



Pengaruh Waktu Pengadukan Terhadap Karakteristik Fisik *Nanostructured Lipid Carriers* Menggunakan Metode *High Shear Homogenization*

Rizka Amalia Fachriani, Putri Gita Ayu Safitri, Uswatun Chasanah, Fransisca Dita Mayangsari*

Prodi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Lamongan

Jl. I. Plalangan No.KM, RW.02, Wahyu, Plosowahyu, Kec. Lamongan, Kabupaten Lamongan, 62218

*E-mail: fransisca_dita_mayangsari@umla.ac.id

(Submit 13/09/2022, Revisi 20/09/2022, Diterima 16/10/2022, Terbit 26/10/2022)

Abstrak

NLC (Nanostructured Lipid Carrier) merupakan generasi kedua dari *SLN (Solid Lipid Nanopartikel)*. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk pembuatan *NLC* adalah *HPH (High Shear Homogenization)*. Waktu pengadukan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi ukuran partikel *NLC*. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan analisa pengaruh variasi waktu pengadukan terhadap karakteristik fisik *NLC*. Variasi lama pengadukan yang diamati adalah 26 menit-5 siklus (sampel A) ; 30 menit-6 siklus (sampel B) ; 34 menit-7 siklus (sampel B). Ketiga sampel uji dibuat menggunakan kecepatan 5000 rpm. Karakteristik fisik yang diamati meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, pH dan viskositas. Data yang didapatkan dianalisa secara statistik menggunakan *One Way Anova*. Hasil uji ukuran partikel menunjukkan bahwa ketiga sampel memiliki ukuran partikel yang memenuhi spesifikasi. Ukuran partikel ketiga sampel berada pada rentang 137,23 – 147,77 nm. Sampel yang memiliki ukuranpartikel paling kecil adalah sampel B. Namun, sampel B memiliki indeks polidispersitas yang lebih besar daripada sampel A dan B, yaitu $0,452 \pm 0,007$. Berdasarkan uji organoleptis, diketahui bahwa ketiga sampel tidak memiliki perbedaan. Ketiganya memiliki warna putih, beraroma sedikit lemak dan konsistensi encer / cair. Uji pH menunjukkan bahwa pH ketiga sampel sama, yaitu 6,85-6,87. Berdasarkan uji viskositas ketiga formula memiliki viskositas yang berbeda. Sampel yang memiliki viskositas paling tinggi adalah sampel B dengan nilai $55,30 \pm 0,26$ cP. Walaupun memiliki nilai viskositas berbeda, tetapi ketiga formula memiliki konsistensi yang sama, yaitu encer. Waktu pengadukan yang terpilih adalah 26 menit dengan 5 siklus karena lebih efisien dari segi waktu dibandingkan waktu pengadukan yang lain.

Kata kunci: karakteristik fisik, *NLC*, waktu pengadukan

Pendahuluan

NLC (Nanoparticle Lipid Carrier) merupakan suatu sistem penghantaran obat dari golongan nanopartikel lipid (1). NLC tersusun oleh lipid padat, lipid cair dan *emulsifier* (2). NLC dikembangkan untuk mengatasi beberapa kelemahan dari generasi sebelumnya, yaitu SLN (Solid Lipid Nanopartikel). Beberapa keunggulan NLC yang tidak dimiliki oleh SLN antara lain tingginya daya penjebakan bahan aktif dan rendahnya pengusiran bahan aktif dari matriks lipid selama penyimpanan. Hal ini dikarenakan adanya tambahan lipid cair pada NLC. Lipid cair dapat menurunkan kekristalan dan meningkatkan ketidakteraturan pada struktur matriks NLC, sehingga memberi banyak ruang untuk menampung bahan aktif. Hal ini sangat berbeda dengan SLN yang hanya tersusun dari lipid padat. Matriks lipid yang terbuat dari lipid padat cenderung membentuk kisi kristal yang sempurna, sehingga hanya menyisakan sedikit ruang untuk menampung bahan aktif (3). NLC memiliki partikel berukuran nano, sehingga dapat dengan mudah menembus lapisan kulit (4). Selain itu, NLC mampu melindungi bahan aktif dalam matriks lipid. Sehingga stabilitas bahan aktif menjadi meningkat (5). NLC juga dapat meningkatkan kelarutan bahan aktif yang sukar larut dalam air. Sanad dkk (2010) mengatakan bahwa Oksibenzon yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah bercampur dengan gel setelah dijebak dalam sistem NLC yang tersusun dari gliseril monostearat (lipid padat), miglyol 812 dan asam oleat (lipid cair) dan polivinil alkohol (stabilizer) (6).

NLC sangat cocok sebagai sistem penghantaran bahan aktif pada produk kosmetik topikal. Hal ini dikarenakan sistem NLC dapat menurunkan *Transepidermal water loss (TEWL)*, dapat memberi efek oklusi, dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif dan dapat meningkatkan *ultraviolet (UV) blocking activity* (7).

Metode pembuatan NLC yang sering digunakan adalah metode *HPH (High Shear Homogenization)*. HPH adalah salah satu proses teknologi yang bertujuan untuk mengurangi ukuran dan keseragaman globul lemak, sehingga dispersinya merata di emulsi dan peningkatan stabilitas emulsi. HPH banyak digunakan di industri termasuk obat-obatan dan industri nutraceutical. Metode ini memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan metode lain karena mudah jika akan dilakukan proses *scale-up*, menghindari pelarut non-kimia dan waktu produksi yang singkat (8).

Pada pembuatan NLC, ukuran partikel merupakan salah satu factor yang cukup krusial. Hal ini karena NLC harus memiliki ukuran partikel kurang dari 1000 nm (9). Contoh faktor yang mempengaruhi ukuran partikel NLC yaitu variasi waktu dan kecepatan pengadukan (10). Penurunan ukuran partikel terjadinya seiring dengan peningkatan kecepatan dan lama pengadukan (11,12). Oleh karena itu penelitian tertarik untuk melakukan analisa pengaruh waktu pengadukan terhadap karakteristik NLC. Waktu pengadukan yang diamati adalah 26 menit yang terbagi dalam 5 siklus (sampel A) ; 30 menit yang terbagi dalam 6 siklus (sampel B) ; 34 menit yang terbagi dalam 7 siklus (sampel B). Ketiga sampel uji dibuat menggunakan kecepatan 5000 rpm menggunakan *homogenizer Fluko FM30D*.

Metode

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi; Timbangan analitik *Durascale DAB-E223*, alat gelas, *magnetic stirrer Thermo Fisher*, *Zetasizer Nano Malvern Instrument (United Kingdom)*, *Brookfield Digital Viscometer DV-1+*, USA), *homogenizer Fluko FM30D (China)*, *Eutech instrument pH-meter pH 2700*.

Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi; *Beeswax (Xiamen)*, *Illipe butter / lemak tengkawang (PT. Gunung Hijau Masarang)*, minyak jojoba (*Jojoba Desert*), Tween 80 (*Brataco Chemical*), Span 80 (*Kolb*), Propilenglikol, *Akuademineral (Brataco Chemical)*.

Prosedur Rinci

Pembuatan Sampel Uji

Sampel A, B dan C tersusun dari bahan yang sama, yaitu beeswax (0,990%) dan illipe butter / lemak tengkawang (2,970%) sebagai lipid padat, minyak jojoba (2,640%) sebagai lipid cair, Tween 80 (13,604%) dan Span 80 (6,896%) sebagai surfaktan/emulsifier, propilenglikol (3,5%) sebagai kosurfaktan dan aquademineral sebagai fase air.

Sampel uji dibuat dengan mencampurkan fase minyak, fase air dan *emulsifier* menggunakan homogenizer dengan kecepatan tinggi. Tahap pertama yaitu menyiapkan fase minyak yang terdiri dari beeswax, illipe butter dan minyak jojoba. *Beeswax* dan *illipe butter* dilelehkan pada suhu 70°C. Setelah meleleh, ditambahkan minyak jojoba yang telah dipanaskan pada suhu 70°C. Kemudian ditambahkan Tween 80 dan Span 80 yang telah dipanaskan pada suhu yang sama.

Fase air terdiri dari propilenglikol dan akuademineral. Keduanya dimasukkan ke dalam gelas beker yang sama, kemudian diaduk hingga homogen dan dipanaskan pada suhu 70°C.

Setelah fase minyak siap, fase air dimasukkan ke dalam fase minyak tetes demi tetes sambil diaduk menggunakan *Homogenizer FLUKO FM30D* dengan kecepatan 5000 rpm. Untuk sampel A, sediaan diaduk selama 26 menit yang terbagi dalam 5 siklus. Pada siklus pertama dilakukan pengadukan selama 10 menit. Sedangkan untuk siklus ke-2 hingga ke-5 dilakukan pengadukan selama 4 menit tiap siklus. Jeda antara siklus adalah 1 menit. Untuk sampel B, diaduk selama 30 menit yang terbagi dalam 6 siklus. Pada siklus pertama dilakukan pengadukan selama 10 menit. Sedangkan untuk siklus ke-2 hingga ke-6 dilakukan pengadukan selama 4 menit tiap siklus. Jeda antara siklus adalah 1 menit. Sedangkan untuk sampel C, sediaan diaduk dengan kecepatan

5.000 rpm selama 30 menit yang terbagi dalam 6 siklus. Pada siklus pertama dilakukan pengadukan selama 10 menit. Sedangkan untuk siklus ke-2 hingga ke-7 dilakukan pengadukan selama 4 menit tiap siklus. Jeda antara siklus adalah 1 menit. Setelah itu, sediaan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga mencapai suhu kamar.

Pengujian Karakteristik Fisik Sampel

Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan menggunakan panca indra. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi pemeriksaan warna, aroma dan konsistensi sampel uji.

pH

Sampel diencerkan 1 : 9 menggunakan aquadest. Kemudian diukur pHnya menggunakan pH meter (13).

Viskositas

Nilai viskositas ditentukan menggunakan *Brookfield Digital Viscometer DV-1+* dengan spindle CP-2 dan kecepatan 100 rpm. Sebanyak 300 g sampel uji diletakkan dalam gelas beker. *Spindle* dipasang pada viscometer kemudian dilakukan pengecekan nilai viskositas sampel uji.

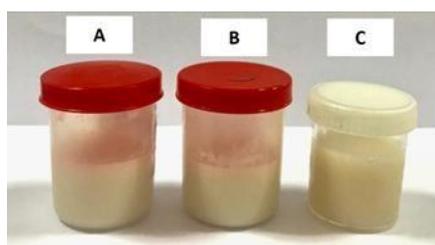
Ukuran partikel, dan indeks polidispersitas (IP)

Tahap pertama yaitu pengenceran sediaan. Sebanyak 50 mg sampel ditimbang dengan neraca analitik lalu ditambahkan akuademineral hingga volume 50,0 mL. Diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Kemudian larutan diambil sebanyak 2,0 ml lalu ditambah 8 mL akuademineral. Diaduk kembali dengan kecepatan 100 rpm selama 10 menit (13).

Tahap kedua yaitu penentuan ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Sample uji (yang sudah diencerkan) dimasukkan kedalam kuvet, kemudian dilakukan pemcaan ukuran partikel dan indeks polidispersitasnya menggunakan alat *Zetasizer Nano Malvern Instrument*.

Hasil

Hasil pengamatan karakteristik fisik sampel A, B dan C dapat dilihat pada tabel Berdasarkan hasil uji organoleptis diketahui bahwa sampel A, B dan C tidak memiliki perbedaan organoleptis. Semua sampel memiliki warna, aroma dan konsistensi yang sama. Tampilan visual sampel A, B dan C dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tampilan visual sampel A, B dan C

Hasil uji ukuran partikel dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil uji ukuran partikel diketahui bahwa semua sampel memenuhi spesifikasi yang diinginkan karena memiliki ukuran partikel kurang dari 1000 nm. Berdasarkan analisa statistik menggunakan *One Way Anova*, diketahui bahwa nilai sig. adalah 0,001 (kurang dari 0,05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan ukuran partikel antar sampel. Pengujian dilanjutkan ke *Post Hock Tukey*. Berdasarkan pengujian tersebut, diketahui bahwa ukuran partikel sampel A dengan sampel C tidak berbeda bermakna dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,639 (lebih dari 0,05). Namun, ukuran partikel sampel B berbeda bermakna dengan sampel A dan C, dibuktikan dengan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Karakteristik Fisik NLC dengan variasi Waktu Pengadukan

Pengujian	Spesifikasi yang diinginkan	Hasil Pengamatan		
		Sampel A	Sampel B	Sampel C
Organoleptis	Warna putih, sedikit beraroma lemak, konsistensi cair			
Ukuran partikel (nm)	< 1000	146,47 ± 0,78	137,23 ± 1,09 ¹⁾	147,77 ± 1,04
Indeks polidispersitas	< 0,5	0,235 ± 0,005	0,452 ± 0,007 ²⁾	0,239 ± 0,006
pH	4 - 7	6,85 ± 0,03	6,87 ± 0,01	6,87 ± 0,01
Viskositas (cP)	-	48,10 ± 0,10 ³⁾	55,30 ± 0,26 ³⁾	51,47 ± 0,31 ³⁾

Keterangan :

- 1) *anova one way – post hock tukey* = ukuran partikel sampel B berbeda bermakna dengan sampel A dan C
- 2) *anova one way – post hock tukey* = indeks polidispersitas sampel B berbeda bermakna dengan sampel A dan C
- 3) *anova one way – post hock tukey* = semua sediaan uji memiliki viskositas yang berbeda bermakna

Hasil uji indeks polidispersitas (IP) dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan analisa statistik menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 (kurang dari 0,05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan nilai IP antar sampel. Pengujian dilanjutkan ke *Post Hock Tukey*. Berdasarkan pengujian tersebut, diketahui bahwa nilai IP sampel A dengan sampel C tidak berbeda bermakna dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,906 (lebih dari 0,05). Namun, ukuran partikel sampel B berbeda bermakna dengan sampel A dan C, dibuktikan dengan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05. Nilai IP sampel A dan C memenuhi spesifikasi yang diinginkan (kurang dari 0,3). Namun nilai IP sampel B tidak memenuhi spesifikasi.

Nilai pH dari sampel A, B dan C dapat dilihat pada tabel 2. Nilai pH semua sampel memenuhi spesifikasi yang diinginkan, yaitu diantara 4 -7. Berdasarkan analisa secara statistic menggunakan one way anova, diketahui bahwa nilai ph ketiga sampel tidak berbeda bermakna dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,518 (lebih dari 0,05).

Nilai viskositas sampel A, B dan C dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan one way anova, diketahui bahwa nilai viskositas sampel A, B dan C berbeda bermakna. Pengujian dilanjutkan menggunakan *Post Hock Tukey*. Dari pengujian tersebut, diketahui bahwa semua formula berbeda bermakna, dibuktikan dengan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05.

Pembahasan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan analisa pengaruh waktu pengadukan terhadap karakteristik NLC. Waktu pengadukan yang diamati adalah 26 menit yang terbagi dalam 5 siklus (sampel A) ; 30 menit yang terbagi dalam 6 siklus (sampel B) ; 34 menit yang terbagi dalam 7 siklus (sampel B). Ketiga sampel uji dibuat menggunakan kecepatan 5000 rpm menggunakan *Homogenizer Fluko FM30D*. parameter karakteristik fisik yang dinilai adalah organoleptis, ukuran partikel, indeks polidispersitas, pH dan viskositas.

Berdasarkan evaluasi organoleptis, diketahui bahwa ketiga sampel memiliki organoleptis yang sama, yaitu berwarna putih, sedikit beraroma lemak dan memiliki konsistensi yang encer / cair. Tampilan visual sampel A, B dan C dapat dilihat pada Gambar 1. Dari hasil evaluasi organoleptis dapat disimpulkan bahwa lama pengadukan tidak mempengaruhi organoleptis NLC.

Hasil uji ukuran partikel menunjukkan bahwa ketiga sampel memiliki ukuran partikel yang memenuhi spesifikasi, yaitu kurang dari 1000 nm. Syarat ukuran partikel NLC, yaitu di bawah 1000 nm (9). Sampel A memiliki rata-rata ukuran partikel $146,47 \pm 0,78$ nm ; untuk sampel B adalah $137,23 \pm 1,09$ nm dan untuk sampel C adalah $147,77 \pm 1,04$ nm. Berdasarkan analisa statistik menggunakan *One Way Anova*, diketahui bahwa nilai sig. adalah 0,001 (kurang dari 0,05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan ukuran partikel antar sampel. Pengujian dilanjutkan ke *Post Hock Tukey*. Berdasarkan pengujian tersebut, diketahui bahwa ukuran partikel sampel A dengan sampel C tidak berbeda bermakna dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,639 (lebih dari 0,05). Namun, ukuran partikel sampel B berbeda bermakna dengan sampel Adan C, dibuktikan dengan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05. Sampel B dengan lama pengadukan 30 menit (6 siklus) memiliki nilai ukuran partikel yang paling kecil dibandingkan dengan sampel A dan C.

Istilah "polidispersitas" digunakan untuk menggambarkan tingkat ketidakseragaman distribusi ukuran partikel (14). Formulasi dengan nilai indeks polidispersitas kurang dari 0,5 bersifat homogen dan monodispersi, sedangkan yang memiliki nilai indeks polidispersitas lebih besar dari 0,5 tidak homogen dan polidispersi (15). Indeks polidispersitas untuk sampel A adalah $0,235 \pm 0,005$; untuk sampel B adalah $0,452 \pm 0,007$ dan untuk sampel C adalah $0,239 \pm 0,006$. Secara statistik, nilai

indeks polidispersitas sampel B lebih besar daripada sampel A dan C. Walaupun demikian, nilai indeks polidispersitas sampel B tetap memenuhi syarat distribusi ukuran partikel yang homogen.

Nilai pH dari sampel A adalah $6,85 \pm 0,03$; untuk sampel B adalah $6,87 \pm 0,01$ dan untuk sampel C adalah $6,87 \pm 0,01$. Nilai pH semua sampel memenuhi spesifikasi yang diinginkan, yaitu diantara 4 -7. Pemilihan spesifikasi ini berdasarkan rentang pH normal kulit, yaitu 4,5 – 7,0 (16). Berdasarkan analisa secara statistic menggunakan *One Way Anova*, diketahui bahwa nilai pH ketiga sampel tidak berbeda bermakna dibuktikan dengan nilai signifikansi 0,518 (lebih dari 0,05). Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama pengadukan tidak mempengaruhi pH sediaan NLC.

Nilai viskositas sampel A adalah $48,10 \pm 0,10$ cP, untuk sampel B adalah $55,30 \pm 0,26$ cP dan untuk sampel C adalah $51,47 \pm 0,31$ cP. Berdasarkan analisa statistic *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan *Post Hock Tukey*, dapat disimpulkan bahwa nilai viskositas ketiga formula berbeda. Sampel B memiliki nilai viskositas yang paling tinggi diantara sampel yang lain. Walaupun nilai viskositas ketiga formula berbeda, tetapi konsistensi ketiga formula tetap sama. Nilai viskositas sampel A, B dan C tergolong rendah. Hal ini dikarenakan ketiga sampel hanya mengandung sedikit lipid padat. Pada penelitian ini lipid padat yang digunakan adalah *beeswax* dan *illipe butter*. Total konsentrasi keduanya dalam sediaan uji hanya sekitar 4%. Pada umumnya, sistem NLC memiliki viskositas yang rendah dikarenakan mengandung lipid padat dengan konsentrasi yang rendah (pada umumnya dibawah 40%). Oleh karena itu jika NLC akan digunakan untuk sediaan topical sebaiknya dimasukkan ke dalam bentuk sediaan tertentu, seperti krim atau hidrogel (17)

Kesimpulan

Kecepatan pengadukan yang terpilih adalah 26 menit-5 siklus. Hal ini dikarenakan sampel NLC yang dibuat menggunakan waktu pengadukan 26 menit-5 siklus memiliki karakteristik fisik yang memenuhi spesifikasi dan memiliki waktu pengadukan yang paling singkat diantara waktu uji yang lain sehingga lebih efisien.

Daftar Pustaka

1. Chauhan I, Yasir M, Verma M, Singh AP. Nanostructured lipid carriers: A groundbreaking approach for transdermal drug delivery. *Adv Pharm Bull*. 2020;10(2):150–65.
2. Kaur S. Nanostructure Lipid Carrier (NLC): the new generation of lipid nanoparticles. *Asian Pac J Heal Sci*. 2015;2(2):76–93.
3. Fang C-L, A. Al-Suwayeh S, Fang J-Y. Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) for Drug Delivery and Targeting. *Recent Pat Nanotechnol*. 2013;7(1):41–55.
4. Shoviantari F, Erawati T, Soeratri W. Skin Penetration of Coenzyme Q10 in Nanostructure Lipid Carriers Using Olive Oil and Cetyl Palmitate. *Int J Pharm Clin Res*. 2017;9(2):142–5.

5. Pezeshki A, Ghanbarzadeh B, Mohammadi M, Fathollahi I, Hamishehkar H. Encapsulation of vitamin A palmitate in nanostructured lipid carrier (NLC)-effect of surfactant concentration on the formulation properties. *Adv Pharm Bull.* 2014;4(Suppl 2):563–8.
6. Sanad RA, Abdelmalak NS, Elbayoomy TS, Badawi AA. Formulation of a novel oxybenzone-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs). *AAPS PharmSciTech.* 2010;11(4):1684–94.
7. Purohit DK, Nandgude TD, Poddar SS. Nano-lipid carriers for topical application: Current scenario. *Asian J Pharm.* 2016;10(1):S1–9.
8. Sadiyah S, Anwar E, Djufri M, Cahyaningsih U. Preparation and characteristics of nanostructured lipid carrier (NLC) loaded red ginger extract using high pressure homogenizer method. *J Pharm Sci Res.* 2017;9(10):1889–93.
9. Khosa A, Reddi S, Saha RN. Nanostructured lipid carriers for site-specific drug delivery. *Biomed Pharmacother.* 2018;103(April):598–613.
10. Khasanah U, Rochman MF. Stabilitas Nanostructured Lipid Carrier Coenzyme Q10 Dengan Variasi Waktu Pengadukan. *J Ilmu Farm dan Farm Klin.* 2022;18(2):55.
11. Gupta VK, Karar PK. Optimization of process variables for the preparation of chitosanalginate nanoparticles. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2011;3(SUPPL. 2):78–80.
12. Dangi RS, Shakya S. Preparation, optimization and characterization of PLGA nanoparticle. *Int J Pharm Life Sci.* 2013;4(7):2810–8.
13. Mayangsari FD, Erawati T, Soeratri W, Rosita N. Karakteristik dan Stabilitas Fisik NLC-Koenzim Q10 dalam Sleeping Mask dengan Minyak Nilam. *J Farm Dan Ilmu Kefarmasian Indones.* 2021;8(2):178.
14. Danaei M, Dehghankhold M, Ataei S, Hasanzadeh Davarani F, Javanmard R, Dokhani A, et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics.* 2018;10(2):1–17.
15. Supriya N, Priya P, Ankita W, Kayande K. Nanostructured Lipid Carriers: a Promising Approach for Topical Drug Delivery System. *Int J Pharm Sci Med.* 2021;6(7):81–101.
16. Lambers H, Piessens S, Bloem A, Pronk H, Finkel P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmet Sci.* 2006;28(5):359–70.
17. Doktorovova S, Souto EB. Nanostructured lipid carrier-based hydrogel formulations for drug delivery: A comprehensive review. *Expert Opin Drug Deliv.* 2009;6(2):165–76.

