

FORMULASI DAN UJI POTENSI ANTIOKSIDAN *NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER* (NLC) RETINIL PALMITAT

Framesti Frisma Sriarumtias*, Sasanti Tarini, Sophi Damayanti

Informasi Penulis

Departemen
Farmakologi-Farmasi
Klinik, Sekolah Farmasi,
Institut Teknologi
Bandung,
Jl. Ganesa 10 Bandung

Korespondensi

Framesti Frisma
Sriarumtias

E-mail:
framestifs@gmail.com

ABSTRAK

Retinil palmitat (RP) merupakan golongan retinoid, yaitu ester vitamin A (Retinol) yang memiliki gugus palmitat pada ujung rantainya. Retinil palmitat banyak digunakan sebagai antioksidan dan anti kerut dalam industri kosmetika. Hal yang perlu diperhatikan dalam formulasi RP yaitu menjaga stabilitas dari panas, cahaya dan oksigen, sehingga perlu dicari sistem yang mampu melindungi RP dari degradasi. Salah satunya dibuat dalam sistem *Nanostructured lipid carriers* (NLC), sebagaimana diketahui bahwa NLC merupakan sistem penghantaran obat yang bisa meminimalisir degradasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan sistem penghantaran NLC untuk meningkatkan stabilitas serta potensi antioksidan dan meningkatkan difusi RP melalui kulit. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan NLC dengan metode teknik mikroemulsi yaitu 4% PEG-8 beeswax dan 4% Isopropil miristat sebagai lipid padat dan lipid cair, 13% Polisorbat 80 sebagai surfaktan, dan 10% Sukrosa stearat sebagai kosurfaktan. Karakterisasi yang dilakukan yaitu pengukuran ukuran partikel dan polidispersitas indeks, efisiensi penjerapan, uji difusi dengan *Franz diffusion cell*, karakterisasi morfologi dengan *Transmission electron microscopy (TEM)* dan uji aktivitas antioksidan dengan DPPH. NLC-RP memiliki ukuran partikel $65,63 \pm 1,09$ nm, indeks polidispersitas $0,32 \pm 0,07$, efisiensi penjerapan $94,55 \pm 0,76\%$, hasil uji difusi tertinggi yaitu pada NLC-RP $52,58 \pm 4,37\%$, diikuti krim NLC-RP $36,36 \pm 1,46\%$, krim RP $18,70 \pm 2,13\%$ dan emulsi RP $18,22 \pm 1,50\%$. Uji stabilitas fisika dan kimia NLC-RP disimpan selama 60 hari pada suhu 25°C RH 65% dan 40°C RH 75% menunjukkan bahwa tidak ada perubahan pada kondisi tersebut. Dari penelitian ini didapat kesimpulan bahwa NLC-RP mampu menjaga stabilitas retinil palmitat. Sedangkan NLC-RP yang dimasukkan kedalam krim mengalami penurunan kadar sebanyak 58,15% pada suhu ruang dan 70,05% pada suhu 40°C serta penurunan potensi antioksidan akibat keberadaan basis krim.

Kata kunci: antioksidan, DPPH, nanostructured lipid carrier, retinil palmitat

RETINYL PALMITATE *NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER* (NLC) FORMULATION AND ANTIOXIDANT POTENTIAL TEST

ABSTRACT

Retinyl palmitate (RP), member of retinoid family is an ester of retinol with palmitate functional group at the end of the chain. RP is commonly used as antioxidants and anti-wrinkle component in cosmetic industry. RP instability requires a formulation system which makes it stable against heat, light and oxygen, such as Nanostructured Lipid Carriers (NLC). NLC is known as notable drug delivery system to minimize degradation. The aim of this research is to develop NLC delivery system to improve stability and antioxidant activity and increase RP diffusion through the skin. Materials used in NLC formulation were obtained using microemulsion technique are 4% PEG-8 beeswax and 4% isopropyl myristate as lipids in solid and liquid form, respectively; 13% polysorbate 80 as surfactant and 10% sucrose stearate as cosurfactant. Characterization NLC were evaluated using particle size measurement, polydispersity index, entrapment efficiency, in vitro diffusion testing using Franz diffusion cell, morphological characterization using Transmission Electron Microscopy (TEM) and antioxidant activity using DPPH. Particle size of NLC-RP was $65,63 \pm 1,09$ nm, polydispersity index of $0,32 \pm 0,07$, entrapment efficiency of $94,55 \pm 0,76\%$. Penetration result showed liquid NLC-RP diffusion the highest $52,58 \pm 4,37\%$, followed by NLC-RP in cream $36,36 \pm 1,46\%$, RP in cream $18,70 \pm 2,13\%$ and RP in emulsion $18,22 \pm 1,50\%$. Physical and chemical stability testing NLC-RP were stored for 60 days at 25°C RH 65% and 40°C RH 75%, the results shown there are no changed in these condition. Research results showed NLC-RP is able to maintain stability of RP, meanwhile NLC RP in cream formulation shows 58.15% amount decrease in room temperature and 70.05% amount decrease at 40°C , and antioxidant activity decrease due to cream formulation.

Keywords: antioxidant, DPPH, nanostructured lipid carrier, retinyl palmitate

Pendahuluan

Penuaan adalah proses fisiologis yang akan terjadi pada semua makhluk hidup. Penuaan terbagi menjadi dua jenis, yaitu penuaan secara intrinsik (kronis) dan ekstrinsik (Gilchrest *et al.* 1996). Sinar UV mampu menginduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan radikal bebas yang muncul akibat stress oksidatif yang berperan dalam proses penuaan (Alam *et al.* 2010). Untuk meminimalisir kerusakan akibat ROS bisa dilakukan dengan penggunaan produk anti penuaan yang mengandung antioksidan contohnya retinoid (Burke 2010).

Retinoid terdiri dari retinol, ester retinil dan retinaldehid (Bisset *et al.* 2010). Pada golongan retinoid, retinil palmitat (RP) memiliki sifat paling stabil serta potensi iritasi rendah. Saat di kulit RP akan dikonversi menjadi retinol sehingga mekanisme kerjanya mirip retinol dengan memperbaiki matriks ekstraseluler (GAGs) (Oliveira *et al.* 2014).

Permasalahan utama penggunaan retinoid secara topikal yaitu tingginya resiko iritasi kulit (Bisset *et al.* 2010). Sehingga perlu dicari solusi sistem pembawa yang cocok untuk melindungi degradasi yang akan berdampak pada potensi antioksidan. Salah satu bentuk pembawa yang mampu melindungi retinoid dari degradasi dengan *Lipid Carrier* salah satunya dengan *Nanostructured Lipid Carrier* (NLC) (Clares *et al.* 2014, Carlotti *et al.* 2005, Jenning *et al.* 2000).

NLC merupakan matriks koloidal yang terbuat dari lipid padat dan lipid cair dengan diameter rata-rata antara 50 sampai 1000 nm (Carlotti *et al.* 2005). NLC berperan sebagai matriks yang menjerap RP didalam lipid padat sehingga menurunkan tingkat degradasi dengan cara melindungi RP terhadap radiasi UV secara langsung (Jenning *et al.* 2000).

Tujuan penelitian ini bila dibandingkan dengan penelitian NLC yang lainnya yaitu untuk mengetahui pengaruh sistem penghantaran NLC terhadap potensi antioksidan dengan teknik pembuatan mikroemulsi. Untuk mempermudah

cara dalam penggunaan, maka NLC-RP dibuat dalam krim dan dibandingkan dengan sediaan RP yang terdispersi dalam krim. Diamati penetrasi dalam bentuk NLC tunggal maupun setelah dimasukan kedalam krim serta dilihat stabilitas secara fisika dan kimia serta aktivitas antioksidannya.

Percobaan

Bahan

Retinil palmitat (*pharmaceutical grade*) (OTTO Pharmaceutical), gliseril behenat (*pharmaceutical grade*) (PT Chemico Indonesia), PEG-8-Beeswax (*pharmaceutical grade*) (Gattefose CG), gliseril monostearat (*pharmaceutical grade*), poligliseril-3-metilglukosa distearat (*pharmaceutical grade*) (Tego Care 450) (Evonik Indonesia), sukrosa stearat (*pharmaceutical grade*), poloxamer 188 (*pharmaceutical grade*) (BASF), polisorbitat 80 (*pharmaceutical grade*), vitamin E asetat (*pharmaceutical grade*) (Sanbe Farma), parafin cair (*pharmaceutical grade*), isopropil miristat (*pharmaceutical grade*), setil alkohol (*pharmaceutical grade*), setostearil alkohol (*pharmaceutical grade*), gliserin (*pharmaceutical grade*), parafin cair (*pharmaceutical grade*), asam stearat (*pharmaceutical grade*), *virgin coconout oil* (VCO) (*pharmaceutical grade*), asam oleat (*pharmaceutical grade*), minyak zaitun (*pharmaceutical grade*), oleum cacao (*pharmaceutical grade*), kaprilik/kaprik trigliserida (*pharmaceutical grade*) (BASF), aquadest, aquadeion, *Phosphat buffer saline* (PBS), standar internal retinil palmitate (Sigma Aldrich), metanol pro HPLC (Merch), n-heksan pro analisis, aquabides steril, DPPH (Sigma Aldrich), asam askorbat (*pharmaceutical grade*), lepasan kulit ular *phyton*.

Alat

Orbital shaker, Delsa™ Nano C, Beckman Coulter, spektrofotometri UV-Vis (Beckman DU 7500i), alat mikrosentrifugasi (Hsiang Tai), *Centrifugal Filters* (Amicon Ultra, Merck), alat *Franz diffusion cell* model aliran, HPLC Waters, Kolom Lichrosphere@ 100 RP-8 (5µm), *Transmission electron microscopy* (TEM) dan *Climatic chamber*.

Formulasi *nanostructured lipid carrier* (NLC)

Tahap awal penelitian meliputi optimasi kelarutan RP pada lipid padat (gliseril monostearat, gliseril behenat, setil alkohol, asam stearat, PEG-8 beeswax dan setostearil alkohol) dan lipid cair (isopropil miristat, asam oleat, VCO, *olive oil*, kaprilik/kaprik trigliserida) serta optimasi dengan beberapa surfaktan (tego care 450, polisorbat 80 dan poloxamer 188) serta penambahan kosurfaktan (etanol, propilen glikol, gliserin, dan sukrosa stearat).

Fase lipid dan fase air (surfaktan, kosurfaktan dan air) dipanaskan pada suhu 75°C, RP dimasukkan kedalam fase lipid kemudian dihomogenisasi selama satu menit secara mekanik dengan magnetik stirer dengan suhu 75°C, kemudian ditambahkan fase air dan dihomogenisasi secara mekanik dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Akan terbentuk mikroemulsi panas yang transparan. Mikroemulsi panas kemudian didispersikan dalam air (2-3°C) sampai didapat konsentrasi RP 2% (Gasco 1997, Charlotti *et al.* 2005, Carafa *et al.* 2008).

Formulasi Krim

Penambahan NLC kedalam krim bisa dilakukan dengan dua cara. Pertama mengganti setengah bagian fase air dengan NLC atau mengganti seluruh fase air dengan NLC. Selain itu, karena NLC mengandung lipid dalam jumlah banyak, maka konsentrasi lipid dalam krim bisa dikurangi (Pardeike *et al.* 2009, Wissing *et al.* 2001).

Evaluasi ukuran Partikel dan Indeks polidispersitas

Diukur dengan menggunakan Delsa™ Nano C, Beckman Coulter. Untuk mendapatkan ukuran partikel dan indeks polidispersitas diukur dengan mengencerkan NLC dengan 1:10 aquadest.

Efisiensi penjerapan

Pengukuran efisiensi penjerapan (%EE) dari NLC-RP menggunakan tabung *Centrifugal Filters* (Ultracel) dengan ukuran pori membran 3kD, sebanyak 500 uL NLC-RP dimasukkan kedalam tabung *Centrifugal Filters* kemudian disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 10 menit. Filtrat diukur dengan menggunakan KCKT dengan panjang

gelombang 325 nm, %EE diukur dengan persamaan :

$$\%EE = \frac{\text{jumlah RP dalam NLC} - \text{RP tidak terjerap}}{\text{jumlah RP dalam NLC}} \times 100$$

Morfologi dengan transmission electron microscopy (TEM)

Pengamatan morfologi dilakukan dengan menggunakan TEM. Sampel dicampurkan dengan aquabides dan ditempatkan dalam *carbon film* dengan 1% asam fosfotungstat dan dikeringkan. Sampel siap diamati.

Uji difusi

Uji difusi dilakukan dengan menggunakan lepasan kulit ular *Phyton*. Pemilihan lepasan kulit ular sebagai membran karena profil histopatologi yang menyerupai stratum korneum pada manusia, tetapi tanpa keberadaan pori-pori. Sel difusi ditempatkan dalam aquadest dengan suhu 37,5°C. Reseptor yang digunakan yaitu larutan *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4, membran disimpan dalam sel kemudian diolesi 1 gram sediaan. Waktu sampling yang digunakan yaitu selama 9 jam. Setiap sampling diambil 1 ml dari reseptor kemudian diganti dengan larutan PBS dengan jumlah yang sama. Sampel kemudian dianalisis dengan KCKT.

Uji stabilitas potensi antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) panjang gelombang maksimum dari DPPH yaitu 516 nm. Panjang gelombang yang telah didapatkan digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dibuat larutan DPPH 50 µg/mL, larutan asam askorbat 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 µg/mL, larutan RP, basis NLC, NLC-RP, basis krim, krim NLC-RP dan krim RP diekstraksi dengan n-heksan dibuat 1000 µg/mL dan diencerkan dengan metanol menjadi 1, 3, 5, 9, 12 dan 15 µg/mL.

Pengukuran dilakukan dengan mencampurkan DPPH dengan sampel sebanyak 1:1, diinkubasi selama 30 menit kemudian diukur dengan

spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 516 nm. Selanjutnya hasil absorbansi dihitung untuk mendapatkan %Inhibisi, dengan perhitungan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100$$

Sampel disimpan ditempat gelap dengan temperatur berbeda 25°C dan 40°C selama satu bulan. Sampel diambil setiap 1, 3, 7, 15, dan 30 hari. Setiap 10 mg sampel diambil dari *container* dan diencerkan pada berbagai konsentrasi dan diuji dengan DPPH.

Hasil dan pembahasan

Formulasi NLC dan krim RP

Cara untuk penentuan lipid padat yang cocok untuk suatu obat yaitu bisa dilihat secara visual setelah pelelehan lipid padat yang ditambahkan zat aktif. Dari dua golongan lipid, wax menghasilkan distribusi ukuran partikel dan stabilitas fisik lebih baik bila dibandingkan dengan golongan gliserida yang lebih mudah terjadi pertumbuhan ukuran partikel dan agregasi (Jenning *et al.* 2000, Souta *et al.* 2013). Berdasarkan pertimbangan ini maka lipid padat yang digunakan yaitu PEG-8 beeswax. Dari hasil uji kelarutan didapat hasil paling besar pada isopropil miristat yaitu 93,43±1,4 mg/g.

Optimasi rasio lipid padat dibuat dengan berbagai konsentrasi tertentu, dari berbagai konsentrasi tersebut, yang mampu membentuk sistem mikroemulsi dengan konsentrasi 60:40 ditandai dengan tampilan transparan.

Konsentrasi surfaktan yang mampu membentuk sistem mikroemulsi yaitu sebanyak 13% dan sukrosa stearat sebagai kosurfaktan mampu membentuk sistem mikroemulsi stabil pada konsentrasi 10% (Tabel 1). Dari optimasi formula krim didapat formula akhir yang mampu membuat konsistensi semisolid yaitu dengan mengganti seluruh fase air dengan NLC (Tabel 2).

Tabel 1. Formula akhir NLC-Retinil Palmitat

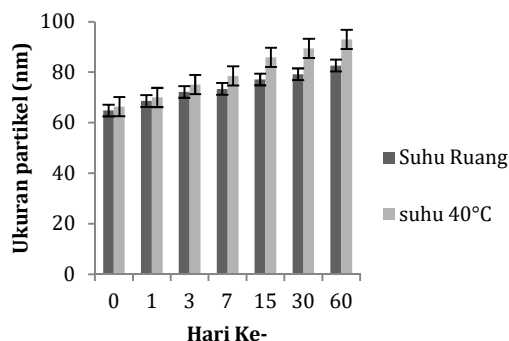
Kode komponen	Konsentrasi yang digunakan (%)
Aquadeion	Ad 100
Polisorbat 80	13
Sukrosa stearat	10
Isopropil miristat	4
PEG-8 beeswax	4
Retinil palmitat	2

Tabel 2. Formula akhir krim

Kode Komponen	Konsentrasi yang digunakan (%)	
	Krim NLC-RP	Krim RP
NLC-RP	Ad 100	-
Tego care 450	1	2
Propilen glikol	5	10
Setil alcohol	7	5
Parafin cair	2	2
Vitamin E asetat	2	2
RP	-	2
Aquades	-	Ad 100
Tampilan	Semisolid kuning	Semisolid kuning pucat
pH	7,2	6,73
Viskositas	128.000 cps	600.000 cps

Evaluasi ukuran partikel

Dari Gambar 1 menunjukkan bahwa suhu tidak berpengaruh terhadap ukuran partikel NLC-RP. Dari hasil pengamatan didapat kenaikan ukuran partikel NLC-RP selama 60 hari pada suhu ruang sebesar 1,27% dan pada suhu 40°C sebesar 1,40% secara statistik tidak menunjukkan perbedaan ($p > 0,05$).



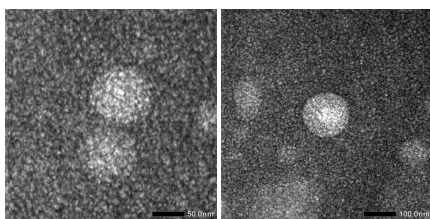
Gambar 1. Grafik ukuran partikel NLC-RP pada suhu ruang dan suhu 40°C selama 60 hari ($p > 0,05$).

Efisiensi penyerapan

Efisiensi penyerapan memberikan data berapa persen zat aktif yang berhasil dijerap oleh nanopartikel. *Loading capacity* membantu dalam mengetahui jumlah obat dalam suatu nanopartikel. Dari tiga batch NLC-RP didapat rata-rata efisiensi penyerapannya yaitu sebesar $94,55 \pm 0,76\%$. Besarnya penyerapan RP dalam NLC dikarenakan perbandingan zat aktif dengan basis yaitu 1:4, serta dilihat dari struktur, nilai koefisien partisi dan data kelarutan diketahui bahwa RP sangat hidrofob, memiliki kelarutan yang baik pada basis. Selain itu karena NLC terbentuk dari dua lipid yang berbeda, saat *solidifikasi* terbentuk ruang yang tidak beraturan didalam matriks yang menyebabkan banyaknya ruang untuk zat aktif (Tofani, 2016).

Pengamatan morfologi

Pengamatan morfologi NLC-RP dengan TEM tampak seperti gambar 2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa NLC-RP berbentuk sferis.

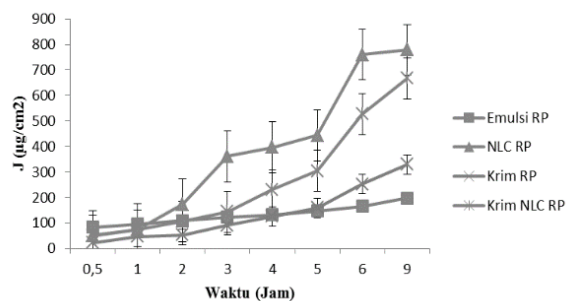


Gambar 2. Hasil TEM NLC-RP dengan marker 50 nm perbesaran 80000x (kiri) dan dengan marker 100 nm perbesaran 40000x (kanan).

Uji difusi

Dari profil uji difusi (Gambar 3) dapat dilihat dari empat bentuk sediaan, sediaan NLC-RP paling banyak terdifusi yaitu sebanyak $52,58 \pm 4,37\%$, sedangkan emulsi RP sebanyak $18,22 \pm 1,5\%$. Tingginya difusi NLC-RP bisa dipengaruhi oleh ukuran partikel dari NLC yang lebih besar dari emulsi RP. Selain itu dalam matriks NLC-RP mengandung banyak komponen lipid, hal ini memungkinkan mudahnya difusi melalui stratum korneum karena persamaan sifat polaritasnya. Krim NLC-RP terdifusi sebanyak $36,36 \pm 1,45\%$, sedangkan krim RP terdifusi sebesar $18,70 \pm 2,13\%$. Penurunan penetrasi NLC-RP dalam

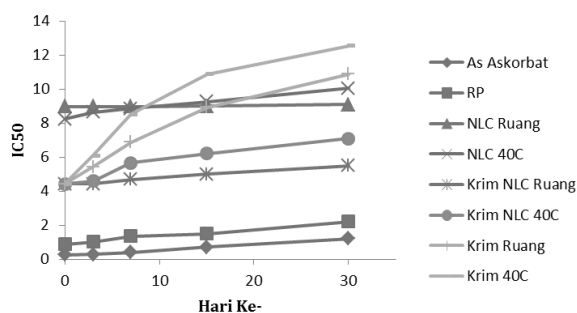
krim dikarenakan terjadinya dua tahap difusi, yaitu difusi RP dari matriks NLC menuju basis krim, kemudian dari basis krim menuju SC. Dari hasil uji statistik pada uji difusi dari berbagai sediaan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$).



Gambar 3. Profil difusi retinil palmitat dengan berbagai bentuk sediaan ($p < 0,05$).

Uji stabilitas potensi antioksidan

Dari percobaan ini didapat hasil IC_{50} asam askorbat yaitu $0,26 \mu\text{g/mL}$, IC_{50} basis NLC $146,02 \mu\text{g/mL}$ dan IC_{50} basis krim $193,09 \mu\text{g/mL}$. Pengujian potensi antioksidan pada NLC suhu ruang maupun suhu 40°C (Gambar 4) didapat IC_{50} hari ke-0 yaitu $8,97 \mu\text{g/ml}$ dan $8,23 \mu\text{g/ml}$. Kenaikan nilai IC_{50} pada NLC suhu ruang maupun suhu 40°C tidak terjadi secara signifikan yaitu pada suhu ruang sebanyak $1,96\%$ dan suhu 40°C sebanyak $18,11\%$.



Gambar 4. Profil IC_{50} RP dalam berbagai bentuk sediaan serta kondisi penyimpanan ($p < 0,05$).

Dari data NLC-RP maupun RP yang dimasukan kedalam krim, terjadi kenaikan IC_{50} pada krim NLC-RP suhu ruang sebesar $19,38\%$, suhu 40°C $37,69\%$ dan krim RP suhu ruang $59,28\%$, suhu 40°C $64,64\%$. Hal ini menunjukkan bahwa dengan

adanya basis krim, potensi antioksidan dari NLC-RP menurun seiring masa penyimpanan ($p < 0,05$).

Hal ini membuktikan terjadinya penurunan kadar serta aktivitas antioksidan yang disebabkan oleh peningkatan suhu. Temperatur berpengaruh dalam stabilitas suatu zat, hal ini berhubungan dengan teori tabrakan molekul dimana kecepatan reaksi sebanding dengan jumlah tabrakan molekul per satuan waktu. Apabila temperatur meningkat maka jumlah tabrakan antar molekul menjadi meningkat yang menyebabkan kecepatan reaksi juga meningkat.

Formulasi dalam krim juga berpengaruh terhadap degradasi RP, karena kurangnya penambahan antioksidan dan pengaruh basis krim. Hal ini dibuktikan pada NLC-RP suhu ruang maupun 40°C penurunan kadarnya tidak lebih dari 20%, sehingga ditarik kesimpulan bahwa matriks NLC mampu meminimalisir degradasi sedangkan formulasi krim tidak mampu melindungi RP dari degradasi.

Dalam suatu emulsi, M/A akan mudah teroksidasi karena tingginya komposisi air yang disebut hidrasi menyebabkan dekomposisi RP menjadi *anhydro*-retinol. Kontak RP dengan air mempercepat dehidrasi dan perubahan dari *all-trans* menjadi *all-cis* yang merupakan bentuk tidak aktif dari RP. Hal yang bisa dilakukan untuk mencegah hal ini yaitu dengan memperkecil jumlah air dan menambahkan surfaktan dalam basis krim (Ji *et al.* 1999)

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa NLC mampu melindungi retinil palmitat dari degradasi, hal ini ditunjukkan dengan tidak meningkatnya nilai IC50 secara signifikan selama 60 hari. Sedangkan apabila NLC-RP dimasukkan kedalam krim terjadi kenaikan IC50 yang menandakan bahwa basis krim mempengaruhi potensi antioksidan RP.

Daftar Pustaka

Alam M dan Jillian H, 2010, *Chapter 2 : Photoaging*. Cosmetic Dermatology: Product and procedures, Blackwell Publishing, USA. 13-20.

Bisset D, John EO dan Laura JG, 2010, *Chapter 39 : Topical Vitamins*. Cosmetic Dermatology: Product and Procedures, Blackwell Publishing, USA. 319-321.

Burke KE, 2010, *Antiaging Regimens In: Draelos ZO (eds)*. Chapter 59 : Antiaging Regimens, Cosmetic Dermatology Products & Procedures, Willey-Blackwell, UK. 480-484.

Carafa, C Marianecchi, M Salvatorelli, L Di Marzio, F Cerreto, G Lucania dan E Santucci, 2008, *Formulations of Retinyl Palmitate Included in Solid Lipid Nanoparticles: Characterization and Influence on Light-induced Vitamin Degradation*, J. Drug Delivery Sci. Technol. 18 (2) 119-124.

Charlotti ME, S Sapino, M Trotta, L Battaglia, D Vione dan E Pelizzetti, 2005, *Photostability and Stability over Time of Retinyl Palmitate in an O/W Emulsion and in SLN Introduced in the Emulsion*, J. Dispersion Sci. Technol. 26: 125-138.

Clares B, Ana CC, Alexander P, Guadalupe A, Helen A, Joana FF dan Eliana BS, 2014, *Nanoemulsions (NEs), Liposomes (LPs), and Solid Lipid Nanoparticles (SLNs) for Retinyl Palmitate: Effect on Skin Permeation*. Int. J. Pharmaceutics, 591-598.

Gasco MR, 1997, *Solid Lipid Nanoparticles from Warm Microemulsion*, Pharm. Technol. Eur. 9, 32-42.

Gilchrest BA, 1996, *A Review of Skin Ageing and its Medical Therapy*, Br. J. Dermatol. 135 : 867-875.

Jenning V, Anja G, Monika SÈ-K dan Sven HG, 2000, *Vitamin A Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Topical Use: Occlusive Properties and Drug Targeting to the Upper Skin*, Eur. J. Biopharm. 49 (2000), 211-218.

Ji HG dan B Seo, 1999, *Retinyl Palmitate as 5% in a Cream: Its Stability, Efficacy and Effect*, Cosmetics and Toiletries 114:61-68

Olivera M, Alice HdP, Jéssica B, Claudia SS, Iguatemy LB, Maria VS, Gislaïne RL, Stig EF, dan Marlus C, 2014, *Topical Application of Retinyl Palmitate – Loaded nanotechnology- based Drug Delivery Systems for the Treatment of Skin Aging*, BioMed. Res. Int. 1-7.

Tofani RP, 2016, *Pengembangan Sediaan Topikal Nanostructured Lipid Carrier (NLC) Deoksiarbutin dan Uji Efikasi Depigmentasinya*, Disertasi Program Doktor, Institut Teknologi Bandung. 13-17

Pardeike J, Aiman H dan Rainer HM, 2009, *Lipid Nanoparticles (SLN, NLC) in Cosmetic and*

Pharmaceutical Dermal Products, Int. J. Pharm. 366, 170-178.

Wissing dan Rainer HM, 2001, *A Novel Sunscreen System Based on Tocopherol Acetate Incorporated Into Solid Lipid Nanoparticles*, Int. J. Cosmet. Sci. 233-243.