

STUDY PERMEASI SEDIAAN SERUM PENCERAH YANG BEREDAR DI KOTA CIMAHI

Nina Tri Arti¹, Meiti Rosmiati²

^{1,2}Program Study Farmasi, Politeknik Piksi Ganesha, Jl. Gatot Subroto No. 301 Bandung
E-mail: ¹nina.tri@gmail.com, ²meiti20001@mail.unpad.ac.id

ABSTRACT

The permeation study, also known as a penetration test, evaluates the absorption of topical preparations into the skin using the Franz diffusion cell apparatus. This apparatus simulates the conditions of skin penetration by replicating factors such as pH, physiological fluids, temperature, and skin pore size. The goal of this study is to analyze the permeation of commercial products by examining samples across three different price categories to identify any variations in penetration rates. In this study, a face brightening serum containing Kojic Acid was selected for testing due to its prevalence in the market, which facilitates the acquisition of samples. The study measures two key parameters: the cumulative amount of Kojic Acid that penetrates the skin and the flux of Kojic Acid from each sample. Results: Among the three samples tested, Sample 1 demonstrated the highest values for both cumulative penetration and flux of Kojic Acid, with measurements of $13,813.07 \pm 87.77 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ and 66.40 ± 0.30 , respectively.

Keywords : Permeation Study, Brightening Face Serum, Kojic Acid

ABSTRAK

Studi permeasi, yang juga dikenal sebagai uji penetrasi, mengevaluasi penyerapan preparat topikal ke dalam kulit menggunakan perangkat sel difusi Franz. Perangkat ini mensimulasikan kondisi penetrasi kulit dengan mereplikasi faktor-faktor seperti pH, cairan fisiologis, suhu, dan ukuran pori kulit. Tujuan dari studi ini adalah untuk menganalisis permeasi produk komersial dengan menguji sampel dari tiga kategori harga yang berbeda untuk mengidentifikasi variasi dalam tingkat penetrasi. Dalam penelitian ini, serum pencerah wajah yang mengandung Asam Kojik dipilih untuk diuji karena prevalensinya di pasar, yang mempermudah pengadaan sampel. Studi ini mengukur dua parameter utama: jumlah kumulatif Asam Kojik yang menembus kulit dan fluks Asam Kojik dari setiap sampel. Hasil: Dari tiga sampel yang diuji, Sampel 1 menunjukkan nilai tertinggi untuk baik penetrasi kumulatif maupun fluks Asam Kojik, dengan pengukuran sebesar $13,813.07 \pm 87.77 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan 66.40 ± 0.30 , masing-masing.

Kata Kunci : Study permeasi, Serum pencerah wajah, Asam Kojat.

PENDAHULUAN

Dalam satu atau dua dekade terakhir perkembangan produk-produk kosmetikal mengalami perkembangan yang begitu pesat seiring dengan animo masyarakat dalam meningkatkan penampilan baik secara dekoratif maupun perawatan, dimana salah satunya adalah produk pencerah wajah yang begitu diminati terutama di pasar Asia pada umumnya maupun pasar dalam negeri Indonesia pada khususnya.

Produk pencerah wajah telah menjadi *trend* di pasar dalam negeri dan menjadi salah satu produk yang banyak dicari, terutama karena di Indonesia termasuk ke dalam iklim tropis yang sangat banyak terpapar sinar matahari sepanjang musim sepanjang tahun, yang mana dengan banyak terpapar sinar matahari sangat berpotensi mengakibatkan terjadinya kelainan kulit yang disebut sebagai hiperpigmentasi, yaitu suatu kondisi pada kulit terutama kulit wajah berupa timbulnya bercak-bercak kecokelatan yang dapat meluas pada permukaan kulit wajah.

Kondisi terjadinya hiperpigmentasi atau sering juga disebut dengan melasma pada kulit wajah secara estetik sangat mengganggu dan dapat menurunkan kepercayaan diri seseorang, sehingga penelitian-penelitian untuk mengembangkan produk yang dapat mengatasi hal tersebut terus dilakukan untuk mendapatkan efek yang lebih baik.

Melasma atau hiperpigmentasi itu sendiri terjadi karena terjadinya deposisi melanin yang berlebihan di lapisan epidermis (Tokudome, Y., *et al.*, 2020). Mekanisme molekuler agen pencerah kulit adalah untuk mengurangi melanin, yang merupakan sumber utama warna kulit. Melanin adalah zat indol yang dihasilkan oleh oksidasi enzimatis tirosin, pigmen kunci yang menyerap radiasi ultraviolet, berfungsi sebagai pertahanan biologis untuk kulit, yang diproduksi oleh melanosom di sel basal epidermis (melanosit) (Yokoyama, K., *et al.*, 1994).

Beragam bentuk sediaan banyak diproduksi produsen kosmetik dengan tambahan zat aktif atau yang disebut sebagai sediaan kosmesetikal, dimana salah satu bahan aktif yang diminati adalah agen pencerah yang banyak diinkorporasi ke dalam sediaan kosmetik diantaranya dalam sediaan topikal semi solid seperti krim, gel dan emulgel ataupun sediaan cair seperti sediaan serum wajah, dan saat ini serum wajah termasuk sebagai sediaan kosmetika yang banyak digemari dan disukai masyarakat, karena bersifat ringan dan juga elegan dalam penampilan serta lebih mudah terserap masuk kedalam lapisan kulit, dimana hal penting suatu sediaan topikal adalah keterserapannya menembus lapisan kulit terluar sehingga memberikan efek yang dikehendaki.

Salah satu zat aktif yang dapat digunakan sebagai agen pencerah kulit yaitu asam kojat yang diformulasikan menjadi sediaan serum. Asam kojat adalah senyawa yang larut air dan memiliki mekanisme kerja dengan menghambat pematangan enzim tirosinase atau menghambat pigmen granul (melanosom) dari melanosit ke keratinosit di sekitarnya (Saeedi *et al.*, 2019). Hal inilah yang menyebabkan asam kojat sulit menembus barrier kulit yang tersusun oleh lapisan lemak yang padat. Untuk mengatasi masalah tersebut dibutuhkan senyawa peningkat penetrasi atau enhancer yang dapat membantu asam kojat berpenetrasi lebih dalam dan bekerja pada daerah pembentukan melanosom yaitu pada stratum basal.

Untuk menilai penetrasi, permeasi atau keterserapan suatu sediaan topikal adalah dengan evaluasi study permeasi ke dalam kulit dengan menggunakan evaluasi *in vitro* menggunakan aparatus *Franz Diffusion Cell*, yang merupakan model bagaimana suatu sediaan topikal bisa berpenetrasi atau berpermeasi ke dalam kulit, untuk menghitung jumlah kumulatif terpenetrasi dan juga persentasi zat aktif berpenetrasi ke dalam kulit.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan keterserapan zat aktif yang terdapat dalam serum pencerah wajah yang dalam hal ini yang dipilih adalah asam kojat, karena dinilai cukup banyak dipergunakan oleh produsen serum pencerah wajah selain berdasarkan berbagai penelitian asam kojat dinilai cukup efektif sebagai agen depigmentasi atau pencerah (Gilbro, JM, 2011).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian secara eksperimental terhadap sediaan serum pencerah wajah yang beredar di kota Cimahi untuk dievaluasi mengenai *study* permeasinya dari masing-masing sediaan.

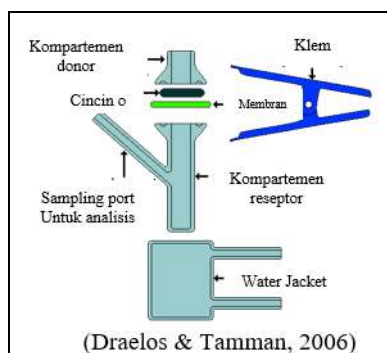
Alat dan Bahan

Alat yang digunakan alat-alat gelas, timbangan analitik, mikro pipet, *magnetic stirrer*, sel difusi *Franz* dengan volume reseptor 13 ml, membran PTFE, *water bath*, pH meter, Spektrofotometer UV, Bahan yang digunakan serum pencerah wajah yang mewakili tiga kategori tingkatan kisaran harga yaitu satu sampel dengan harga di bawah Rp.100.000,00 untuk merepresentasikan harga relatif murah (sampel 1), satu sampel dengan kisaran harga di antara Rp.100.000,00 - Rp.250.000,00 yang merepresentasikan harga medium (sampel 2) dan satu sampel dari harga di atas Rp. 250.000,00 (sampel 3) untuk merepresentasikan harga relatif mahal, sampel diperoleh dari pasar *online* atau *online shop* di area kota Cimahi. Peneliti memilih sampel yang paling banyak diminati atau dibeli oleh konsumen yang dapat ditelusuri berdasarkan rating yang tertera di toko *online* yang menyediakan produk tersebut dan ketiga serum dari bahan aktif yang sama yaitu menggunakan asam kojat. Akuademineralisata (Brataco chemical), Dapar Phosphat,

Uji Penetrasi *In vitro* Menggunakan Sel Difusi Franz

Uji penetrasi sediaan serum pencerah wajah asam kojat dilakukan menggunakan membran FTFE dengan sel difusi Franz (luas area difusi 1,77 cm², volume kompartemen 13 ml, kompartemen reseptor diisi dapar Phosphat pH 7,4 dengan suhu 37±0,5°C), pada Gambar 1 dapat dilihat penampang dari alat sel difusi Franz.

Gambar 1. Alat Sel Difusi Franz



Susunan alat difusi yang digunakan terdiri atas *waterbath*, *magnetic stirrer*, gelas kimia, pompa peristaltik pengatur kecepatan alir, sel difusi Franz, dan selang berdiameter 5 mm. 1 g sampel dari masing-masing sampel serum pencerah wajah (sampel 1,2 dan 3) ditempelkan pada permukaan atas membran di dalam sel difusi dan diletakkan di atas *waterbath*. Bagian reseptor terdiri dari gelas kimia yang diisi dengan daparphosphatpH 7,4 dan diletakkan di atas *magnetic stirrer* berkecepatan 300 rpm. Selama proses berlangsung, suhu dijaga menggunakan *water jacket* pada $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ dimana pada suhu tersebut menggambarkan keadaan suhu tubuh manusia. Kemudian selang dirangkaikan antara bagian reseptor dengan sel difusi Franz. Uji difusi ini dilakukan selama 3 jam dan dilakukan pengambilan sampel sebanyak 5 kali pada menit ke 30, 60, 90, 120, dan 180. Pada saat pengambilan sampel, sampel diambil sebanyak 1 mL kemudian reseptor diisi kembali menggunakan daparphosphatpH 7,4 dengan volume yang sama. Seluruh sampel diukur absorbansinya dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Tahapan yang dilakukan, meliputi:

1. Pembuatan larutan baku Asam kojat 500 ppm
Asam kojat ditimbang 25 mg dan dilarutkan dalam dapar phosphate hingga volume 50 mL dalam labu ukur.
2. Penentuan panjang gelombang (λ) maksimal Asam kojat
 - 1) Larutan baku Asam Kojat diambil 5 mL dengan menggunakan pipet, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet
 - 2) Selanjutnya sebagai blangko dimasukkan dapar phosphate pH 7,4 sebanyak 5 mL ke dalam kuvet.
 - 3) Kemudian kedua kuvet dimasukkan ke dalam alat spektrofotometri UV-Vis dan dicari λ tertingginya.
3. Pembuatan kurva baku Asam Kojat
 - 1) Larutan baku Asam Kojat dibuat dengan berbagai seri konsentrasi yaitu, 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm
 - 2) Ke dalam 5 buah vial kaca 10 mL dimasukkan masing-masing 0,5 mL; 1 mL; 1,5 mL; 2 mL; dan 2,5 mL larutan baku Asam Kojat.
 - 3) Kemudian masing-masing vial diencerkan dengan larutan Dapar phosphate pH 7,4 hingga volume 5 mL.
 - 4) Serapan dibaca pada panjang gelombang (λ) maksimal dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi Asam Kojat dan serapan sehingga diperoleh nilai absorbansinya (y). Sehingga dari kurva kalibrasi tersebut dapat diperoleh persamaan linear serta koefisien korelasi (r).
4. Perhitungan jumlah kumulatif zat aktif terpenetrasi dan Fluks zat aktif Asam Kojat
Jumlah kumulatif zat aktif (Asam kojat) yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dihitung dengan rumus :

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

Dimana :

Q = Jumlah kumulatif Asam Kojat yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Cn = Konsentrasi Asam Kojat ($\mu\text{g}/\text{ml}$) pada sampling menit

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$ = ke-n
 = Jumlah konsentrasi Asam Kojat ($\mu\text{g/ml}$) pada sampling (menit ke-(n-1) hingga sebelum menit ke-n
 V = Volume sel difusi Franz
 S = Volume *sampling*
 A = Luas area membran (cm^2)
 (Thakker and Chern, 2003)

Perhitungan fluks obat berdasarkan hukum Fick's I :

$$J = \frac{M}{S \times t}$$

Dimana :

J = Fluks ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$)
 M = Jumlah kumulatif Asam Kojat yang melalui membran (μg)
 S = Luas area difusi (cm^2)
 T = waktu (jam)

Dari data tersebut kemudian dibuat grafik jumlah kumulatif Asam Kojat yang terpenetrasi (μg) per luas area difusi (cm^2) terhadap waktu (jam) dan grafik fluks ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$) terhadap waktu (jam).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Kurva Baku Asam Kojat dalam Dapar phosphat pH 7,4

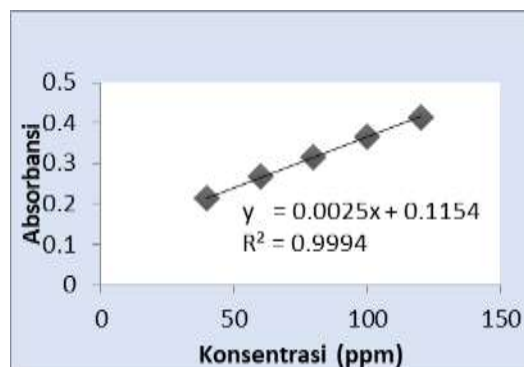
Kurva Baku serapan Asam Kojat 500 ppm dalam larutan dapar phosphat pH 7,4 memperlihatkan panjang gelombang maksimum pada 510 nm. Larutan baku disiapkan dengan konsentrasi 500 ppm kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi dan diukur serapannya pada panjang gelombang 510 nm dan dibuat kurva baku. Persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu :

$$y = 0,0025x + 0,1154$$

dengan $r^2 = 0,9994$

Grafik Regresi linier dapat dilihat pada Gambar 2 berikut:

Gambar 2 Regresi Linier Asam Kojat dalam Dapar Phosphat



Hasil Uji Permeasi

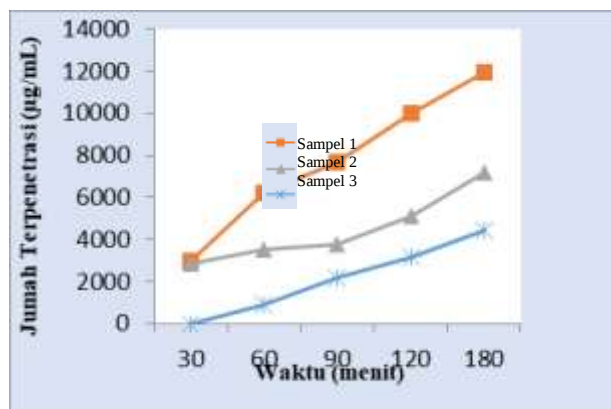
Uji permeasi dalam penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan sel difusi Franz. Pengujian dilakukan untuk mengetahui jumlah Asam Kojat yang dapat berpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu dari sediaan serum pencerah wajah yang berisi Asam Kojat.

Membran yang digunakan yaitu membran PTFE (Politetraflouroethylene) adalah membran sintesis yang biasa digunakan untuk pengujian *in vitro*, pemilihan membran berdasarkan pertimbangan resistensi yang paling rendah dan tidak *rate controlling*, selain itu membran dipilih untuk meminimalkan kesalahan atau *error*. Membran PTFE ini merupakan membrane sintesis non lipid yang menyerupai kulit manusia memiliki banyak keuntungan secara harga lebih ekonomis dan stabil pada saat penyimpanan. Sebelum digunakan membran harus dihidrasi terlebih dahulu direndam dalam dapar fosfat 7,4 (sebagai simulasi dari kondisi pH cairan biologis manusia) diatur suhu konstan pada 37°C selama 3 menit, kemudian, lapisan membran PTFE sudah bisa digunakan. Ukuran membrane pori PTFE 0.45 mikron ini sama dengan ukuran pori manusia yaitu 0,2 mikron sampai 50 mikron, pertimbangan lain adalah membran ini lebih praktis karena tidak perlu melakukan perlakuan khusus sebagaimana halnya apabila memakai kulit dari hewan atau kulit manusia sekalipun, misalnya bila menggunakan kulit tikus yang harus dicukur dan dihilangkan terlebih dahulu lapisan lemak subkutannya, dan terlebih jika menggunakan kulit manusia sudah bisa dipastikan lebih sulit untuk mendapatkannya.

Sebelum digunakan membran PTFE dimasukkan terlebih dahulu ke dalam medium larutan reseptor yaitu dapar fosfat pH 7,4 untuk proses hidrasi, dapar fosfat dipilih untuk cairan reseptor sebagai simulasi dari kondisi pH cairan biologis manusia yang memiliki pH 7,4. Membran tersebut kemudian diletakkan di antara kompartemen reseptor dan donor, dalam hal ini membran harus kontak dengan cairan reseptor agar sediaan yang diaplikasikan pada membran dapat berpenetrasi menembus kulit menuju cairan reseptor. Pengadukan pada kompartemen reseptor berfungsi untuk menghomogenkan cairan sehingga dapat mempercepat proses pelarutan zat yang terpenetrasi dan konsentrasi zat dapat tersebar merata di dalam cairan reseptor. Pengadukan menggunakan *magnetic stirer* dengan kecepatan 300 rpm guna menghindari terbentuknya gelembung udara akibat putaran yang terlalu tinggi. Suhu dijaga selama proses berlangsung menggunakan *water jacket* pada 37±0,5°C sebagai simulasi tubuh manusia dengan menggunakan air yang mengalir keluar dari *thermostat*. Waktu dilakukannya pengujian selama 3 jam dengan pengambilan sampel pada menit ke-30, 60, 90, 120 dan 180 yaitu sebanyak 5 titik. Sampel setiap kali diambil sebanyak 1 mL dan diencerkan hingga 5 mL, yang berarti pengenceran yang dilakukan sebanyak 5 kali. Cairan kompartemen reseptor segera diganti dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sejumlah volume yang sama setiap kali dilakukan pengambilan sampel yang bertujuan menjaga volume cairan reseptor tetap konstan selama pengujian. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan sampel dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang Asam Kojat dalam dapar fosfat pada panjang gelombang 510 nm. Untuk setiap formula uji permeasi dilakukan sebanyak tiga kali (triplo).

Dari hasil penetrasi Asam Kojat terhadap membran PTFE selama 3 jam dari sediaan serum pencerah wajah sampel 1,2 dan 3, berturut-turut adalah 4.453,90±49,37 µg/cm²; 7.176,33±87,76; dan 13.813,07±87,77 µg/cm². Yang dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini:

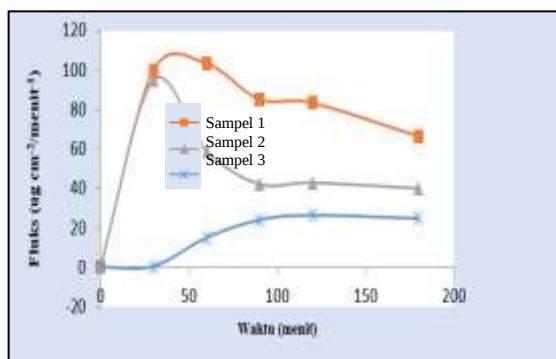
Gambar 3. Jumlah Kumulatif Asam Kojat terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan serum pencerah wajah seluruh sampel (Sampel 1, Sampel 2, dan Sampel 3).



Berdasarkan hasil tersebut jumlah terbanyak dimana asam Kojat terpenetrasi pada sediaan serum pencerah wajah sampel 3, dimana pada sediaan tersebut berasal dari kategori harga relatif mahal berturut-turut diikuti oleh sampel 2 yang berasal dari kategori medium dan terakhir adalah sampel dari kategori harga relatif murah. Perbandingan harga sediaan terhadap jumlah terpenetrasi belum bisa dijadikan sebagai acuan tentang kualitas daya penetrasi terhadap harga, karena jumlah sampel yang diambil sangat terbatas tetapi yang terpenting adalah enulis dapat menyajikan model study permeasi terhadap suatu sediaan jadi sehingga diharapkan dapat menjadi study yang dapat dipakai sebagai referensi untuk penelitian sejenis untuk penelitian selanjutnya. Walaupun zat aktif yang digunakan pada ketiga sampel adalah sama yaitu menggunakan agen pencerah wajah Asam Kojat, tetapi formula dari ketiga serum yang dijadikan sampel penelitian ini menggunakan formula yang berbeda, yang mana hal tersebut dapat mengakibatkan perbedaan sehingga dapat berpengaruh terhadap daya penetrasinya ke dalam kulit, di samping kualitas bahan-bahan yang dipergunakan memiliki kemungkinan adanya perbedaan pula.

Kemudian fluks diperoleh dalam keadaan *steady state* yang mengikuti kaidah hukum Fick. Hukum Fick pertama memberikan aliran (laju difusi melalui satuan luas) dalam aliran pada keadaan *steady state* (Martin and Cammarata, 1983). Jumlah kumulatif Asam Kojat terpenetrasi melalui membran PTFE diplotkan terhadap waktu dan dibuat persamaan regresi linier sehingga dapat ditentukan nilai dari fluks Asam Kojat. Fluks ditentukan dari kemiringan grafik tersebut pada keadaan *steady state*. Kondisi *steady state* terlihat sebagai suatu garis mendatar pada kurva fluks yang diplotkan terhadap satuan waktu. Nilai dari fluks Asam Kojat sampel 1,2 dan 3 berturut-turut adalah $66,40 \pm 0,30$; $39,87 \pm 0,46$; dan $24,74 \pm 0,27 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{menit}^{-1}$. Formula yang memiliki nilai fluks yang paling tinggi selama 3 jam pengujian adalah sampel 1 dimana sampel tersebut memiliki kecepatan penetrasi zat aktif yang paling tinggi. Fluks dari masing-masing sampel dapat dilihat pada gambar 4 berikut ini:

Gambar 4. Fluks Asam Kojat tiap waktu pengambilan dari Sampel 1,2 dan 3



Pada Gambar 4 dapat terlihat pada sampel 2 dan sampel 3 memperlihatkan nilai fluks yang tinggi pada menit-menit awal, yang menggambarkan bahwa pada sampel-sampel tersebut

memberikan pelepasan obat yang cepat, sedangkan pada sampel 1 grafik cenderung melandai dan kemudian menaik, sehingga tanpa yang berarti keterserapan cenderung membutuhkan waktu yang lebih lama.

Perbedaan daya penetrasi dari sampel-sampel tersebut dapat diakibatkan pemilihan *enhancer* atau zat peningkat penetrasi yang berbeda dari masing-masing sampel tersebut sehingga mengakibatkan terjadinya perbedaan baik itu dari jumlah kumulatif yang terpenetrasi maupun dari nilai fluks sampel-sampel tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil study permeasi dari ketiga sampel serum Asam Kojat yang dipilih berdasarkan kategori yang berbeda, diperoleh hasil pada sampel 3 memiliki jumlah kumulatif terpenetrasi dan nilai fluks yang lebih baik dibandingkan dengan dua sampel lainnya, dimana hasil yang diperoleh untuk jumlah kumulatif terpenetrasi berturut-turut dari sampel 1,2 dan 3 adalah $4.453,90 \pm 49,37 \mu\text{g}/\text{cm}^2$; $7.176,33 \pm 87,76$; dan $13.813,07 \pm 87,77 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, sedangkan untuk nilai Fluks yaitu $66,40 \pm 0,30$; $39,87 \pm 0,46$; dan $24,74 \pm 0,27 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{menit}^{-1}$, bagi sampel 1,2 dan 3.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk menambahkan kategori dan jumlah sampel yang diteliti, serta mengembangkan dari formula yang ada menjadi lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Draelos, Z.D., & Thaman, L.A. Ed. 2006. *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. Vol. 30. New York : Taylor and Francis Group, LLC.
- Gillbro JM, Olsson MJ. The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents – existing and new approaches. *International Journal of Cosmetic Science*. 2011;33(3):210-21
- Kolarsick PAJ, Kolarsick MA, Goodwin C. 2009. *Chapter 1 :Anatomy and Physiology of the Skin*, dalam *Skin Cancer*. *Journal of the dermatology nurses' association*. Hal 1-11.
- Martin A., Swarbrick, J., & cammarata, A. 1983. *Farmasi Fisik. Edisi ke-3*. Penerjemah: Joshita Djajadisastra. Jakarta: Penerbit Airlangga UI Press.
- Saeedi, M., Eslamifar, M., & Khezri, K. (2019). Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110(November 2018), 582–593.
- Shashi P, Anroop N, Vipin S, Neelam S. 2012. *Skin Kinetict and Dermal Clearance*, Review article. *Int. Res. J. Pharm*, 3 (8): 14 - 21.
- Shimizu, Hiroshi. 2007. *Chapter 14 Keratinization*. Hokaido University press, dalam <http://www.derm-hokudai.jp/shimizu-dermatology/pdf/01-03.pdf> diakses pada 19 Juni 2016.
- Singla, Anil K. Alka Garg. Deepika Aggarwal. Sanjay Garg. 2002. Spreading of Semisolid Formulations An Update. *Pharmaceut. Technol*.
- Swarbrick, J. dan Boylan, J. 1995. *Percutaneous Absorption*, in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Volume 11. New York : Marcel Dekker Inc. Hal. 413-445.
- Thakker, K.D. & Chem, W.H. 2003. Development and Validation of in Vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms-Case Study. *Dissolution Technology*. 10-15.