

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *SOLID LIPID NANOPARTICLES*  
(SLN) FISETIN**



**Oleh:**

**Via Wisesa  
20144039A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *SOLID LIPID NANOPARTICLES* (SLN)  
FISETIN**

*SKRIPSI*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh :**

**Via Wisesa  
20144039A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIABUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul:

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *SOLID LIPID NANOPARTICLES*  
(SLN) FISETIN**

Oleh:

**Via Wisesa  
20144039A**

Dipertahankan dihadapan panitia penguji skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 11 Juli 2018

Mengetahui  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Dekan

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing

Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Anita Nilawati, M.Farm., Apt

Penguji

1. Drs. Widodo Priyanto, MM., Apt.
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.
3. Nur Aini Dewi Purnamasari, M.Sc. Apt
4. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt

1.....

2.....

3.....

4.....

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Man Jadda Wajada”*

*“Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri ”*

*(ar-Ra’d:1)*

*“ Allah akan mengangkat orang-orang yang beriman di antara kalian dan orang-orang yang berilmu beberapa derajat”*

*(QS. Al-Mujadilah: 21)*

Kupersembahkan karya ini untuk:

Allah SWT dengan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Ibu dan Bapakku tercinta yang senantiasa mendidik, menyayangi, dan mengusahakan segalanya untuk saya. Saya persembahkan ini sebagai wujud rasa hormat, bakti dan terimakasih yang mungkin tidak akan sebanding dengan apa yang telah Ibu dan Bapak berikan untuk saya.

Adiku yang kusayangi serta seluruh keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan saya.

Untuk teman dan sahabat FSTOA 2017 yang selalu memberikan masukan kepada saya.

Untuk teman kontrakan Ibu Sri Puyuh (Oviana, Windy, Mayang, dan Ike) yang selalu mendampingi disaat yang tepat.

## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2018



Via Wisesa

## KATA PENGANTAR



*Assalamualaykum Warrahmatullahi Wabarakatuh.*

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang karena nikmatnya kebaikan-kebaikan menjadi indah dan karena karunianya niat-niat baik hamba-Nya dapat terlaksana, serta tak lupa semoga shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW kepada keluarganya, sahabatnya, para tabi'in, tabi'ut tabi'in, pengikutnya yang senantiasa berdiri diatas sunnahnya, serta kepada seluruh umatnya hingga akhir zaman yang menjadikan sebagai *uswatun hasanah*, suri tauladan yang baik sehingga memotivasi penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Formulasi dan Karakterisasi *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN) Fisetin"

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Dalam penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan, dan dorongan dari berbagai pihak.

Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. RA Oetari, SU, MM, M.Sc., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
2. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama
3. Anita Nilawati, M.Farm., Apt selaku pembimbing pendamping
4. Meta Kartika Untari M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik
5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
6. Keluarga peneliti; Ahmad Joni Wiyono, Saparini, Satya Adi Wicaksana.
7. Teman-teman Angkatan 2014 pada umumnya dan FST-OA 2014 pada khususnya.

8. Teman-teman kontrakan Ibu Sri Puyuh (Oviana Wijayanti, Windy Yuli Lestari, Mayang Biyan Pamungkas , dan Ike) yang selalu mendampingi, menyayangi, dan membantu disaat suka maupun duka.
9. Teman-teman yang selalu memberikan semangat dan uluran tangan disaat yang tepat Kiki Permata Sari, Venesya Airrizha Lubis, Yuliani, dll.
10. Keluarga Besar Himpunan Mahasiswa Jurusan S-1 Farmasi Universitas Setia Budi.
11. UPT-Lab dan Perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta.

Semoga Allah Subhanahu Wa Ta ‘ala memberikan balasan yang lebih baik pada mereka semua.

Penulis menyadari bahwa hasil penelitian ini jauh dari sempurna, namun penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pihak lain yang berkepentingan.

*Wassalamualaykum Warrahmatullahi Wabarakatuh.*

Surakarta, 26 Juni 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN PROPOSAL PENELITIAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Fisetin.....	5
B. <i>Solid lipid Nanoparticles</i> .....	6
1. Pengertian SLN.....	6
2. Keuntungan dan kelemahan SLN.....	6
3. Komponen Bahan Pembuatan <i>Solid lipid Nanopartikel</i> .....	7
3.1 Lipid.....	7
3.2 Surfaktan.....	8
C. Metode Pembuatan <i>Solid lipid Nanoparticles</i> .....	11
1. HPH ( <i>High Pressure Homogenization</i> ).....	11
2. HSH ( <i>High Shear Homogenization</i> ).....	11
3. Metode Penguapan Pelarut ( <i>Emulsification</i> ).....	12
4. Ultrasonikasi dan Homogenisasi Kecepatan Tinggi.....	12
4.1 Ultrasonikasi (sonikasi).....	12

4.2 Kombinasi Metode Ultrasonikasi dan Homogenisasi Kecepatan Tinggi .....	12
D. Karakterisasi SLN .....	13
1. Ukuran Partikel.....	13
2. Pengukuran Efisiensi Penjerapan .....	13
3. Potensial Zeta .....	13
E. Studi Preformulasi.....	14
1. <i>Solid lipid</i> .....	14
1.1 Glisetil Monostearat.....	14
1.2 Asam Stearat.....	15
1. Tween 20 .....	16
2. Tween 60.....	16
3. Tween 80.....	17
4. Lesitin.....	18
F. Landasan Teori .....	18
G. Hipotesis .....	20
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	 21
A. Populasi dan Sampel .....	21
B. Variabel Penelitian .....	21
1. Identifikasi variabel utama.....	21
2. Klasifikasi variabel utama .....	21
3. Definisi operasional variabel utama.....	22
C. Bahan dan Alat .....	22
1. Bahan.....	22
2. Alat .....	22
D. Jalannya Penelitian .....	23
1. Percobaan pendahuluan.....	23
2. Komposisi formula SLN fisetin.....	23
3. Pembuatan emulsi SLN fisetin dengan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi .....	23
4. Pembuatan kurva kalibrasi.....	24
4.1 Pembuatan larutan induk. ....	24
4.2 Penetapan panjang gelombang maksimum. ....	24
4.3 Penetapan <i>operating time</i> . ....	24
4.4 Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi.....	24
5. Karakterisasi SLN fisetin.....	24
5.1 Penetapan distribusi ukuran partikel.....	24
5.2 Pengukuran efisiensi penjerapan fisetin.....	25
5.3 SEM. ....	25
5.4 Uji stabilitas SLN fisetin setelah penyimpanan .....	25
E. Analisis Hasil.....	26
F. Skema Penelitian .....	27
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	 28
A. Percobaan Pendahuluan .....	28

B.	Pembuatan Emulsi SLN fisetin .....	28
C.	Kurva Kalibrasi dan Verifikasi Metode Analisis .....	29
1.	Pembuatan kurva kalibrasi.....	29
1.1	Penentuan panjang gelombang maksimum. ....	29
1.2	Penentuan <i>operating time</i> . ....	30
1.3	Kurva kalibrasi. ....	30
1.4	Verifikasi metode analisis. ....	31
D.	Karakterisasi <i>Solid Lipid Nanopartikel</i> (SLN) fisetin.....	32
1.	Ukuran partikel .....	32
2.	Efisiensi penjerapan .....	34
3.	Uji stabilitas SLN fisetin setelah penyimpanan.....	35
3.1	Pengamatan secara visual. ....	35
3.2	Pengukuran ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan. ....	36
3.3	Zeta potensial. ....	37
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
A.	Kesimpulan .....	39
B.	Saran.....	39
	DAFTAR PUSTAKA .....	40
	LAMPIRAN .....	44

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur bangun fisetin.....	5
Gambar 2. Struktur gliseril monostearat .....	14
Gambar 3. Struktur asam stearat.....	15
Gambar 4. Struktur tween 20 .....	16
Gambar 5. Struktur tween 60 .....	16
Gambar 6. Struktur tween 80 .....	17
Gambar 7. Struktur lesitin .....	18
Gambar 8. Skema jalannya penelitian .....	27
Gambar 9. Grafik hubungan antara konsentrasi fisetin dengan absorbansi .....	31
Gambar 10. Mekanisme Oswald ripening (Wu 2010).....	36
Gambar 11. Morfologi SLN fisetin keseluruhan .....	38

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Jenis lipid yang digunakan dalam SLN (Patel 2012).....	7
Tabel 2. Surfaktan yang digunakan dalam SLN (Yadav 2013).....	10
Tabel 3. Formula SLN fisetin .....	23
Tabel 4 Hasil penentuan kurva baku fisetin.....	30
Tabel 5. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin .....	31
Tabel 6. Hasil pengukuran ukuran partikel.....	33
Tabel 7. Efisiensi penjerapan.....	35
Tabel 8. Stabilitas SLN fisetin pada suhu kamar.....	36
Tabel 9. Ukuran partikel formula 3 sebelum dan setelah penyimpanan .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Certificate of analysis</i> (COA) fisetin.....	45
Lampiran 2. Foto serbuk fisetin .....	47
Lampiran 3. Foto <i>gliseril monostearat</i> (GMS) .....	48
Lampiran 4. Foto Lecitin .....	49
Lampiran 5. Emulsi SLN fisetin .....	50
Lampiran 6. Hasil uji ukuran partikel formula 1.....	51
Lampiran 7. Hasil uji ukuran partikel formula 2.....	52
Lampiran 8. Hasil uji ukuran partikel formula 3.....	53
Lampiran 9. Hasil uji ukuran partikel formula 4.....	54
Lampiran 10. Hasil uji ukuran partikel formula 5.....	55
Lampiran 11. Hasil uji ukuran partikel formula 6.....	56
Lampiran 12. Hasil uji ukuran partikel formula 7.....	57
Lampiran 13. Hasil uji ukuran partikel formula 8.....	58
Lampiran 14. Hasil uji ukuran partikel formula 9.....	59
Lampiran 15. Penentuan panjang gelombang dan pembuatan kurva baku .....	60
Lampiran 16. Perhitungan efisiensi penjerapan SLN fisetin.....	64
Lampiran 17. Uji stabilitas SLN fisetin .....	70

## INTISARI

**WISESA V., 2018. FORMULASI DAN KARAKTERISASI *SOLID LIPID NANOPARTICLES* (SLN) Fisetin. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Fisetin (7,3,4'-tetrahidroksiflavanol) adalah senyawa flavonoid dengan beragam aktifitas yaitu sebagai antioksidan alami. Fisetin memiliki bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10%, hal ini karena kelarutan dalam air yang kecil (0,002 mg/ml) dan absorpsi yang rendah sehingga pemberian fisetin dalam bentuk sediaan oral dan dermal menjadi terbatas. Salah satu pendekatan untuk meningkatkan kelarutan fisetin dengan teknologi *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN). Penelitian ini menggunakan kombinasi surfaktan berupa lesitin dan beberapa jenis tween (20/60/80) dan konsentrasi GMS yang berbeda.

Ultrasonik merupakan vibrasi suara dengan frekuensi melebihi batas pendengaran manusia yaitu di atas 20 KHz. Formula SLN dibuat dengan menggunakan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fisetin dapat dibuat sediaan *Solid Lipid Nanoparticles* dengan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi, kombinasi surfaktan lecithin dan tween 80 menghasilkan ukuran partikel terkecil, efisiensi penyerapan dari formula terbaik didapatkan sebesar 89,2%. Terdapat peningkatan ukuran partikel setelah penyimpanan menjadi 589,2 dan nilai potensial zeta setelah penyimpanan -32,2.

---

**Kata Kunci** : Fisetin, SLN, Emulsifikasi, Sonikasi.

## ABSTRACT

**WISESA V., 2018., FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF SOLID LIPID NANOPARTICLES (SLN). UNDERGRADUATE THESIS, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Fisetin (7,3,4'-tetrahydroksiflavanol) is a flavonoid compound with various activities as a natural antioxidant. Fisetin has a very low bioavailability of about 10%, this is because of the small water solubility (0.002 mg / ml) and low absorption so that the fetal preparation in oral and dermal dosage forms is limited. One approach to increasing solubility is Solid Lipid Nanoparticles technology. This research used combination of surfactans that lechitin and various type of tween (20/60/80)

Ultasonic is a vibration of sound with a frequency exceeding the limits of human hearing that is above 20 KHz. SLN formula made by combination of solvent emulsification and sonication method.

The result showed that fisetin can be prepared by Solid Lipid Nanoparticles with combination of solvent emulsification and sonication method, combination of surfactant lechitin and tween 80 yielding the smallest particle size, the entrapment efficiency of best formula was 89,2%. There was an increase in particle size after storage is 589,2 and zeta potential value after storage was -32,2.

---

**Keywords** : Fisetin, SLN, Emulsification, Sonication.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Antioksidan yang berasal dari makanan sekarang semakin banyak diteliti untuk efek pengemaman kesehatan mereka, termasuk perannya dalam kemoprevensi kanker. Secara umum, antioksidan botani telah mendapat banyak perhatian, karena dapat dikonsumsi untuk waktu yang lebih lama tanpa efek samping. Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Salah satu flavonoid tersebut, fisetin, ditemukan pada berbagai buah dan sayuran, seperti stroberi, apel, kesemek, anggur, bawang merah, dan timun (Khan N *et al.* 2013).

Fisetin secara alami terbentuk dari senyawa polifenol dengan berat molekul yang rendah yang termasuk dalam senyawa flavonoid (Novitasari E *et al.* 2015). Namun, penggunaan fisetin sebagai senyawa aktif obat yang siap digunakan masih sangat sedikit karena masalah kelarutan senyawa ini di dalam air. Kelarutan merupakan faktor yang mempengaruhi ketersediaan hayati obat. Kelarutan obat yang kecil dan permeabilitas akan membatasi proses absorpsi pada obat yang sukar larut air, sehingga mempengaruhi ketersediaan farmasetiknya. Ketersediaan farmasetika berhubungan dengan *Biopharmaceutical Classification System* (BCS). Kebanyakan obat termasuk dalam BCS kelas II yaitu memiliki permeabilitas tinggi namun kelarutannya rendah (Sinko 2006).

Di antara pembawa pengantaran obat modern, nanopartikel lemak padat (*solid lipid nanoparticle*/SLN) telah menjadi sistem koloid pembawa yang menjanjikan (Yadav *et al.* 2008). Nanopartikel lemak padat berbentuk padatan pada suhu ruang dan suhu tubuh dengan rata-rata diameter antara 50 dan 1000 nm (Parhi & Suresh 2010). Nanopartikel lemak padat terdiri atas bagian tengah lemak padat dengan senyawa bioaktif yang menjadi bagian dari matriks lemak. Partikel distabilkan dengan lapisan surfaktan, yang bisa terdiri dari surfaktan tunggal atau campuran. Secara umum, kegunaan dari nanopartikel lemak padat ini meningkatkan pengendalian pelepasan dan stabilitas bioaktif. Hal ini karena

mobilitas bioaktif dapat dikendalikan dengan mengendalikan keadaan fisik matriks lemak. Partikel ini merupakan generasi terakhir sistem penghantaran pada industri farmasi yang menggabungkan kelebihan miniemulsi cair dan mikroemulsi, yaitu kecepatan disolusi yang tinggi dan permeabilitas senyawa aktif yang tinggi melewati saluran pencernaan (Weiss *et al.* 2008). Nanopartikel lemak padat dikembangkan sebagai suatu alternatif untuk nanopartikel polimer, liposom, dan emulsi. SLN memiliki sifat yang unik, yaitu ukurannya kecil, luas permukaan besar, dan kapasitas pemuatan obat yang tinggi.

SLN merupakan koloid pembawa sub-mikron yang terdiri dari lemak fisiologis, terdispersi dalam air atau dalam suatu larutan surfaktan berair (Kamble *et al.* 2010). Dibandingkan dengan partikel pembawa yang lain, SLN memiliki sejumlah keuntungan sebagai sistem pengantaran obat, seperti tolerabilitas (kedapattahanan) dan biodegradasi yang baik, bioavailabilitas yang tinggi, efisien mengenai sasaran, dan mudah dipersiapkan dan disterilisasi dalam skala besar (Pang *et al.* 2009). Keuntungan lain dari SLN sebagai sistem pengantaran obat adalah memungkinkan pengendalian pelepasan dan pengarahan obat, meningkatkan stabilitas obat, memungkinkan penyatuan obat-obat lipofilik dan hidrofilik, tidak beracun, dan terbebas dari pelarut organik (Menhert & Mader 2001).

Formula SLN fisetin terdiri atas *solid lipid* sebagai pembentuk matriks, kombinasi lesitin dan tween 20, tween 60, dan tween 80 sebagai surfaktan. SLN yang menggunakan tween 80 dan lesitin akan menghasilkan ukuran diameter partikel yang lebih kecil dan peningkatan zeta potensial, bila dibandingkan dengan SLN tanpa lesitin (Attama *et al.* 2007). Selain itu, pembuatan sediaan SLN dengan menggunakan tween 20 juga pernah berhasil dibuat (Gardouh *et al.* 2012). Penelitian Takahashi *et al.* (2016) juga telah berhasil membuat sediaan SLN menggunakan tween 60. Untuk itu, pada penelitian ini menggunakan kombinasi lesitin dan tween 20, lesitin dan tween 60, serta lesitin dan tween 80, untuk melihat ukuran partikel yang lebih kecil dan peningkatan potensial zeta, serta kombinasi surfaktan manakah yang paling baik digunakan dalam SLN fisetin.

Surfaktan yang digunakan pada pembuatan sediaan SLN fisein merupakan kombinasi dari surfaktan nonionik yaitu berbagai jenis tween (tween 20, 60, dan 80) dengan surfaktan alami yaitu lesitin. Tween merupakan ester asam lemak polioksietilensorbitan yang digunakan sebagai zat pengemulsi untuk membentuk emulsi M/A yang stabil. Sedangkan lesitin merupakan golongan surfaktan yang diperoleh dari kuning telur atau material tumbuhan, paling banyak dari kacang kedelai. Lesitin juga berfungsi sebagai emulgator (Rowe *et al.* 2009).

Perbedaan tween 20, 60, dan 80 adalah terletak dari nilai HLB dan panjang rantai karbonnya. Tween 80 memiliki ukuran *droplet* yang lebih kecil dibandingkan tween 20 dan 60 karena tween 80 memiliki ujung rantai hidrofobik yang tidak jenuh, sedangkan pada tween 20 dan tween 60 memiliki ujung rantai hidrofobik yang jenuh (Komaiko 2016). Semakin panjang rantai hidrofobik maka kelarutan obat semakin besar. Semakin kecil ukuran droplet yang dihasilkan maka penurunan tegangan permukaan semakin besar dan penurunan energi bebas permukaan juga semakin besar.

Pada penelitian ini, akan dilakukan percobaan pembuatan sediaan nanopartikel lipid padat menggunakan metode emulsifikasi pelarut yang dikombinasi dengan metode sonikasi. Metode emulsifikasi pelarut dikarakterisasi dengan kebutuhan akan pelarut organik. Bahan lipofilik dilarutkan dalam pelarut organik kemudian diemulsifikasi dalam fase air, setelah itu dilakukan penguapan pelarut sehingga lipid menguap membentuk nanopartikel lipid padat. Keuntungan metode ini adalah proses homogenisasi dapat menghindari panas (Mehnert & Mader 2001). Penggunaan gelombang ultrasonik (sonikasi) dalam pembentukan materi berukuran nano sangatlah efektif. Salah satu yang terpenting dari aplikasi gelombang ultrasonik adalah pemanfaatannya dalam menimbulkan efek kavitasi, efek ini akan digunakan dalam pembuatan bahan berukuran nano dengan metode emulsifikasi (Nakahira 2007). Kemudian setelah dilakukan pembuatan sediaan SLN fisein dilakukan karakterisasi yang meliputi analisis ukuran partikel, efisiensi penjerapan dan stabilitas SLN.

### **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah fisetin dapat dibuat SLN dengan menggunakan kombinasi metode emulsifikasi dan sonikasi ?
2. Apakah kombinasi surfaktan lesitin dari dengan tween 80, tween 60, dan tween 20 dapat memperkecil ukuran partikel ?
3. Bagaimanakah karakterisasi SLN fisetin yang meliputi ukuran partikel, efisiensi penjerapan dan stabilitas SLN fisetin ?

### **C. Tujuan Penelitian**

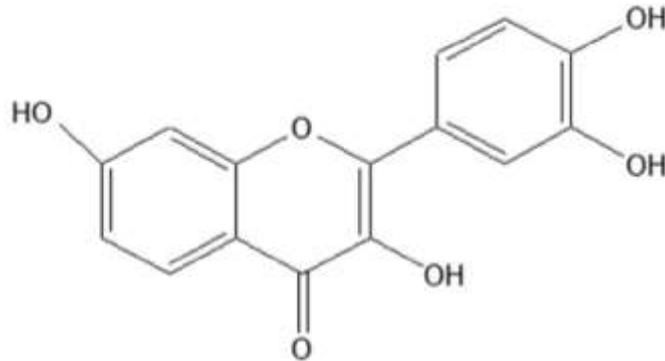
1. Mengetahui SLN fisetin dapat dibuat dengan menggunakan metode emulsifikasi dan sonikasi.
2. Mengetahui apakah kombinasi surfaktan lesitin dari dengan tween 80, tween 60, dan tween 20 dapat memperkecil ukuran partikel.
3. Melakukan karakterisasi SLN fisetin yang meliputi ukuran partikel, efisiensi penjerapan, dan stabilitas SLN fisetin.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi tambahan informasi mengenai ilmu pengetahuan dan pengembangan SLN serta menjadi inovasi baru untuk mengatasi masalah fisetin yang memiliki bioavailabilitas yang rendah dan kelarutan dalam air.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Fisetin



Gambar 1. Struktur bangun fisetin

Fisetin dikenal sebagai Natural Brown adalah flavonoid tanaman bioaktif penting besar sebagai obat terapi berpotensi berguna untuk berbagai radikal bebas yang dimediasi serta penyakit lainnya (Sengupta *et al.* 2005). Fisetin praktis tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, metanol, dan aseton. Fisetin termasuk obat golongan BCS kelas II dengan kelarutan 0,002 mg/ml dengan absorpsi dan bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10% (Dang *et al.* 2014, Yao *et al.* 2013). Pada penelitian Subramanian *et al.* (2014) dikatakan jika fisetin memberikan efek maksimum pada dosis 10 mg/kg BB. Fisetin memiliki aktifitas farmakologi sebagai antioksidan dan antiradikal bebas, anti karsinogenik, anti inflamasi, anti sklerosis dan anti trombosis (Cho *et al.* 2013). Fisetin sebagai anti karsinogenik, bertindak sebagai inhibitor *cyclin-dependent kinase* (CDKs) dan menginduksi penangkapan siklus sel kanker. Kegiatan antioksidan yang dapat dikaitkan dengan fitur struktural serta kemampuannya untuk memodulasi jalur sinyal seluler tertentu, terutama protein kinase dan jalur lipid kinase (Inkielewicz *et al.* 2014). Akaishi *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa fisetin memiliki bioaktivitas neurotropik, artinya mampu mengobati penyakit pada sistem saraf pusat, sehingga potensial sebagai obat alzheimer, parkinson, serta sebagai peningkat daya ingat.

Fisetin dapat diperoleh melalui proses isolasi dan pemurnian dari bahan alam. Namun, proses tersebut umumnya memerlukan waktu yang cukup panjang dan biaya yang besar. Selain itu, upaya menyintesis fisetin perlu dilakukan dalam rangka memenuhi kebutuhan obat dan pengembangan ilmu pengetahuan, di antaranya untuk sintesis turunan flavonol atau flavonoid lain yang lebih rumit. Firmansyah (2009) telah melaporkan sintesis turunan fisetin 7,4'-dialiloksi-3'-etoksiflavonol dari resasetofenon dan vanilin (3-etoksi-4-hidroksibenzaldehida). Rendemen intermediet kalkon didapatkan sebesar 47.8% dan disiklisasi menjadi fisetin melalui reaksi Algar-Flynn-Oyamada (AFO) dengan rendemen 42.7%.

Karena sifat ini fisetin telah ditunjukkan untuk mengerahkan berbagai aktivitas biologis yang penting.

## **B. *Solid lipid Nanoparticles***

### **1. Pengertian SLN**

*Solid lipid Nanopartikel* (SLN) adalah generasi baru emulsi lipid yang berukuran submikron dimana lipid cair (minyak) telah digantikan oleh lemak padat. SLN menawarkan sifat unik seperti ukuran partikel yang relatif kecil, luas area permukaan yang besar, tingkat penyerapan obat yang tinggi serta berpotensi sebagai pembawa yang dapat meningkatkan kinerja obat-obatan dan bahan *nutraceutical* lainnya (Mukherjee *et al.* 2009, Sinha *et al.* 2010).

*Solid lipid Nanopartikel* dikembangkan sebagai suatu alternatif untuk nanopartikel polimer, liposom, dan emulsi. SLN memiliki sifat yang unik, yaitu ukurannya yang kecil, luas permukaan besar, dan kapasitas pemuatan obat yang tinggi (Kamble *et al.* 2010). SLN merupakan pembawa koloidal berbahan dasar lipid padat berukuran submikronik (50-1000 nm) yang terdispersi dalam air atau dalam larutan surfaktan dalam air. SLN berisi inti hidrofob yang padat dengan disalut oleh fosfolipid berlapis tunggal, inti padat berisi senyawa obat yang dilarutkan atau didispersikan dalam matrik lemak padat yang mudah mencair. Rantai hidrofob fosfolipid mengelilingi pada matrik lemak, emulgator ditambahkan pada sistem sebagai penstabil fisik (Rawat *et al.* 2006).

### **2. Keuntungan dan kelemahan SLN**

SLN memiliki keuntungan dan kelemahan. Keuntungan SLN yaitu :

- a. Memungkinkan pelepasan obat terkendali dan penargetan obat
- b. Bioavailabilitas oral tinggi
- c. Meningkatkan stabilitas obat
- d. Memungkinkan penggabungan obat-obat lipofilik dan hidrofilik
- e. Tidak adanya toksisitas dari pembawa
- f. Mudah dalam produksi skala besar

Nanopartikel lipid padat juga memiliki kelemahan seperti dapat menyebabkan degradasi obat jika pembuatannya menggunakan tekanan tinggi dan dapat menjadi fenomena galasi yang menggambarkan perubahan viskositas dispersi nanopartikel lipid padat dari viskositas lipid yang rendah menjadi kental seperti gel (Mehnert & Mender 2001).

### 3. Komponen Bahan Pembuatan *Solid lipid Nanopartikel*

**3.1 Lipid.** Lipid adalah sekelompok senyawa heterogen, meliputi lemak, minyak, steroid, malam (*wax*), dan senyawa-senyawa lain yang terkait. Sifat umum lipid antara lain tidak larut dalam air dan larut dalam pelarut non polar seperti misalnya eter dan kloroform. Lipid merupakan salah satu zat yang kaya akan energi yang penting dan dipergunakan dalam metabolisme tubuh (Murray *et al.* 2013).

Jenis bahan penyalut (lipid) merupakan salah satu parameter kunci dalam mengendalikan sifat dan struktur SLN. Kristalisasi lipid, lipofilisitas, *loading capacity*, titik leleh, dan kemurnian lipid, merupakan faktor penting yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan lipid (Bharat *et al.* 2011). Lipid yang digunakan adalah lipid yang memiliki *melting point* melebihi suhu tubuh 37° C (Patel 2012).

Contoh lipid yang dapat digunakan sebagai matriks dalam SLN adalah :

**Tabel 1. Jenis lipid yang digunakan dalam SLN (Patel 2012)**

Trigliserida	Trimiristin
	Trilaurin
	Trikarpn
	Tripalmitin

	Tristearin
	Dynasan 12
	Compritol 888 ATO
Asilgliserida	Glisetil monostearat
	Gliseril behenate
	Gliseril palmitostearat
Asam lemak	Asam stearat
	Asam palmitat
	Asam dekanat
	Asam behenat
Malam	Carnauba wax
	Lilin lebah
	Cetil alcohol
	Cetil palmitate

Konsentrasi lipid yang digunakan dalam pembuatan SLN akan mempengaruhi efek penyerapan obat. Semakin besar komposisi lipid dalam formula SLN, akan menghasilkan nilai efisiensi penyerapan yang semakin besar karena lipid akan memberikan lebih banyak tempat bagi zat aktif untuk terinkorporasi dalam SLN (Qingzhi *et al.* 2009). Kelarutan obat dalam lipid, ketercampuran (misibilitas) obat dalam lipid cair, dan struktur fisik dan kimia matrik lipid juga berpengaruh terhadap kemampuan pengisian suatu obat dalam lipid (Uner & Yener 2007).

**3.2 Surfaktan.** Surfaktan atau zat aktif permukaan adalah molekul yang struktur kimianya terdiri dari dua bagian yang mempunyai perbedaan afinitas terhadap berbagai pelarut, yaitu bagian hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofobik terdiri dari rantai panjang hidrokarbon, mempunyai afinitas terhadap minyak atau pelarut non polar. Bagian hidrofilik dapat berupa gugus ion, gugus

polar, atau gugus yang larut dalam air. Bagian ini merupakan bagian yang memiliki afinitas terhadap air atau pelarut polar (Mayer 2006).

Jumlah surfaktan merupakan hal yang penting. Jika digunakan terlalu banyak dari yang dikehendaki, baik dilihat dari kemungkinan toksisitas dan berkurangnya absorpsi dan aktivitas, jumlah yang tidak mencukupi akan mengakibatkan mengendapnya zat-zat yang terlarut. Jumlah bahan yang dapat dilarutkan oleh sejumlah surfaktan tertentu merupakan fungsi karakteristik polar-nonpolar dari surfaktan tersebut biasanya dinyatakan dalam HLB (Keseimbangan Hidrofil-Lipofil) (Martin *et al.* 1993). Harga HLB memberi informasi tentang keseimbangan hidrofil-lipofil, yang dihasilkan dari ukuran dan kekuatan gugus lipofil dan hidrofil (Voigt 1995). Harga HLB memiliki skala 0-20. Surfaktan yang memiliki harga HLB rendah lebih larut dalam minyak atau bersifat hidrofobik sedangkan surfaktan yang memiliki harga HLB tinggi lebih larut dalam air atau bersifat hidrofilik (Myers 2006).

Penggunaan surfaktan terbagi atas tiga golongan, yaitu sebagai bahan pembasah, bahan pengemulsi dan bahan pelarut. Penggunaan surfaktan bertujuan untuk meningkatkan kestabilan emulsi dengan cara menurunkan tegangan antarmuka, antara fasa minyak dan fasa air (Myers 2006).

**3.2.1 Penggolongan Surfaktan.** Menurut sifat ionik dari molekul dalam larutan, surfaktan digolongkan menjadi 4 tipe surfaktan yaitu,

a. Surfaktan anionik

Surfaktan anionik merupakan surfaktan dengan bagian aktif pada permukaannya mengandung muatan negatif.

b. Surfaktan kationik

Surfaktan kationik merupakan surfaktan dengan bagian aktif pada permukaannya mengandung muatan positif. Surfaktan ini terionisasi dalam air serta bagian aktif pada permukaannya adalah bagian kationnya.

c. Surfaktan nonionik

Surfaktan nonionik adalah surfaktan yang tidak terionisasi di dalam air yaitu surfaktan yang bagian aktif permukaannya tidak mengandung muatan apapun.

d. Surfaktan amfoterik

Surfaktan ini dapat berperan sebagai non ionik, kationik, dan anionik di dalam larutan, jadi surfaktan ini mengandung muatan negatif maupun muatan positif pada bagian aktif pada permukaannya (Myers 2006).

**Tabel 2. Surfaktan yang digunakan dalam SLN (Yadav 2013).**

Fosfolipid	Lesitin kedelai
	Lesitin telur
	Pospatidilkolin
Etilena oksida	Poloxamer 188
	Poloxamer 182
	Poloxamer 407
	Poloxamine 908
Sorbitan etilena okdisa/propilen kopolimer oksida	Polisorbat 20
	Polisorbat 60
	Polisorbat 80
Alkylaryl polyether alcohol polymers	Tiloxapol
Bile salts	Sodium kolat
	Sodium glikolat
	Sodium taurokolat
	Sodium taurodeoksikolat
Alkohol	Etanol
	Butanol
	Asam butirat
	Sodium dikotil sulfosukinat
	Monooctylphosphoric acid sodium

**3.2.2 Critical Micelles Concentration (CMC).** Kemampuan surfaktan dalam melarutkan sesuatu berdasarkan atas suatu pembentukan agregat molekul yang disebut misel. Konsentrasi pada saat misel terbentuk disebut CMC (KMK =

Konsentrasi Misel Kritis). Sifat penting misel adalah kemampuannya dalam menaikkan kelarutan zat-zat yang sukar larut dalam air (Voigt 1995).

### **C. Metode Pembuatan *Solid lipid Nanoparticles***

#### **1. HPH (*High Pressure Homogenization*)**

Salah satu keuntungan nanopartikel lipid padat dapat diproduksi dengan teknik homogenisasi tekanan tinggi. Teknik Homogenisasi Tekanan Tinggi (*High Pressure Homogenization*) ini mendorong cairan dengan tekanan tinggi (100-2000 bar) melalui celah sempit (dalam kisaran beberapa mikron) (Mehnert & Mader 2001). Dua metode dasar untuk produksi nanopartikel lipid padat dengan teknik ini adalah homogenisasi panas dan homogenisasi dingin. Untuk kedua teknik ini obat dilarutkan dalam lipid yang telah dilelehkan pada suhu sekitar 5-10°C di atas titik lelehnya. Untuk teknik homogenisasi panas, obat yang telah dilarutkan dalam lipid dicampur dalam larutan surfaktan panas dengan suhu yang sama, kemudian dihomogenisasi menggunakan homogenizer. Untuk senyawa yang sensitif terhadap suhu dapat digunakan teknik homogenisasi dingin. Obat yang telah dilarutkan dalam lipid didinginkan, kemudian didispersikan dalam larutan surfaktan dingin. Selanjutnya dihomogenisasi pada atau dibawah suhu kamar (Muller *et al.* 2000). Secara umum dibandingkan dengan teknik homogenisasi panas, ukuran partikel lebih besar dan distribusi ukuran partikel lebih luas dari sampel yang dihasilkan dengan teknik homogenisasi dingin. Kekurangan dari teknik homogenisasi tekanan tinggi adalah dapat menyebabkan degradasi obat karena tekanan tinggi (Mehnert & Mader 2001).

#### **2. HSH (*High Shear Homogenization*)**

High Shear Homogenization adalah teknik dispersi yang pada awalnya digunakan untuk menghasilkan nanodispersi lipid padat. Keuntungannya adalah mudah dalam penanganannya dan penyebaran partikelnya luas. Namun kualitas dispersi sering terganggu oleh adanya mikropartikel (Mehnert & Mader 2001).

### **3. Metode Penguapan Pelarut (*Emulsification*)**

Metode ini dikarakterisasi dengan kebutuhan akan pelarut organik. Bahan lipofilik dilarutkan dalam pelarut organik kemudian diemulsifikasi dalam fase air. Setelah itu dilakukan penguapan pelarut sehingga lipid mengendap membentuk nanopartikel lipid padat. Keuntungan prosedur ini adalah proses homogenisasi dapat menghindari tegangan panas. Sedangkan kelemahannya adalah menggunakan pelarut organik (Mehnert & Mader 2001).

### **4. Ultrasonikasi dan Homogenisasi Kecepatan Tinggi**

**4.1 Ultrasonikasi (sonikasi).** Penggunaan gelombang ultrasonik (sonikasi) dalam pembentukan materi berukuran nano sangatlah efektif. Gelombang ultrasonik banyak diterapkan pada berbagai bidang antara lain dalam instrumentasi, kesehatan dan sebagainya. Salah satu yang terpenting dari aplikasi gelombang ultrasonik adalah pemanfaatannya dalam menimbulkan efek kavitasi akustik. Efek ini akan digunakan dalam pembuatan bahan berukuran nano dengan metode emulsifikasi (Nakahira 2007).

Efek kavitasi, menyebabkan proses emulsifikasi penjaralan ultrasonik akan lebih efektif dengan terdispersinya fasa minyak yang mengandung agregat nanosfer dalam fasa air, sehingga nanosfer yang telah terbentuk dapat terdispersi stabil. Bentuk dan ukuran globul akan mempengaruhi bentuk dan ukuran nanopartikel yang terbentuk. Gelombang kejut dapat memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*) dan terjadi dispersi sempurna dengan penambahan pengemulsi/ surfaktan sebagai penstabil. Kavitasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya: frekuensi ultrasonik, suhu, tekanan, konsentrasi dan viskositas (Hielscher 2005).

**4.2 Kombinasi Metode Ultrasonikasi dan Homogenisasi Kecepatan Tinggi.** Ukuran partikel dapat diperkecil dengan menggunakan kombinasi metode ultrasonikasi dan homogenisasi kecepatan tinggi. Keuntungan metode ini adalah peralatan yang digunakan sederhana dan sangat umum disetiap laboratorium. Masalah pada metode ini adalah distribusi ukuran partikel yang luas mulai dari kisaran mikrometer dan ketidakstabilan ukuran partikel pada saat penyimpanan. Untuk membuat formulasi yang stabil dapat dilakukan dengan menggabungkan

metode homogenisasi kecepatan tinggi dan ultrasonikasi dan dilakukan pada suhu relatif tinggi (Bharat 2011).

#### **D. Karakterisasi SLN**

##### **1. Ukuran Partikel**

Ukuran dari sistem pembawa obat merupakan parameter penting yang mempengaruhi serapan pada jaringan dan sel. Ukuran nanopartikel yang lebih kecil memberi serapan dalam sel lebih besar (Sahoo & Labhasetwar 2006). Selain itu ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas dari nanopartikel (Singh & Liliard 2009). Pengukuran ukuran partikel dilakukan dengan Particle Size Analyzer (PSA). Persyaratan parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al.* 2000).

##### **2. Pengukuran Efisiensi Penjerapan**

Pengukuran efisiensi penjerapan zat aktif dalam SLN dapat menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis (Anonim 1995). Prinsip spektrofotometer UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap. Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui (biasanya 1 cm dalam spektrofotometri) ke suatu poin, presentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi dengan *phototube* (Harmita 2006).

##### **3. Potensial Zeta**

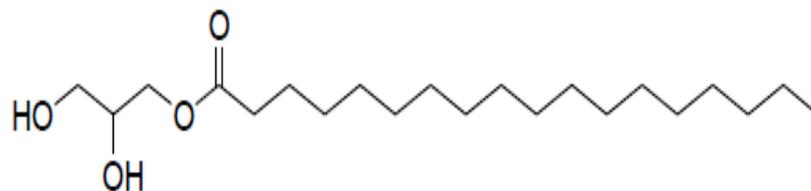
Potensial zeta dari sebuah nanopartikel biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan yang berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel. Partikel-partikel yang terdiri dari molekul heteroatomik

biasanya memiliki muatan permukaan, yang mungkin menjadi positif atau negatif, tergantung pada orientasi dan ionisasi komponen partikel. Interaksi elektrostatik antara partikel akan menentukan kecenderungan agregasi dan fenomena tolak-menolak. Potensial zeta adalah ukuran permukaan partikel yang tersebar dalam kaitannya dengan medium pendispersi. Partikel harus memiliki muatan atau potensial zeta yang tinggi dibanding dengan medium pendispersi untuk mencegah agregasi. Kekuatan tolak menolak yang dibawa oleh muatan ion serupa pada partikel permukaan akan mencegah gaya tarik menarik yang ditentukan oleh ikatan hidrogen dan ikatan van der Waals. Mengendalikan potensial zeta akan didapatkan kondisi yang ideal untuk terjadi agregasi (Vaughn & Williams 2007). Nanopartikel dengan nilai potensial zeta dengan nilai lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi (Ronson 2012).

## E. Studi Preformulasi

### 1. *Solid lipid*

#### 1.1 Gliseril Monostearat

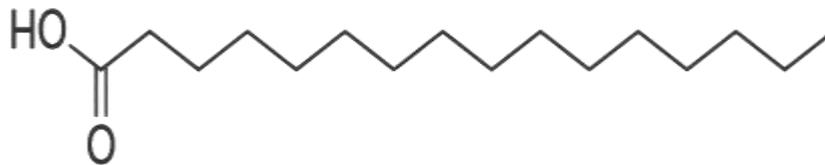


**Gambar 2. Struktur gliseril monostearat**

Gliseril monostearat adalah senyawa golongan ester dengan rantai asam lemak yang panjang. Gliseril monostearat memiliki rumus kimia  $C_{11}H_{42}O_4$ . Titik leleh gliseril monostearat sebesar  $55^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$ , berat jenis  $0,15 \text{ g/cm}^3$  dan titik nyala pada kisaran suhu  $240^{\circ}\text{C}$ . Gliseril monostearat larut dalam etanol, eter, kloroform, aseton panas dan minyak mineral. Praktis tidak larut dalam air, tapi dapat tercampur dalam air jika ke dalam campuran ditambahkan sabun atau surfaktan.

Gliseril monostearat digunakan sebagai agen pengemulsi, pelarut, stabiliser, dan bahan pembasah. Gliseril monostearat digunakan sebagai formulasi sediaan oral dan topikal karena secara umum dianggap tidak beracun dan tidak menyebabkan iritasi. Gliseril monostearat harus disimpan pada wadah yang tertutup rapat, terlindung dari cahaya, pada tempat yang sejuk dan kering (Rowe *et al.* 2009).

### 1.2 Asam Stearat



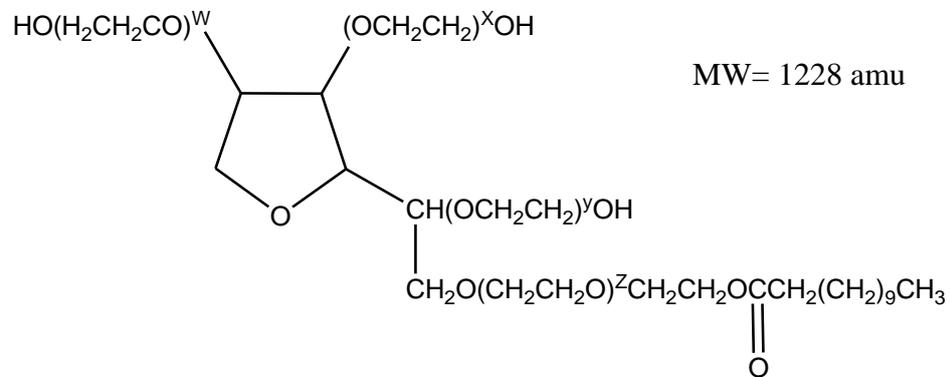
Gambar 3. Struktur asam stearat

Asam stearat adalah campuran asam organik padat yang diperoleh dari lemak sebagian besar terdiri dari asam oktadekanoat,  $C_{18}H_{36}O_2$  dan asam heksadekanoat,  $C_{16}H_{32}O_2$  (Anonim 1979).

Asam lemak ini merupakan asam lemak jenuh, wujudnya padat pada suhu ruang. Asam stearat diproses dengan memperlakukan lemak hewan dengan air pada suhu dan tekanan tinggi. Asam ini dapat pula diperoleh dari hidrogenasi minyak nabati. Dalam bidang industri asam stearat dipakai sebagai bahan pembuatan lilin, sabun, plastik, kosmetika, dan untuk melunakkan karet (Merck 1976).

Berbentuk padatan kristal berwarna putih atau sedikit kuning, mengkilat, praktis tidak larut air (Rowe *et al.* 2009). Larut dalam alkohol, benzena kloroform, aseton, karbon tetraklorida, karbon disulfida, amil asetat dan toluen. Titik leleh asam stearat  $54^{\circ}C$  (Merck 1976).

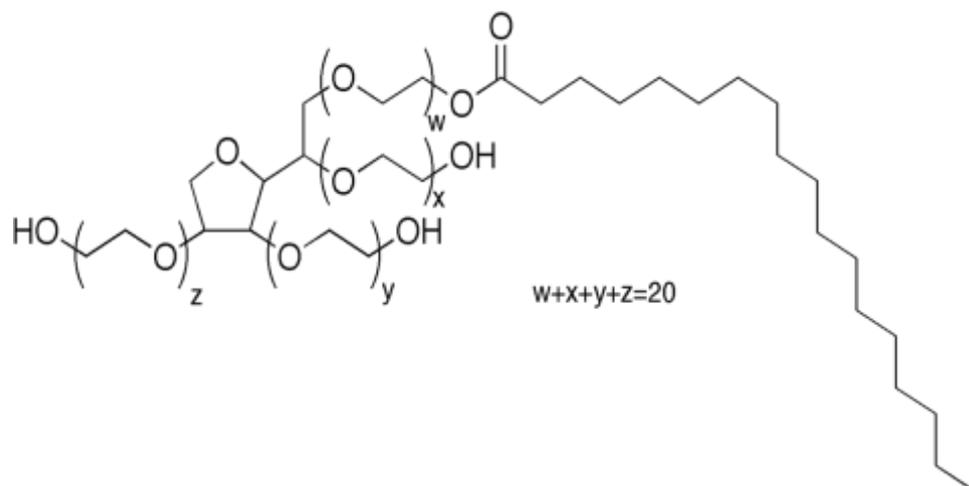
### 1. Tween 20



**Gambar 4. Struktur tween 20**

Tween 20 atau *Polysorbate 20* adalah ester larutan dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk setiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol (Anonim 2014). Tween 20 merupakan cairan berwarna kuning muda hingga coklat muda, larut dalam air, etanol, etil asetat, metanol, dan dioksan, tidak larut dalam minyak mineral. Tween 20 memiliki harga HLB sejumlah 16,7 (Voigt 1995).

### 2. Tween 60

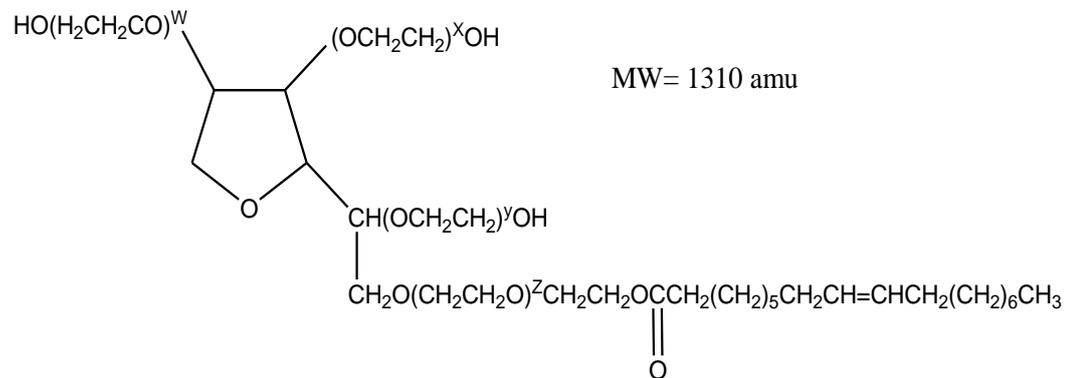


**Gambar 5. Struktur tween 60**

Tween 60 atau *Polysorbate 60* adalah campuran ester stearat dan palmitat dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol. Tween 60 merupakan cairan seperti minyak atau semi gel, berwarna kuning hingga jingga, dan berbau khas lemah. Tween 60 larut dalam air, dalam etil asetat, dan dalam

toulen, tidak larut dalam minyak mineral dan dalam minyak nabati (Anonim 2014). Tween 60 memiliki harga HLB sejumlah 14,9 (Voigt 1995). Tween 60 telah digunakan secara luas dalam bidang kosmetik, produk makanan, dan sediaan farmasetika baik dalam penggunaan secara peroral, parenteral maupun topikal dan tergolong zat yang nontoksik dan iritan. Menurut WHO, pemakaian perhari untuk Tween maksimal 25 mg/kg BB (Rowe *et al.* 2009).

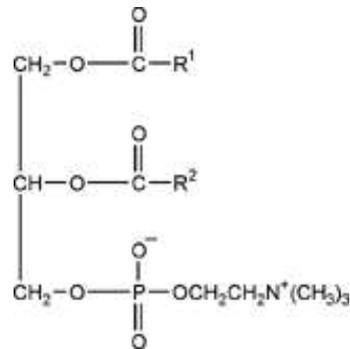
### 3. Tween 80



**Gambar 6. Struktur tween 80**

Tween 80 atau *Polysorbate 80* adalah ester oleat dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol. Tween 80 memiliki rumus kimia  $C_{64}H_{124}O_{26}$ . Tween 80 merupakan cairan seperti minyak, jernih, bewarna kuning muda hingga coklat muda, bau khas lemah, rasa pahit, dan hangat (Anonim 2014). Tween 80 larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral (Rowe *et al.* 2009). Tween 80 memiliki harga HLB sejumlah 15 (Voigt 1995). Tween 80 merupakan surfaktan nonionik hidrofilik yang digunakan sebagai eksipien untuk menstabilkan suspensi dan emulsi. Tween 80 juga digunakan sebagai agen pelarut dan *wetting agent* pada krim, salep, dan *lotion* (Rowe *et al.* 2009 ).

#### 4. Lesitin



Gambar 7. Struktur lesitin

Lesitin merupakan golongan surfaktan yang diperoleh dari atau material tumbuhan, paling banyak dari kacang kedelai. Lesitin merupakan emulsifier ampoterik yang memiliki gugus polar dan gugus non polar. Gugus polar akan mengikat air, sedangkan gugus non polar akan mengikat lemak. Lesitin berfungsi sebagai emulgator. Lesitin yang berasal dari telur mengandung senyawa 69% fosfatidilkolin dan 24 % fosfatidiletanolamin, sedangkan pada lesitin yang berasal dari kedelai mengandung senyawa 21% fosfatidilkolin, 22% fosfatidiletanolamin, dan 19% fosfatidilenositol (Rowe *et al.* 2009).

#### F. Landasan Teori

Fisetin adalah flavonoid tanaman bioaktif penting besar sebagai obat terapi berpotensi berguna, untuk berbagai radikal bebas yang dimediasi serta penyakit lainnya (Sengupta *et al.* 2005). Fisetin merupakan obat golongan BCS kelas II dengan absorpsi dan bioavailabilitas yang rendah sekitar 10% (Dang *et al.* 2014, Yao *et al.* 2013). Salah satu aktivitas farmakologis fisetin adalah sebagai antioksidan dan anti karsinogenik. Efek karsinogenik pelindung dan anti cardio dari fisetin pada dosis diet yang dikaitkan dengan sifat antioksidan dan kemampuannya untuk mencegah proliferasi sel dan angiogenesis *vitro*. Karena efek seperti menguntungkan biologi, fisetin dan beberapa flavonoid tanaman lain yang sering digunakan sebagai suplemen nutrisi pada konsentrasi tinggi (Olaharski 2005).

*Solid lipid Nanoparticles* (SLN) merupakan suatu sistem pembawa koloid yang menggunakan lipid padat sebagai bahan pembentuk matriks. SLN

menawarkan sifat unik seperti ukuran yang relatif kecil dan luas area permukaan yang relatif besar (Amalia 2015). SLN berisi inti hidrofob yang padat dengan disalut oleh fosfolipid lapis tunggal, inti padat berisi senyawa obat yang dilarutkan atau didispersikan dalam matrik lemak padat yang mudah mencair. Rantai hidrofob fosfolipid mengelilingi pada matrik lemak, emulgator ditambahkan pada sistem sebagai penstabil fisik (Rawat *et al.* 2006). Kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi digunakan dalam formulasi SLN, selain proses homogenisasi dapat menghindari panas, metode sonikasi dapat membantu memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*) (Mehnert & Mader 2001).

Karakteristik SLN yang dilakukan meliputi ukuran partikel (50-1000 nm), efisiensi penjerapan, dan potensial zeta. Ukuran partikel merupakan karakteristik yang paling penting di dalam suatu sistem nanopartikel, karena berkurangnya ukuran partikel maka akan meningkatkan luas permukaan partikel. Berkurangnya ukuran partikel juga meningkatkan disolusi dan kejenuhan larutan yang berhubungan dengan peningkatan kinerja obat secara *in vivo*. Pengukuran potensial zeta digunakan untuk menganalisis stabilitas dispersi koloid pada masa penyimpanan, dan merupakan prediktor yang baik dari fenomena gelasi. Pengukuran efisiensi penjerapan bertujuan untuk mengetahui jumlah zat aktif yang terjerap dalam SLN, mengetahui kemampuan lipid yang digunakan dalam menjerap zat aktif dan untuk mengetahui efisiensi dari metode pembuatan SLN yang digunakan (Mehnert & Mader 2001).

Penelitian yang dilakukan oleh Attama *et al.* (2007), menunjukkan bahwa SLN yang menggunakan tween 80 bila ditambahkan fosfatidilkolin menghasilkan ukuran diameter partikel yang lebih kecil dan peningkatan zeta potensial bila dibandingkan dengan SLN tanpa fosfatidilkolin. Sementara kandungan fosfatidilkolin terbesar terdapat pada lesitin. Lesitin merupakan emulsifier amfoterik yang memiliki gugus polar dan gugus non polar. Tween merupakan surfaktan non ionik yang sering digunakan karena memiliki toksisitas yang rendah (Rowe *et al.* 2009). Perbedaan tween 20, 60, dan 80 adalah terletak dari nilai HLB dan panjang rantai karbonnya (Komaiko 2016).

### **G. Hipotesis**

*Solid lipid Nanopartikel* (SLN) fisetin dapat dibuat dengan kombinasi metode emulsifikasi dan sonifikasi.

Kombinasi eksipien lesitin dari dan tween 80 dapat menghasilkan ukuran diameter partikel yang lebih kecil dan peningkatan zeta potensial.

*Solid lipid Nanopartikel* (SLN) fisetin memiliki efisiensi penyerapan obat yang tinggi.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran untuk penelitian yang menjadi sasaran untuk penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi SLN fisetin yang dibuat dalam 9 formula dan dilihat uji karakteristik dan kestabilan fisik.

Sampel adalah bagian dari populasi yang diteliti berdasarkan ciri dan sifatnya, serta keberadaannya mampu mendiskripsikan populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan formula terbaik yang diambil dari 9 formula SLN fisetin.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel dalam penelitian ini adalah formula dari *solid lipid nanoparticles* fisetin yang dibuat dengan kombinasi surfaktan yang berbeda, konsentrasi lipid yang berbeda, dan karakterisasi SLN dengan berbagai macam pengujian.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini diklasifikasikan dalam berbagai variabel, antara lain variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung yaitu kombinasi surfaktan yang berbeda lesitin dan tween 20, lesitin dan tween 60, lestitin dan tween 80, dan konsentrasi *solid lipid* yang berbeda.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian ini yaitu karakterisasi SLN fisetin yaitu ukuran partikel, potensial zeta, dan efisiensi penjerapan

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualitasnya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat yaitu proses pembuatan SLN dengan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Zat aktif fisetin dengan komposisi kombinasi surfaktan lesitin dan tween 20, lesitin dan tween 60, lesitin dan tween 80 dengan konsentrasi masing-masing lesitin dan tween adalah 1% : 3%, dan dengan komposisi *solid lipid* dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 3% pada setiap kombinasi lesitin dan berbagai jenis tween (tween 20, 60, dan 80).

Ukuran partikel pada SLN adalah 50 – 1000 nm. Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas dari nanopartikel. Potensial zeta merupakan prediktor yang baik dari fenomena aglasi karena potensial zeta mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel yang terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan. Efisiensi penyerapan dilakukan untuk mengetahui jumlah fisetin yang terjerap dalam SLN. Uji stabilitas setelah penyimpanan dilakukan untuk mengetahui kestabilan emulsi SLN fisetin setelah penyimpanan berupa ukuran partikel dan potensial zeta.

Proses pembuatan SLN fisetin dengan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah fisetin, gliseril monostearat, lesitin, Tween 20, Tween 60, Tween 80, kloroform, metanol, aquadiminerilisata (semua bahan kualitas farmasi).

### **2. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat uji ukuran partikel dan zeta potensial (Malvern, UK), *sonicator* (Qsonica, Newtown, U.S.A), *magnetic stirrer*, *hotplate stirrer* (Thermo Scientific, China), *sentrifuge* (SPLC

Series, Gemmy 8 Hole, Taiwan), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10s, Thermo scientific), timbangan analitik (Ohaus), alat-alat gelas (Pyrex, Jepang) dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

## D. Jalannya Penelitian

### 1. Percobaan pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan kondisi percobaan terbaik yang sesuai untuk menghasilkan sediaan dispersi SLN fisetin yang stabil dan homogen. Percobaan pendahuluan yang pertama adalah melakukan pemilihan *lipid* yaitu dengan melihat kelarutan fisetin yang paling sesuai pada lipid

### 2. Komposisi formula SLN fisetin

**Tabel 3. Formula SLN fisetin**

Formula	Fisetin (%)	Solid Lipid (%)	Lesitin (%)	Tween 20 (%)	Tween 60 (%)	Tween 80 (%)	Aquades
F1	0,01	1	1	3	-	-	Add 100 ml
F2	0,01	2	1	3	-	-	Add 100 ml
F3	0,01	3	1	3	-	-	Add 100 ml
F4	0,01	1	1	-	3	-	Add 100 ml
F5	0,01	2	1	-	3	-	Add 100 ml
F6	0,01	3	1	-	3	-	Add 100 ml
F7	0,01	1	1	-	-	3	Add 100 ml
F8	0,01	2	1	-	-	3	Add 100 ml
F9	0,01	3	1	-	-	3	Add 100 ml

### 3. Pembuatan emulsi SLN fisetin dengan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi

Pembuatan SLN fisetin diawali dengan melarutkan gliseril monostearat dan fisetin dalam pelarut. Fase air berupa lesitin dan tween (20/60/80) dilarutkan dalam 10 ml aquades dengan menggunakan *magnetic stirer*. Kemudian di dalam campuran lipid dan fisetin ditambahkan fase air setetes demi setetes dengan bantuan *magnetic stirer* selama 5 menit, lanjutkan pengadukan menggunakan *magnetic stirer* selama 2 jam. Kemudian dilanjutkan dengan sonikasi selama 20

menit. Tahap terakhir yaitu dilanjutkan dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirer* selama 2 jam untuk menguapkan pelarut yang masih tersisa dalam sediaan. Emulsi SLN fisetin yang terbentuk di simpan pada suhu 4°C.

#### **4. Pembuatan kurva kalibrasi.**

**4.1 Pembuatan larutan induk.** Pembuatan larutan induk dibuat dengan menimbang seksama sejumlah 10 mg serbuk fisetin, dimasukkan dalam labu takar 10 ml. dan dilarutkan etanol sampai tanda batas (Bayas 2015).

**4.2 Penetapan panjang gelombang maksimum.** Larutan induk fisetin dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-200 nm. Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan nilai serapan yang paling tinggi (Bayas 2015).

**4.3 Penetapan *operating time*.** Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui kestabilan reaksi suatu senyawa. Pengujian dilakukan dengan membaca larutan induk fisetin pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai serapan yang stabil.

**4.4 Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi.** Seri konsentrasi 2 ppm, 4ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm kemudian masing-masing diencerkan sampai tanda batas dengan metanol. Seri larutan tersebut diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi fisetin sehingga diperoleh persamaan regresi linear yang selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar dan efisiensi penyerapan fisetin.

#### **5. Karakterisasi SLN fisetin**

**5.1 Penetapan distribusi ukuran partikel.** Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel adalah karakteristik yang terpenting dalam sistem nanopartikel. penelitian yang menunjukkan bahwa nanopartikel memiliki banyak keuntungan dibandingkan mikropartikel sebagai sistem penghantaran obat. Umumnya nanopartikel dapat mencapai target biologis dalam jumlah yang lebih besar jika dibandingkan obat mikropartikel. Nanopartikel juga dilaporkan dapat melintas sawar darah otak (Jahanshashi & Babaei 2008). Pengukuran partikel dilakukan dengan *particle size analyzer* (PSA). Persyaratan parameter ini adalah

partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu Muller *et al.* 2000)

**5.2 Pengukuran efisiensi penjerapan fisetin.** Sebanyak 100 mg SLN fisetin dilarutkan metanol dalam 10 ml labu takar, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 *rpm* selama 30 menit. Supernatan diambil dan diukur kadarnya menggunakan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya. Efisiensi penjerapan (%) fisetin dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Efisiensi penjerapan (\%)} = W_F / W_T$$

Keterangan :

$W_T$  = jumlah total obat pada SLN

$W_F$  = jumlah obat yang terjerap dalam SLN

**5.3 SEM.** *Scanning Electron Microscopy* (SEM) merupakan sejenis mikroskop yang menggunakan elektron sebagai pengganti cahaya untuk melihat benda dengan resolusi tinggi. Analisis SEM bermanfaat untuk mengetahui morfologi (termasuk porositas dan bentuk retakan) benda padat. Berkas sinar elektron dihasilkan dari filamen yang dipanaskan, disebut *electron gun*. Sebuah ruang vakum diperlukan untuk preparasi cuplikan. Cara kerja SEM adalah gelombang elektron yang dipancarkan *electron gun* terkondensasi di lensa kondensor dan terfokus sebagai titik yang jelas oleh lensa objektif. *Scanning coil* yang diberi energi menyediakan medan magnetik bagi sinar elektron. Berkas sinar elektron yang mengenai cuplikan menghasilkan elektron sekunder dan kemudian dikumpulkan oleh detektor sekunder atau detektor *backscatter*. Gambar yang dihasilkan terdiri dari ribuan titik berbagai intensitas di permukaan *Cathode Ray Tube* (CRT) sebagai topografi gambar (Kroschwitz 1990).

#### **5.4 Uji stabilitas SLN fisetin setelah penyimpanan.**

**5.4.1 Pengamatan secara visual.** Formula SLN fisetin yang sudah diketahui menghasilkan ukuran partikel terkecil di uji stabilitasnya pada suhu kamar selama 1 bulan dan diamati setiap minggu.

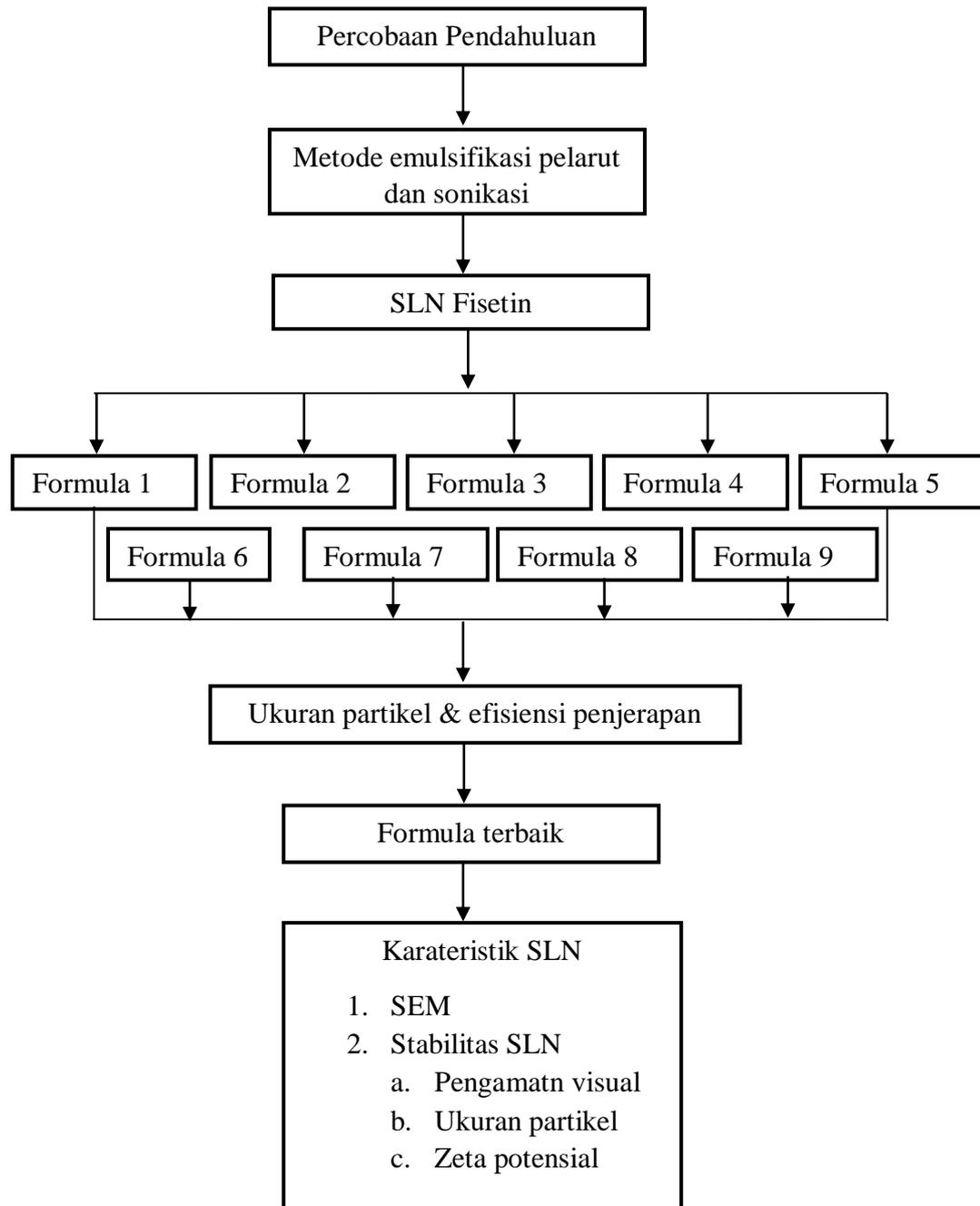
**5.4.2 Pengukuran ukuran partikel dan potensial zeta.** Untuk mengetahui ukuran sediaan nanopartikel setelah penyimpanan dilakukan

pengukuran ukuran dan distribusi nanopartikel menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA), dan untuk mengetahui nilai potensial zeta setelah penyimpanan diukur menggunakan zeta potensial analyzer.

#### **E. Analisis Hasil**

Analisis hasil dilakukan untuk mengetahui suatu data terhadap terjadinya kesalahan dalam penelitian, penyimpangan dari aturan baku yang sudah ditentukan. Analisis hasil suatu pengujian yang mengacu pada parameter dapat dilakukan dengan cara, data yang diperoleh dari penelitian dilakukan analisis dan dilihat kesesuaian dengan persyaratan baku yang telah menjadi ketentuan dari sediaan *Solid lipid Nanoparticles* fisetin, misalnya pengacuan data hasil pengujian dengan referensi secara teori yang ada, dengan demikian hasil penelitian dengan referensi teori tersebut dibandingkan satu sama lainnya. Pengacuan terhadap referensi teori dilakukan untuk menghindari adanya kesalahan dalam penelitian.

## F. Skema Penelitian



Gambar 8. Skema jalannya penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Percobaan Pendahuluan**

Pembuatan *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN) dilakukan dengan menggabungkan metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi, sehingga didapat sediaan SLN yang homogen dan mempunyai ukuran partikel yang kecil. Pada awal penelitian, terlebih dahulu dilakukan percobaan pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan lipid yang terbaik untuk digunakan dalam formula SLN fisetin. Pembuatan SLN fisetin dilakukan dengan melarutkan lipid dan fisetin dengan pelarut yang sama kemudian dicampurkan, sementara pada penelitian Cho *et al.* (2008) fisetin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki berbagai aktifitas farmakologi salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan dapat terdegradasi kurang lebih pada suhu 70° C, mendekati suhu tersebut kemampuan senyawa antioksidan akan berkurang atau bahkan menghilang. Sehingga titik leleh lipid perlu dipertimbangkan dalam pembuatan formula SLN fisetin agar tidak merubah aktifitas farmakologi fisetin.

Dalam percobaan ini, dilakukan dengan menggunakan dua lipid yaitu asam stearat dan gliseril monostearat. Lipid yang digunakan dalam formula SLN fisetin adalah lipid yang dapat larut dalam pelarut dengan suhu kurang dari 60° C. Pada percobaan asam stearat dilarutkan dalam etanol p.a dengan suhu yang dinaikkan secara bertahap, asam stearat larut pada suhu 68° C. Sementara gliseril momostearat yang dilarutkan pada etanol p.a larut pada suhu 55° C. Sehingga untuk pembuatan formula SLN fisetin digunakan lipid gliseril monostearat.

#### **B. Pembuatan Emulsi SLN fisetin**

Dispersi SLN fisetin telah berhasil diformulasikan dengan menggunakan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi. Pada metode ini, lemak padat sebagai fase terdispersi dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut organik yaitu etanol p.a sebanyak 10-20 ml karena gliseril monostearat (GMS) dan fisetin larut dalam etanol, menurut penelitian Pooja *et al* (2015) jumlah penggunaan pelarut organik akan mempengaruhi ukuran partikel SLN yang dihasilkan, semakin

minimum penggunaan pelarut organik maka akan semakin kecil ukuran partikel SLN yang didapatkan. Metode sonikasi sangat berperan dalam pembentukan *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN), penggunaan gelombang ultrasonik (sonikasi) dalam pembentukan materi berukuran nano sangatlah efektif karena gelombang ultrasonik dapat menimbulkan efek kavitasi. Efek kavitasi dapat memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*) dan terjadi dispersi sempurna dengan penambahan surfaktan sebagai penstabil.

Untuk menstabilkan dan menghambat aglomerasi globul lemak terdispersi, ke dalam formula SLN fisetin perlu ditambah surfaktan. Penggunaan kombinasi surfaktan lebih efektif bekerja menstabilkan SLN bila dibandingkan penggunaan surfaktan tunggal (Mehnert & Mader 2001). Oleh karena itu, dalam penelitian ini ditambahkan kombinasi dua surfaktan yaitu lesitin dan tween 20/60/80 ke dalam formula SLN.

Fisetin didispersikan didalam fase lemak GMS membentuk emulsi air dalam minyak (a/m), kemudian ditambahkan fase air berupa lesitin dan tween 20/60/80 yang didispersikan dalam 40 ml *aqua pro injection* untuk membentuk emulsi a/m/a dengan globul yang lebih kecil selanjutnya disonikasi selama 20 menit untuk memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*). Emulsi SLN fisetin yang terbentuk berupa larutan koloid bewarna putih seperti susu kekuningan, hal ini diakibatkan oleh tercampurnya fase lipid dan fase air yang dicampurkan pada titik gelasinya dengan ukuran yang kecil (nm) (Jafar 2015).

## C. Kurva Kalibrasi dan Verifikasi Metode Analisis

### 1. Pembuatan kurva kalibrasi

**1.1 Penentuan panjang gelombang maksimum.** Panjang gelombang maksimum dari serbuk fisetin dilakukan dengan *scanning* larutan fisetin dengan konsentrasi 10 ppm pada panjang gelombang 400-200 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum diperoleh pada panjang gelombang 372 nm dengan serapan sebesar 0,5059. Data dapat dilihat pada lampiran 15a halaman ???

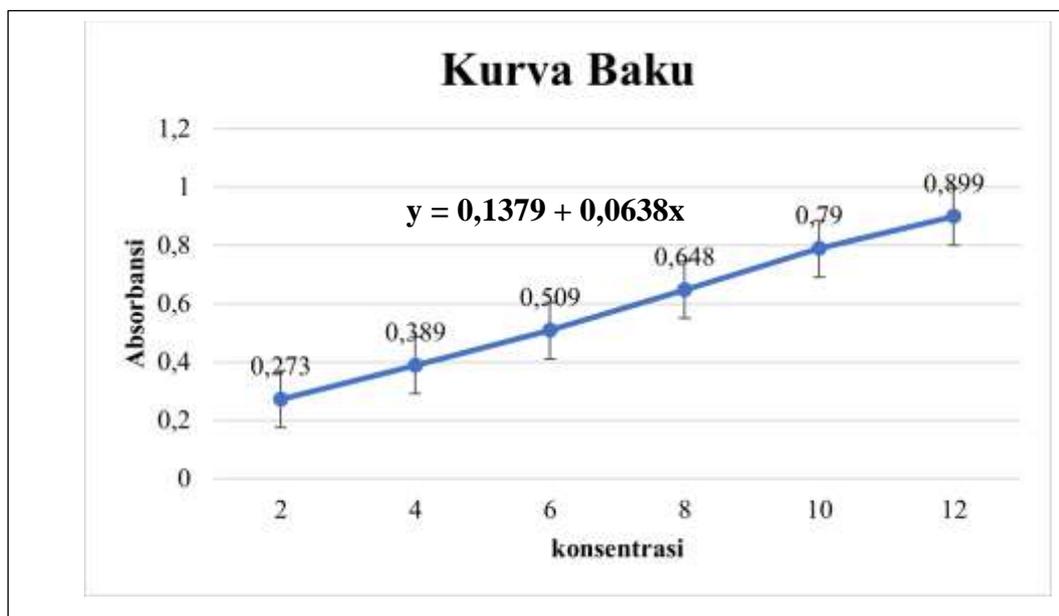
**1.2 Penentuan *operating time*.** Penentuan *operating time* bertujuan untuk melihat kestabilan reaksi suatu senyawa yang dianalisis. Pengujian dilakukan dengan membaca larutan induk fisetin pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai serapan yang stabil. Pada lampiran 15b halaman **????** didapatkan serapan yang stabil pada menit ke-5 dan seterusnya.

**1.3 Kurva kalibrasi.** Kurva kalibrasi fisetin dibuat dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm dengan pembacaan triplo. Seri konsentrasi larutan tersebut diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum fisetin, kemudian dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi fisetin sehingga diperoleh persamaan regresi linear. Hasil persamaan yang diperoleh yaitu dengan koefisien korelasi sebesar 0,9993. Hasil penentuan kurva baku dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4 Hasil penentuan kurva baku fisetin**

<b>Konsentrasi (ppm)</b>	<b>Absorbansi</b>
<b>2</b>	0,273
<b>4</b>	0,390
<b>6</b>	0,509
<b>8</b>	0,648
<b>10</b>	0,790
<b>12</b>	0,899

Hubungan antara konsentrasi (ppm) dengan absorbansi fisetin dapat dilihat pada gambar :



Gambar 9. Grafik hubungan antara konsentrasi fisetin dengan absorbansi

**1.4 Verifikasi metode analisis.** Verifikasi metode analisis yang dilakukan yaitu penentuan linieritas, penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil verifikasi metode analisis ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin

Parameter	Hasil
<b>R2 (koefisien determinasi)</b>	0,9993
<b>Batas deteksi (LOD)</b>	0,166 ppm
<b>Batas kuantifikasi (LOQ)</b>	1,540 ppm

Hasil verifikasi metode analisis menunjukkan serapan dipengaruhi oleh fisetin sebesar 99,9%. Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dilakukan dengan metode perhitungan yaitu berdasarkan standar deviasi respon dan kemiringan (*slope*) kurva baku. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blangko pada standar deviasi residual garis regresi linier atau standar deviasi intersep-y pada garis regresi. Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi (Gandjar & Rahman 2012).

Hasil perhitungan penentuan batas deteksi (LOD) yaitu sebesar 0,166 ppm dan batas kuantifikasi (LOQ) yaitu sebesar 1,540 ppm.

#### **D. Karakterisasi *Solid Lipid Nanopartikel* (SLN) fisetin.**

##### **1. Ukuran partikel**

Ukuran partikel merupakan karakteristik yang paling penting di dalam suatu sistem nanopartikel. Ukuran partikel *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN) fisetin diukur dengan menggunakan alat PSA (*Particle Size Analyzer*). Penggunaan surfaktan berpengaruh terhadap ukuran partikel dan kestabilan emulsi SLN yang dihasilkan. Surfaktan berfungsi dalam menstabilkan emulsi dengan cara menempati antar permukaan antara tetesan dan fase eksternal, dan dengan membuat batas fisik di sekeliling partikel yang akan berkoalesensi. Surfaktan juga mengurangi tegangan antar permukaan anatara fase, sehingga meningkatkan proses emulsifikasi selama pencampuran (Anonim 1995). Penggunaan surfaktan sebagai zat pengemulsi dan zat penstabil menghasilkan penurunan tegangan antarmuka dari kedua cairan yang tidak saling bercampur, mengurangi gaya tolak antara cairan-cairan tersebut dan mengurangi gaya tarik-menarik antarmolekul dari masing-masing cairan (Ansel 2008). Bila permukaan cairan telah jenuh dengan molekul-molekul surfaktan maka molekul-molekul yang berada di dalam cairan akan membentuk agregat yang disebut misel. Sifat penting misel adalah kemampuannya dalam menaikkan kelarutan zat-zat yang sukar larut dalam air. Surfaktan menurunkan tegangan antarmuka antara obat dan medium sekaligus membentuk misel sehingga molekul obat akan terbawa oleh misel larut ke dalam medium (Myers 2006).

Hasil pengukuran ukuran partikel *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN) fisetin secara umum terlihat berada pada range ukuran SLN (50-1000 nm). Penggunaan 2 surfaktan yaitu kombinasi lesitin dan tween (20/60/80) menyebabkan nanopartikel yang dihasilkan lebih kecil. Hal tersebut terjadi karena jumlah pengemulsi yang lebih banyak dapat lebih mencegah terjadinya agregasi kembali antara partikel-partikel yang pecah setelah sonikasi. Penambahan kombinasi surfaktan berupa lesitin dan tween 80 menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil daripada

menggunakan kombinasi surfaktan berupa lesitin dan tween 20 atau lesitin dan tween 60. Hal tersebut disebabkan oleh perbedaan nilai HLB dan struktur tween 20, tween 60, dan tween 80. Tween 80 memiliki ukuran *droplet* yang lebih kecil dibandingkan dengan tween 20 dan 60, Tween 80 memiliki ujung rantai hidrofob linier yang tidak jenuh, tween 20 dan tween 60 memiliki ujung rantai hidrofob linier yang jenuh (Komaiko 2016).

Tween 20 memiliki ujung rantai hidrofob berjumlah 12, tween 60 memiliki ujung rantai hidrofob berjumlah 18, sedangkan tween 80 memiliki rantai hidrofob berjumlah 18, tetapi pada tween 80 di rantai nomor 9 terdapat ikatan rangkap, hal ini menyebabkan kelarutan obat semakin meningkat. Semakin panjang rantai hidrofob dari surfaktan makin besar pengaruhnya terhadap kelarutan obat dalam air (Martin 1993). Hal ini dikarenakan terjadinya penurunan energi bebas yang dapat dijelaskan dengan persamaan *gibbs* dimana jika penurunan tegangan permukaan besar maka penurunann energi bebas permukaan juga besar sehingga terjadi penurunan *droplet* yaitu ukuran droplet yang semakin kecil.

Keseragaman ukuran partikel dapat diketahui dari nilai indeks polidispersitas, indeks polidispersitas merupakan ukuran lebarnya distribusi ukuran partikel. Pada Tabel 8. Terlihat nilai indeks polidispersitas yang dihasilkan mendekati nilai 0, ini menunjukkan bahwa emulsi SLN fisetin yang terbentuk merupakan dispersi yang cukup homogen karena nilai indeks polidispersitas mendekati nilai 0.

**Tabel 6. Hasil pengukuran ukuran partikel**

<b>Sampel</b>	<b>Ukuran Partikel (nm)</b>	<b>PI</b>
<b>F1</b>	391,10 ± 0,01	0,388
<b>F2</b>	387,40 ± 0,01	0,497
<b>F3</b>	463,60 ± 0,01	0,230
<b>F4</b>	395,50 ± 0,01	0,858
<b>F5</b>	594,80 ± 0,01	0,228
<b>F6</b>	1249,00 ± 0,01	0,797

<b>F7</b>	1021,00 ± 0,01	1,000
<b>F8</b>	556,70 ± 0,01	0,744
<b>F9</b>	826,10 ± 0,01	1,000

---

## 2. Efisiensi penyerapan

Pengujian efisiensi penyerapan fisetin dilakukan untuk menentukan jumlah fisetin yang terjerap dalam SLN. Suatu sistem penghantaran obat harus memiliki kapasitas pemuatan obat yang tinggi dan bertahan lama. Kapasitas pemuatan obat (efisiensi penyerapan) pada umumnya dinyatakan dalam persen obat yang terjerap dalam fase lemak terhadap obat yang ditambahkan (Parhi & Suresh 2010).

Pengujian efisiensi penyerapan fisetin dilakukan sebanyak tiga kali dengan melarutkan sejumlah SLN fisetin kedalam etanol. Analisis dilakukan menggunakan spektrofotometri UV karena pada fisetin terdapat gugus kromofor, yaitu gugus C=O dan benzene sehingga fisetin dapat terdeteksi pada panjang gelombang maksimum 372 nm.

Tabel 7. Efisiensi penyerapan

Formula	Efisiensi Penyerapan (%)
1	54,3
2	27,9
3	89,2
4	13,3
5	47,2
6	32,4
7	56,6
8	74,4
9	83,8

Rata-rata efisiensi penyerapan untuk lipid 1 gram (formula 1, 4, 7) 41,4%; lipid 2 gram (formula 2, 5, 8) 49,8%; dan lipid 3 gram (formula 3, 6, 9) 68,5%. Hasil efisiensi penyerapan formula dengan lipid lebih banyak menghasilkan efisiensi penyerapan yang lebih baik. Hal ini disebabkan semakin besar komposisi lipid yang digunakan, akan menghasilkan nilai efisiensi penyerapan semakin besar, karena peningkatan gliseril monostearat (GMS) akan memberikan lebih banyak tempat bagi zat aktif untuk terinkorporasi dalam SLN (Qingzhi Li 2009).

Tujuan dilakukannya evaluasi efisiensi penyerapan zat aktif di dalam SLN adalah untuk mengetahui kemampuan lipid dalam menyerap zat aktif dan mengetahui efisiensi dari metode yang digunakan. Faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan pengisian suatu obat dalam lemak antara lain kelarutan obat dalam lemak yang dilelehkan, ketercampuran (*misibilitas*) obat cair dalam lemak cair, dan struktur fisik dan kimia matriks lemak padat (Uner & Yener 2007). Hasil yang didapat menunjukkan bahwa gliseril monostearat (GMS) dapat menyerap fisetin cukup besar karena kelarutan fisetin dalam GMS cukup besar.

### 3. Uji stabilitas SLN fisetin setelah penyimpanan

**3.1 Pengamatan secara visual.** SLN fisetin formula 3 disimpan pada suhu ruang selama 4 minggu. Setelah 4 minggu pengamatan, SLN yang disimpan dalam suhu kamar timbul endapan. Hal ini karena kenaikan suhu akan meningkatkan energi kinetis dari tetesan-tetesan, sehingga memudahkan penggabungan antar partikel (beraglomerasi) suhu penyimpanan yang tidak

sesuai menyebabkan rusaknya gerak brown. Gerak brown adalah gerak tidak beraturan atau gerak acak atau zig-zag partikel koloid. Hal ini terjadi karena adanya benturan tidak teratur dari partikel koloid dengan medium pendispersi. Dengan adanya gerak brown ini maka partikel koloid terhindar dari pengendapan karena terus-menerus bergerak (Wanibesak 2011). Endapan yang terjadi bersifat ireversibel karena dapat terdispersi kembali setelah dilakukan pengocokan.

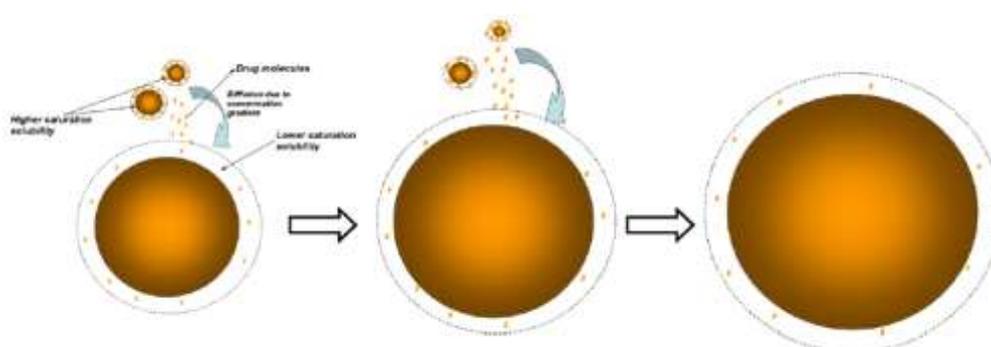
**Tabel 8. Stabilitas SLN fisetin pada suhu kamar**

Minggu	Endapan
I	-
II	-
III	Ada
IV	Ada

### 3.2 Pengukuran ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.

Uji stabilitas setelah penyimpanan dilakukan pada suhu ruang selama 4 minggu. Uji stabilitas meliputi ukuran partikel, potensial zeta, dan bentuk morfologi SLN.

Kenaikan ukuran partikel selama penyimpanan masih dalam range ukuran SLN yaitu 551,5. Peningkatan ukuran partikel setelah penyimpanan dapat dijelaskan melalui mekanisme *Ostwald ripening*. Ukuran partikel kecil (nm) memiliki kelarutan yang lebih besar daripada ukuran partikel yang lebih besar ( $\mu\text{m}$ ), sehingga zat aktif akan berdifusi ke ukuran partikel yang lebih besar sehingga ukuran partikel yang lebih besar akan semakin besar dan ukuran partikel yang berukuran kecil akan semakin kecil (Wu 2010). Mekanisme *Ostwald ripening* dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10. Mekanisme Ostwald ripening (Wu 2010)**

*Ostwald ripening* tidak hanya mengakibatkan perbesaran ukuran partikel namun juga ketidakseragaman distribusi ukuran partikel sehingga ukuran partikel yang terbentuk tidak seragam. Formula 3 terjadi kenaikan indeks polidispersitas setelah penyimpanan yang dapat menggambarkan bahwa ukuran partikel yang dihasilkan semakin tidak seragam.

**Tabel 9. Ukuran partikel formula 3 sebelum dan setelah penyimpanan**

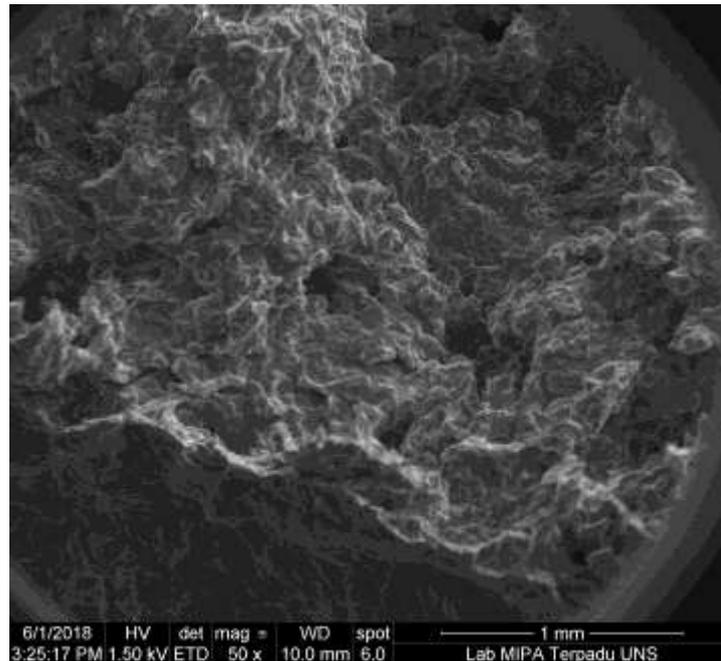
<b>ukuran partikel (nm) (sebelum)</b>	<b>ukuran partikel (nm) (setelah)</b>	<b>indeks polidispersitas (sebelum)</b>	<b>indeks polidispersitas (setelah)</b>
463,6±0,01	551,5	0,230	0,596

**3.3 Zeta potensial.** Potensial zeta biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan yang berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel. Partikel-partikel yang terdiri dari molekul heteroatomik biasanya memiliki muatan permukaan, yang mungkin menjadi positif atau negatif, tergantung pada orientasi dan ionisasi komponen partikel. Interaksi elektrostatik antara partikel akan menentukan kecenderungan agregasi dan fenomena tolak-menolak.

Nanopartikel dengan nilai potensial zeta dengan nilai lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi (Ronson 2012). Hasil pengukuran potensial zeta pada formula 3 setelah penyimpanan adalah -32,2.

#### **4. Bentuk Morfologi SLN**

*Scanning Electron Microscopy* (SEM) merupakan analisis yang digunakan untuk mengetahui bentuk morfologi pada permukaan zat. Analisis SEM dilakukan menggunakan sejenis mikroskop optik yang menggunakan elektron sebagai pengganti cahaya untuk melihat benda dengan resolusi tinggi.



**Gambar 11. Morfologi SLN fisetin keseluruhan**

Mikroskop optik menunjukkan bentuk yang tidak beraturan, permukaan lipid yang tidak beraturan disebabkan oleh penggabungan partikel. Salah satu penyebab terjadinya penggabungan partikel karena metode pengeringan yang digunakan untuk mengeringkan emulsi SLN dengan pengeringan beku. Pada pengeringan beku yang terjadi adalah sublimasi fase air sehingga selama pengeringan, partikel akan cenderung mengalami pengendapan dan pada akhirnya akan bergabung.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan bahwa:

Pertama, Solid Lipid Nanoparticles (SLN) fisetin dapat dibuat menggunakan kombinasi metode emulsifikasi pelarut dan sonikasi.

Kedua, penggunaan kombinasi surfaktan lesitin dan tween 80 memberikan hasil ukuran partikel yang lebih kecil dan dapat meningkatkan zeta potensial

Ketiga, karakterisasi SLN fisetin menghasilkan ukuran partikel terkecil yaitu 391,1 dan memiliki efisiensi penjerapan terbesar sebanyak 89,2%, setelah penyimpanan mengalami kenaikan ukuran partikel menjadi 551,5, zeta potensial - 32,2

#### **B. Saran**

Penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan analisis *screening lipid* dengan menggunakan jenis lipid yang lebih beragam.

Kedua, perlu dilakukan analisis modifikasi lemak menggunakan DSC untuk mengetahui modifikasi lemak yang berpengaruh pada penjerapan obat dan pelepasan obat.

Ketiga, perlu dilakukan uji kelarutan kinetik dan uji disolusi untuk mengetahui kelarutan SLN zat aktif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amalia A, Jufri M, Anwar E. 2015. Preparasi dan Karakterisasi Sediaan *Solid lipid Nanoparticles* (SLN) Glikazid. *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia* 13: 108-114.
- Anonim. 1976. *The Merck Index*. New Jersey, U.S.A : Merck and CO, Inc.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-3. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2010. Trimyrustin from Nutmeg. <http://www.scribd.com/doc/>
- Anonim. 2014. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-5. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Attama AA, Schicke BC, Paepenmüller T, Goymann CCM. 2007. *Solid lipid nanodispersions containing mixed lipid core and polar heterolipid: characterization. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 67:48-57.
- Bayas MMS, Kadam Rs, Nalbalwar NN, Jain VKP. 2015. UV Spectrofotometric Estimation of Loratadine in Bulk and Tablet Dosage Form Using Area Under Curve Method. *WJPPS*.
- Bharat GK, Rajalakshmi R, Chimmiri P. 2011. *Solid lipid Nanoparticles: for Enhancement of Oral Bioavailability. IJPDT* 1: 38-46.
- Cho Y, Chung JH, Do HJ, Jeon HJ, Jin T, and Shin MJ. 2013. *FoodChem*.139, 720-727.
- Dang Y, Xie Y, Duan JZ, Ma P, Li GW, Ji G. (2014) : *Quantitative Determination of Myricetin in Rat Plasma by Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry and its Absolute Bioavailability. Drug Res*, 64, 516–522.
- Demam, JM. 1997. *Kimia Makanan Terjemahan Principles of Food Chemistry*. Bandung: Penerbit ITB.
- H. Ragelle, S. Crauste-Manciet, J. Seguin, D. Brossard, D. Scherman, P. Arnaud and G. G. Chabot, *Int. J. Pharm.*, 2012, 427, 452–459
- Harmita. 2006. *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Jakarta: UI-Press. Hal 144-152.

- Hielscher T. 2005. Ultrasonic Production of Nano-Size Dispersions and Emulsion. <http://www.Heilscher.com>
- Inkielewicz-Stepniac I, Czarnowski W. 2010. *Food Chem. Toxicol.*48, 1607-1611.
- Kamble VA, Jagdale DM, Kadan VJ. 2010. *Solid lipid Nanoparticles As Drug Delivery System. International Journal of Pharma and Bio Sciences* 1:1–9.
- Khan N, Syed DN, Ahmad N, Mukhtar H. 2013. Fisetin: A Dietary Antioxidant for Health Promotion. *NCBI Journal*.
- Komaiko JS, Mc.Clements DJ. Formulation of Food-Grade Nanoemulsions Using Low-Energy Preparation Method: A Review of Available Methods. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety* 15: 331-352
- Kroschwitz J. 1990. *Polymer Characterization and Analysis*. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Martin A, Swarbrick J, Cammarata A. 1993. *Farmasi Fisik*. Edisi III. Jakarta: UI-Press.
- Mehnert W, Mender K. 2001. *Solid lipid Nanoparticles Production Characterization and Application. Advanced Drug Delivery Reviews* 47:165-196
- Mukherjee S, Ray S, Thakur RS. 2009. *Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. Indian J Pharm Sci.* 71(4):349-58.
- Muller MH, Mander K, Gohla S. 2000. *Solid lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery- a Review of the State of the Art. European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics* 50: 161-177.
- Murray RK *et al.* 2013. *Biokimia Herper*. Edisi 27. Jakarta: EGC. Hlm 128.
- Myers D. 2006. *Surfactant Science and Technology*. Edisi III. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Nakahira A, Nakamura S, Harimoto M. 2007. Synthesis of Modified Hydroxyapatite (HAP) Substituted with Fe Ion for DDS Application. *IEEE Transactions on Magnetic* 43: 2465-2467.
- Novitasari E, Darusman F, Darma GCE. 2015. Peningkatan Kelarutan dan Laju Disolusi Glimepirid Menggunakan Metode Dispersi Padat dengan Matriks Polietilen Glikol 4000 (Peg-4000). *jurnal*
- Olaharski AJ, Mondrala ST, Eastmond DA. 2005. *Mutat. Res.*582, 79-86.

- Pang X, Cui F, Tian J, Chen J, Zhou J, Zhou W. 2009. Preparation and Characterization of Magnetic Solid Lipid Nanoparticles Loaded with Ibuprofen. *Asian Journal of Pharmaceutical Science* 4:132–137.
- Parhi R, Suresh P. 2010. Production of *Solid lipid* Nanoparticles-Drug Loading and Release Mechanism. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2:211–227.
- Patel M. 2012. Development, Characterization and Evaluation of *Solid lipid* Nanoparticles as a potential Anticancer Drug Delivery System [Desertasi]. Unites States: *Pharmaceutical Sciences, University of Toledo*.
- Qingzhi LI, Aihua Y, Houli L, Zhimei S, Jing C, Guangxi Z. 2009. Development and Evaluation of Penciclovir-Loaded *Solid lipid* Nanoparticles for Topical Delivery. *International Journal of Pharmaceutical*.
- Rawat M, Singh D, Saraf S, Swarnlata S. 2006. Nanocarriers: Promoting Vehicle for Bioactive Drug. *Biol. Pharm. Bull* 29: 1790-1798
- Ronson. 2012. Zeta Potential Analysis of Nanoparticles. San Diego: Nano Composix
- Rowe RC, Sheskey PJ, uqnn ME. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient, 6th edition*, 580-584. Washington DC: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association 2009
- Sengupta B, Banerjee A, and Sengupta PK. (2005) *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*80, 79-86.
- Shyamal KJ, Sadhan Mondal. 2014. Bioactive Flavonoid Fisetin – A molecule Of Pharmacological Interest. *Journal of Organic & Biomolecular*.
- Singh D, James W, Lilliard JR. 2009. Nanoparticles-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology* 86: 215-223.
- Sinha VR, Srivastava S, Goel H, Vinay J. 2010. *Solid lipid* nanoparticles (SLN's) – Trends and implications in drug targeting. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*. 1:212-38.
- Sinko PJ. 2006. *Martin Farmasi Fisik dan Ilmu Farmakokinetika*. Edisi ke-5. Jakarta: EGC Kedokteran. hlm 438.
- Sinko PJ. 2012. *Martin Farmasi Fisik dan Ilmu Farmakokinetika*. Jakarta: EGC. Hal 424

- Subramanian P, Jayakumar M, Jayapalan JJ, Hashim OH. 2014. Chronotherapeutic effect of fisetin on expression of urea cycle enzymes and inflammatory markers in hyperammonaemic rats. *NCBI Journal*.
- Uner M, Yener G. 2007. Importance of *Solid lipid* Naniparticles (SLN) Various Administration Routes and Future Prespective. *International Journal of Nanomedicine* 2: 289-300.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Terjemahan Soendani Noerono. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Weiss J, Decker EA, McClements DJ, Kristbergsson K, Helgason T, Awad T. 2008. *Solid lipid* Nanoparticles as Delivery Systems for Biactive Food Components. *Food Biophysics* 3:146–154.
- Yadav N, Khatak S, Sara UVS. 2013. *Solid lipid* Nanoparticles-A Review. *Int App Pharm* 5:8-18.

*L*

*A*

*M*

*P*

*I*

*R*

*A*

*N*

**Lampiran 1. Certificate of analysis (COA) fisetin**

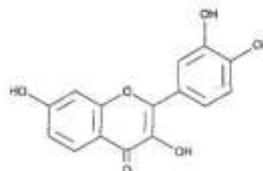
Apollo Scientific Ltd Whitefield Road, Bredbury, Stockport, SK6 2QR, UK. Tel:44(0)161 406 0505 Fax:44(0)161 406 0506 e-mail: sales@apolloscientific.co.uk		
<b>-CERTIFICATE OF ANALYSIS-</b>		
Product:	Fisetin	
Code No:	BIF1001	
CAS No:	345909-34-4	
Formula:	$C_{15}H_{10}O_6$	
Batch No:	1003016	
Appearance:	Fine yellow powder	
Melting Point:	-330°C	
Loss on drying:	0.62%	
Assay:	97+% (HPLC)	
Verified by:	David Parton	
Signed:		
Date:	12 <sup>th</sup> September 2012	

# PRODUCT INFORMATION

## Fisetin

Item No. 15246

**CAS Registry No.:** 528-48-3  
**Formal Name:** 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one  
 CI-75620, NSC 407010, NSC 656275  
**Synonyms:**  
**MF:** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>  
**FW:** 286.2  
**Purity:** ≥90%  
**UV/Vis:** λ<sub>max</sub>: 207, 250, 320, 364 nm  
**Supplied as:** A crystalline solid  
**Storage:** -20°C  
**Stability:** As supplied, 2 years from the QC date provided on the Certificate of Analysis, when stored properly



### Laboratory Procedures

Fisetin is supplied as a crystalline solid. A stock solution may be made by dissolving the fisetin in the solvent of choice. Fisetin is soluble in organic solvents such as ethanol, DMSO, and dimethyl formamide (DMF), which should be purged with an inert gas. The solubility of fisetin in ethanol is approximately 5 mg/ml and approximately 30 mg/ml in DMSO and DMF.

Fisetin is sparingly soluble in aqueous buffers. For maximum solubility in aqueous buffers, fisetin should first be dissolved in DMSO and then diluted with the aqueous buffer of choice. Fisetin has a solubility of approximately 0.5 mg/ml in a 1:1 solution of DMSO:PBS (pH 7.2) using this method. We do not recommend storing the aqueous solution for more than one day.

### Description

Fisetin is a natural flavonol that is structurally and functionally related to kaempferol (Item No. 11852), myricetin (Item No. 10012600), and quercetin (Item No. 10005169). All are potent antioxidants and have anti-inflammatory actions with possible relevance to cancer.<sup>1-3</sup> Fisetin and other flavonols act as activators of sirtuin 1, inhibitors of the spleen tyrosine kinase SYK, and suppressors of CD36 gene expression.<sup>4,6</sup>

### References

1. van Acker, F.A.A., Schouten, G., Haenen, G.R.M.M., et al. *FEBS Lett.* **473**, 145-148 (2000).
2. Duthie, G. and Morrison, P. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2012**, 1-7 (2012).
3. Gupta, S.C., Kim, J.H., Prasad, S., et al. *Cancer Metastasis Rev.* **29**(3), 405-434 (2010).
4. Szczepankiewicz, B.G. and Ng, P.Y. *Curr. Top. Med. Chem.* **8**(17), 1533-1544 (2008).
5. Singh, R., Masuda, E.S., and Payan, D.G. *J. Med. Chem.* **55**(8), 3614-3643 (2012).
6. Lian, T.-W., Wang, L., Lo, Y.-H., et al. *Biochim. Biophys. Acta* **1781**, 601-609 (2008).

**WARNING**  
 THE PRODUCT IS FOR RESEARCH ONLY. NOT FOR HUMAN OR VETERINARY DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE.

**SAFETY DATA**  
 The material should be considered hazardous until further information becomes available. Do not ingest, inhale, get in eyes, on skin, or on clothing. Wear protective eye clothing. Seek a physician if you have had an allergic reaction. Other Data Sheet, which has been sent out to you by default.

**WARRANTY AND LIMITATION OF REMEDY**  
 Buyer agrees to purchase the material subject to Cayman's Terms and Conditions, Guarantees, Terms and Conditions, including Warranties and Limitation of Liability information, as set forth on the website.

Copyright Cayman Chemical Company 01/12/2015

### CAYMAN CHEMICAL

1180 EAST ELLSWORTH RD

ANN ARBOR, MI 48106 USA

PHONE: (800) 364-9997

(734) 971-3335

FAX: (734) 971-3640

EMAIL: [info@caymanchem.com](mailto:info@caymanchem.com)

[WWW.CAYMANCHEM.COM](http://WWW.CAYMANCHEM.COM)

**Lampiran 2. Foto serbuk fisetin**

**Lampiran 3. Foto *gliseril monostearat* (GMS)**



**Lampiran 4. Foto Lecitin**

**Lampiran 5. Emulsi SLN fisetin**

## Lampiran 6. Hasil uji ukuran partikel formula 1

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F1 Tween 80 Lecitin GMS 1 gram 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 2	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 18 Mei 2018 13:28:00

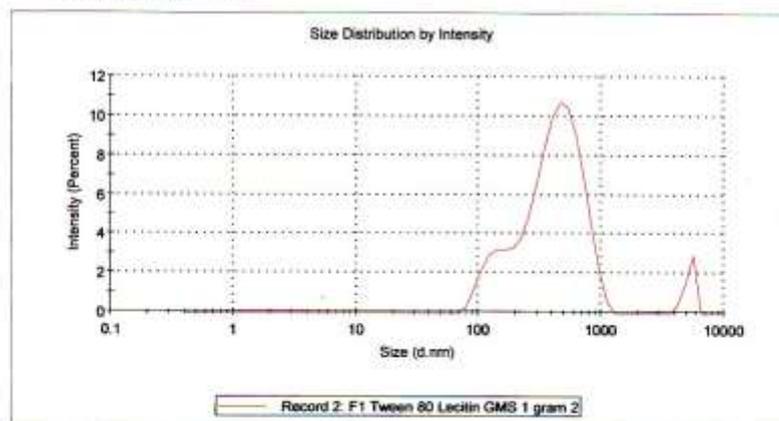
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 281,6	Measurement Position (mm): 1,25
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 391,1	<b>Peak 1:</b> 455,9	82,2	200,0
<b>Pdl:</b> 0,388	<b>Peak 2:</b> 130,3	13,0	25,28
<b>Intercept:</b> 0,959	<b>Peak 3:</b> 5198	4,8	476,0

Result quality **Good**



## Lampiran 7. Hasil uji ukuran partikel formula 2

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F4 Tween 60 Lecitin GMS 1 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 40	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbion: 0.500	Measurement Date and Time: 21 Mei 2018 8:00:28

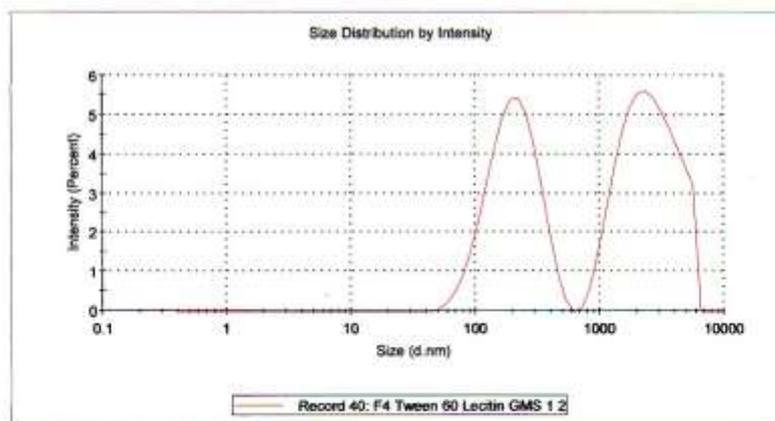
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 367,5	Measurement Position (mm): 0,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 387,4	<b>Peak 1:</b> 2684	55,6	1289
<b>Pdl:</b> 0,947	<b>Peak 2:</b> 213,5	44,4	93,49
<b>Intercept:</b> 0,886	<b>Peak 3:</b> 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 8. Hasil uji ukuran partikel formula 3

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F3 Tween 80 Lecitin GMS 3 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 28	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 18 Mei 2018 14:52:02

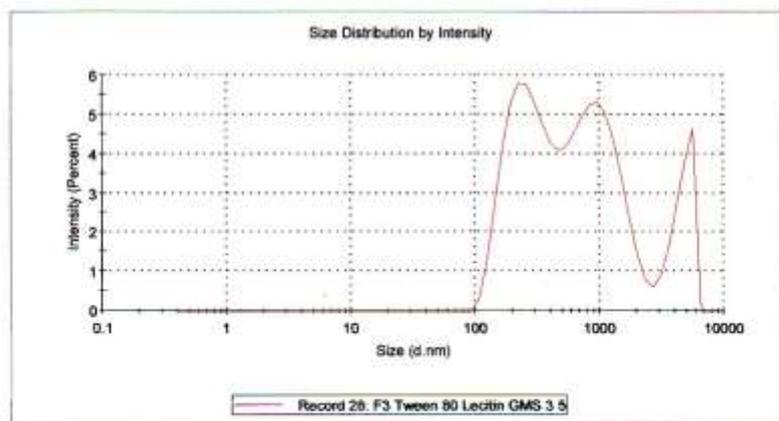
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 227,0	Measurement Position (mm): 0,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 4

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 483,6	<b>Peak 1:</b> 1002	44,2	472,0
<b>Pdi:</b> 0,730	<b>Peak 2:</b> 269,4	41,8	97,77
<b>Intercept:</b> 0,940	<b>Peak 3:</b> 4568	14,0	880,6

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 9. Hasil uji ukuran partikel formula 4

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F4 Tween 60 Lecitin GMS 1 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 41	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 21 Mei 2018 8:02:31

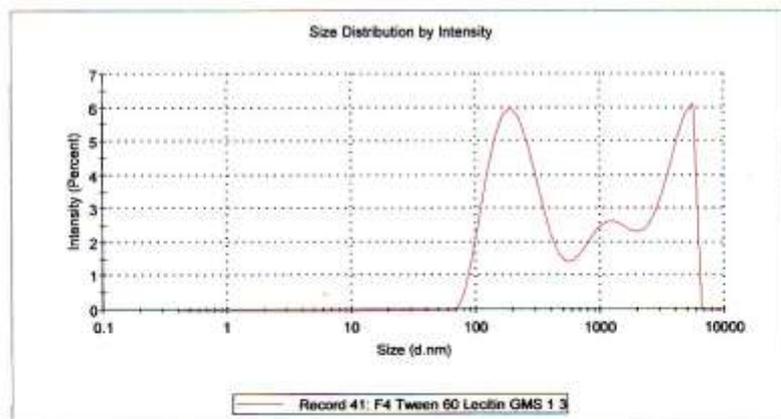
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 365,1	Measurement Position (mm): 0,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 395,5	<b>Peak 1:</b> 224,8	47,4	105,3
<b>Pdi:</b> 0,858	<b>Peak 2:</b> 3919	31,5	1159
<b>Intercept:</b> 0,886	<b>Peak 3:</b> 1184	21,1	447,0

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 10. Hasil uji ukuran partikel formula 5

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F5 Tween 60 Lecitin GMS 2 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2016.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 37	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 21 Mei 2018 7:48:41

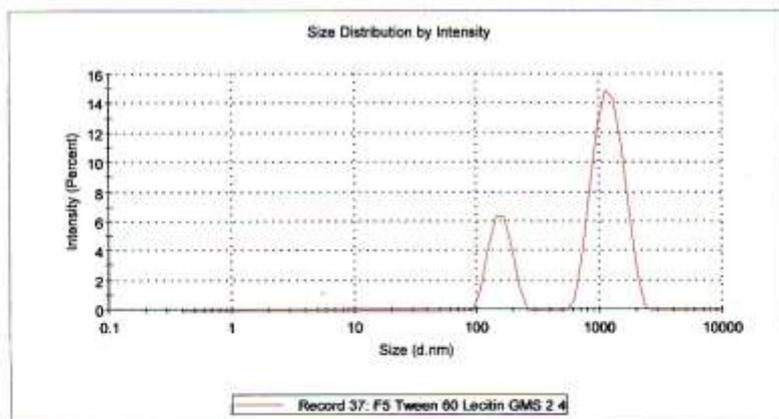
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 188,5	Measurement Position (mm): 1,05
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 594,8	<b>Peak 1:</b> 1200	75,6	322,9
<b>Pdi:</b> 0,728	<b>Peak 2:</b> 155,3	24,4	29,81
<b>Intercept:</b> 0,968	<b>Peak 3:</b> 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 11. Hasil uji ukuran partikel formula 6

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

**Sample Name:** F6 Tween 60 Lecitin GMS 3 5

**SOP Name:** mansettings.nano

**General Notes:**

<b>File Name:</b> Via Wisesa 2018.dts	<b>Dispersant Name:</b> Water
<b>Record Number:</b> 10	<b>Dispersant RI:</b> 1,330
<b>Material RI:</b> 1,33	<b>Viscosity (cP):</b> 0,8872
<b>Material Absorbtion:</b> 0,500	<b>Measurement Date and Time:</b> 18 Mei 2018 13:49:53

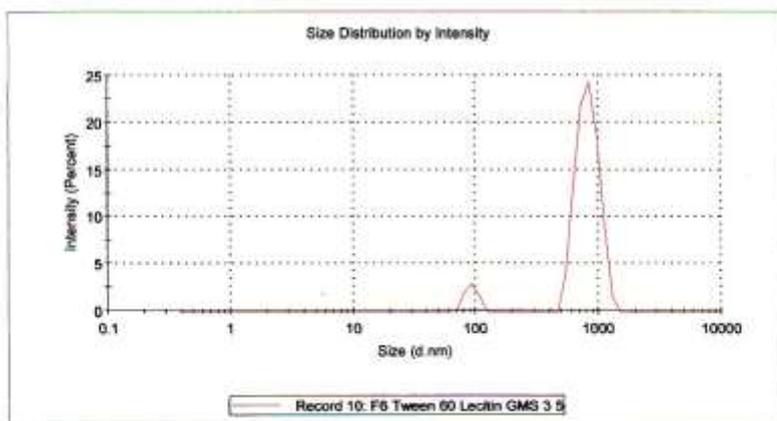
#### System

<b>Temperature (°C):</b> 25,0	<b>Duration Used (s):</b> 60
<b>Count Rate (kcps):</b> 208,3	<b>Measurement Position (mm):</b> 0,65
<b>Cell Description:</b> Disposable sizing cuvette	<b>Attenuator:</b> 4

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 1249	<b>Peak 1:</b> 818,1	93,3	166,3
<b>Pdi:</b> 0,797	<b>Peak 2:</b> 90,71	6,7	10,36
<b>Intercept:</b> 0,946	<b>Peak 3:</b> 0,000	0,0	0,000

**Result quality** Refer to quality report



## Lampiran 12. Hasil uji ukuran partikel formula 7

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F7 Tween 20 Lecitin GMS 1 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 31	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.500	Measurement Date and Time: 18 Mei 2018 15:05:19

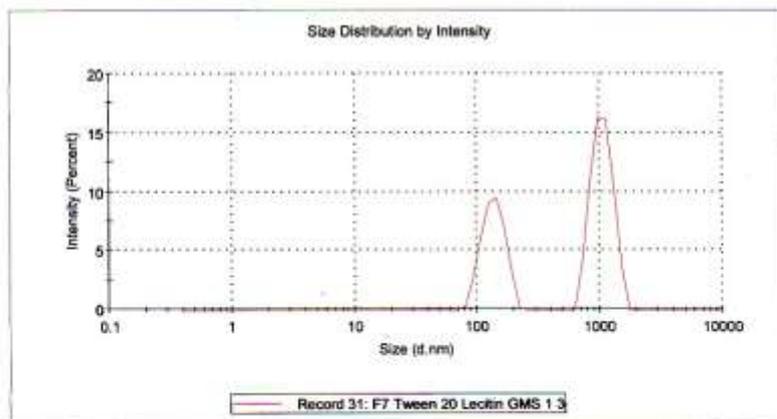
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 187,8	Measurement Position (mm): 0,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 4

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1021	Peak 1: 1042	62,0	200,0
Pdi: 1,000	Peak 2: 135,8	38,0	28,06
Intercept: 0,906	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 13. Hasil uji ukuran partikel formula 8

### Size Distribution Report by Intensity v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F8 Tween 20 - Lecitin GMS 2 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 48	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 21 Mei 2018 10:38:25

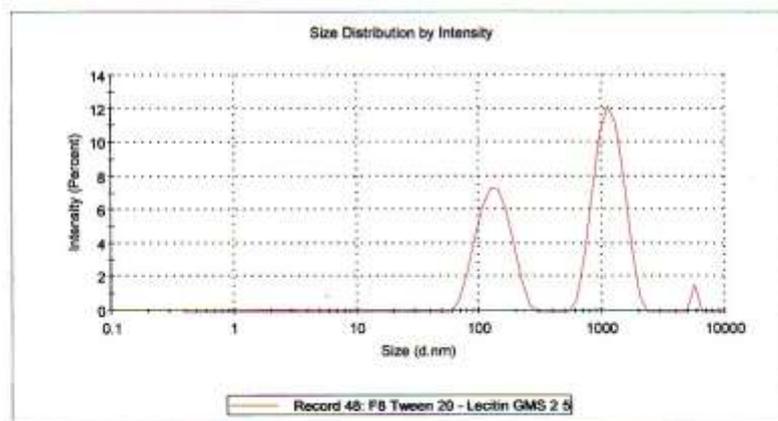
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 331,2	Measurement Position (mm): 1,05
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 6

#### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 556,7	Peak 1: 1155	58,0	294,2
Pdi: 0,744	Peak 2: 134,7	40,4	39,00
Intercept: 0,967	Peak 3: 5560	1,6	8,632e-5

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 14. Hasil uji ukuran partikel formula 9

### Size Distribution Report by Intensity v2.2



#### Sample Details

Sample Name: F9 Tween 20 Lecitin GMS 3 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 18	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 18 Mei 2018 14:18:57

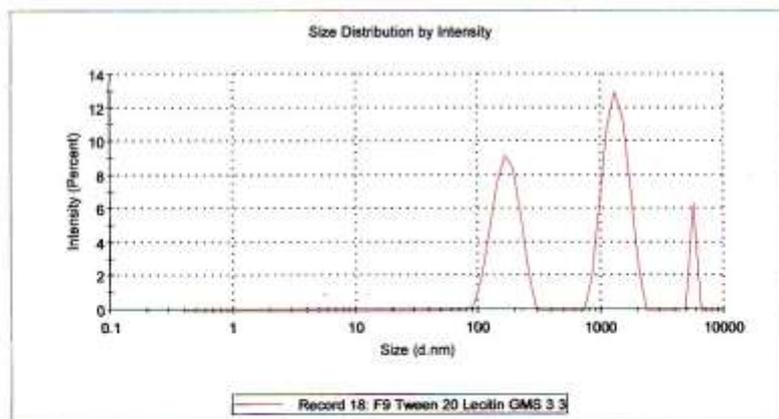
#### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 201,5	Measurement Position (mm): 1,05
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

#### Results

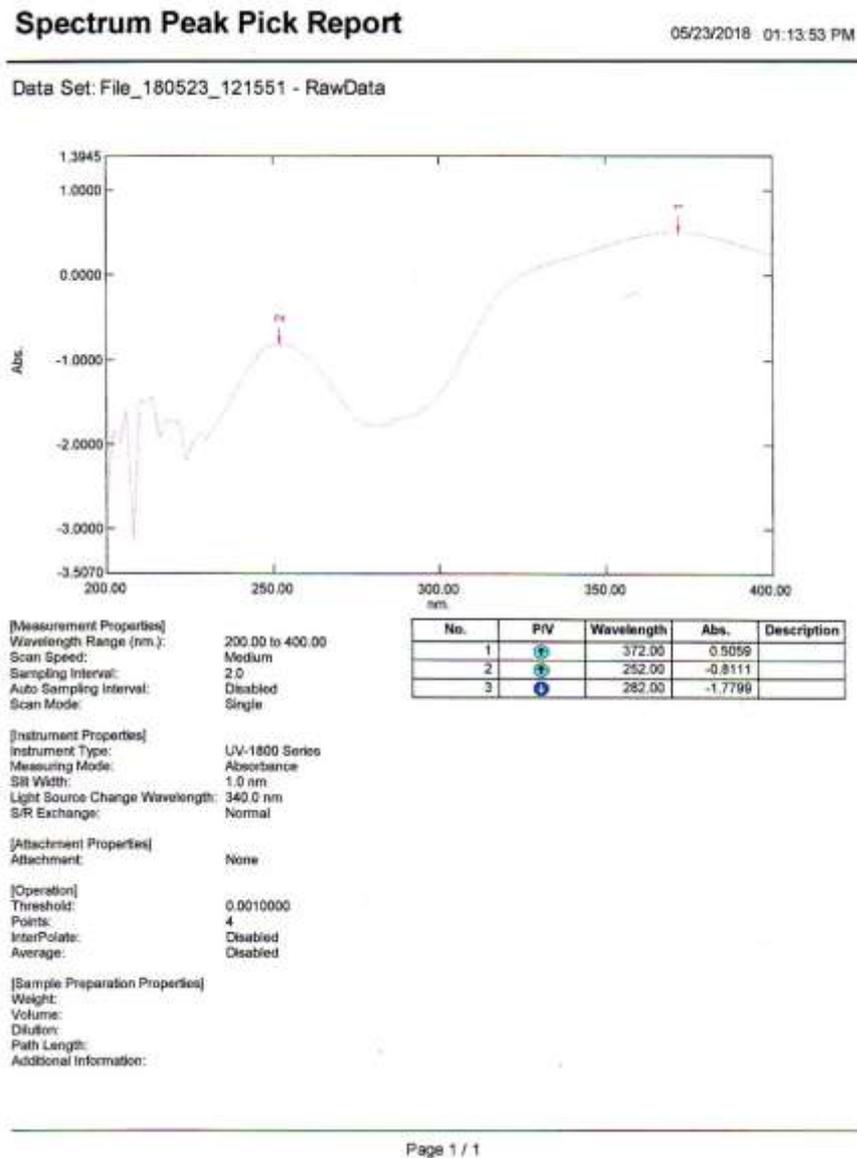
	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 826,1	<b>Peak 1:</b> 1328	53,1	287,3
<b>Pdl:</b> 1,000	<b>Peak 2:</b> 169,3	40,4	38,99
<b>Intercept:</b> 0,984	<b>Peak 3:</b> 5542	6,5	115,1

Result quality **Refer to quality report**



## Lampiran 15. Penentuan panjang gelombang dan pembuatan kurva baku

### a. Penentuan panjang gelombang



Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari scanning larutan fisetin dalam etanol, panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebesar 372 nm dengan serapan 0,5059.

**b. Penentuan operating time**

**Kinetics Data Print Report**

05/24/2018 12:36:52 PM

Time ( Minu	RawData ...
0.0000	0.5835
1.0000	0.5831
2.0000	0.5827
3.0000	0.5841
4.0000	0.5839
5.0000	0.5840
6.0000	0.5843
7.0000	0.5845
8.0000	0.5844
9.0000	0.5842
10.0000	0.5845
11.0000	0.5845
12.0000	0.5848
13.0000	0.5852
14.0000	0.5851
15.0000	0.5853
16.0000	0.5858
17.0000	0.5864
18.0000	0.5868
19.0000	0.5860
20.0000	0.5858
21.0000	0.5861
22.0000	0.5861
23.0000	0.5861
24.0000	0.5864
25.0000	0.5866
26.0000	0.5868
27.0000	0.5867
28.0000	0.5867
29.0000	0.5869
30.0000	0.5871
31.0000	0.5874
32.0000	0.5877
33.0000	0.5872
34.0000	0.5876
35.0000	0.5874

Page 1 / 1

**c. Linearitas (*linearity*)**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,273
4	0,390
6	0,509
8	0,648

10	0,790
12	0,899

---

Persamaan regresi linier antara konsentrasi (ppm) dan serapan diperoleh nilai :

$$a = 0,1379$$

$$b = 0,0638$$

$$r = 0,9993$$

$$y = a + bx$$

$$y = 0,1379 + 0,0638x$$

keterangan :

x = konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )

y = serapan

Hasil linearitas diperoleh  $R = 0,9993$ ; sehingga dapat disimpulkan bahwa data linier

#### d. Penentuan LOD dan LOQ

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi (y)	$\hat{y}$	$ y - \hat{y} $	$ y - \hat{y} ^2$
1	0.273	0.1413	0.1317	0.01734489
2	0.389	0.2689	0.1201	0.01442401
3	0.509	0.3969	0.1121	0.01256541
4	0.648	0.5241	0.1239	0.01535121
5	0.790	0.6517	0.1383	0.01912689
6	0,899	0.7793	0.1197	0.01432809
Jumlah total ( $\sum  y - \hat{y} ^2$ )				0.0931405

Nilai  $\hat{y}$  diperoleh dari substitusi konsentrasi (x) dalam persamaan  $y = a + bx$ , yaitu  $y = 0,1379 + 0,0638x$  sehingga didapatkan nilai y.

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{\sum |y - \hat{y}|^2}{n-2}}$$

$S_{x/y}$  = simpangan baku residual

n = jumlah data  $\sum |y - \hat{y}|^2$

$\sum |y - \hat{y}|^2$  = jumlah kuadrat total residual

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{0,0931405}{6-2}} = 0,1525946428 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= 3,3 \times \frac{S_{x/y}}{b} \\ &= 3,3 \times \frac{0,1525946428}{0,0638} \\ &= 2,391765561 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} y &= 0,0137 + 0,0638(2,3918) \\ &= 0,1663 \end{aligned}$$

$$\text{LOD} = 0,166$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= 10 \times \frac{S_{x/y}}{b} \\ &= 10 \times \frac{0,1525946428}{0,0638} \\ &= 23,91765561 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} y &= 0,0137 + 0,0638(23,9176) \\ &= 1,5396 \end{aligned}$$

$$\text{LOQ} = 1,540$$

### Lampiran 16. Perhitungan efisiensi penjerapan SLN fisetin

#### Formula 1

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm
- Perhitungan teoritis
 

Fisetin	= 10 mg
Eksipien (tween 80+lesitin+GMS)	= 7000 mg
% kadar fisetin	$= \frac{10}{7000+10} \times 100\% = 0,143\%$
Kadar dalam 100 mg SLN	$= 0,143\% \times 100 \text{ mg} = 0,143 \text{ mg}$
- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :
 

y	= a + bx
0,433	= 0,1379 + 0,0638x
0,0638x	= 0,2951
x	= 7,765 ppm

  - % kadar  $= \frac{7,765 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,07765\%$
  - Kadar dalam 100 mg SLN fisetin  $= 0,07765\% \times 100 \text{ mg} = 0,0777 \text{ mg}$
  - % Efisiensi penjerapan
 

$= \frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$
$= \frac{0,0777 \text{ mg}}{0,143 \text{ mg}} \times 100\%$
$= 54,3\%$

#### Formula 2

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm
- Perhitungan teoritis
 

Fisetin	= 10 mg
Eksipien (tween 80+lesitin+GMS)	= 8000 mg
% kadar fisetin	$= \frac{10}{8000+10} \times 100\% = 0,125\%$
Kadar dalam 100 mg SLN	$= 0,125\% \times 100 \text{ mg} = 0,125 \text{ mg}$

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :

$$\begin{aligned}
 y &= a + bx \\
 0,360 &= 0,1379 + 0,0638x \\
 0,0638x &= 0,2221 \\
 x &= 3,481 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- % kadar  $= \frac{3,481 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,03481\%$
- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin  $= 0,03481\% \times 100 \text{ mg} = 0,035 \text{ mg}$
- % Efisiensi penjerapan  $= \frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,035 \text{ mg}}{0,125 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 27,9\%$

### Foemula 3

- Larutan induk  $\rightarrow 100 \text{ mg SLN fisetin}/10 \text{ ml etanol p.a} = 10.000 \text{ ppm}$

- Perhitungan teoritis

$$\begin{aligned}
 \text{Fisetin} &= 10 \text{ mg} \\
 \text{Eksipien (tween 80+lesitin+GMS)} &= 9000 \text{ mg} \\
 \% \text{ kadar fisetin} &= \frac{10}{9000+10} \times 100\% = 0,1109\% \\
 \text{Kadar dalam 100 mg SLN} &= 0,1109\% \times 100 \text{ mg} = 0,111 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :

$$\begin{aligned}
 y &= a + bx \\
 0,766 &= 0,1379 + 0,0638x \\
 0,0638x &= 0,6281 \\
 x &= 9,8448 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- % kadar  $= \frac{9,8448 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,098448\%$
- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin  $= 0,098448\% \times 100 \text{ mg} = 0,099 \text{ mg}$
- % Efisiensi penjerapan  $= \frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,099 \text{ mg}}{0,111 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 89,2\%$

## Formula 4

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm

- Perhitungan teoritis

$$\text{Fisetin} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Eksipien (tween 80+lesitin+GMS)} = 7000 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar fisetin} = \frac{10}{7000+10} \times 100\% = 0,143\%$$

$$\text{Kadar dalam 100 mg SLN} = 0,143\% \times 100 \text{ mg} = 0,143 \text{ mg}$$

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :

$$y = a + bx$$

$$0,257 = 0,1379 + 0,0638x$$

$$0,0638x = 0,1191$$

$$x = 1,866 \text{ ppm}$$

- % kadar =  $\frac{1,866 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,01866\%$

- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin =  $0,01866\% \times 100 \text{ mg} = 0,019 \text{ mg}$

- % Efisiensi penjerapan =  $\frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,019 \text{ mg}}{0,143 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 13,3\%$

## Formula 5

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm

- Perhitungan teoritis

$$\text{Fisetin} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Eksipien (tween 80+lesitin+GMS)} = 8000 \text{ mg}$$

$$\% \text{ kadar fisetin} = \frac{10}{8000+10} \times 100\% = 0,125\%$$

$$\text{Kadar dalam 100 mg SLN} = 0,125\% \times 100 \text{ mg} = 0,125 \text{ mg}$$

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :

$$y = a + bx$$

$$0,512 = 0,1379 + 0,0638x$$

$$0,0638x = 0,3741$$

- x = 5,8636 ppm
- % kadar =  $\frac{5,8636 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,058636\%$
- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin =  $0,058636\% \times 100 \text{ mg} = 0,059 \text{ mg}$
- % Efisiensi penyerapan =  $\frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,059 \text{ mg}}{0,125 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 47,2\%$

#### Formula 6

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm
- Perhitungan teoritis
  - Fisetin = 10 mg
  - Eksipien (tween 80+lesitin+GMS) = 9000 mg
  - % kadar fisetin =  $\frac{10}{9000+10} \times 100\% = 0,1109\%$
  - Kadar dalam 100 mg SLN =  $0,1109\% \times 100 \text{ mg} = 0,111 \text{ mg}$
- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :
  - y = a + bx
  - 0,366 = 0,1379 + 0,0638x
  - 0,0638x = 0,2281
  - x = 3,575 ppm
- % kadar =  $\frac{3,575 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,03575\%$
- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin =  $0,03575\% \times 100 \text{ mg} = 0,036 \text{ mg}$
- % Efisiensi penyerapan =  $\frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,036 \text{ mg}}{0,111 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 32,4\%$

#### Formula 7

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm
- Perhitungan teoritis

- Fisetin = 10 mg  
 Eksipien (tween 80+lesitin+GMS) = 7000 mg  
 % kadar fisetin =  $\frac{10}{7000+10} \times 100\% = 0,143\%$   
 Kadar dalam 100 mg SLN =  $0,143\% \times 100 \text{ mg} = 0,143 \text{ mg}$
- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :  
 $y = a + bx$   
 $0,653 = 0,1379 + 0,0638x$   
 $0,0638x = 0,5151$   
 $x = 8,0736 \text{ ppm}$
  - % kadar =  $\frac{8,0736 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,080736\%$
  - Kadar dalam 100 mg SLN fisetin =  $0,080736\% \times 100 \text{ mg} = 0,081 \text{ mg}$
  - % Efisiensi penjerapan =  $\frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,081 \text{ mg}}{0,143 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 56,6\%$

#### Formula 8

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm
- Perhitungan teoritis  
 Fisetin = 10 mg  
 Eksipien (tween 80+lesitin+GMS) = 8000 mg  
 % kadar fisetin =  $\frac{10}{8000+10} \times 100\% = 0,125\%$   
 Kadar dalam 100 mg SLN =  $0,125\% \times 100 \text{ mg} = 0,125 \text{ mg}$
- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :  
 $y = a + bx$   
 $0,734 = 0,1379 + 0,0638x$   
 $0,0638x = 0,5961$   
 $x = 9,3432 \text{ ppm}$
- % kadar =  $\frac{9,3432 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,093432\%$
- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin =  $0,093432\% \times 100 \text{ mg} = 0,093 \text{ mg}$

- % Efisiensi penjerapan  $= \frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,093 \text{ mg}}{0,125 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 74,4\%$

#### Formula 9

- Larutan induk  $\rightarrow$  100 mg SLN fisetin/10 ml etanol p.a = 10.000 ppm
- Perhitungan teoritis
  - Fisetin = 10 mg
  - Eksipien (tween 80+lesitin+GMS) = 9000 mg
  - % kadar fisetin  $= \frac{10}{9000+10} \times 100\% = 0,1109\%$
  - Kadar dalam 100 mg SLN  $= 0,1109\% \times 100 \text{ mg} = 0,111 \text{ mg}$
- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier :
  - $y = a + bx$
  - $0,728 = 0,1379 + 0,0638x$
  - $0,0638x = 0,5901$
  - $x = 9,2492 \text{ ppm}$
- % kadar  $= \frac{9,2492 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,092492\%$
- Kadar dalam 100 mg SLN fisetin  $= 0,092492\% \times 100 \text{ mg} = 0,093 \text{ mg}$
- % Efisiensi penjerapan  $= \frac{\text{kadar terjerap}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$   
 $= \frac{0,093 \text{ mg}}{0,111 \text{ mg}} \times 100\%$   
 $= 83,7837\%$

**Lampiran 17. Uji stabilitas SLN fisetin**

## a. Pengamatan secara visual

Minggu	Endapan
I	-
II	-
III	Ada
IV	Ada

## Minggu 1.



## Minggu 2.



Minggu 3.



Minggu 4.



## b. Ukuran partikel

## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: Via Wisesa sample 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 55	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 28 Juni 2018 7:51:31

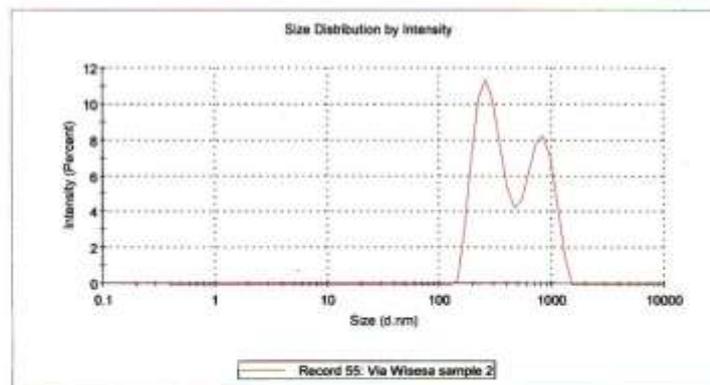
### System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 140,9	Measurement Position (mm): 1,25
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

### Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 551,5	<b>Peak 1:</b> 281,9	57,2	80,48
<b>PdI:</b> 0,596	<b>Peak 2:</b> 776,3	42,8	215,6
<b>Intercept:</b> 0,972	<b>Peak 3:</b> 0,000	0,0	0,000

Result quality **Good**



## c. Potensial zeta

**Zeta Potential Report**

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

**Sample Details**

Sample Name: Via Wisesa sample 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Via Wisesa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 58	Dispersant RI: 1,330
Date and Time: 28 Juni 2018 7:58:07	Viscosity (cP): 0,8872
	Dispersant Dielectric Constant: 78,5

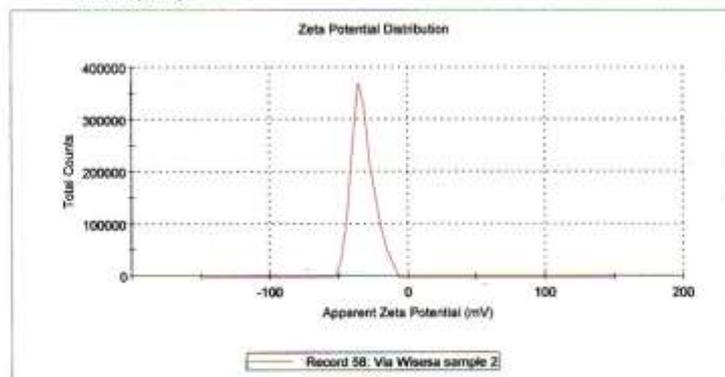
**System**

Temperature (°C): 25,0	Zeta Runs: 12
Count Rate (kcps): 139,9	Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell	Attenuator: 8

**Results**

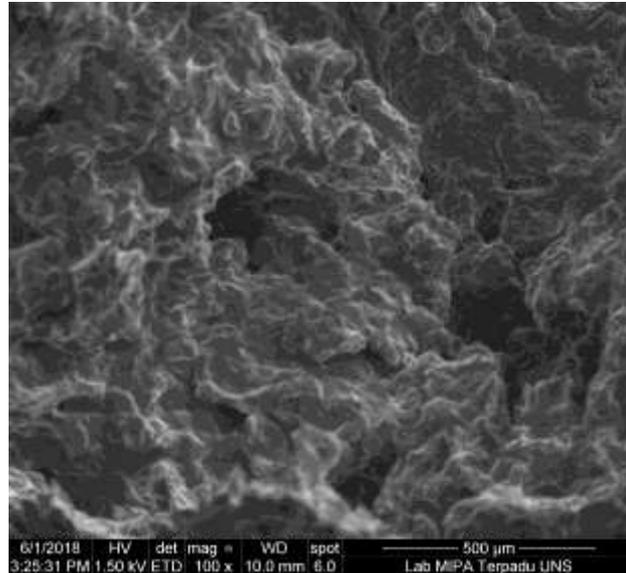
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -32,2	Peak 1: -32,2	100,0	8,05
Zeta Deviation (mV): 8,05	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,0778	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality **Good**

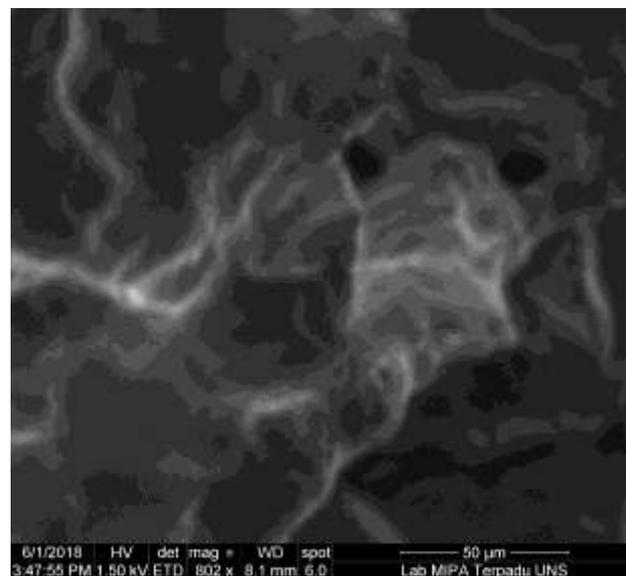


**Lampiran 18. Bentuk Morfologi**

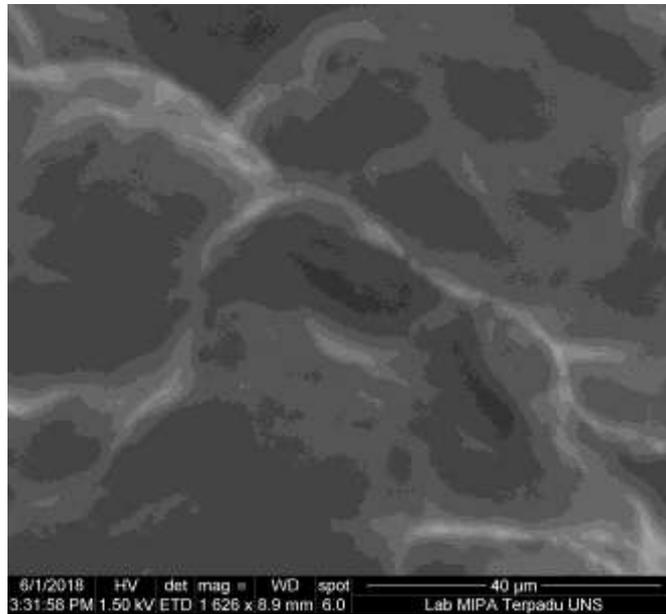
a. Bentuk morfologi pada perbesaran 100x



b. Bentuk morfologi pada perbesaran 802x



c. Bentuk morfologi pada perbesaran 1.626x



d. Bentuk morfologi pada perbesaran 2.477x

