

UJI STABILITAS DAN UJI IRITASI PRIMER SEDIAAN KOSMETIK MIKROEMULSI VITAMIN C PALMITAT (ASCORBYL PAMITATE)

Dimas Adhi Pradana*, Bambang Hernawan Nugroho

Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia

Corresponding author. Email: adhi_pradana85@yahoo.com

Abstract Ascorbyl palmitate is a derivative of ascorbic acid which has a more lipophilic propertis. Ascorbic acid as a hydrophilic compound in topical formulation has low penetration through the skin. Ascorbyl palmitate has better penetration through the skin than that of ascorbic acid. Problem of ascorbic acid and its derivatives that it has a low stability in topical formulation. Microemulsion may increase stability of drugs and have better penetration through the skin. Microemulsion has high surfactant concentration in the formula which followed irritation. The aim of this research was to evaluate stability and primary irritation ascorbyl palmitate microemulsion. Ascorbyl palmitate microemulsion was made by low energy process. Physical stability of microemulsion was examined for viscosity, phase separation and homogeneities. Stress testing was also performed to the drug for hydrolisis (0.1 N HCl, water and 0.1 N NaOH) and oxidation (3% H₂O₂). Primary irritation test conducted with techniques on rabbits skin patch test. Rabbits were divided into 2 groups on the incision (n = 5) and not in the incision (n=5). Each group consisted of distilled water control, base control and treatment groups with dose variations 0.25 ml / inch, 0.50 ml / inch, 1 ml / inch and 2 ml / inch. Ascorbyl palmitate microemulsion change in colour, viscosity and pH values during storage at temperature of 25°C and of 40°C. The stability of microemulsion, ascorbyl palmitate underwent degradation by route of hydrolysis and by oxidation. Primary irritation index values obtained respectively 1.275, 1.825, 1.875 and 1.350. Ascorbyl palmitate microemulsion produce irritation index slightly irritating.

Keyword: Ascorbil palmitate, mikroemulsion, stability, surfactan, skin irritation

Intisari Vitamin C memiliki beberapa turunan, antara lain berupa askorbil palmitat yang memiliki kepolaran yang rendah, salah satu kendala dalam membuat sediaan vitamin C topikal adalah rendahnya stabilitas dan penetrasi ke dalam kulit. Mikroemulsi memiliki keunggulan antara lain mempunyai kestabilan yang baik, serta dapat meningkatkan penetrasi obat ke dalam kulit. Penelitian ini bertujuan mengetahui kestabilan mikroemulsi askorbil palmitat dan tingkat toksisitas dengan mengukur indeks iritasi pada kulit kelinci. Mikroemulsi askorbil palmitat dibuat dengan teknik *low energy*, dilakukan uji stabilitas fisik meliputi pH, visikositas, pemisahan fase dan homogenitasnya. Uji stabilitas kimia dilakukan dengan prosedur uji hidrolisis (0,1 N HCl, air dan 0,1 N NaOH) dan oksidasi (H₂O₂ 3%). Uji iritasi primer dilakukan dengan teknik uji tempel pada kulit kelinci yang terbagi menjadi 2 kelompok yang di insisi (n=5) dan tidak di insisi (n=5). Tiap kelompok terdiri dari kontrol akuades, kontrol basis dan perlakuan dengan variasi dosis pengolesan 0,25ml/inci, 0,50 ml/inci, 1 ml/inci dan 2 ml/inci. Hasil stabilitas fisik dari mikroemulsi mengalami perubahan pH, visikositas, warna dan homogenitas. Stabilitas kimia menunjukkan askorbil palmitat mengalami degradasi secara hidrolisis dan secara oksidasi. Berdasarkan uji iritasi primer skor eritma dan edema pada kulit yang di insisi lebih besar daripada kulit yang tidak diinsisi, sedangkan berdasarkan dosis pengolesan didapatkan nilai indeks iritasi primer berturut-turut 1,275; 1,825; 1,875 dan 1,350 sehingga dapat disimpulkan sediaan tersebut memiliki indeks iritasi dengan kategori sedikit mengiritasi.

Kata kunci : Askorbil palmitat, mikroemulsi, stabilitas, surfaktan, iritasi kulit

1. PENDAHULUAN

Askorbil palmitat merupakan salah satu turunan dari vitamin C dengan kepolaran yang rendah (Silva dan Campos, 2000). Kendala dalam sediaan vitamin C topikal adalah rendahnya penetrasi kedalam kulit, askorbil palmitat memiliki kemampuan menembus kulit yang lebih baik dibandingkan dengan vitamin C (Kogan dan Garti, 2006). Problem utama sediaan dengan vitamin C maupun turunannya adalah stabilitasnya, terutama degradasi dengan jalur oksidasi, salah satu cara untuk mengatasinya adalah dengan cara seperti eskluksi oksigen dalam proses produksi, penggunaan wadah yang tidak tembus oksigen, encapsulasi, membuat sediaan pada pH rendah, meminimalkan jumlah air dalam formulasi, dan penambahan antioksidan lain dalam formulasi.

Berbagai formulasi sediaan topikal telah banyak digunakan dan dikembangkan sebagai alternatif yang efisien dan praktis dalam sistem penghantaran obat. Salah satunya dengan mengembangkan formulasi sediaan topikal mikroemulsi. Kelebihan mikroemulsi sebagai sediaan topikal antara lain bersifat stabil secara termodinamika, jernih, transparan atau *translucent*. Penggunaan mikroemulsi tidak hanya pada pembuatan yang mudah dan biayanya murah tetapi sediaan topikal mikroemulsi dapat meningkatkan kecepatan permeasi obat (Terjarla, 1999). Tipe mikroemulsi secara signifikan mempengaruhi stabilitas mikroemulsi (Splicn, dkk., .,2001). Tipe mikroemulsi M/A sebagai suatu sistem pembawa dapat meminimalisir terjadinya reaksi oksidasi dari askorbil palmitat. Tipe mikroemulsi M/A memiliki stabilitas yang lebih baik dibandingkan tipe A/M , dikarenakan fase minyak mampu melindungi zat aktif askorbil palmitat yang berada pada fase minyak, dimana fase internal menghalangi oksigen berinteraksi dengan zat aktif.

Askorbil palmitat merupakan turunan dari Vitamin C yang memiliki kelarutan yang rendah sehingga memiliki kemampuan penetrasi menembus kulit lebih baik, namun

memiliki stabilitas yang rendah. Perlu dilakukan penelitian mengenai askorbil palmitat untuk memperbaiki stabilitas dan transpornya dengan membuat formulasi sediaan mikroemulsi tipe M/A, mikroemulsi memiliki karakteristik ukuran partikel yang lebih kecil sehingga memiliki kesetimbangan termodinamika yang lebih baik dibandingkan dengan emulsi konvensional, sediaan mikroemulsi juga dapat meningkatkan transpor obat melewati kulit (Kweon, dkk., 2004). Ukuran partikel ini dihasilkan dari surfaktan dan kosurfaktan yang mampu menurunkan tegangan permukaan, sehingga memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dan menghasilkan luas permukaan yang lebih besar, untuk menurunkan tegangan permukaan tersebut diperlukan konsentrasi surfaktan yang tinggi sehingga meningkatkan ketoksikan dan potensi iritasi.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui stabilitas fisik dan iritasi primer dari sediaan mikroemulsi yang dihasilkan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah askorbil palmitat (Sigma-Aldrich) sebagai zat aktif, Tween 80 (Bratachem, kualitas farmasetis), isopropil miristat (Merck, kualitas pro sintesis), lesitin kedelai (Bratachem, kualitas farmasetis), etanol (Bratachem, kualitas farmasetis), metanol (Merck, kualitas pro analisa), kalium dihidrogenfosfat (Merck, kualitas pro analisa), kalium orto fosfat (Merck, pro analisa) propilen glikol (Bratachem, kualitas farmasetis), natrium asetat (Merck, pro analisa), asam asetat glacial (Merck, pro analisa), Aquabidest(ikapharmindo, kualitas farmasetis). Subyek uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan lokal dengan berat badan 1-1,5 kg, yang diberi pakan rumput dan sayur-sayuran serta minum ad libitum. Alat Gelas, vacum filter, neraca analitis, hot plate, motor pengaduk (Ultra-Turrak®), shaking thermostatic(mommeth®), HPLC (Shimadzu SCL-6B), UV-detector (shimadzu SPD-6A) kolom C-18 (shim-pack®, CLC-C18, 6mm

30cm), membran filter 0,45 μ m (whatman®), yellow tip, micropipette, mikroskop elektrik (Olympus CX-41), ultasonik (Branson 5510), climated chamber (Climacell), viskometer Brookfield (DV-I Prime). Alat untuk perlakuan hewan uji yaitu kandang kelinci, alat pencukur hewan, gunting, pipet volume, kuas, kapas, plester, leukoplast, kain kasa hidrofili (steril), masker, dan sarung tangan.

2.2. Pembuatan mikroemulsi

Pembuatan mikroemulsi dilakukan dengan mencampurkan masing-masing fase dengan surfaktan yang digunakan dalam formula, fase minyak dengan surfaktan lesitin, sedangkan fase air dengan tween 80, dilakukan pengadukan dengan kecepatan 3000 rpm dengan alat Ultra-Turrak®),

2.3. Evaluasi Stabilitas Mikroemulsi Askorbil Palmitat

a. Stabilitas Fisik

Dilakukan dengan pengamatan organoleptis (warna, bau dan pemisahan fase) berdasarkan penilaian responden (n=20), selain itu dilakukan pengukuran pH sediaan dengan menggunakan pH meter dan uji viskositas (Brookfield seri DV-I Prime), selama penyimpanan suhu 25°C dan 40°C

b. Stabilitas Kimia

Stabilitas senyawa askorbil palmitat dalam mikroemulsi diuji dengan kondisi stres berdasarkan prosedur ICH (Anonim, 2003; Waterman, 2009; De Diego, dkk., 2010), Askorbil palmitat diuji stabilitasnya pada kondisi stres hidrolisis (0,1 N HCl, air dan 0,1 N NaOH) dan oksidasi (3% H₂O₂). Stres hidrolisis dilakukan dengan cara mikroemulsi askorbil palmitat 10 mg/ml dilarutkan dalam metanol, pipet masing-masing 2 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan tiap labu ukur tersebut 0,1 N HCl, akuades dan 0,1 N NaOH sampai tanda batas. Untuk hidrolisis basa (0,1 N NaOH) dipanaskan pada suhu 60 °C

selama 5 menit, hidrolisis perlakuan asam dan penambahan akuades dipanaskan dengan hot plate pada suhu 80 °C selama 30 jam. Pada perlakuan oksidasi, pipet dari stok 10 mg/ml dalam metanol sebanyak 3 ml masukan ke dalam labu 10 ml tambahkan larutan 3% H₂O₂, sampel dipanaskan pada suhu 80 °C selama 6 jam, kemudian suhu diturunkan pada suhu ruang, kemudian sampel dianalisis menggunakan HPLC dan spektrofotometer UV-VIS.

2.4. Uji iritasi primer

a. Penetapan dosis

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini berpatokan pada 0,5 g untuk bahan yang berbentuk padat dan 0,5 ml untuk bahan yang berupa cairan untuk 1 x 1 inci kulit (Lu, 1995). Sementara penentuan peningkatan konsentrasi berpatokan pada formula sediaan krim mikroemulsi askorbil palmitat 2 % dengan dosis sebesar 0,25 ml/inci, 0,5 ml/inci, 1 ml/inci, 2 ml/inci.

b. Penanganan hewan uji

Sebelum diberi perlakuan, hewan-hewan uji yang akan digunakan yaitu kelinci dipelihara dalam suatu kondisi tertentu. Selama masa ini hewan uji di tempatkan di suatu kandang khusus terpisah dengan hewan uji untuk penelitian yang lain. Pada saat ini, hewan uji diberi kesempatan untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya dan dihindarkan dari stres.

c. Pengelompokan hewan uji

Pengelompokan hewan uji dilakukan berdasarkan rangkaian uji sama subjek yang artinya uji dilakukan dengan cara setiap hewan uji pada masing-masing kelompok mendapat perlakuan yang sama dengan variabel yang sama yaitu konsentrasi/ dosis. Variabel bebas yang digunakan ada dua yaitu peringkat dosis dan perlakuan insisi.

Jumlah hewan uji yang digunakan adalah 5 ekor (dengan rincian 1 ekor 6 perlakuan) untuk dua kelompok besar yaitu kelompok tanpa insisi dan kelompok (kel.) dengan insisi. Adapun pembagian kelompok tersebut adalah:

- Kel. 1 :kontrol normal dengan aquades
- Kel. 2 :kontrol pelarut (basis)
- Kel. 3 :peringkat dosis mikroemulsi askorbil palmitat 0,25 ml/inci
- Kel. 4 :peringkat dosis mikroemulsi askorbil palmitat 0,5 ml/inci
- Kel. 5 :peringkat dosis mikroemulsi askorbil palmitat 1 ml/inci
- Kel.6 : peringkat dosis mikroemulsi askorbil palmitat 2 ml/inci

d. Pencukuran hewan uji

Bagian tubuh kelinci yang dicukur adalah daerah punggung dengan ukuran 1 x 1 inci. Pencukuran dilakukan dalam beberapa tahap. Tahap pertama merupakan proses pengguntingan dengan gunting rambut sampai panjang rambut kira-kira tersisa 0,5 cm, kemudian dilanjutkan dengan pencukuran rambut tersebut dengan alat pencukur, sehingga didapatkan kulit yang halus bebas rambut. Pencukuran dilakukan sedemikian rupa sehingga tidak melukai hewan uji. Masing-masing area dibatasi oleh bulu kelinci yang tidak dicukur dan berbatas jelas. Setelah pencukuran selesai, dilanjutkan dengan pemberian larutan uji.

e. Pemberian larutan uji dan pengamatan gejala toksik

Pemberian larutan uji diawali dengan mengambil krim sebanyak 0,5 ml menggunakan pipet volume kemudian larutan tersebut dioleskan pada punggung kelinci dengan menggunakan kuas secara hati-hati dan merata sesuai dengan konsentrasi/ dosis yang telah ditentukan. Setelah pengolesan selesai, area yang diolesi

ditutup dengan kain kasa steril yang dilapisi plastik, kemudian ditutup lagi dengan hypafix dan diberi plester kemudian hewan uji dikembalikan ke kandangnya. Keesokan harinya (setelah 24 jam), kasa steril dibuka lalu diamati gejala toksik apa saja yang timbul, termasuk eritema dan edema. Data tersebut merupakan data hari pertama dan pengamatan gejala toksik juga diamati pada hari ke-3 (72 jam). Hal ini dilakukan pada semua hewan uji untuk semua kelompok untuk uji iritasi primer.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

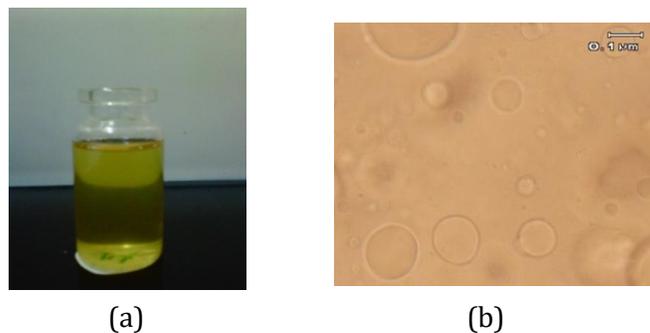
3.1 Pembuatan mikroemulsi

Proses pembuatan mikroemulsi dikenal dengan dua jenis, yaitu tehnik *high energy* dan *low energy* (Tirnaksiz, dkk., 2010). Pada penelitian ini, digunakan tehnik *low energy*, dimana mikroemulsi askorbil palmitat terbentuk secara spontan dengan adanya pengadukan menggunakan mikser dengan kecepatan 3000 rpm, ukuran globul yang kecil dihasilkan dari proses penurunan tegangan permukaan oleh surfaktan, konsentrasi surfaktan 38% dengan perbandingan lesitin dan tween 1:10, menghasilkan mikroemulsi yang jernih dengan ukuran globul kurang dari 0,1 μ m (Gambar 1).

3.2. Evaluasi stabilitas mikroemulsi

a. Stabilitas Fisik

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil kuisioner, stabilitas fisik dari mikroemulsi mengalami perubahan secara organoleptis, yaitu perubahan warna, namun tidak mengalami sedimentasi dan perubahan homogenitas, dari stabilitas pH dan viskositas, sediaan mengalami perubahan, perubahan ini disebabkan adanya produk degradasi dari askorbil palmitat. Perubahan globul dari mikroemulsi diawali dengan adanya agregasi, kemudian terjadi tumbukan sehingga menghasilkan globul emulsi yang semakin membesar (Gambar 2).

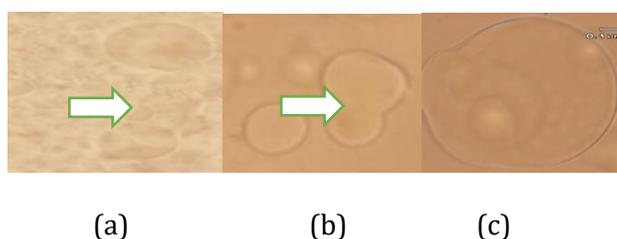


Gambar 1. Sediaan mikroemulsi askorbil palmitat (a) ; dan tampilan globul mikroemulsi yang terbentuk dalam mikroskop elektrik dengan perbesaran objektif 40x (b).

b. Stabilitas Kimia

Evaluasi stabilitas dari mikroemulsi askorbil palmitat dilakukan dengan cara identifikasi stabilitas degradasi zati oleh pengaruh hidrolisis dan oksidasi. Metode pengujian dilakukan dengan protokol pengujian berdasarkan ICH terhadap produk sediaan maupun zat aktif (Anonim, 2003). Pengujian dilakukan pada kondisi stressor asam, basa dan suhu tinggi untuk mengidentifikasi hidrolisis, stres oksidatif dengan hidrogen peroksida. Pada pengujian askorbil palmitat dilakukan stres

pengujian berdasarkan penambahan asam, basa dan air untuk mengetahui profil degradasi hidrolisis, sedangkan profil oksidasi dilakukan dengan cara penambahan hidrogen peroksida 3%. Proses hidrolisis dan oksidasi diuji melalui prosedur ICH (Tabel 1). Dari tabel tersebut nampak pergeseran waktu retensi dan pergeseran panjang gelombang maksimum pada perlakuan oksidasi. Pada perlakuan hidrolisis mengalami pembentukan 2 puncak yang menunjukkan senyawa aktif terhidrolisis menjadi asam askorbat.



Gambar 2. Globul mikroemulsi teragregasi (a); yang mengakibatkan terjadi tumbukan antar globul mikroemulsi (b) ; perubahan ukuran globul mikroemulsi dikarenakan penggabungan fase internal (ukuran globul membesar) (c).

Tabel 1. Perlakuan kondisi stres askorbil palmitat berdasarkan prosedur ICH untuk mengetahui profil degradasi askorbil palmitat (Anonim 2003; Watermann (2009); De Diego dkk.,(2010))

Perlakuan	Kromatogram HPLC			Spektrofotometer
	Jumlah Puncak	WR.1	WR.2	(λ)maks
AP+NaOH 0,1N	1	6,390	-	269,40
AP+HCl 0,1N	2	6,453	7,393	247,00
AP+Akuades	1	6,356	-	245,00
AP+H ₂ O ₂ (3%)	2	6,376	7,400	203,00
AP	1	-	7,666	249,00
AA	1	6,290	-	245,00

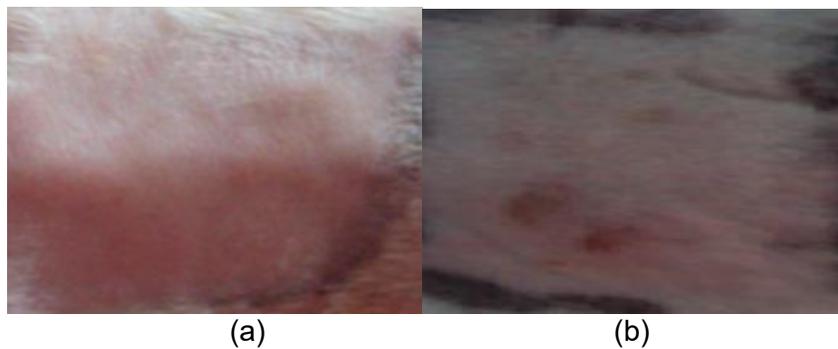
Keterangan : AP : Askorbil palmitat, AA: Asam Askorbat, WR: Waktu retensi

c. Uji Iritasi Primer

Pengamatan dilakukan selama 3 x 24 jam, dimana setelah 24 jam pertama kasa dibuka kemudian diamati terjadinya edema dan eritema pada bagian yang diberi mikroemulsi vitamin C palmitat. Hasil pengamatan dinyatakan dalam skor edema dan eritema sesuai dengan tingkat keparahannya dan diamati kembali pada jam ke-72. Hal ini bertujuan untuk membandingkan perubahan kulit yang terjadi. Secara teoritis, skor eritema dan

edema pada kulit yang di insisi lebih besar daripada kulit yang tidak di insisi hasil dari dua kelompok besar tersebut digabungkan untuk mendapatkan indeks iritasi primer.

Berdasarkan data pada tabel 2 menunjukkan bahwa nilai indeks iritasi primer pada peringkat dosis 0,25 mL/inci, 0,5 mL/inci dan 1 mL/inci semakin meningkat sedangkan untuk dosis 2 mL/inci justru mengalami penurunan.



Gambar 3. Foto kondisi kulit punggung kelinci yang mengalami edema dengan kategori edema sedikit berbatas jelas (skor 2) (a). Foto kondisi kulit punggung kelinci yang mengalami eritema dengan kategori eritema sedikit berbatas jelas (b).

Secara umum dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis mikroemulsi vitamin C palmitat maka nilai indeks iritasi primer akan meningkat. Hal tersebut menandakan bahwa semakin banyak jumlah vitamin C palmitat yang terdapat didalam

larutan uji maka akan semakin banyak pula vitamin C palmitat yang diabsorpsi kulit sehingga kemungkinan untuk terjadinya efek iritasi juga semakin besar. Data pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa tren kenaikan skor indeks edema dan eritema sama,

yaitu meningkat dari dosis 0,25 mL/inci, 0,5 mL/inci dan 1 mL/inci dan menurun kembali pada dosis 2 mL/inci. Secara umum dapat disimpulkan bahwa

keseluruhan peringkat dosis mikroemulsi vitamin C palmitat hanya sedikit menyebabkan iritasi primer pada kulit kelinci.

Tabel 2. Hasil uji iritasi primer dari sediaan mikroemulsi askorbil palmitat dengan 4 variasi dosis dibandingkan dengan basis dan kontrol negatif (air) menghasilkan indeks iritasi yang sedikit

Indeks	Jumlah kelinci	1 (Aquades)	2 (Basis)	3 (0,25mL)	4 (0,5 mL)	5 (1 mL)	6 (2 mL)
indeks eritema	n=5	1,2	2,05	1,45	2,15	2,15	1,55
indeks edema	n=5	0,9	1,5	1,1	1,5	1,6	1,15
Iritasi primer		1,05	1,775	1,275	1,825	1,875	1,35

iritasi sedikit

Berdasarkan data pengamatan pada kelompok kontrol normal menggunakan aquades didapatkan data indeks iritasi primer sebesar 1,05 yang artinya mempunyai efek sedikit mengiritasi. Fenomena ini dikarenakan aquades merupakan kontrol normal yang memang seharusnya tidak menimbulkan iritasi. Timbulnya kondisi sedikit iritasi dimungkinkan disebabkan karena kondisi kulit (pada kulit insisi) dan variasi individu kelinci.

Pada kontrol basis, diperoleh nilai indeks iritasi primer sebesar 1,775 yang artinya mempunyai efek sedikit mengiritasi. Nilai tersebut berada di atas indeks iritasi primer untuk kelompok dosis 0,25 mL/inci dan 2 mL/inci sedangkan apabila dibandingkan dengan indeks iritasi primer kelompok dosis 0,5 mL/inci dan 1 mL/inci masih berada di bawahnya. Hal tersebut berarti belum dapat disimpulkan apakah keberadaan zat aktif dalam basis akan meningkatkan atau menurunkan indeks iritasi primer. Berdasarkan keseluruhan data indeks iritasi primer dapat disimpulkan urutan potensi iritasi primer dari kelompok dengan indeks iritasi terkecil sampai dengan terbesar adalah kelompok kontrol normal < kelompok dosis 0,25 L/inci < kelompok dosis 2 mL/inci <

kelompok kontrol basis < kelompok dosis 0,5 mL/inci < kelompok dosis 1 mL/inci dengan kriteria sedikit mengiritasi

KESIMPULAN

Pada sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat terdegradasi melalui jalur oksidasi dan hidrolisis. Stabilitas fisik sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat berdasarkan parameter pH, viskositas dan organoleptis mengalami perubahan. Uji iritasi primer sediaan tersebut menghasilkan indeks sedikit mengiritasi.

SARAN

Pembuatan sediaan vitamin C topical sebaiknya mempertimbangkan penambahan dapar pada fase air yang sesuai dengan pH zat aktif. Peningkatan stabilitas kimia vitamin C palmitat dalam sediaan farmasi dapat dilakukan dengan meminimalkan kontak dengan oksigen dan air

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (2003). *Guidance for Industry Q1A(R2), Stability Testing of New Drug Substances and Products*, International Conference on Harmonization, Rockville, 1-22
- De Diego, M., Godoy, G., Mennickent, S., Olivares, M., Godoy, R. (2010), Stress

- Degradation Studies of Ramipril by a Validated Stability-Indicating Liquid Chromatographic Method, *J. Chil. Chem. Soc.* 55(4). 450-453.
- Kogan, A., dan Garti, N., (2006), Microemulsions As Transdermal Drug Delivery Vehicles, *Adv. Colloid Interface Sci.* 123-126. 369-385
- Kweon, J.H., Chi, S.C., dan Park, E.S. (2004). Transdermal Delivery of Diclofenac Using Microemulsions. *Arch. Pharm. Res.* 27. 351-356.
- Lu, F. C. (1995). *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian resiko*, Edisi II, diterjemahkan oleh Edi Nugroho. UI Press. Jakarta. 154-160. 239-242. 250-251.
- Silva, G.M., dan Campos, M. (2000). Ascorbic Acid And Its Derivatives In Cosmetic Formulations. *Cosmet. Toil.* 115. 59-62.
- Splicin, P., M, Gasperlin., dan Kmetec, V. (2001). Stability of Askorbil palmitatin Topical Microemulsions. *Int J Pharm* 222. 271-279.
- Terjarla, S. (1999). Microemulsions: An Overview And Pharmaceutical Applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 16. 461-521.
- Tirnaksiz, F., Akkus,S., dan Celebi, N. (2010). *Nanoemulsions as Drug Delivery System in Monzer Fanun (ed). Colloids in Drug Delivery.* CRC Press 221-241.
- Waterman, K.C. (2009). *Understanding and Predicting Pharmaceutical Product Shelf-Life, in Kim Huynh-Ba (ed). Handbook of Stability Testing in pharmaceutical Development.* Springer New York. 126.