lampiran 30. Hasil Pengujian Ukuran Partikel, Polydispersity Index dan Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi (Lanjutan)

Hasil pengukuran ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial formula 1, formula 2, formula 3 pada minggu ke-6

Formula	Replika	Suhu (°C)	Diameter (nm)				Polydispersity Index
			D10	D50	D90	Rata-Rata	
F1	1	25	91,8	124	157	124,27	0,505
	2		60,6	71,4	84,2	72,07	0,777
	3		83,2	113	139	111,73	0,643
F1	1	40	19,7	150	225	131,57	0,492
	2		25,1	158	215	132,70	0,393
	3		21,1	153	217	130,37	0,315
F2	1	25	12,9	137	179	109,63	0,397
	2		12,8	142	202	118,93	0,343
	3		24,3	166	232	140,77	0,359
F2	1	40	78,2	222	411	237,07	0,446
	2		104	196	395	231,67	0,359
	3		98,8	208	367	224,60	0,358
F3	1	25	107	151	214	157,33	0,296
	2		103	158	256	172,33	0,302
	3		110	187	310	202,33	0,337
F3	1	40	13,2	179	249	147,07	0,431
	2		13,8	169	267	149,93	0,405
	3		16,2	234	372	207,40	0,366

Hasil pengukuran ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial formula 1, formula 2, formula 3 pada minggu ke-8

Formula	Replika	Suhu (°C)	Diameter (nm)				Polydispersity Index
			D10	D50	D90	Rata-Rata	
F1	1	25	13,1	173	239	141,70	0,551
	2		14	182	265	153,67	0,645
	3		14,2	164	229	135,73	0,531
F1	1	40	92,7	3920	5510	3174,23	0,928
	2		10,1	107	130	82,37	1,000
	3		13,4	118	1520	550,47	1,000
F2	1	25	11	124	236	123,67	0,920
	2		10,4	99	155	88,13	0,165
	3		10,4	98	149	85,70	0,212
F2	1	40	11,4	150	284	148,47	0,939
	2		10,5	128	263	133,83	0,879
	3		10,5	139	278	142,50	0,900
F3	1	25	63,3	152	275	163,43	0,353
	2		81,5	159	286	175,50	0,396
	3		62,8	246	367	225,27	0,416
F3	1	40	11,2	212	287	170,07	0,443
	2		11,1	184	245	146,70	0,545
	3		10,5	146	190	115,50	0,709

Lampiran 30. Hasil Pengujian Ukuran Partikel, Polydispersity Index dan Zeta Potensial Sediaan Gel Nanoemulsi (Lanjutan)

Hasil pengukuran ukuran partikel, *polydispersity index* dan zeta potensial formula 1, formula 2, formula 3 pada minggu ke-12

Formula	Replika	Suhu (°C)	Diameter (nm)				Polydispersity Index
			D10	D50	D90	Rata-Rata	
F1	1	25	137	185	236	186,00	0,737
	2		111	168	230	169,67	0,548
	3		114	153	205	157,33	0,921
F1	1	40	22,6	185	227	144,87	0,798
	2		17,2	203	294	171,40	0,368
	3		16,7	181	245	147,57	0,535
F2	1	25	13,3	294	416	241,10	0,832
	2		11,5	146	287	148,17	0,534
	3		12,2	123	198	111,07	0,887
F2	1	40	295	351	421	355,67	0,673
	2		403	502	622	509,00	0,448
	3		463	606	771	613,33	0,467
F3	1	25	16,7	169	235	140,23	0,538
	2		69,1	221	391	227,03	0,473
	3		94,5	159	215	156,17	0,489
F3	1	40	16,6	411	544	323,87	0,701
	2		12,8	258	335	201,93	0,642
	3		9,58	290	354	217,86	0,733

Lampiran 31. Hasil Rata-Rata Pengukuran Indeks Polidispersitas Gel Nanoemulsi

Formula	Rata-Rata <i>Polydispersity Index</i> pada Minggu Ke					
	0	2	4	6	8	12
Suhu 25°C						
F1	0,535±0,20	0,679±0,14	0,857±0,14	0,642±0,14	0,576±0,06	0,735±0,19
F2	0,472±0,19	0,449±0,08	0,493±0,11	0,366±0,03	0,432±0,42	0,751±0,19
F3	0,776±0,28	0,579±0,07	0,763±0,38	0,312±0,02	0,388±0,03	0,500±0,03
Suhu 40°C						
F1	0,535±0,20	0,708±0,25	0,958±0,07	0,400±0,09	0,976±0,04	0,567±0,22
F2	0,472±0,19	0,389±0,13	0,820±0,16	0,388±0,05	0,906±0,03	0,529±0,12
F3	0,776±0,28	0,613±0,37	0,634±0,11	0,401±0,03	0,566±0,13	0,692±0,05

Lampiran 32. Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1

Formula	Waktu (Menit)	Area UHPLC	Konsentrasi (µg/mL)	V Reseptor (mL)	m dalam Reseptor (µg)	FK (µg)	FK Kumulatif (µg)	m Penetrasi Kumulatif (µg)	Kumulatif Fluks per Luas Membran (µg/menit.cm²)	Kadar Obat (µg)	%
1	5	0,00	0,57	15	8,54	0,00	0,00	8,54	13,43	1503,23	0,57
	10	3344	1,17	15	17,60	0,28	0,28	17,89	28,13	1503,23	1,17
	15	1577	0,85	15	12,81	0,59	0,87	13,68	21,52	1503,23	0,91
	30	21991	4,54	15	68,15	0,43	1,30	69,45	109,23	1503,23	4,62
	45	33982	6,71	15	100,66	2,27	3,57	104,23	163,93	1503,23	6,93
	60	44021	8,53	15	127,88	3,36	6,93	134,80	212,01	1503,23	8,97
	90	54426	10,41	15	156,09	4,26	11,19	167,27	263,07	1503,23	11,13
	180	66934	12,67	15	190,00	5,20	16,39	206,39	324,58	1503,23	13,73
	240	73504	13,85	15	207,81	6,33	22,72	230,53	362,56	1503,23	15,34

Lampiran 33. Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2

Formula	Waktu (Menit)	Area UHPLC	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	V Reseptor (mL)	m dalam Reseptor (μg)	FK (μg)	FK Kumulatif (μg)	m Penetrasi Kumulatif (μg)	Kumulatif Fluks per Luas Membran ($\mu\text{g}/\text{menit.cm}^2$)	Kadar Obat (μg)	%
2	5	3795	0,69	15	10,29	0,00	0,00	10,29	16,18	1503,23	0,68
	10	35611	6,44	15	96,54	0,34	0,34	96,88	152,37	1503,23	7,03
	15	67526	12,20	15	183,06	3,22	3,56	186,62	293,50	1503,23	12,41
	30	95678	17,29	15	259,38	6,10	9,66	269,05	423,13	1503,23	17,90
	45	154183	27,87	15	417,99	8,65	18,31	436,30	686,17	1503,23	29,02
	60	172639	31,20	15	468,03	13,93	32,24	500,27	786,77	1503,23	33,28
	90	215547	38,96	15	584,35	15,60	47,84	632,19	994,25	1503,23	42,06
	180	273726	49,47	15	742,07	19,48	67,32	809,39	1272,93	1503,23	53,84
240	289027	52,24	15	783,55	24,74	92,06	875,61	1377,07	1503,23	58,25	

Lampiran 34. Hasil Uji Difusi Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3

Formula	Waktu (Menit)	Area UHPLC	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	V Reseptor (mL)	m dalam Reseptor (μg)	FK (μg)	FK Kumulatif (μg)	m Penetrasi Kumulatif (μg)	Kumulatif Fluks per Luas Membran ($\mu\text{g}/\text{menit.cm}^2$)	Kadar Obat (μg)	%
3	5	9689	1,75	15	26,27	0,00	0,00	26,27	41,31	1503,23	1,75
	10	46790	8,46	15	126,85	0,88	0,88	127,72	200,87	1503,23	8,50
	15	73012	13,20	15	197,94	4,23	5,10	203,04	319,32	1503,23	13,51
	30	124464	22,49	15	337,42	6,60	11,70	349,12	549,07	1503,23	23,23
	45	156855	28,35	15	425,23	11,25	22,95	448,18	704,86	1503,23	29,81
	60	169946	30,71	15	460,72	14,17	37,12	497,85	782,97	1503,23	33,12
	90	241033	43,56	15	653,44	15,36	52,48	705,92	1110,20	1503,23	46,96
	180	352021	63,62	15	954,33	21,78	74,26	1028,59	1617,67	1503,23	68,43
240	369937	66,86	15	1002,90	31,81	106,07	1108,98	1744,08	1503,23	73,77	

Lampiran 35. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau



(a)



(b)



(c)

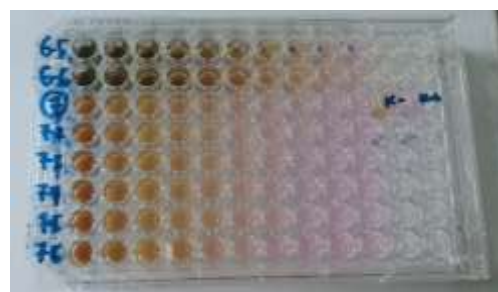
Keterangan : Hasil Percobaan 1 Uji Aktivitas Antijamur. (a) Percobaan uji aktivitas ekstrak pada tabung eppendrof. (b) Hasil plating percobaan 1 : Ekstrak (A2-A4), Fraksi DCM (B2-B4), Fraksi etil asetat (C2-C4), Fraksi N-butanol (D2-D4), Fraksi Air (E2-E4), Kontrol positif (K+) dan Kontrol negatif (K-)



(a)



(b)



(c)

Keterangan : Hasil pengamatan uji aktivitas antijamur pada tabung eppendrof : Fraksi DCM (2-2.6); Fraksi Etil Asetat (3-3.6); Fraksi N-butanol (4-4.6); Ketokonazol (5-5.3); Ekstrak (6-6.6); Fraksi Air (7-7.6); Kontrol positif (K+); Kontrol negatif (K-)

Lampiran 35. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau (Lanjutan)



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Keterangan : Hasil platting percobaan 2 uji aktivitas antijamur. (a) Fraksi DCM (b) Fraksi Etil Asetat (c) Fraksi N-butanol (d) Ketokonazol, kontrol positif dan kontrol negatif (e) ekstrak (f) fraksi air



(a)



(b)



(c)



(d)



(d)



(f)



(g)

Keterangan : Hasil pengamatan pengujian aktivitas antijamur. (a) Ekstrak; (b) Fraksi DCM; (c) Fraksi Etil Asetat; (d) Fraksi n-butanol; (e) Fraksi Air; (f) Fraksi n-Heksana; (g) Ketokonazol

Lampiran 35. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Tembakau (Lanjutan)



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)

Keterangan : Hasil pengamatan platting pengujian aktivitas antijamur. (a) Ekstrak; (b) Fraksi DCM; (c) Fraksi Etil Asetat; (d) Fraksi n-butanol; (e) Fraksi Air; (f) Fraksi n-heksan; (g) Ketokonazol

Lampiran 36. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi Formula 1

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F1 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 11:09:41 AM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

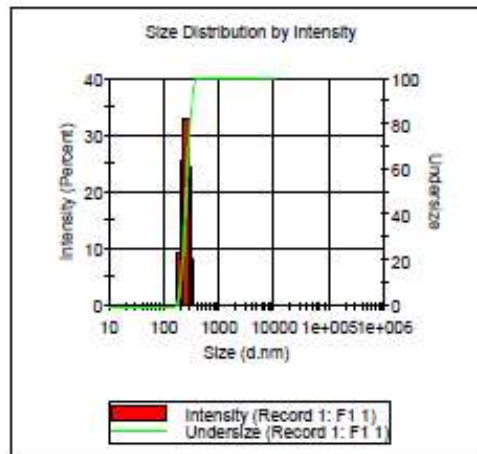
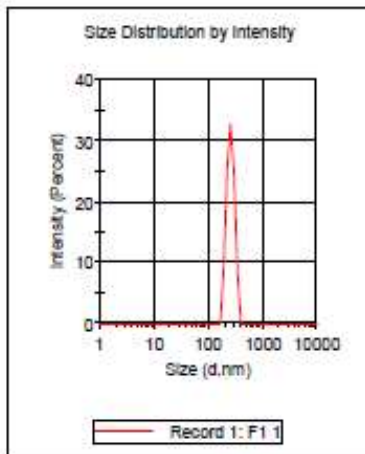
Z-Avg (nm): 453.4
 Pd Index: 0.361
 Pd (nm): 272.4
 %Pd: 60.1
 Derived kope: 505.8

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 257.2	100.0	41.45	16.1
Peak 2: 0.000	0.0	0.000	0
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	199
50	254
90	325
100	396



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	0.0		460.7	0.0	
0.4632	0.0		15.69	0.0		531.2	0.0	
0.5365	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.1117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.284	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.325	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.29	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.9	0.0		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	0.0		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	9.2		6430	0.0	
6.503	0.0		220.2	26.4		7455	0.0	
7.531	0.0		265.0	32.7		8635	0.0	
8.721	0.0		295.3	34.3		1.000e4	0.0	
10.10	0.0		342.0	8.4				
11.70	0.0		395.1	0.0				

Lampiran 37. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi Formula 2

Intensity Peak Statistics
v2.1



Sample Details

Name: F2 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 11:17:04 AM
 \$OP: mansettings.nano

Cumulant Results

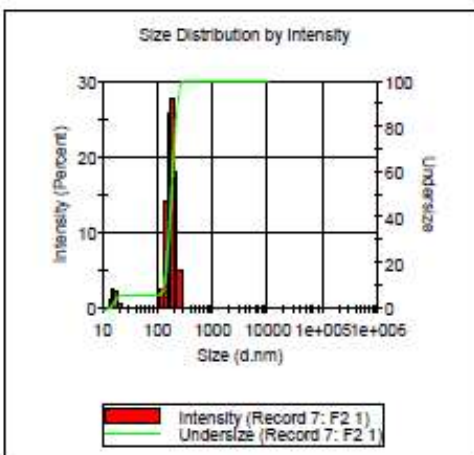
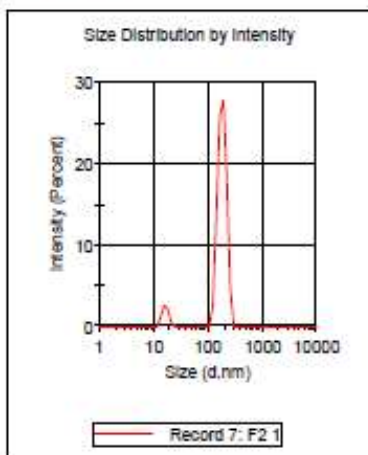
Z-Avg (nm): 393.6
 Pd Index: 0.499
 Pd (nm): 278.1
 %Pd: 70.7
 Derived kcps: 215.9

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 183.0	93.5	31.89	17.4
Peak 2: 16.59	6.5	2.131	12.8
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	127
50	178
90	232
100	295



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.84	1.2		450.7	0.0	
0.4832	0.0		15.69	2.5		531.2	0.0	
0.5385	0.0		18.17	2.2		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.6		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.705	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.08	0.0		2305	0.0	
2.325	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.656	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	3.7		4145	0.0	
4.137	0.0		141.5	14.1		4801	0.0	
4.689	0.0		164.2	26.5		5550	0.0	
5.275	0.0		190.1	27.8		6430	0.0	
5.893	0.0		220.2	18.2		7456	0.0	
6.531	0.0		265.0	4.9		8635	0.0	
7.221	0.0		295.3	0.0		1.000e4	0.0	
7.970	0.0		342.0	0.0				
8.770	0.0		395.1	0.0				

Lampiran 38. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Nanoemulsi Formula 3

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F3 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 11:27:21 AM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 1.164e4
 Pd Index: 0.780
 Pd (nm): 10277.1
 %Pd: 88.3

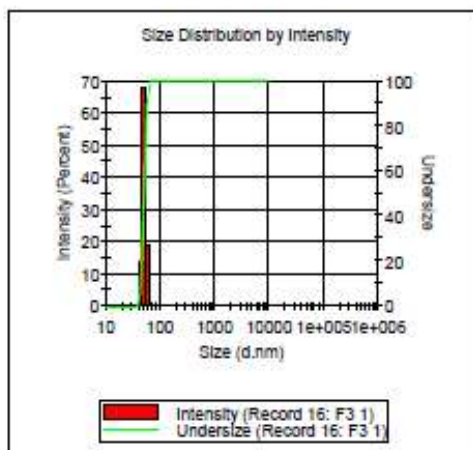
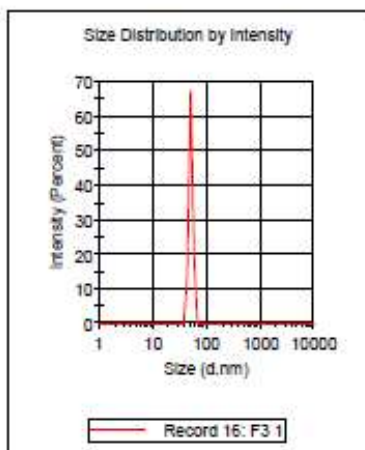
Distribution Results

	Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1:	51.28	100.0	4.279	8.3
Peak 2:	0.000	0.0	0.000	0
Peak 3:	0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	44.3
50	51.2
90	58.6
100	68.1

Derived kcps: 1509.0



Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0	0.0	13.54	0.0	0.0	456.7	0.0	0.0
0.4632	0.0	0.0	15.89	0.0	0.0	531.2	0.0	0.0
0.5398	0.0	0.0	18.17	0.0	0.0	615.1	0.0	0.0
0.6213	0.0	0.0	21.04	0.0	0.0	712.4	0.0	0.0
0.7198	0.0	0.0	24.38	0.0	0.0	825.0	0.0	0.0
0.8332	0.0	0.0	28.21	0.0	0.0	955.4	0.0	0.0
0.9649	0.0	0.0	32.67	0.0	0.0	110.6	0.0	0.0
1.117	0.0	0.0	37.94	0.0	0.0	1281	0.0	0.0
1.284	0.0	0.0	43.82	13.8	0.0	1484	0.0	0.0
1.469	0.0	0.0	50.75	27.8	0.0	1718	0.0	0.0
1.736	0.0	0.0	58.77	48.6	0.0	1980	0.0	0.0
2.010	0.0	0.0	68.06	0.0	0.0	2326	0.0	0.0
2.328	0.0	0.0	78.82	0.0	0.0	2699	0.0	0.0
2.695	0.0	0.0	91.28	0.0	0.0	3091	0.0	0.0
3.122	0.0	0.0	105.7	0.0	0.0	3580	0.0	0.0
3.615	0.0	0.0	122.4	0.0	0.0	4145	0.0	0.0
4.187	0.0	0.0	141.8	0.0	0.0	4801	0.0	0.0
4.849	0.0	0.0	164.2	0.0	0.0	5560	0.0	0.0
5.615	0.0	0.0	190.1	0.0	0.0	6430	0.0	0.0
6.503	0.0	0.0	220.2	0.0	0.0	7456	0.0	0.0
7.531	0.0	0.0	255.0	0.0	0.0	8636	0.0	0.0
8.721	0.0	0.0	295.3	0.0	0.0	1.000e4	0.0	0.0
10.10	0.0	0.0	342.0	0.0	0.0			
11.70	0.0	0.0	395.1	0.0	0.0			

Lampiran 39. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-0

Intensity Peak Statistics

v2.1



Sample Details

Name: F1 2
 Filename: Nanoemulgel Eks Tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 10:37:48 AM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 338.5
 Pd Index: 0.371
 Pd (nm): 206.1
 %Pd: 60.9

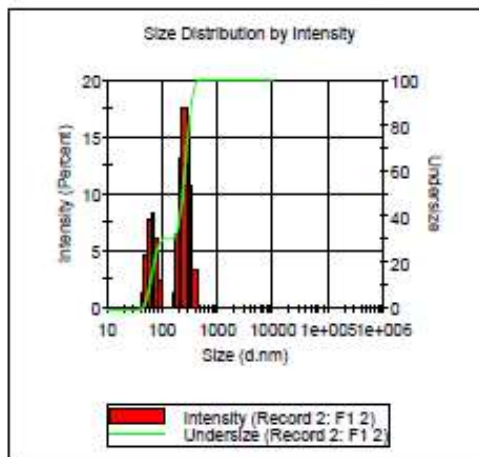
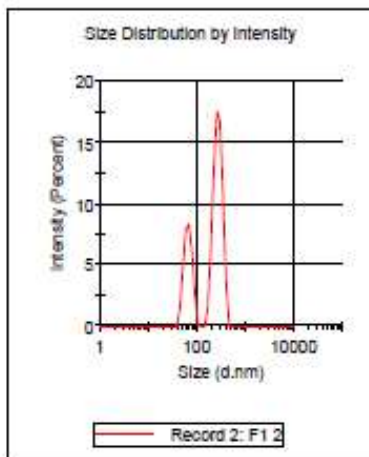
Derived kcps: 906.2

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 270.6	69.3	55.36	20.5
Peak 2: 66.15	30.7	12.58	19.0
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	58.9
50	231
90	338
100	459



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	0.0		458.7	0.0	
0.4632	0.0		16.69	0.0		531.2	0.0	
0.5386	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.1117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.284	0.0		43.82	1.3		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	4.7		1718	0.0	
1.738	0.0		58.77	7.8		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	8.4		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	6.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.26	2.5		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.1		3680	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4345	0.0	
4.187	0.0		141.8	0.0		5091	0.0	
4.849	0.0		164.2	1.4		5923	0.0	
5.615	0.0		190.1	6.4		6839	0.0	
6.503	0.0		220.2	33.1		7856	0.0	
7.531	0.0		266.0	17.8		8995	0.0	
8.721	0.0		319.5	16.7		10364	0.0	
10.10	0.0		382.0	10.7				
11.70	0.0		456.1	3.4				

Lampiran 40. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-0

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F2 3
 Filename: Nanoemulgel Eks Tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 10:46:10 AM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

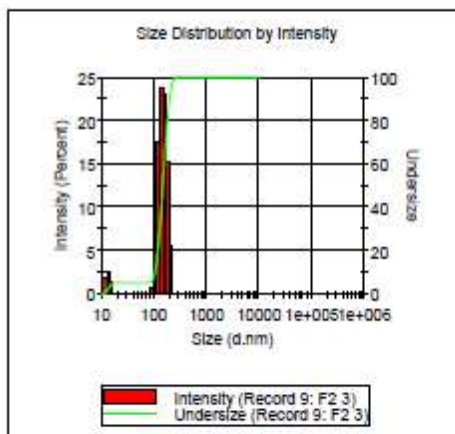
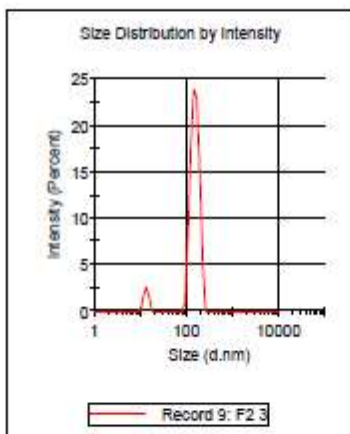
Z-Avg (nm): 227.0
 Pd Index: 0.258
 Pd (nm): 115.4
 %Pd: 50.8
 Derived kcps: 161.1

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 152.8	94.0	30.86	20.2
Peak 2: 13.45	6.0	1.554	11.6
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	103
50	147
90	200
100	255



Size μ m	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size μ m	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size μ m	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	2.5		450.7	0.0	
0.4632	0.0		15.69	1.5		531.2	0.0	
0.5395	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.495	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.726	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2325	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2759	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.9		3301	0.0	
3.122	0.0		105.7	7.8		3880	0.0	
3.615	0.0		122.4	17.4		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	20.9		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	20.0		5580	0.0	
5.615	0.0		190.1	15.4		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	5.6		7458	0.0	
7.531	0.0		255.0	0.0		8639	0.0	
8.721	0.0		295.3	0.0		1.000e+4	0.0	
10.10	0.1		342.0	0.0				
11.70	1.8		396.1	0.0				

Lampiran 41. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-0

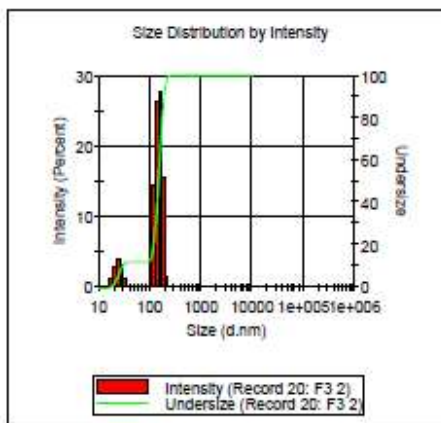
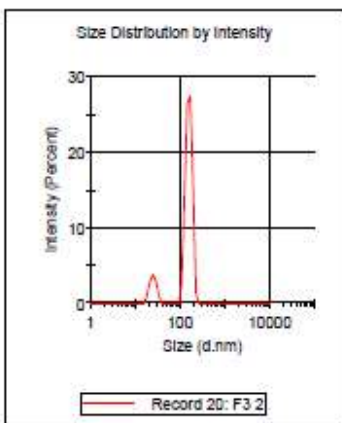
Intensity Peak Statistics
v2.1



Sample Details

Name: F3 2
 Filename: Nanoemulgel Eks Tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 11:02:34 AM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 421.5	Size (d.nm):	DI (%) Size (d.nm):
Pd Index: 0.456	Peak 1: 154.5 87.7 24.73 16.0	10 29.4
Pd (nm): 284.7	Peak 2: 24.89 12.3 4.104 16.5	50 148
%Pd: 67.5	Peak 3: 0.000 0.0 0.000 0	90 189
Derived kcps: 139.4		100 255



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		12.54	0.0		450.7	0.0	
0.4600	0.0		15.69	0.0		531.2	0.0	
0.5386	0.0		19.17	1.1		616.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	2.9		712.4	0.0	
0.7106	0.0		24.36	3.9		826.0	0.0	
0.8030	0.0		28.21	3.2		956.4	0.0	
0.9049	0.0		32.67	1.3		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.64	0.0		1281	0.0	
1.354	0.0		43.62	0.0		1464	0.0	
1.629	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.695	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	2.6		3660	0.0	
3.615	0.0		122.4	14.3		4148	0.0	
4.167	0.0		141.5	36.3		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	27.6		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	15.6		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	1.4		7466	0.0	
7.501	0.0		265.0	0.0		8638	0.0	
8.721	0.0		295.3	0.0		1.000e4	0.0	
10.10	0.0		342.0	0.0				
11.70	0.0		396.1	0.0				

Lampiran 42. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-2 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F1 25 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Wednesday, February 9, 2022 4:08:35 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

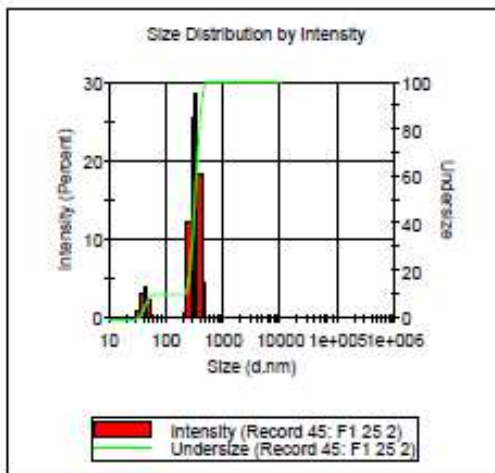
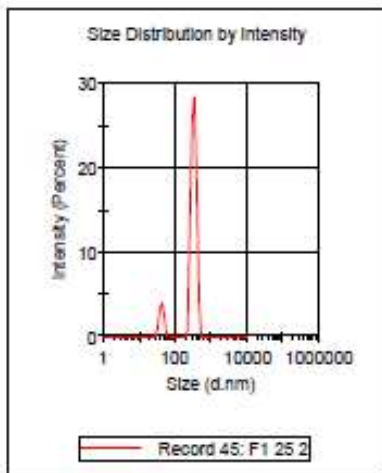
Z-Avg (nm): 517.5
 Pd Index: 0.545
 Pd (nm): 382.2
 %Pd: 73.9
 Derived kcps: 243.6

Distribution Results

Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 332.9	89.5	54.31	16.3
Peak 2: 42.74	10.5	5.653	13.2
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	55.9
50	320
90	416
100	531



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0	0.0	13.54	0.0	0.0	458.7	4.4	0.0
0.4932	0.0	0.0	15.89	0.0	0.0	531.2	0.0	0.0
0.5388	0.0	0.0	18.17	0.0	0.0	615.1	0.0	0.0
0.6213	0.0	0.0	21.04	0.0	0.0	712.4	0.0	0.0
0.7196	0.0	0.0	24.36	0.0	0.0	825.0	0.0	0.0
0.8332	0.0	0.0	28.21	0.0	0.0	955.4	0.0	0.0
0.9649	0.0	0.0	32.67	0.9	0.0	1106	0.0	0.0
1.117	0.0	0.0	37.84	3.1	0.0	1281	0.0	0.0
1.284	0.0	0.0	43.82	4.0	0.0	1484	0.0	0.0
1.469	0.0	0.0	50.75	2.4	0.0	1718	0.0	0.0
1.738	0.0	0.0	58.77	0.0	0.0	1990	0.0	0.0
2.010	0.0	0.0	68.06	0.0	0.0	2305	0.0	0.0
2.328	0.0	0.0	78.82	0.0	0.0	2689	0.0	0.0
2.696	0.0	0.0	91.28	0.0	0.0	3091	0.0	0.0
3.122	0.0	0.0	105.7	0.0	0.0	3580	0.0	0.0
3.615	0.0	0.0	122.4	0.0	0.0	4145	0.0	0.0
4.187	0.0	0.0	141.8	0.0	0.0	4801	0.0	0.0
4.849	0.0	0.0	164.2	0.0	0.0	5580	0.0	0.0
5.615	0.0	0.0	190.1	0.0	0.0	6439	0.0	0.0
6.503	0.0	0.0	220.2	0.7	0.0	7456	0.0	0.0
7.531	0.0	0.0	255.0	12.2	0.0	8636	0.0	0.0
8.721	0.0	0.0	295.3	25.4	0.0	1.000e+005	0.0	0.0
10.10	0.0	0.0	342.0	28.5	0.0			
11.70	0.0	0.0	395.1	18.4	0.0			

Lampiran 43. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-2 Suhu 40°C

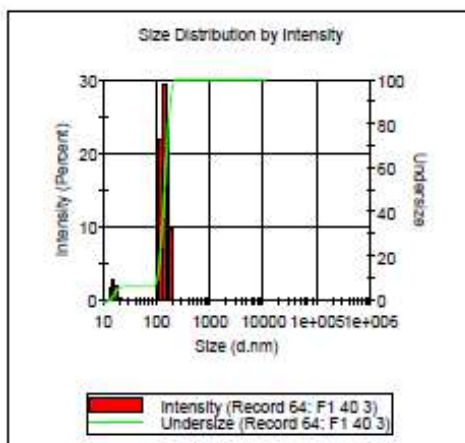
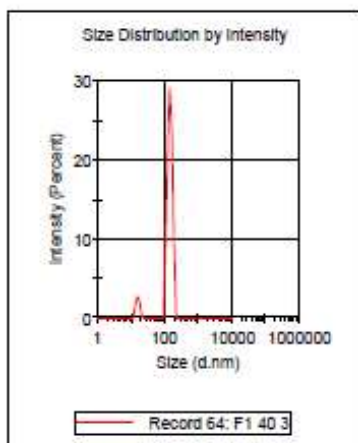
Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F1 40 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Wednesday, February 9, 2022 4:32:26 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 346.3	Size (d.nm):	DI (%)
Pd Index: 0.558	Peak 1: 144.6	Size (d.nm):
Pd (nm): 258.8	Peak 2: 16.31	10 101
%Pd: 74.7	Peak 3: 0.000	50 140
Derived kcps: 189.4	% Int	90 182
	σ	100 220
	%Pd	



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	1.5		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	2.8		531.2	0.0	
0.5395	0.0		18.17	2.1		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.8		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8352	0.0		28.21	0.0		954.4	0.0	
0.9648	0.0		32.67	0.0		1101.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.62	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	8.6		3580	0.0	
3.615	0.0		124.4	21.9		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	26.1		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	22.8		5550	0.0	
5.615	0.0		190.1	8.7		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	0.0		7488	0.0	
7.531	0.0		256.0	0.0		8639	0.0	
8.721	0.0		298.3	0.0		1.000e+4	0.0	
10.10	0.0		342.0	0.0				
11.70	0.0		396.1	0.0				

Lampiran 44. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-2 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F2 25 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Wednesday, February 9, 2022 4:15:04 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 255.1
 Pd Index: 0.359
 Pd (nm): 152.9
 %Pd: 60.0

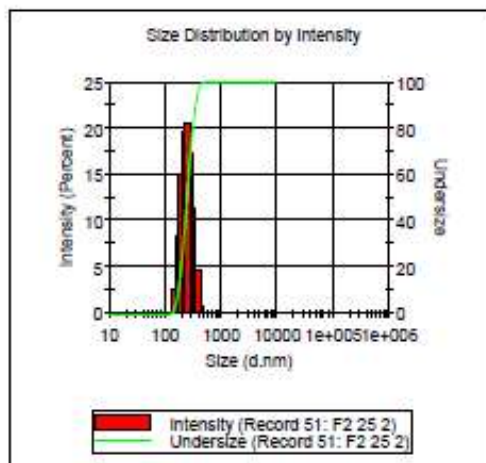
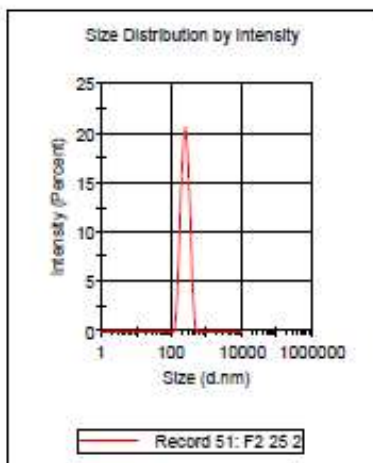
Derived kcps: 418.1

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 252.5	100.0	64.96	25.7
Peak 2: 0.000	0.0	0.000	0
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	171
50	245
90	348
100	531



Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	0.0		458.7	0.6	
0.4632	0.0		15.69	0.0		531.2	0.0	
0.5395	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.64	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.706	0.0		58.77	0.0		1983	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2325	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2699	0.0	
2.696	0.0		91.23	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	2.7		4807	0.0	
4.849	0.0		164.2	8.4		5582	0.0	
5.615	0.0		190.1	14.9		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	19.6		7456	0.0	
7.531	0.0		255.0	20.6		8635	0.0	
8.721	0.0		295.3	17.3		1.000e4	0.0	
10.10	0.0		342.0	11.2				
11.70	0.0		396.1	4.7				

Lampiran 45. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-2 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F2 40 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Wednesday, February 9, 2022 4:38:06 PM
 \$OP: mansettings.nano

Cumulant Results

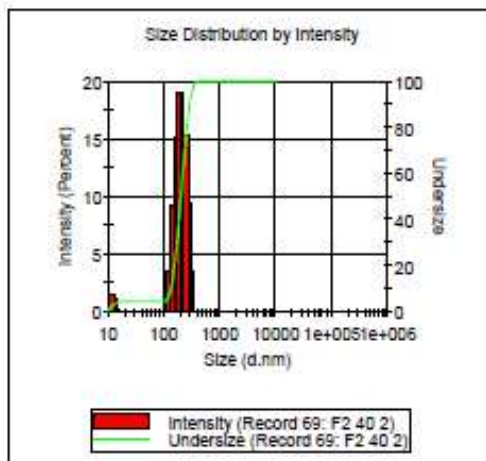
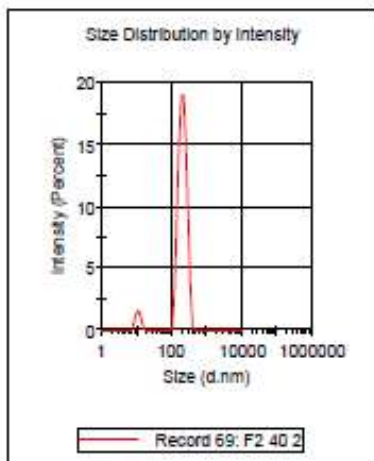
Z-Avg (nm): 248.8
 Pd Index: 0.259
 Pd (nm): 126.7
 %Pd: 50.9
 Derived kcps: 458.2

Distribution Results

Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 211.3	94.8	54.64	25.9
Peak 2: 11.52	5.2	1.892	16.4
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	131
50	201
90	290
100	459



Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	1.1		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.88	0.3		531.2	0.0	
0.5386	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.1117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.2864	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.4899	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.686	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.3		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	3.8		4145	0.0	
4.167	0.0		141.6	9.3		4801	0.0	
4.840	0.0		164.2	15.2		5550	0.0	
5.615	0.0		190.1	18.8		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	18.0		7486	0.0	
7.531	0.0		265.0	15.3		8835	0.0	
8.721	0.7		325.3	9.4		1.000e4	0.0	
10.10	1.4		342.0	3.5				
11.70	1.8		396.1	0.2				

Lampiran 46. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-2 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics
v2.1



Sample Details

Name: F3 25 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Wednesday, February 9, 2022 4:25:53 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

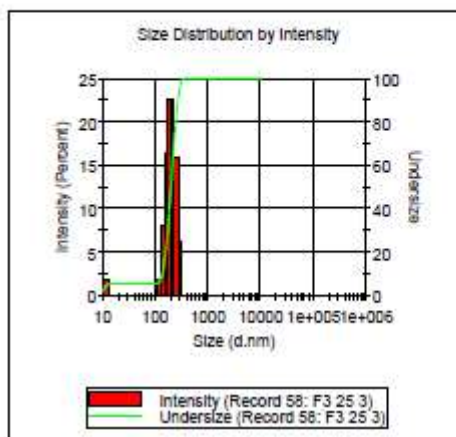
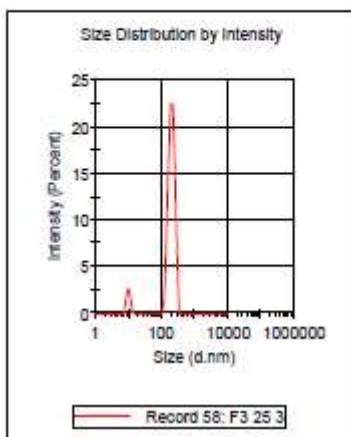
Z-Avg (nm): 327.1
 Pd index: 0.566
 Pd (nm): 246.1
 %Pd: 75.2
 Derived kpc: 533.2

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 205.5	93.5	43.22	21.0
Peak 2: 10.34	6.5	1.262	12.2
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	133
50	198
90	271
100	342



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	0.0		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	0.0		531.2	0.0	
0.5398	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.39	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.57	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.54	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.02	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.29	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	1.8		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	5.1		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	18.4		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	22.4		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	22.4		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	15.8		8635	0.0	
8.721	1.8		305.3	6.4		1.000e4	0.0	
10.10	2.8		342.0	0.0				
11.70	1.8		395.1	0.0				

Lampiran 47. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-2 Suhu 40°C

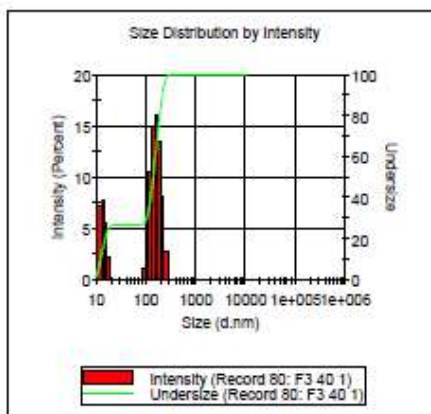
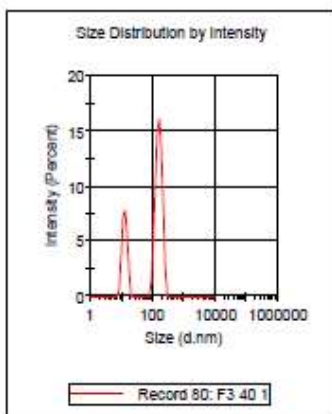
Intensity Peak Statistics
v2.1



Sample Details

Name: F3 40 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Wednesday, February 9, 2022 4:45:17 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 155.0	Size (d.nm):	DI (%) Size (d.nm):
Pd Index: 0.245	Peak 1: 162.8 72.6 38.63 23.7	10 12.2
Pd (nm): 76.7	Peak 2: 13.32 27.4 2.428 18.2	50 139
%Pd: 49.5	Peak 3: 0.000 0.0 0.000 0	90 212
Derived kcps: 156.0		100 295



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	7.8		450.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	5.8		501.2	0.0	
0.5398	0.0		18.17	2.3		515.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.1		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.56	0.0		826.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		945.4	0.0	
0.9645	0.0		32.87	0.0		110.6	0.0	
1.1117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.284	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.738	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2683	0.0	
2.698	0.0		91.28	1.3		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	5.2		3680	0.0	
3.615	0.0		122.4	10.5		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	14.9		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	18.1		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	13.8		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	9.3		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	2.8		8625	0.0	
8.721	0.5		308.3	0.0		1.000e+4	0.0	
10.10	3.9		342.0	0.0				
11.70	7.2		386.1	0.0				

Lampiran 48. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-4 Suhu 25°C

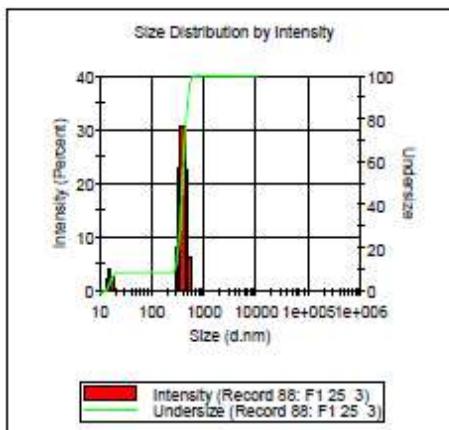
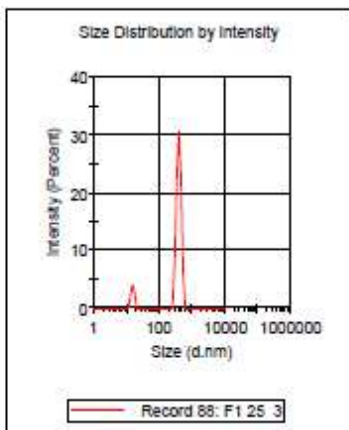
Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F1 25 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Tuesday, March 1, 2022 2:44:51 PM
 \$OP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 1055	Size (d.nm):	DI (%) Size (d.nm):
Pd Index: 0.660	Peak 1: 398.8 90.7 62.66 15.7	10 262
Pd (nm): 978.7	Peak 2: 15.85 9.3 1.714 10.8	50 385
%Pd: 92.8	Peak 3: 0.000 0.0 0.000 0	90 498
Derived kcps: 1263.4		100 615



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0	0.0	13.84	2.4	0.0	458.7	22.5	0.0
0.4652	0.0	0.0	15.89	4.3	0.0	531.2	6.6	0.0
0.5396	0.0	0.0	18.17	2.7	0.0	616.1	0.0	0.0
0.6213	0.0	0.0	21.04	0.0	0.0	712.4	0.0	0.0
0.7106	0.0	0.0	24.36	0.0	0.0	828.0	0.0	0.0
0.8332	0.0	0.0	28.21	0.0	0.0	965.4	0.0	0.0
0.9649	0.0	0.0	32.67	0.0	0.0	110.6	0.0	0.0
1.1117	0.0	0.0	37.84	0.0	0.0	1281	0.0	0.0
1.284	0.0	0.0	43.82	0.0	0.0	1464	0.0	0.0
1.489	0.0	0.0	50.78	0.0	0.0	1718	0.0	0.0
1.736	0.0	0.0	58.77	0.0	0.0	1990	0.0	0.0
2.010	0.0	0.0	68.06	0.0	0.0	2306	0.0	0.0
2.328	0.0	0.0	78.62	0.0	0.0	2669	0.0	0.0
2.696	0.0	0.0	91.28	0.0	0.0	3091	0.0	0.0
3.122	0.0	0.0	105.7	0.0	0.0	3580	0.0	0.0
3.615	0.0	0.0	122.4	0.0	0.0	4146	0.0	0.0
4.187	0.0	0.0	141.8	0.0	0.0	4801	0.0	0.0
4.849	0.0	0.0	164.2	0.0	0.0	5560	0.0	0.0
5.615	0.0	0.0	190.1	0.0	0.0	6439	0.0	0.0
6.503	0.0	0.0	220.2	0.0	0.0	7456	0.0	0.0
7.531	0.0	0.0	265.0	0.0	0.0	8636	0.0	0.0
8.721	0.0	0.0	325.3	8.0	0.0	1.000e4	0.0	0.0
10.10	0.0	0.0	392.0	25.0	0.0			
11.70	0.0	0.0	466.1	30.6	0.0			

Lampiran 49. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-4 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F1 40 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Tuesday, March 1, 2022 3:13:20 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

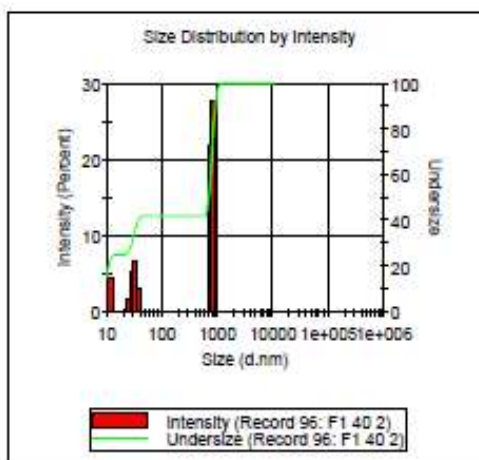
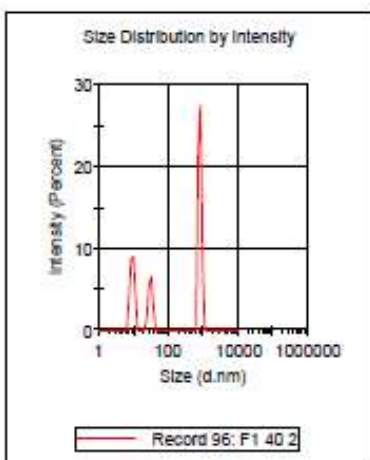
Z-Avg (nm): 1236
 Pd Index: 0.874
 Pd (nm): 1155.4
 %Pd: 93.5
 Derived kcps: 596.6

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 801.3	57.6	81.80	10.2
Peak 2: 9.555	25.5	1.297	13.6
Peak 3: 31.35	16.9	4.056	12.9

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	9.06
50	683
90	913
100	1110



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	0.0		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.69	0.0		531.2	0.0	
0.5265	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	21.8	
0.7195	0.0		24.98	1.7		825.0	27.5	
0.8332	0.0		28.21	5.5		955.4	8.3	
0.9649	0.0		32.67	6.6		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	3.1		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.738	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	0.0		2689	0.0	
2.695	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.0		3680	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.167	0.0		141.5	0.0		4801	0.0	
4.840	0.0		164.2	0.0		5550	0.0	
5.615	0.0		190.1	0.0		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	0.0		7456	0.0	
7.501	3.5		265.0	0.0		8639	0.0	
8.721	8.6		325.0	0.0		1.000e+04	0.0	
10.18	0.0		342.0	0.0				
11.70	4.4		395.1	0.0				

Lampiran 50. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-4 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics

v2.1



Sample Details

Name: F2 25 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Tuesday, March 1, 2022 2:46:31 PM
 \$OP: mansettings.nano

Cumulant Results

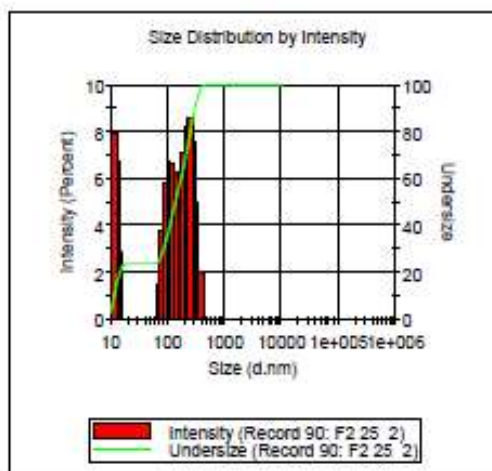
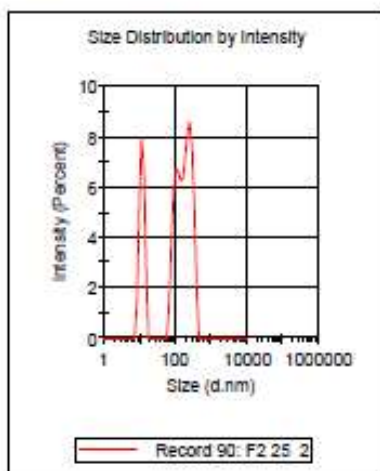
Z-Avg (nm): 201.5
 Pd Index: 0.367
 Pd (nm): 122.1
 %Pd: 60.6
 Derived kcps: 638.9

Distribution Results

	Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1:	235.3	48.1	68.88	29.3
Peak 2:	108.7	29.0	22.65	20.8
Peak 3:	12.15	23.0	1.928	15.9

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	11.5
50	136
90	301
100	459



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0	0.0	13.54	8.7	0.0	459.7	0.0	0.0
0.4632	0.0	0.0	15.69	2.9	0.0	531.2	0.0	0.0
0.5268	0.0	0.0	18.17	0.0	0.0	615.1	0.0	0.0
0.6213	0.0	0.0	21.04	0.0	0.0	712.4	0.0	0.0
0.7196	0.0	0.0	24.58	0.0	0.0	825.0	0.0	0.0
0.8332	0.0	0.0	28.21	0.0	0.0	955.4	0.0	0.0
0.9649	0.0	0.0	32.87	0.0	0.0	110.6	0.0	0.0
1.117	0.0	0.0	37.84	0.0	0.0	1281	0.0	0.0
1.294	0.0	0.0	43.62	0.0	0.0	1484	0.0	0.0
1.489	0.0	0.0	50.75	0.0	0.0	1718	0.0	0.0
1.738	0.0	0.0	58.77	0.0	0.0	1990	0.0	0.0
2.010	0.0	0.0	68.06	1.5	0.0	2305	0.0	0.0
2.328	0.0	0.0	78.62	3.9	0.0	2689	0.0	0.0
2.696	0.0	0.0	91.28	5.9	0.0	3091	0.0	0.0
3.122	0.0	0.0	105.7	8.7	0.0	3680	0.0	0.0
3.615	0.0	0.0	122.4	6.6	0.0	4145	0.0	0.0
4.187	0.0	0.0	141.8	6.2	0.0	4801	0.0	0.0
4.849	0.0	0.0	164.2	8.3	0.0	5580	0.0	0.0
5.615	0.0	0.0	190.1	7.1	0.0	6439	0.0	0.0
6.503	0.0	0.0	220.2	8.2	0.0	7456	0.0	0.0
7.531	0.0	0.0	255.0	8.8	0.0	8635	0.0	0.0
8.721	1.4	0.0	295.3	7.8	0.0	1.000e4	0.0	0.0
10.10	5.4	0.0	342.0	5.0	0.0			
11.70	7.9	0.0	395.1	2.0	0.0			

Lampiran 51. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-4 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F2 40 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Tuesday, March 1, 2022 3:23:11 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

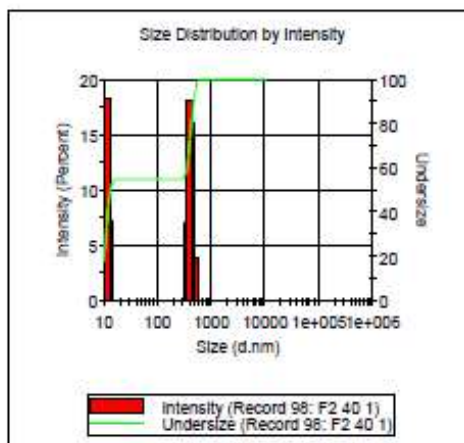
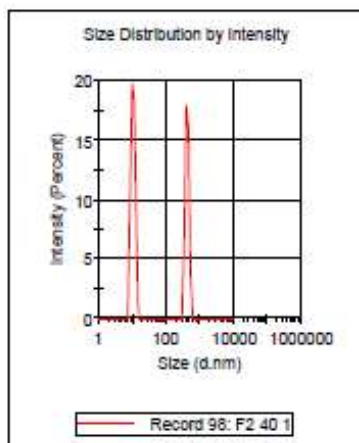
Z-Avg (nm): 558.6
 Pd Index: 0.708
 Pd (nm): 470.1
 %Pd: 84.1
 Derived kcps: 60.4

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 10.84	55.3	1.486	13.7
Peak 2: 421.5	44.7	52.69	12.5
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	9.19
50	13.3
90	472
100	615



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	7.3		450.7	15.0	
0.4632	0.0		15.89	0.0		531.2	3.8	
0.5368	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.62	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.167	0.0		141.8	0.0		4801	0.0	
4.789	0.0		164.2	0.0		5560	0.0	
5.485	0.0		190.1	0.0		6439	0.0	
6.263	0.0		220.2	0.0		7456	0.0	
7.131	0.0		255.0	0.0		8635	0.0	
8.097	0.0		295.3	0.0		1.000e4	0.0	
9.170	19.8		342.0	7.2				
10.35	18.3		395.1	17.9				

Lampiran 52. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-4 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F3 25 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Tuesday, March 1, 2022 2:48:28 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

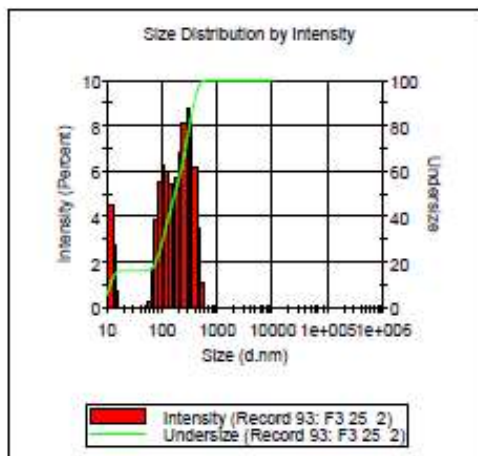
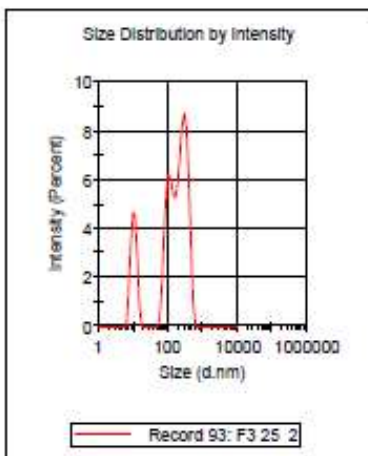
Z-Avg (nm): 288.7
 Pd Index: 0.326
 Pd (nm): 164.8
 %Pd: 57.1
 Derived kcps: 197.0

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 289.8	50.9	90.62	31.3
Peak 2: 115.5	32.7	29.81	25.8
Peak 3: 10.89	16.3	2.057	18.9

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	11.2
50	169
90	379
100	615



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	2.8		458.7	3.5	
0.4632	0.0		15.89	0.8		531.2	1.1	
0.5395	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7108	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8032	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9049	0.0		32.87	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.284	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.3		1980	0.0	
2.010	0.0		68.08	1.8		2306	0.0	
2.328	0.0		78.82	3.9		2689	0.0	
2.696	0.0		91.28	5.5		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	8.2		3660	0.0	
3.615	0.0		122.4	8.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	5.5		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	5.2		5580	0.0	
5.615	0.0		190.1	5.7		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	8.9		7456	0.0	
7.531	1.2		265.0	8.1		8635	0.0	
8.721	3.3		325.3	8.7		1.000e4	0.0	
10.10	4.7		342.0	8.1				
11.70	4.5		386.1	8.2				

Lampiran 53. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-4 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: F3 40 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Tuesday, March 1, 2022 3:24:57 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

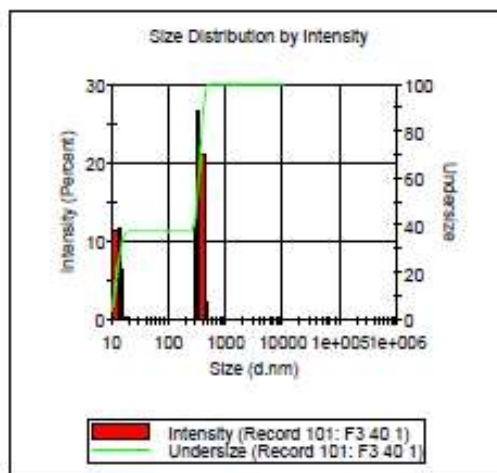
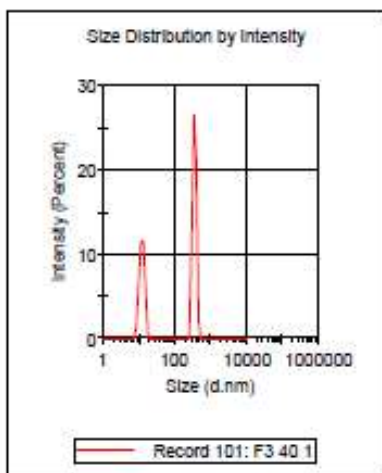
Z-Avg (nm): 761.4
 Pd Index: 0.744
 Pd (nm): 657.0
 %Pd: 86.3
 Derived kcps: 158.6

Distribution Results

	Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1:	355.7	61.9	41.36	11.6
Peak 2:	12.63	38.1	2.046	16.2
Peak 3:	0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	11.0
50	310
90	411
100	531



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0	
0.4632	0.0	
0.5386	0.0	
0.6213	0.0	
0.7196	0.0	
0.8332	0.0	
0.9649	0.0	
1.117	0.0	
1.294	0.0	
1.499	0.0	
1.738	0.0	
2.010	0.0	
2.328	0.0	
2.696	0.0	
3.122	0.0	
3.615	0.0	
4.187	0.0	
4.849	0.0	
5.615	0.0	
6.503	0.0	
7.531	0.0	
8.721	1.5	
10.10	6.5	
11.70	11.4	

Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
13.54	11.7	
15.69	6.4	
18.17	0.5	
21.04	0.0	
24.38	0.0	
28.21	0.0	
32.67	0.0	
37.84	0.0	
43.62	0.0	
50.75	0.0	
58.77	0.0	
68.06	0.0	
78.62	0.0	
91.28	0.0	
105.7	0.0	
122.4	0.0	
141.8	0.0	
164.2	0.0	
190.1	0.0	
220.2	0.0	
265.0	0.0	
285.3	11.8	
342.0	26.7	
396.1	21.2	

Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
458.7	2.2	
531.2	0.0	
615.1	0.0	
712.4	0.0	
825.0	0.0	
955.4	0.0	
110.6	0.0	
1281	0.0	
1484	0.0	
1718	0.0	
1990	0.0	
2305	0.0	
2669	0.0	
3091	0.0	
3580	0.0	
4145	0.0	
4801	0.0	
5560	0.0	
6439	0.0	
7456	0.0	
8635	0.0	
1.000e+04	0.0	

Lampiran 54. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-6 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 25 F1 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 17, 2022 1:07:24 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 576.1
 Pd Index: 0.505
 Pd (nm): 409.3
 %Pd: 71.1

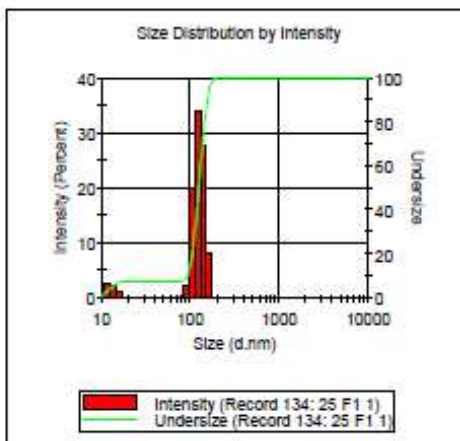
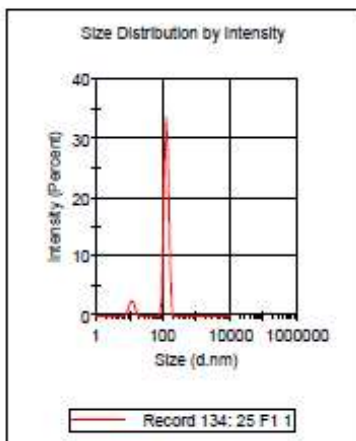
Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 127.4	91.7	18.09	14.2
Peak 2: 12.02	8.3	1.997	16.6
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	91.8
50	124
90	157
100	190

Derived kcps: 152.3



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	2.2		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	1.0		531.2	0.0	
0.5398	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7106	0.0		24.28	0.0		825.0	0.0	
0.8032	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9040	0.0		32.87	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.695	0.0		91.28	2.5		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	19.9		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	35.7		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	27.6		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	8.0		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	0.0		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	0.0		7456	0.0	
7.531	0.0		255.0	0.0		8635	0.0	
8.721	0.7		295.3	0.0		1.000e+4	0.0	
10.10	1.9		342.0	0.0				
11.70	2.8		396.1	0.0				

Lampiran 55. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-6 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 40 F1 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 17, 2022 12:54:08 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

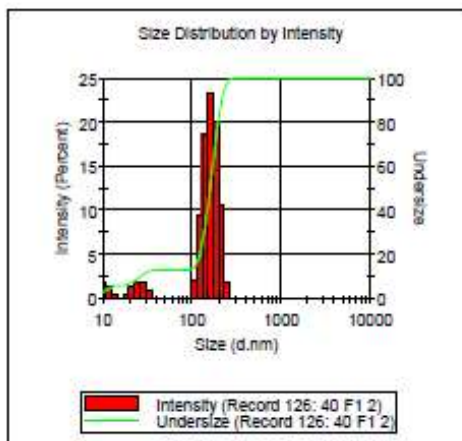
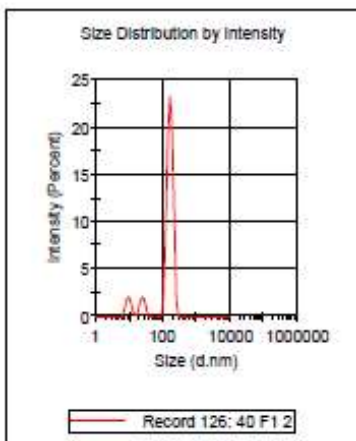
Z-Avg (nm): 356.9
 Pd Index: 0.393
 Pd (nm): 223.9
 %Pd: 62.7
 Derived kcp: 188.8

Distribution Results

	Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1:	168.1	86.3	33.10	19.7
Peak 2:	25.59	6.9	4.392	17.2
Peak 3:	10.02	6.8	1.727	17.2

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	25.1
50	158
90	215
100	295



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0	0.0	13.54	0.5	0.0	450.7	0.0	0.0
0.4632	0.0	0.0	15.99	0.1	0.0	531.2	0.0	0.0
0.5265	0.0	0.0	18.17	0.5	0.0	615.1	0.0	0.0
0.5913	0.0	0.0	21.04	1.4	0.0	712.4	0.0	0.0
0.7195	0.0	0.0	24.36	2.1	0.0	825.0	0.0	0.0
0.8532	0.0	0.0	28.21	1.8	0.0	955.4	0.0	0.0
0.9849	0.0	0.0	32.67	1.0	0.0	1105	0.0	0.0
1.117	0.0	0.0	37.84	0.1	0.0	1281	0.0	0.0
1.284	0.0	0.0	43.82	0.0	0.0	1484	0.0	0.0
1.490	0.0	0.0	50.75	0.0	0.0	1718	0.0	0.0
1.738	0.0	0.0	58.77	0.0	0.0	1990	0.0	0.0
2.010	0.0	0.0	68.06	0.0	0.0	2305	0.0	0.0
2.325	0.0	0.0	78.82	0.0	0.0	2669	0.0	0.0
2.695	0.0	0.0	91.28	0.0	0.0	3091	0.0	0.0
3.122	0.0	0.0	105.7	2.2	0.0	3580	0.0	0.0
3.615	0.0	0.0	122.4	9.6	0.0	4145	0.0	0.0
4.187	0.0	0.0	141.8	18.8	0.0	4801	0.0	0.0
4.849	0.0	0.0	164.2	25.3	0.0	5560	0.0	0.0
5.615	0.0	0.0	190.1	20.1	0.0	6439	0.0	0.0
6.503	0.0	0.0	220.2	10.7	0.0	7456	0.0	0.0
7.531	0.0	0.0	265.0	1.8	0.0	8635	0.0	0.0
8.721	1.9	0.0	325.3	0.0	0.0	1.000e+4	0.0	0.0
10.10	2.1	0.0	392.0	0.0	0.0			
11.70	1.4	0.0	466.1	0.0	0.0			

Lampiran 56. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-6 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 25 F2 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 17, 2022 1:10:41 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 316.1
 Pd Index: 0.359
 Pd (nm): 169.3
 %Pd: 69.9

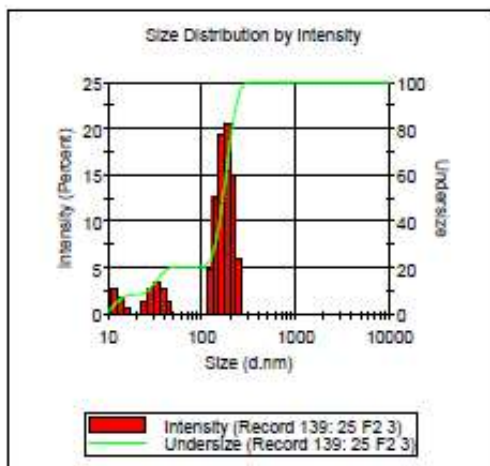
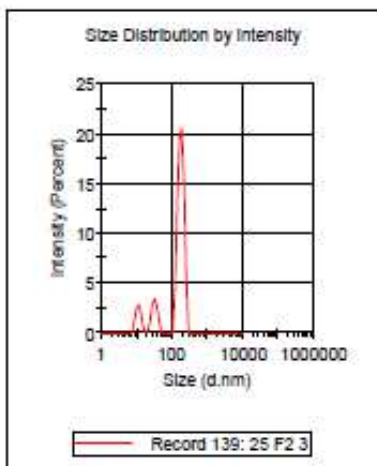
Derived kcp: 96.6

Distribution Results

Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 182.2	78.8	35.67	19.6
Peak 2: 33.20	11.9	5.876	17.7
Peak 3: 11.66	9.3	1.928	16.5

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	24.3
50	166
90	232
100	295



Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	2.1		458.7	0.0	
0.4832	0.0		15.89	0.7		531.2	0.0	
0.5366	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.1		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	1.3		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	2.8		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	3.5		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	2.9		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	1.3		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.1		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.2		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	4.9		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	12.8		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	19.4		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	28.6		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	15.0		7456	0.0	
7.531	0.0		258.0	6.0		8635	0.0	
8.721	1.0		295.3	0.0		1.000e4	0.0	
10.10	2.5		342.0	0.0				
11.70	2.9		395.1	0.0				

Lampiran 57. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-6 Suhu 40°C

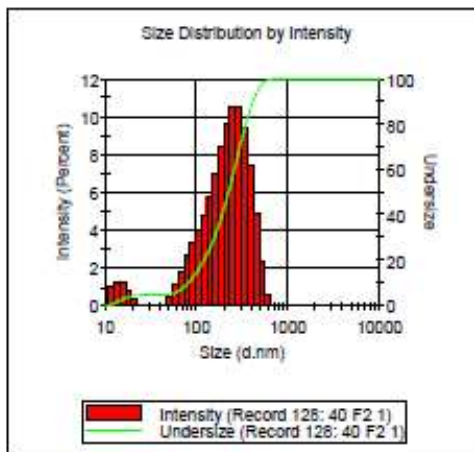
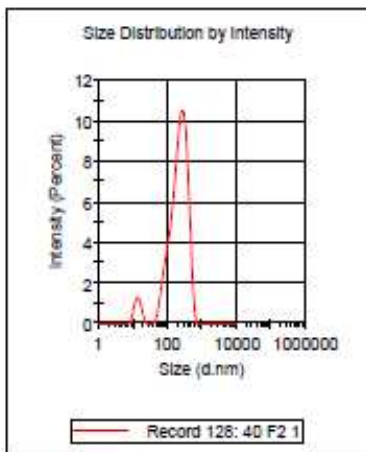
Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 40 F2 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 17, 2022 12:57:39 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 256.4	Size (d.nm):	DI (%)
Pd Index: 0.446	Peak 1: 244.8	Size (d.nm):
Pd (nm): 171.2	Peak 2: 14.41	10 78.2
%Pd: 66.8	Peak 3: 0.000	50 222
Derived kcps: 481.3		90 411
		100 712



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	1.3		450.7	4.0	
0.4632	0.0		15.89	1.2		531.2	2.3	
0.5366	0.0		18.17	0.8		615.1	0.6	
0.6213	0.0		21.04	0.3		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.62	0.1		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.4		1718	0.0	
1.736	0.0		59.77	1.1		1990	0.0	
2.010	0.0		69.66	1.9		2305	0.0	
2.328	0.0		81.62	2.7		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	3.3		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	4.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	4.8		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	5.8		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	7.0		5561	0.0	
5.615	0.0		190.1	8.4		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	9.7		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	10.5		8635	0.0	
8.721	0.1		295.3	10.5		1.000e+4	0.0	
10.10	0.5		342.0	9.5				
11.70	1.0		396.1	7.4				

Lampiran 58. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-6 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 25 F3 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 17, 2022 1:13:29 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

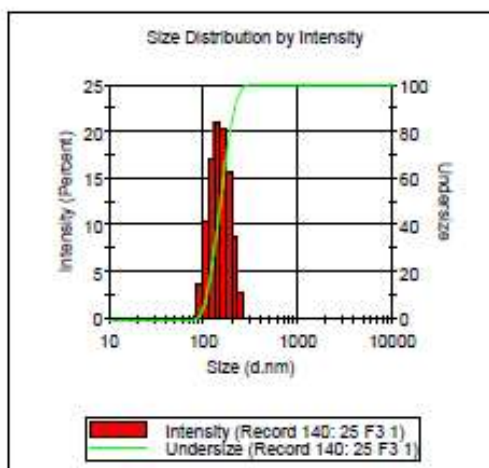
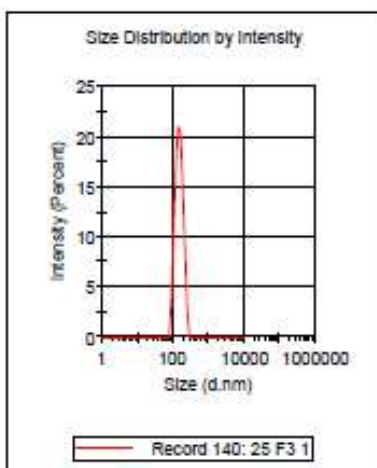
Z-Avg (nm): 162.5
 Pd Index: 0.296
 Pd (nm): 86.4
 %Pd: 54.4
 Derived kcp: 453.5

Distribution Results

	Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1:	155.1	100.0	36.66	24.9
Peak 2:	0.000	0.0	0.000	0
Peak 3:	0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	107
50	151
90	214
100	295



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	0.0		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	0.0		531.2	0.0	
0.5306	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6013	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.62	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	3.7		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	10.4		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	17.2		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	21.0		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	20.4		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	15.8		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	8.8		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	2.9		8639	0.0	
8.721	0.0		295.3	0.0		1.000e+4	0.0	
10.10	0.0		342.0	0.0				
11.70	0.0		396.1	0.0				

Lampiran 59. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-6 Suhu 40°C

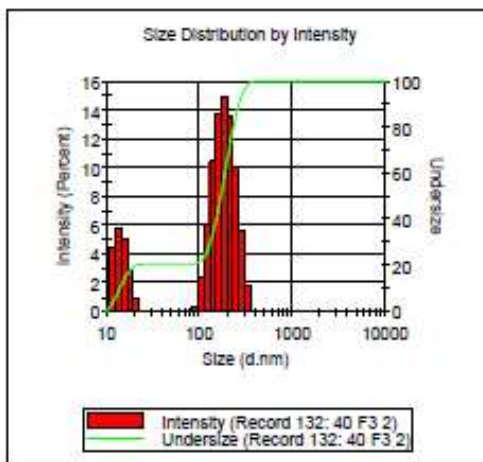
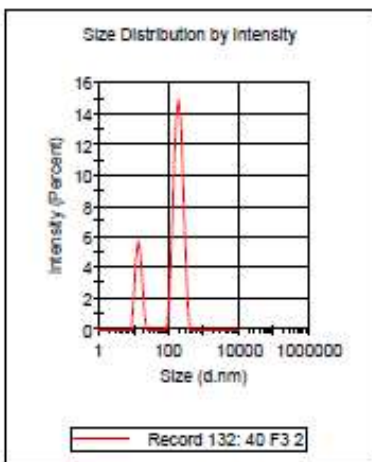
Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 40 F3 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 17, 2022 1:03:05 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 235.1	Size (d.nm):	DI (%)
Pd Index: 0.405	Peak 1: 195.4	Size (d.nm):
Pd (nm): 149.6	Peak 2: 14.28	10 13.8
%Pd: 63.6	Peak 3: 0.000	50 169
Derived kcps: 297.1		90 267
		100 396



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	5.5		488.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	5.0		531.2	0.0	
0.5385	0.0		18.17	2.9		575.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.9		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		1108	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.62	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.3		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	2.4		3580	0.0	
3.615	0.0		124.4	6.1		4145	0.0	
4.167	0.0		141.8	10.4		4801	0.0	
4.789	0.0		164.2	13.7		5560	0.0	
5.485	0.0		190.1	15.0		6439	0.0	
6.263	0.0		220.2	13.8		7456	0.0	
7.131	0.0		255.0	10.1		8635	0.0	
8.091	0.0		295.3	5.6		1,000E+4	0.0	
9.143	2.0		342.0	1.8				
10.29	4.5		395.1	0.0				

Lampiran 60. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-8 Suhu 25°C

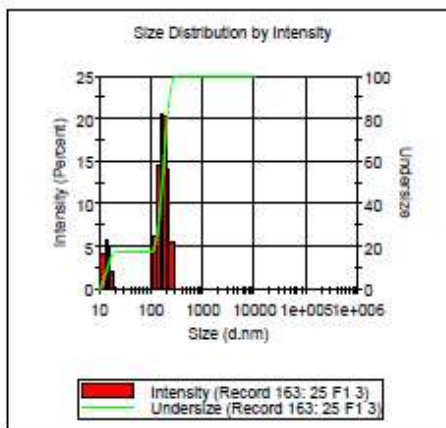
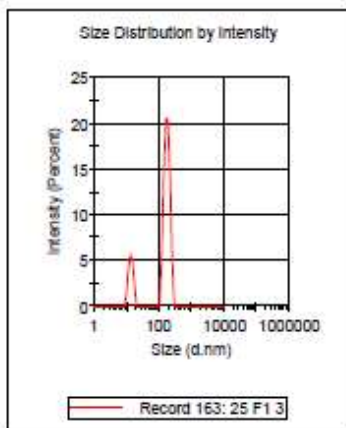
Intensity Peak Statistics
v2.1



Sample Details

Name: 25 F1 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 31, 2022 6:02:02 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 190.0	Size (d.nm):	DI (%) Size (d.nm):
Pd Index: 0.531	Peak 1: 178.9 81.8 35.85 20.0	10 14.2
Pd (nm): 138.5	Peak 2: 13.97 18.2 2.286 16.4	50 164
%Pd: 72.9	Peak 3: 0.000 0.0 0.000 0	90 229
Derived kcps: 553.8		100 295



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	5.7		482.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	4.8		531.2	0.0	
0.5386	0.0		18.17	2.1		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.87	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.94	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.496	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.726	0.0		58.77	0.0		1980	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2699	0.0	
2.696	0.0		91.29	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.4		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	6.2		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	14.7		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	30.6		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	20.4		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	14.1		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	5.5		8635	0.0	
8.721	0.0		295.3	0.0		1.000e4	0.0	
10.10	1.4		342.0	0.0				
11.70	4.1		395.1	0.0				

Lampiran 61. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-8 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 40 F1 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 31, 2022 6:12:00 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 2428
 Pd Index: 1.000
 Pd (nm): 2427.7
 %Pd: 100.0

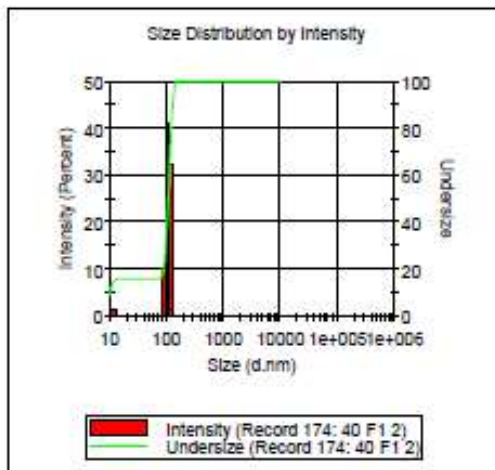
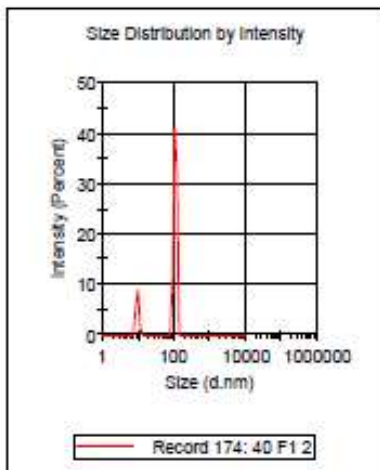
Derived kcps: 924.5

Distribution Results

	Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1:	110.4	83.5	10.56	9.6
Peak 2:	9.809	16.5	0.9149	9.3
Peak 3:	0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	10.1
50	107
90	130
100	142



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	0.0		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	0.0		531.2	0.0	
0.5385	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.735	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.685	0.0		91.25	10.3		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	41.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	32.2		4145	0.0	
4.167	0.0		141.8	0.0		4801	0.0	
4.789	0.0		164.2	0.0		5560	0.0	
5.485	0.0		190.1	0.0		6439	0.0	
6.263	0.0		220.2	0.0		7456	0.0	
7.131	0.0		255.0	0.0		8635	0.0	
8.121	5.6		295.3	0.0		1.000e4	0.0	
9.240	9.1		342.0	0.0				
10.50	1.8		395.1	0.0				

Lampiran 62. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-8 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 25 F2 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 31, 2022 6:04:46 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 135.2
 Pd Index: 0.212
 Pd (nm): 62.3
 %Pd: 46.1

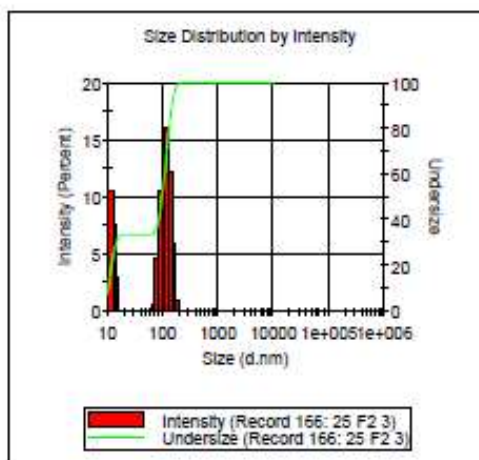
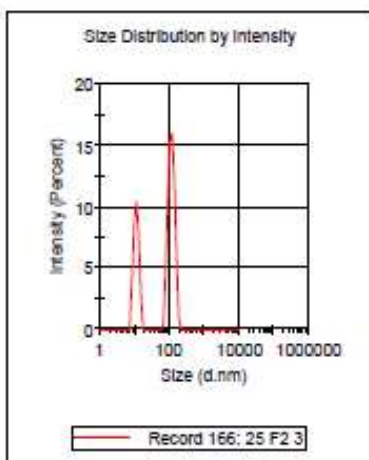
Derived kcps: 225.1

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 118.4	66.1	25.46	21.5
Peak 2: 11.66	33.9	1.965	16.8
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	10.4
50	97.7
90	149
100	220



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	7.8		450.7	0.0	
0.4632	0.0		15.69	2.9		531.2	0.0	
0.5366	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.39	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.738	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.5		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	4.8		2669	0.0	
2.696	0.0		91.20	10.6		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	15.4		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	18.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.9	22.2		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	26.9		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	32.0		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	38.5		7456	0.0	
7.531	0.0		256.0	46.5		8628	0.0	
8.721	4.0		298.3	56.0		1.000e4	0.0	
10.10	8.9		347.0	67.0				
11.70	13.4		396.1	80.0				

Lampiran 63. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-8 Suhu 40°C

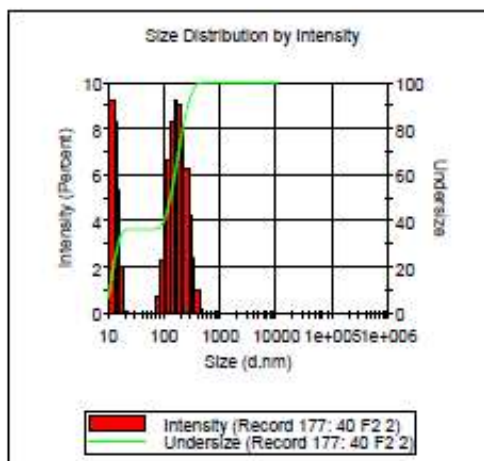
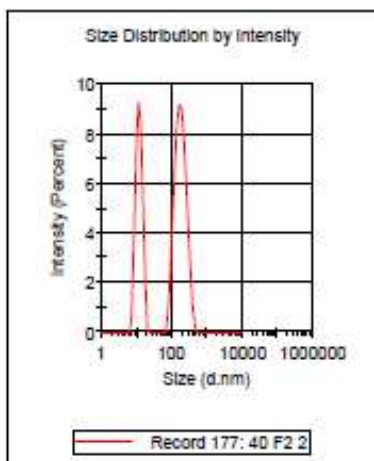
Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 40 F2 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 31, 2022 6:14:32 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results	Distribution Results	Undersize Results
Z-Avg (nm): 30.68	Size (d.nm):	DI (%)
Pd Index: 0.879	Peak 1: 189.5	Size (d.nm):
Pd (nm): 28.8	Peak 2: 12.40	10 10.5
%Pd: 93.8	Peak 3: 0.000	50 128
Derived kcps: 134.8		90 263
		100 531



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	6.3		450.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	5.4		531.2	0.0	
0.5385	0.0		18.17	2.1		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.1		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.87	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.735	0.0		58.77	0.0		1980	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.7		2699	0.0	
2.695	0.0		91.28	2.3		3091	0.0	
3.123	0.0		105.7	4.5		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	8.7		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	8.3		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	9.2		5580	0.0	
5.615	0.0		190.1	9.0		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	8.0		7456	0.0	
7.521	0.8		265.0	6.3		8636	0.0	
8.721	3.8		295.3	4.3		1.000e4	0.0	
10.10	7.4		342.0	2.4				
11.70	9.3		396.1	1.0				

Lampiran 64. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-8 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 25 F3 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 31, 2022 6:09:09 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

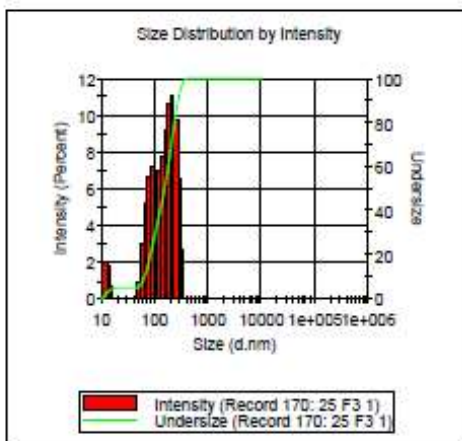
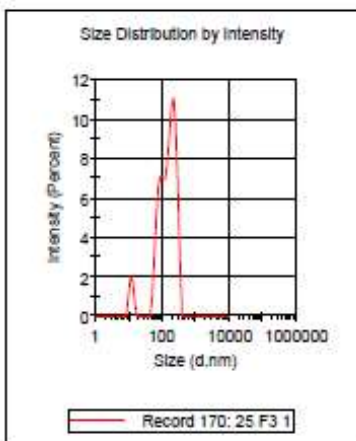
Z-Avg (nm): 206.0
 Pd Index: 0.353
 Pd (nm): 122.4
 %Pd: 59.4
 Derived kope: 350.6

Distribution Results

Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 205.3	60.3	59.37	26.9
Peak 2: 90.71	34.5	21.26	23.5
Peak 3: 12.50	5.2	1.731	13.8

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	63.3
50	152
90	275
100	459



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	1.8		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.69	0.7		531.2	0.0	
0.5366	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8330	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	3.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	5.2		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	6.7		2669	0.0	
2.696	0.0		91.29	7.1		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	7.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	7.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	7.7		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	9.2		5550	0.0	
5.615	0.0		190.1	10.6		6400	0.0	
6.503	0.0		220.2	11.1		7466	0.0	
7.531	0.0		265.0	9.7		8635	0.0	
8.721	0.0		305.3	6.5		1.000e1	0.0	
10.10	1.1		362.0	2.6				
11.70	2.0		396.1	0.1				

Lampiran 65. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-8 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: 40 F3 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Thursday, March 31, 2022 6:18:16 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 409.2
 Pd Index: 0.443
 Pd (nm): 272.3
 %Pd: 66.5

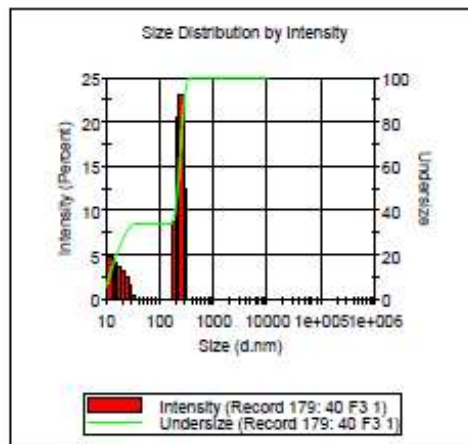
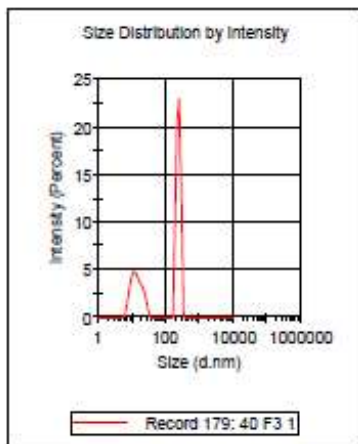
Derived kcps: 312.2

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 243.2	65.2	33.88	13.9
Peak 2: 15.43	34.8	5.985	38.8
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	11.2
50	212
90	287
100	396



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4330	0.0		13.54	4.7		450.7	0.0	
0.4630	0.0		15.69	4.2		531.2	0.0	
0.5385	0.0		18.17	3.7		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	3.3		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.38	2.7		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	1.7		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.8		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.735	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.29	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	0.0		3590	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	0.0		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	0.0		5580	0.0	
5.615	0.0		190.1	0.0		6490	0.0	
6.503	0.3		220.2	20.8		7456	0.0	
7.531	1.8		265.0	25.0		8595	0.0	
8.721	3.0		295.3	12.8		1.000e+4	0.0	
10.10	4.3		342.0	0.1				
11.70	4.9		395.1	0.0				

Lampiran 66. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-12 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: f1 25 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Saturday, April 16, 2022 11:58:26 AM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 354.6
 Pd Index: 0.548
 Pd (nm): 262.6
 %Pd: 74.0

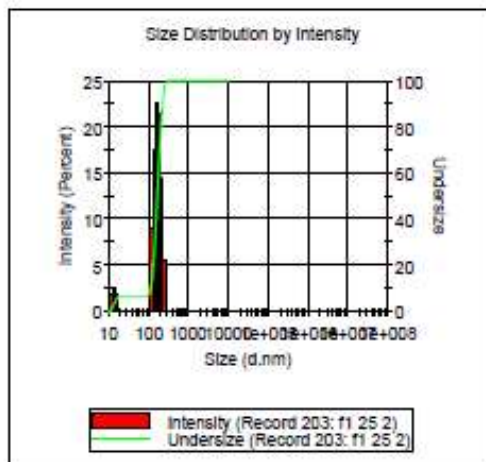
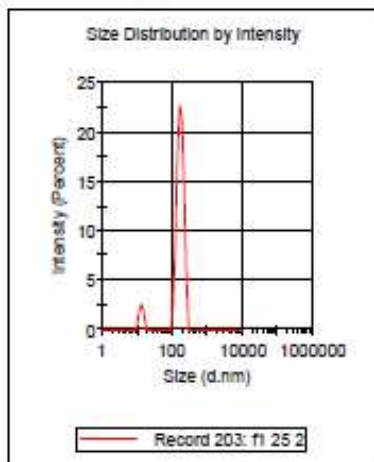
Derived kcps: 131.9

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 174.7	92.9	36.98	21.2
Peak 2: 13.72	7.1	1.966	14.3
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	111
50	168
90	230
100	295



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	2.7		450.7	0.0	
0.4032	0.0		15.69	1.9		531.2	0.0	
0.5366	0.0		18.17	0.4		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7195	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.62	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.705	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.686	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	2.1		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	9.0		4145	0.0	
4.167	0.0		141.8	17.5		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	23.7		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	31.5		6430	0.0	
6.503	0.0		220.2	44.5		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	5.5		8635	0.0	
8.721	0.0		296.3	0.0		1.000e4	0.0	
10.10	0.4		342.0	0.0				
11.70	1.8		396.1	0.0				

Lampiran 67. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 1 Minggu ke-12 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: f1_40_2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Saturday, April 16, 2022 12:09:10 PM
 \$OP: mansettings.nano

Cumulant Results

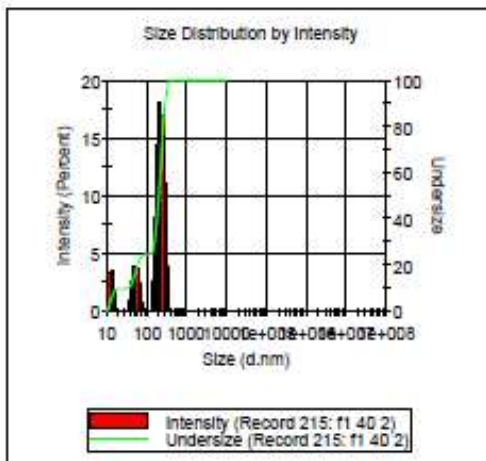
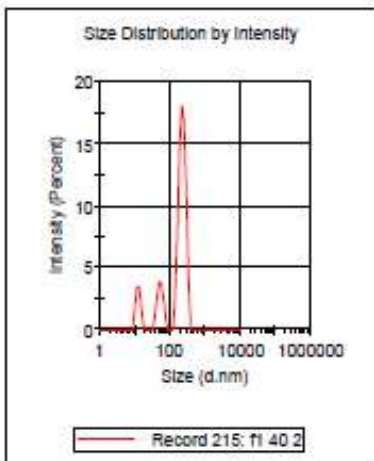
Z-Avg (nm): 336.1
 Pd Index: 0.368
 Pd (nm): 203.8
 %Pd: 60.6
 Derived kcp: 88.8

Distribution Results

Size (d.nm)	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 231.0	74.9	49.70	21.5
Peak 2: 54.94	14.5	10.46	19.0
Peak 3: 13.01	10.6	1.985	15.3

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm)
10	17.2
50	203
90	294
100	396



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	3.5		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	1.9		531.2	0.0	
0.5386	0.0		18.17	0.3		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.67	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	1.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	2.7		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	3.9		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	5.8		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	2.4		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	0.7		2689	0.0	
2.686	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.0		3630	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.167	0.0		141.5	2.5		4801	0.0	
4.789	0.0		164.2	8.1		5580	0.0	
5.485	0.0		190.1	14.4		6439	0.0	
6.253	0.0		220.2	18.1		7495	0.0	
7.091	0.0		265.0	18.8		8655	0.0	
8.021	0.0		325.3	11.0		1.000e+4	0.0	
10.10	1.5		342.0	3.8				
11.70	3.3		396.1	0.0				

Lampiran 68. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-12 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: f2 25 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Saturday, April 16, 2022 12:03:30 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

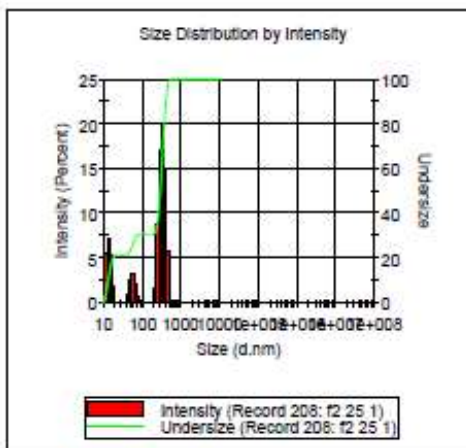
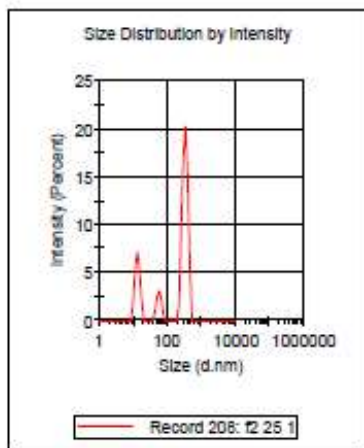
Z-Avg (nm): 719.5
 Pd Index: 0.832
 Pd (nm): 656.2
 %Pd: 91.2
 Derived kcp: 682.0

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 337.9	68.6	60.24	17.8
Peak 2: 13.77	22.0	2.218	16.1
Peak 3: 58.54	9.4	9.256	15.8

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	13.3
50	294
90	416
100	531



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0	
0.4632	0.0	
0.5388	0.0	
0.6213	0.0	
0.7196	0.0	
0.8332	0.0	
0.9649	0.0	
1.117	0.0	
1.294	0.0	
1.489	0.0	
1.706	0.0	
2.010	0.0	
2.328	0.0	
2.698	0.0	
3.122	0.0	
3.615	0.0	
4.187	0.0	
4.849	0.0	
5.615	0.0	
6.503	0.0	
7.531	0.0	
8.721	0.0	
10.10	1.8	
11.70	5.5	

Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
13.54	7.2	
15.89	5.4	
18.17	2.1	
21.04	0.0	
24.38	0.0	
28.21	0.0	
32.67	0.0	
37.84	0.0	
43.82	1.0	
50.75	2.5	
58.77	3.1	
68.06	2.2	
78.82	0.8	
91.28	0.0	
105.7	0.0	
122.4	0.0	
141.8	0.0	
164.2	0.0	
190.1	0.0	
220.2	1.8	
265.0	8.5	
295.3	17.2	
342.0	20.2	
398.1	15.1	

Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
458.7	5.7	
531.2	0.0	
615.1	0.0	
712.4	0.0	
825.0	0.0	
955.4	0.0	
110.6	0.0	
1281	0.0	
1484	0.0	
1718	0.0	
1990	0.0	
2305	0.0	
2669	0.0	
3091	0.0	
3580	0.0	
4145	0.0	
4801	0.0	
5560	0.0	
6439	0.0	
7456	0.0	
8635	0.0	
1.000e4	0.0	

Lampiran 69. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 2 Minggu ke-12 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics
v2.1



Sample Details

Name: f2 40 1
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Saturday, April 16, 2022 12:11:28 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

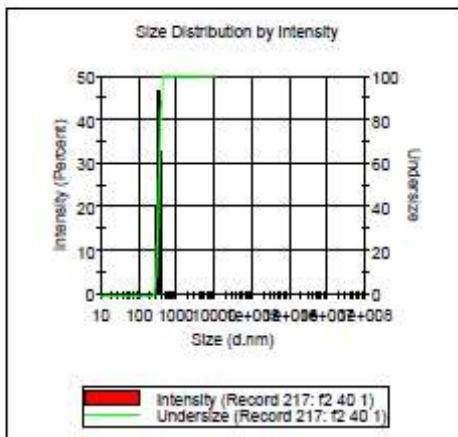
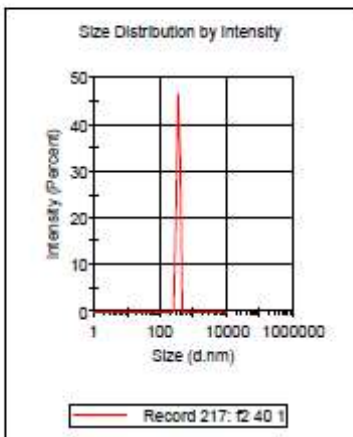
Z-Avg (nm): 1081
 Pd Index: 0.673
 Pd (nm): 886.9
 %Pd: 82.1
 Derived kcps: 184.8

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 350.3	100.0	36.60	10.4
Peak 2: 0.000	0.0	0.000	0
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	295
50	351
90	421
100	459



Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size (d.nm)	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	0.0		456.7	0.0	
0.4932	0.0		15.89	0.0		531.2	0.0	
0.5995	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.7213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7795	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9649	0.0		32.87	0.0		1108	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.499	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.325	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	0.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	0.0		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	0.0		5560	0.0	
5.615	0.0		190.1	0.0		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	0.0		7456	0.0	
7.531	0.0		265.0	0.0		8635	0.0	
8.721	0.0		295.3	20.4		1.000e4	0.0	
10.10	0.0		342.0	46.8				
11.70	0.0		396.1	33.0				

Lampiran 70. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-12 Suhu 25°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: f3 25 3
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Saturday, April 16, 2022 12:06:31 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

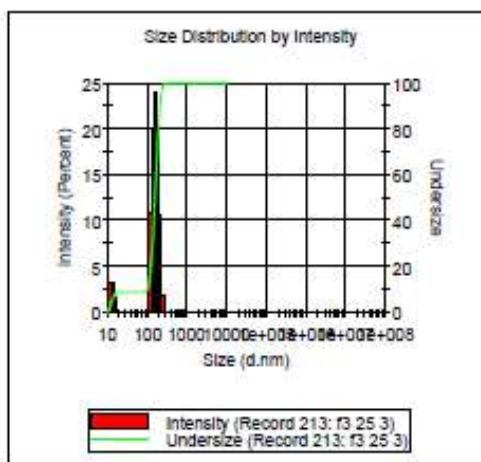
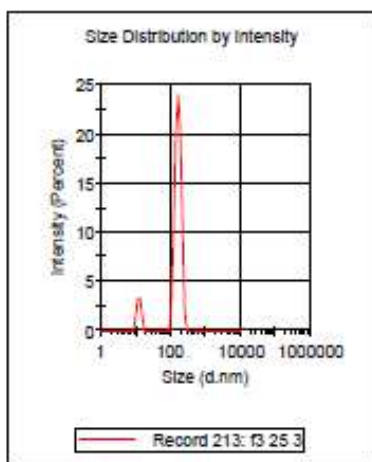
Z-Avg (nm): 457.4
 Pd Index: 0.489
 Pd (nm): 320.0
 %Pd: 70.0
 Derived kcp: 164.8

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 166.8	90.3	33.46	20.1
Peak 2: 12.80	9.7	1.759	13.7
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	94.5
50	159
90	215
100	295



Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent	Size d.nm	Mean Intensity Percent	Std Dev Intensity Percent
0.4000	0.0		13.54	3.4		450.7	0.0	
0.4632	0.0		15.69	1.7		531.2	0.0	
0.5385	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.38	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		110.6	0.0	
1.117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.294	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.490	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.706	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.82	0.0		2669	0.0	
2.686	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		105.7	2.8		3580	0.0	
3.615	0.0		122.4	10.8		4148	0.0	
4.167	0.0		141.8	19.9		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	24.0		5550	0.0	
5.615	0.0		190.1	26.2		6430	0.0	
6.503	0.0		220.2	10.7		7456	0.0	
7.531	0.0		256.0	2.0		8635	0.0	
8.721	0.0		299.3	0.0		1.000e4	0.0	
10.10	1.4		342.0	0.0				
11.70	3.2		396.1	0.0				

Lampiran 71. Hasil Pengujian Ukuran Partikel Sediaan Gel Nanoemulsi Formula 3 Minggu ke-12 Suhu 40°C

Intensity Peak Statistics v2.1



Sample Details

Name: f3 40 2
 Filename: Nanoemulsi Eks tembakau.dts
 Operator: PC
 Date and Time: Saturday, April 16, 2022 12:15:10 PM
 SOP: mansettings.nano

Cumulant Results

Z-Avg (nm): 711.0
 Pd Index: 0.642
 Pd (nm): 569.8
 %Pd: 80.1

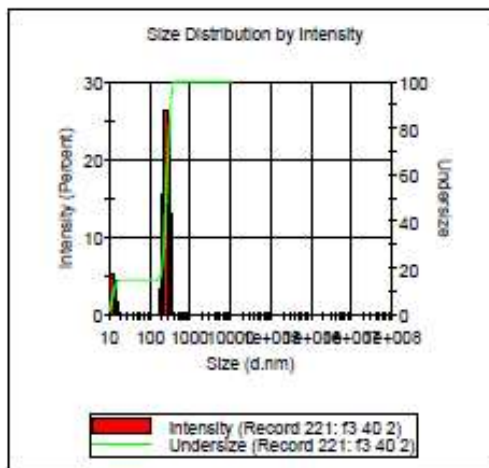
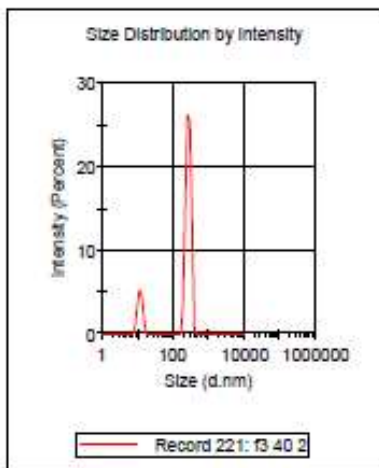
Derived kcps: 152.6

Distribution Results

Size (d.nm):	% Int	σ	%Pd
Peak 1: 272.3	84.2	43.22	15.9
Peak 2: 12.13	15.8	1.872	15.4
Peak 3: 0.000	0.0	0.000	0

Undersize Results

DI (%)	Size (d.nm):
10	12.8
50	258
90	335
100	459



Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)	Size (d.nm)	Mean Intensity (Percent)	Std Dev Intensity (Percent)
0.4000	0.0		13.54	4.4		458.7	0.0	
0.4632	0.0		15.89	1.7		531.2	0.0	
0.5395	0.0		18.17	0.0		615.1	0.0	
0.6213	0.0		21.04	0.0		712.4	0.0	
0.7196	0.0		24.36	0.0		825.0	0.0	
0.8332	0.0		28.21	0.0		955.4	0.0	
0.9640	0.0		32.67	0.0		1106	0.0	
1.1117	0.0		37.84	0.0		1281	0.0	
1.284	0.0		43.82	0.0		1484	0.0	
1.489	0.0		50.75	0.0		1718	0.0	
1.736	0.0		58.77	0.0		1990	0.0	
2.010	0.0		68.06	0.0		2305	0.0	
2.328	0.0		78.62	0.0		2669	0.0	
2.696	0.0		91.28	0.0		3091	0.0	
3.122	0.0		106.7	0.0		3580	0.0	
3.615	0.0		124.4	0.0		4145	0.0	
4.187	0.0		141.8	0.0		4801	0.0	
4.849	0.0		164.2	0.0		5560	0.0	
5.615	0.0		192.1	3.5		6439	0.0	
6.503	0.0		220.2	15.8		7456	0.0	
7.531	0.0		258.0	26.2		8635	0.0	
8.721	0.8		295.3	25.4		1.000e+008	0.0	
10.10	3.5		342.0	13.0				
11.70	5.4		396.1	0.5				

Lampiran 72. Hasil Pengujian Zeta Potensial Gel Nanoemulsi

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F2 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes: 1 dalam 50

File Name: Nanoemulgel Eks Tembaka... Dispersant Name: Water
 Record Number: 16 Dispersant RI: 1.330
 Date and Time: Sunday, January 30, 2022 10:5... Viscosity (cP): 0.8872
 Dispersant Dielectric Constant: 78.5

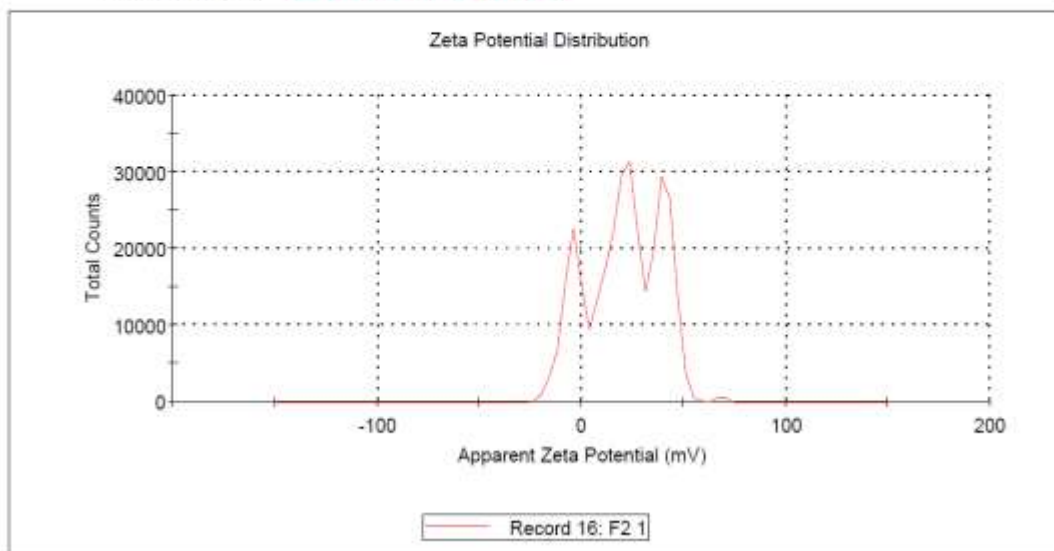
System

Temperature (°C): 25.0 Zeta Runs: 10
 Count Rate (kcps): 52.6 Measurement Position (mm): 4.50
 Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 11

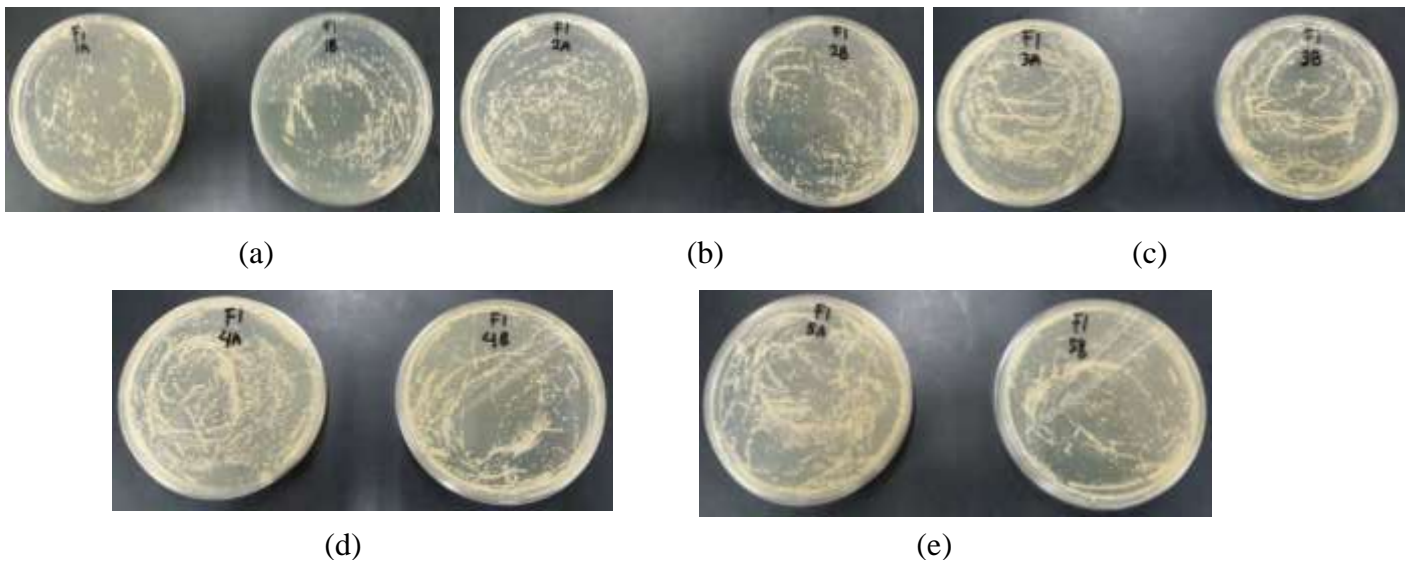
Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 20.7	Peak 1: 19.1	46.5	7.69
Zeta Deviation (mV): 17.8	Peak 2: 39.8	31.5	5.45
Conductivity (mS/cm): 0.0176	Peak 3: -4.59	21.6	5.48

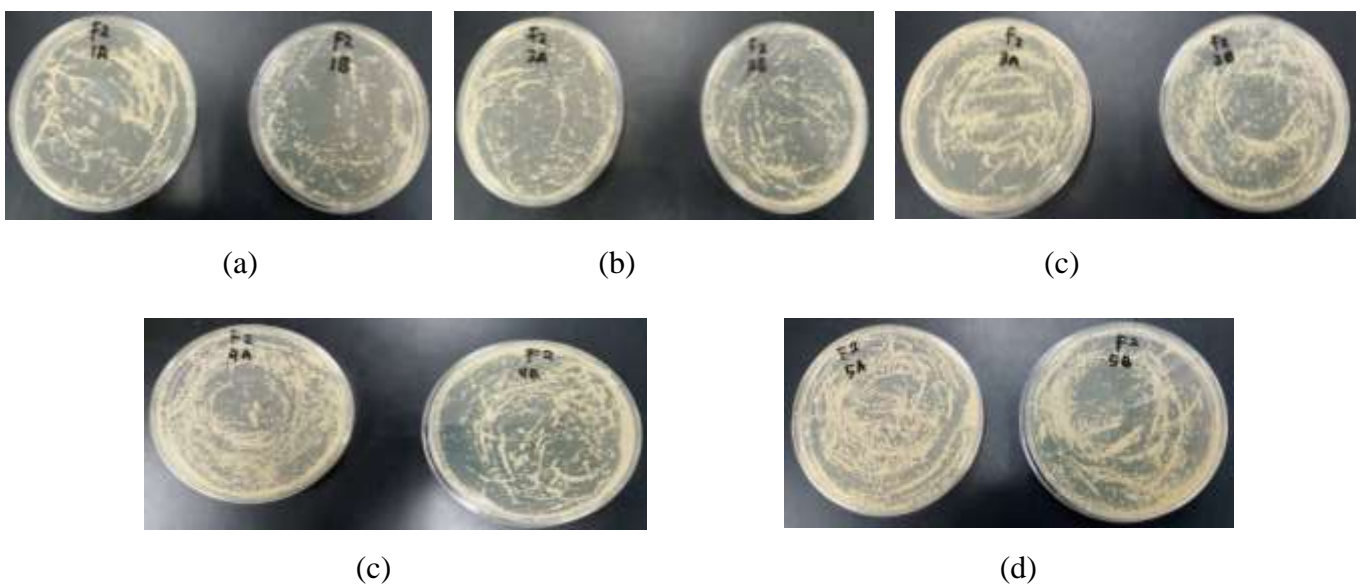
Result quality **See result quality report**



Lampiran 73. Uji Aktivitas Sediaan Gel Nanoemulsi



Keterangan : Hasil pengamatan plating pengujian aktivitas antijamur dari Formula 1.
 (a) Tabung 1 (b) Tabung 2 (c) Tabung 3 (d) Tabung 4 (e) Tabung 5



Keterangan : Hasil pengamatan plating pengujian aktivitas antijamur dari Formula 2.
 (a) Tabung 1 (b) Tabung 2 (c) Tabung 3 (d) Tabung 4 (e) Tabung 5

Lampiran 73. Uji Aktivitas Sediaan Gel Nanoemulsi (Lanjutan)



(a)

(b)

(c)



(d)



(e)

Keterangan : Hasil pengamatan platting pen guji an aktivitas antijamur dari Formula 3. (a) Tabung 1 (b) Tabung 2 (c) T abung 3 (d) Tabung 4 (e) T abung 5



(a)

(b)

(c)

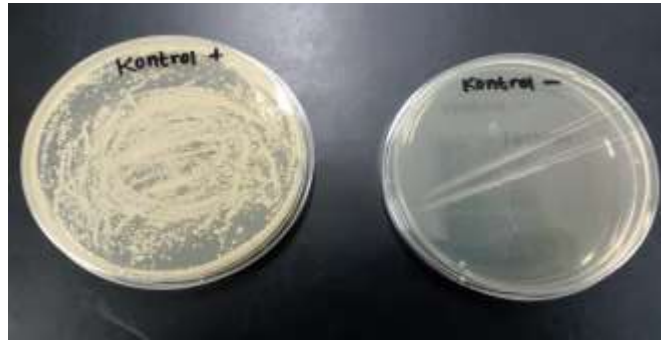


(d)



(e)

Keterangan : Hasil pengamatan platting pengujian aktivitas antijamur dari Ketokonazol. (a) Tabung 1 (b) Tabung 2 (c) Tabung 3 (d) Tabung 4 (e) Tabung 5

Lampiran 73. Uji Aktivitas Sediaan Gel Nanoemulsi (Lanjutan)

Keterangan : Kontrol positif dan control negatif