

OPTIMASI FORMULA SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) HIDROKLORTIAZID MENGGUNAKAN MINYAK ZAITUN, TWEEN 80 DAN PEG 400



Oleh :

**Yanuar Puspita Mentari
20144216A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

OPTIMASI FORMULA SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) HIDROKLORTIAZID MENGGUNAKAN MINYAK ZAITUN, TWEEN 80 DAN PEG 400

SKRIPSI

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



Oleh :

**Yanuar Puspita Mentari
20144216A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN

berjudul

OPTIMASI FORMULA SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) HIDROKLORTIAZID MENGGUNAKAN MINYAK ZAITUN, TWEEN 80 DAN PEG 400

Oleh :

Yanuar Puspita Mentari
20144216A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal :

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan

Prof. Dr. R. A. Gofari, S.U., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,



Ilham Kuncahyo, M.Sc., Apt

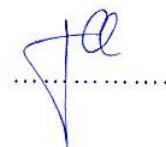
Pembimbing Pendamping,



Siti Aisyah, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Muhammad Dzakwan, M.Sc., Apt
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc
3. Nur Aini Dewi Purnamasari, M.Sc., Apt
4. Ilham kuncahyo, M.Sc., Apt



HALAMAN PERSEMBAHAN

Tugas akhir ini aku persembahkan untuk :

Bapak, Ibu Tercinta, Kedua Adik Tersayang serta keluarga besar yang selalu mendukung dan mendoakanku lahir batin hingga sekarang.

Sahabat-sahabatku tersayang yang selalu mensupportku sampai detik ini dan tak lupa selalu mendoakan yang terbaik untukku

PERNYATAAN

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah saya ajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan 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.

Penulis,



Yanuar Ruspita Mentari

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah serta petunjuk-Nya sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “OPTIMASI FORMULA SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) HIDROKLORTIAZID MENGGUNAKAN MINYAK ZAITUN, TWEEN 80 DAN PEG 400”. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan serta penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, bimbingan serta doa dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Ketua Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Ilham Kunchahyo, M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, meluangkan waktu, memberikan kritik dan saran serta memberikan ilmunya kepada penulis, berkat arahan beliau penulis dapat memutuskan untuk mengambil tema skripsi tentang nanoemulsi sehingga penulis menjadi lebih mengenal ilmu yang bermanfaat.
4. Siti Aisiyah, S.Farm.,M.Sc, Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, dukungan, nasihat dan koreksi pada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi sesuai dengan waktunya.
5. Devi Nawangsari, Yuliana Trisnani, Devi Agustin, Anita Oktasiana, dan khususnya teman-teman FSTOA, serta seluruh teman penulis yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang selalu mendukung penulis dan bersedia membantu hingga skripsi ini selesai.
6. Ayuzakia Darajat yang selalu mendukung dan mensupport hingga skripsi ini selesai.

7. Ikhsan Firmansyah yang selalu memberi motivasi dan support untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
8. Segenap dosen, staff, laboran dan asisten laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian berlangsung.

Penulis menyadari bahwa tanpa dukungan dan bantuan dari pihak terkait maka skripsi tidak akan selesai dengan baik dan tepat waktu. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat menjadi lebih baik lagi. Penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat menumbuhkan semangat bagi seluruh masyarakat dalam mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya di bidang ilmu kefarmasian.

Surakarta, 29 Mei 2018

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Hidroklortiazid (HCT)	6
B. Emulsi	7
C. Nanoemulsi.....	7
D. SNEDDS (<i>Self-Nanoemulsifying Drug Delivery system</i>)	8
1. Pengertian SNEDDS	8
2. Keuntungan dan kerugian SNEDDS	9
3. Mekanisme SNEDDS	10
4. Karakterisasi SNEDDS	11
4.1 Waktu emulsifikasi.....	11
4.2 Penetapan <i>drug loading</i>	12
4.3 Porsen transmitan	12
4.4 Ukuran partikel	12
4.5 Zeta potensial	12
5. Komponen SNEDDS.....	13
5.1 Minyak. Fase.....	13
5.2 Surfaktan.....	15

5.3	Kosurfaktan.....	17
6.	Penelitian SNEDDS pada beberapa obat.....	18
E.	Metode pembuatan Nanoemulsi.....	18
1.	Emulsifikasi ultrasonik.....	19
2.	<i>High-Pressure Homogenization</i>	19
3.	Mikrofluidasi.....	19
4.	<i>Phase Inversion Temperature</i>	20
5.	Emulsi Spontan.....	20
F.	<i>Simplex Lattice Design</i> (SLD).....	20
G.	Landasan Teori.....	22
H.	Hipotesis.....	23
 BAB III METODE PENELITIAN.....		24
A.	Populasi dan Sampel.....	24
B.	Variabel dalam Penelitian.....	24
1.	Identifikasi variabel utama.....	24
2.	Klasifikasi variabel.....	24
2.1	Variabel bebas.....	24
2.2	Variabel tergantung.....	24
2.3	Variabel terkendali.....	24
3.	Definisi operasional variabel utama.....	25
C.	Bahan dan Alat.....	25
1.	Bahan.....	25
2.	Alat.....	25
D.	Rencana Jalannya Penelitian.....	26
1.	Komposisi Formula SNEDDS HCT.....	26
2.	Pembuatan SNEDDS HCT.....	26
3.	Kurva kalibrasi dan validasi metode analisis.....	27
3.1	Pembuatan kurva kalibrasi.....	27
3.2	Validasi metode analisis.....	27
3.2.2	Penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ).....	28
4.	Karakteristik SNEDDS hidrokloriazid.....	28
4.1	Pengujian Waktu Emulsifikasi.....	28
4.2	Penentuan persen transmitan.....	29
4.3	Pengujian <i>drug loading</i>	29
4.4	Ukuran partikel.....	29
4.5	Zeta potensial.....	29
5.	Analisis Data.....	29
6.	Skema Penelitian.....	30
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		31
A.	Kurva Kalibrasi dan Verifikasi Metode Analisis.....	31
1.	Pembuatan kurva kalibrasi.....	31
1.1.	Penentuan panjang gelombang maksimum.....	31
1.2.	Penentuan <i>operating time</i>	31

2.	Verifikasi metode analisis.....	32
B.	Pembuatan Formula SNEDDS HCT.....	33
C.	Karakterisasi SNEDDS HCT	34
1.	Waktu emulsifikasi.....	35
2.	Penentuan drug loading	37
3.	Persen transmitan	39
D.	Penentuan Formula Optimum SNEDDS HCT	41
E.	Ukuran Partikel dan Distribusi partikel formula optimum	42
F.	Zeta Potensial Formula Optimum.....	43
G.	Verifikasi Formula Optimum SNEDDS HCT.....	44
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	45
A.	Kesimpulan.....	45
B.	Saran	45
	DAFTAR PUSTAKA	46
	LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumus bangun Hidroklorotiazida.....	6
Gambar 2. Ilustrasi terbentuknya nanoemulsi	9
Gambar 3. Mekanisme SNEDDS dalam tubuh	11
Gambar 4. Struktur kimia asam oleat	14
Gambar 5. Struktur kimia tween 80.....	16
Gambar 6. Struktur PEG 400	17
Gambar 7. Skema jalannya penelitian.....	30
Gambar 8. Kurva kalibrasi HCT dalam medium metanol.	31
Gambar 10. <i>Contour plot</i> waktu emulsifikasi.	36
Gambar 11. <i>Contour plot</i> penentuan <i>drug loading</i>	38
Gambar 12. <i>Contour plot</i> persen transmittan.	40
Gambar 13. <i>Contour plot desirability</i> formula optimum.	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil uji kelarutan HCT	18
Tabel 2. Hasil perbandingan formula SNEDDS berdasarkan SLD	26
Tabel 3. Hasil formula SNEDDS HCT	26
Tabel 4. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi HCT	32
Tabel 5. Hasil perbandingan formula SNEDDS HCT berdasarkan <i>Simplex Lattice Design</i>	33
Tabel 6. Hasil karakterisasi SNEDDS HCT	34
Tabel 7. Nilai dan Bobot dari uji karakteristik formula optimum SNEDDS HCT.....	41
Tabel 8. Prediksi formula optimum menggunakan <i>Simplex Lattice Design</i>	41
Tabel 9. Ukuran partikel dan zeta potensial formula optimum.....	43
Tabel 10. Hasil uji karakterisasi SNEDDS HCT sesuai formula optimum.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kurva kalibrasi dan verifikasi metode analisis	51
Lampiran 2. Pembuatan formula SNEDDS HCT.....	56
Lampiran 3. Karakterisasi SNEDDS HCT.....	59
Lampiran 4. <i>Simplex Lattice Design</i>	62
Lampiran 5. Penentuan formula optimum SNEDDS HCT	68
Lampiran 6. Verifikasi formula optimum SNEDDS HCT.....	69
Lampiran 7. Uji T Formula Optimum.....	70
Lampiran 8. Dokumentasi penelitian	74

INTISARI

MENTARI, YP., 2018, OPTIMASI FORMULA SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) HIDROKLORTIAZID MENGGUNAKAN MINYAK ZAITUN, TWEEN 80 DAN PEG 400, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

HCT merupakan obat golongan diuretik tiazid yang beraksi menghambat co-transporter Na^+ dan Cl^- pada tubuh distal sehingga menghambat reabsorpsi Na^+ dan Cl^- yang menyebabkan curah jantung berkurang dan tekanan darah turun. HCT memiliki kelarutan yang rendah dalam air murni sebesar 0,7 mg/mL sehingga dapat dibuat sediaan nanoemulsi dengan metode SNEDDS untuk meningkatkan bioavailabilitas obat dalam tubuh karena SNEDDS merupakan sistem yang stabil. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formula optimum pada minyak zaitun, surfaktan tween 80 dan kosurfaktan PEG 400 sesuai dengan uji karakterisasi waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel serta zeta potensial.

Penelitian ini menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD) yang terdiri kombinasi antara minyak zaitun, surfaktan tween 80 dan kosurfaktan PEG 400 dengan metode SNEDDS dan dilakukan uji karakterisasi waktu emulsifikasi, penetapan *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel serta zeta potensial untuk mendapat formula optimum dan kemudian analisis menggunakan uji *one sample T-test*.

Hasil optimasi diperoleh formula optimum yaitu minyak zaitun sebesar 4,33 ml; tween 80 sebesar 4,33 ml; dan PEG 400 sebesar 1,34 ml. Uji karakterisasi waktu emulsifikasi hasilnya 33,15 detik, *drug loading* sebesar 30,57 ppm dan persen transmitan sebesar 10,21 %.

Kata kunci: Hidroklortiazid, SNEDDS, Minyak Zaitun, Tween 80, PEG 400

ABSTRACT

MENTARI, YP., 2018, OPTIMIZATION FORMULATION SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) HIDROKLORTIAZID USING OLIVE OIL, TWEEN 80 AND PEG 400, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

HCT is a class of thiazide diuretic drug acting inhibiting Na⁺ / and Cl⁻ co-transporters in the distal body that inhibits reabsorption of Na⁺ and Cl⁻ which causes reduced cardiac output and decreased blood pressure. HCT has a low solubility in pure water of 0.7 mg / mL so that a nanoemulsion preparation by SNEDDS method can be used to increase the bioavailability of the drug in the body because SNEDDS is a stable system. The aim of this research is to obtain optimum formula on olive oil, tween 80 surfactant and PEG 400 cosurfactant in accordance with emulsification time characterization test, drug loading, percent transmittance, particle size and potential zeta.

This study used the method SLD with combination of olive oil, tween 80 and PEG 400 with SNEDDS method and tested the characterization of emulsification time, the determination of drug loading, percent transmittance, particle size and potential zeta to obtain optimum formula. Determination of optimum formula of SNEDDS HCT and then analyzed using *one sample T-test*.

The optimum result obtained was the optimum formula that is olive oil 4,33 ml; tween 80 of 4.33 ml; and PEG 400 of 1.34 ml. The emulsification time characterization test result was 33.15 seconds, the drug loading was 30.57 ppm and the transmittance rate was 10.21%.

Keywords: Hidroklortiazid, SNEDDS, Olive Oil, Tween 80, PEG 400

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Hidroklortiazida (HCT) adalah obat golongan diuretik tiazid yang digunakan dalam terapi edema dan hipertensi. Mekanisme kerja hidroklortiazid adalah menghambat *co-transporter sodium* dan *chloride* di epitelium tubular ginjal, yang menyebabkan ekskresi *sodium* (Na^+), *chloride* (Cl^-) dan air dari dalam tubuh melalui urin yang menurunkan *cardiac output* dan cairan tubuh sehingga dapat menurunkan tekanan darah (Mozayani & Raymon 2012). Penggunaan HCT sebagai antihipertensi memiliki kelemahan, yaitu bioavailabilitas yang rendah sekitar 65-70% (Moffat *et al.* 2011).

HCT berupa serbuk hablur, putih atau hampir putih, tidak berbau, agak pahit. Kelarutannya sukar larut dalam air, mudah larut dalam larutan natrium hidroksida, dalam n-butilamina, dan dalam dimetilformamida, agak sukar larut dalam metanol, tidak larut dalam eter, dalam kloroform dan dalam asam mineral encer (Departemen Kesehatan RI 2014). HCT tergolong dalam BCS (*Biopharmaceutical Class System*) kelas II yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi. Kelarutannya dalam air murni sebesar 0,7 mg/mL sehingga diperlukan suatu langkah untuk meningkatkan kelarutan obat tersebut (Sanphui & Rajput 2014).

Peningkatan ketersediaan hayati adalah peningkatan kelarutan obat, perlindungan terhadap hidrolisis enzimatis, peningkatan luas permukaan spesifik tetesan yang menyebabkan distribusi obat di saluran gastro intestinal cukup besar serta peningkatan permeabilitas akibat induksi surfaktan (Ke *et al.* 2005). Sistem nanoemulsi memberikan kestabilan kinetik yang tinggi dikarenakan ukuran *droplet* yang terbentuk jauh lebih kecil dibandingkan dengan emulsi konvensional yang memiliki ukuran *droplet* lebih dari 1000 nm (Mashaghi *et al.* 2013).

Permasalahan bioavailabilitas yang rendah dalam HCT dapat diatasi dengan beberapa metode berupa mikroemulsi/nanoemulsi, *self-Emulsifying Drug Delivery Sistem* (SEDDS), *Self-Microemulsifying Drug System* (SMEDDS), *Self-*

Nanoemulsifying Drug System (SNEDDS), dan liposom. Salah satu diantara macam strategi tersebut, desain dan pengembangan SNEDDS menawarkan keuntungan yang potensial (Wahyuningsih *et al.* 2015). Keuntungan SNEDDS diantaranya meningkatkan bioavailabilitas zat aktif obat melalui penggunaan secara oral, mampu mengurangi frekuensi pemberian obat karena memiliki sistem yang stabil, mampu membawa dan menyampaikan zat aktif obat hingga ke sel targetnya tanpa mempengaruhi kondisi sekitarnya dan juga meningkatkan luas permukaan didalam saluran cerna (Makadia *et al.* 2013).

Formula SNEDDS merupakan desain kombinasi yang tepat dari minyak, surfaktan dan kosurfaktan yang akan menghasilkan *droplet* halus nanoemulsi minyak dalam air di usus halus (Date & Nagarsenker 2010). SNEDDS merupakan sistem penghantar obat yang terdiri dari campuran isotropik antara obat, minyak, surfaktan dan kosurfaktan. SNEDDS merupakan sistem yang stabil dalam saluran pencernaan (Zhongcheng *et al.* 2015). Sistem ini ketika kontak dengan media air disertai agitasi ringan akan membentuk suatu nanoemulsi ukuran dibawah 100 nm. *Droplet* yang berukuran nano tersebut diyakini mampu meningkatkan kecepatan disolusi dan absorpsi oral sehingga secara signifikan meningkatkan bioavailabilitas dalam tubuh dan memberikan profil *blood-time* yang *reproducible* (Wahyuningsih *et al.* 2015). Pemilihan jenis minyak, surfaktan dan kosurfaktan yang memiliki kemampuan melarutkan zat aktif penting untuk mendapatkan *drug loading* yang optimal (Wahyuningsih *et al.* 2015). Fase minyak yang dipilih berdasarkan kemampuan membawa obat adalah minyak zaitun.

Minyak zaitun mengandung asam oleat yang tinggi sehingga memiliki kemampuan *self-emulsifying* tinggi dan kapasitas pelarutan obat yang besar. Pengembangan minyak zaitun menjadi bentuk stabil seperti nanoemulsi menjadi sangat potensial jika terkait dengan banyaknya khasiat yang dimiliki. Nanoemulsi merupakan salah satu bentuk yang stabil, jernih, tidak merusak sel normal manusia dan hewan, memiliki ukuran globul yang sangat kecil dan dapat meningkatkan bioavailabilitas *nutraseutika*, sehingga minyak zaitun diformulasi sebagai nanoemulsi (Fanun 2010; Bhatt & Madhav 2011; Donsi *et al.* 2011).

Surfaktan yang dipakai dalam penelitian ini adalah tween 80 (HLB 15) karena surfaktan ini stabil terhadap elektrolit, asam lemah dan basa (Rowe *et al.* 2009). Tween 80 tergolong surfaktan non-ionik yang umumnya aman digunakan sehingga lebih diterima untuk dikonsumsi oral. Nilai HLB yang tinggi akan mempermudah pembentukan nanoemulsi minyak dalam air. Penggunaan tween 80 secara tunggal tidak cukup dapat menurunkan tegangan permukaan agar membentuk nanoemulsi. Penambahan kosurfaktan dapat meningkatkan fleksibilitas dari film antara minyak dan air (Sheikh *et al.* 2007).

Pemilihan kosurfaktan didasarkan atas mudah tidaknya kosurfaktan menguap. Penggunaan dari segi penguapan ini memberikan kerugian yaitu terjadi evaporasi dalam cangkang kapsul sehingga akan menyebabkan terjadinya endapan obat (Solans *et al.* 2005). Kosurfaktan dengan struktur molekul rantai pendek lebih sering digunakan karena kemampuannya dalam mengurangi tegangan antar muka dan *fluiditas* antar muka. Kosurfaktan berguna dalam menentukan waktu emulsifikasi didalam media serta ukuran nanoemulsi, hal ini disebabkan karena molekul kosurfaktan akan menempatkan posisinya diantara surfaktan (Makadia *et al.* 2003). Kosurfaktan yang dipakai pada penelitian ini adalah PEG 400, karena termasuk dalam kategori *generally regarded as nontoxic and nonirritant material* (Rowe *et al.* 2009).

Formula nanoemulsi dikatakan optimum, bila dilakukan studi optimasi yang bertujuan untuk memudahkan dalam merancang, menyusun dan interpretasi data secara matematis dengan menggunakan aplikasi *Simplex Lattice Design* (SLD) (Florentina 2013). Menurut Holm *et al.* (2006) komposisi SNEDDS yang baik antara lain: fase minyak 10-15%, surfaktan 50-65% dan kosurfaktan 25-35%.

Formula SNEDDS yang baik ditentukan dari berbagai parameter diantaranya waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel serta zeta potensial. Nilai optimum dari parameter-parameter tersebut dipengaruhi oleh komposisi minyak, surfaktan dan kosurfaktan serta obat HCT. Langkah sebelum mencapai formula optimum dilakukan dengan memakai aplikasi *Simplex Lattice Design*.

Keuntungan dalam menggunakan aplikasi SLD adalah meningkatkan keefektifan dalam menafsirkan faktor dan interaksi, efek yang diinginkan ketika tidak terjadi interaksi dapat diprediksikan sehingga penelitian ini lebih efisien. Keberhasilan penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai pengembangan sediaan farmasi menggunakan zat aktif HCT dengan metode SNEDDS sebagai alternatif dalam meningkatkan bioavailabilitas obat.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Berapakah proporsi optimum untuk minyak, surfaktan dan kosurfaktan dalam membentuk SNEDDS HCT yang stabil sesuai dengan uji karakterisasi waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel dan zeta potensial ?
2. Bagaimana karakteristik dari formula optimum sediaan SNEEDS HCT dengan minyak zaitun sebagai fase minyak, tween 80 sebagai surfaktan dan PEG 400 sebagai kosurfaktan yang meliputi uji karakterisasi waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel dan zeta potensial ?

C. Tujuan Penelitian

1. Memperoleh formula optimum pada minyak, surfaktan, serta kosurfaktan dalam membentuk SNEDDS HCT yang stabil sesuai dengan uji karakterisasi waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel serta zeta potensial.
2. Mengetahui karakteristik dari formula optimum sediaan SNEEDS HCT dengan minyak zaitun sebagai fase minyak, tween 80 sebagai surfaktan, PEG 400 sebagai kosurfaktan yang melalui uji waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel serta zeta potensial.

D. Manfaat Penelitian

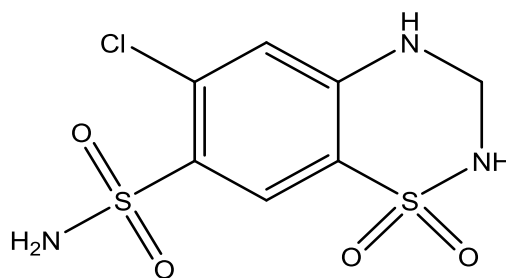
Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pembuatan nanoemulsi Hidroklortiazid dengan baik dengan teknik SNEDDS sehingga dapat diaplikasi pada sediaan peroral.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hidroklortiazid (HCT)

Hidroklortiazid (HCT) dengan nama kimia 6-kloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida 1,1-dioksida dengan rumus molekul $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, mempunyai bobot molekul 297,74 dan rumus bangun ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Rumus bangun Hidroklortiazida (Moffat *et al.* 2011).

HCT berupa serbuk hablur, putih atau hampir putih, tidak berbau, agak pahit. Senyawa ini sukar larut dalam air, mudah larut dalam larutan natrium hidroksida, dalam n-butilamina, dan dalam dimetilformamida, agak sukar larut dalam metanol, tidak larut dalam eter, kloroform dan asam mineral encer. HCT merupakan obat golongan diuretik tiazid yang beraksi menghambat co-transporter Na^+ dan Cl^- pada tubuh distal sehingga menghambat reabsorpsi Na^+ dan Cl^- yang menyebabkan curah jantung berkurang dan tekanan darah turun. HCT termasuk obat lini pertama untuk penanganan hipertensi yang digunakan untuk kasus hipertensi ringan sampai sedang (Departemen Kesehatan RI 2016).

HCT tergolong dalam BCS (*Biopharmaceutical Class System*) kelas II yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi. Kelarutannya dalam air murni sebesar 0,7 mg/mL (Sanphui & Rajput 2014). Bioavailabilitas oral HCT sekitar 65-75% (Moffat *et al.* 2011). Efek diuresis muncul 2 jam setelah pemberian obat dan mencapai maksimal setelah 4 jam. HCT diberikan secara oral dengan dosis pemakaian untuk hipertensi sebesar 12,5 mg sekali dalam sehari dan dapat ditingkatkan hingga 25-50 mg dalam sehari. Dosis pemakaian untuk

menurunkan oedema sebesar 25-100 mg dalam sehari. Sediaan yang ada dipasaran Indonesia yaitu HCT dalam bentuk tablet dan tablet salut selaput, baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi (MIMS 2013).

B. Emulsi

Emulsi merupakan sistem seimbang antara dua atau lebih fase yang tidak tercampur dan salah satu fase terdispersi terhadap fase yang lain. Fase yang terdispersi disebut sebagai fase internal atau fase kontinu. Ukuran partikel emulsi umumnya berkisar antara 0,1-50 μm (Mao & McClements 2011).

Salah satu fase di dalam sistem emulsi mempunyai karakter lipofilik dan fase yang lain bersifat hidrofilik, untuk mengimbangkan sistem tersebut dibutuhkan emulsifier sebagai senyawa yang mengandung gugus hidrofilik dan lipofilik. Emulsi dapat diklasifikasikan berdasarkan komposisi dan morfologinya. Emulsi yang fase kontinunya adalah air dan fase terdispersinya minyak disebut sebagai emulsi o/w. Surfaktan yang digunakan pada emulsi ini harus dapat larut di dalam air dan lebih stabil pada kondisi polar. Emulsi yang fase kontinunya adalah minyak disebut sebagai emulsi w/o. Surfaktan yang digunakan pada emulsi ini harus mampu larut dan lebih stabil pada kondisi non polar (McClements 2004).

Semakin kecil ukuran partikel emulsi yang dapat dibentuk semakin besar pula stabilitasnya dalam penyimpanan. Semakin besar ukuran partikel emulsi yang terbentuk, maka gaya *gravitational separation* semakin besar, hal ini menunjukkan kestabilan emulsi semakin kecil. Energi yang diberikan untuk memecah *droplet* emulsi dapat diberikan melalui tekanan atau dengan kombinasi suhu selama proses (Mason 2006).

C. Nanoemulsi

Nanoemulsi adalah sistem emulsi yang *transparent*, tembus cahaya dan merupakan dispers minyak air yang distabilkan oleh lapisan film dari surfaktan atau molekul surfaktan yang memiliki ukuran *droplet* 50-500 nm (Shakeel *et al.* 2008). Nanoemulsi memiliki bentuk fisik yang *transparent* atau *translucent*. Nanoemulsi memiliki beberapa keuntungan antara lain memiliki luas permukaan

yang lebih besar dan bebas energi. Nanoemulsi tidak menunjukkan masalah dalam ketidakstabilan seperti pada makroemulsi yaitu creaming, flokulasi, koalesens, dan sedimentasi. Nanoemulsi bersifat tidak toksik dan tidak mengiritasi, oleh karena itu dapat diaplikasikan dengan mudah melalui kulit maupun membrane mukosa. Nanoemulsi juga dapat meningkatkan absorpsi, meningkatkan penetrasi obat, mampu mensolubilisasikan zat aktif yang bersifat hidrofob, serta memiliki komponen efisien (Devarajan & Ravichandran 2011).

Jenis dan konsentrasi surfaktan dalam fase air dipilih untuk memberikan stabilitas yang baik untuk mencegah koalesen. Sediaan nanoemulsi memiliki komponen yang eksipien yang digunakan seperti minyak, surfaktan, dan kosurfaktan. Pemilihan eksipien pada nanoemulsi tidak boleh mengiritasi dan sensitif terhadap kulit. Minyak adalah komponen yang penting dalam formulasi nanoemulsi karena dapat melarutkan bahan aktif lipofilik. Surfaktan nonionik digunakan karena memiliki toksisitas yang rendah dibandingkan surfaktan ionik. Penggunaan surfaktan tidak cukup untuk mengurangi tegangan antar muka antara minyak dan air, sehingga perlu kosurfaktan untuk membantu mengurangi tegangan antarmuka. Kosurfaktan juga dapat meningkatkan mobilitas ekor hidrokarbon sehingga penetrasi minyak pada bagian ekor menjadi lebih besar (Gupta *et al.* 2010).

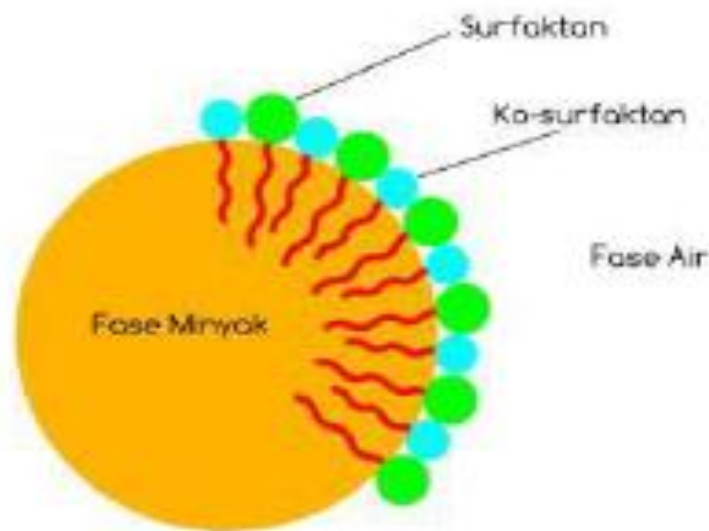
Pembentukan nanoemulsi memerlukan pemasukan energi. Energi tersebut diperoleh dari peralatan mekanik ataupun potensi kimiawi yang terdapat dalam komponen (Solan *et al.* 2003). Menurut gupta (2010) emulsi akan terbentuk secara spontan pada penambahan minyak dan surfaktan ke dalam air karena tegangan antarmuka yang rendah akibat jumlah surfaktan yang besar. Sistem yang terbentuk spontan merupakan sistem yang stabil secara termodinamika.

D. SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery system*)

1. Pengertian SNEDDS

SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) merupakan suatu penghantaran obat yang terdiri atas campuran isotropik antara minyak, surfaktan, dan obat serta bila diperlukan dapat ditambahkan kosurfaktan. Sistem ini bisa

terdispersi ketika bertemu dengan media air disertai agitasi yang ringan supaya membentuk sistem nanoemulsi dengan ukuran dibawah 100 nm untuk meningkatkan bioavailabilitas obat dalam tubuh dengan meningkatkan kelarutan obat (Shah *et al.* 1994; Constantinides 1995). Ukuran *droplet* nanoemulsi yang kecil membuat nanoemulsi stabil secara kinetik sehingga mencegah terjadinya sedimentasi dan *creaming* selama penyimpanan (Solans *et al.* 2005)



Gambar 2. Ilustrasi terbentuknya nanoemulsi (Zhao 2015).

SNEDDS mampu meningkatkan kelarutan obat yang sukar larut dalam air, dengan ukuran-ukuran globul yang kecil akan memperbesar luas permukaan saluran pencernaan. Penyebaran SNEDDS akan lebih cepat dalam sistem pencernaan (lambung dan usus) dengan adanya agitasi sehingga sistem ini dapat teremulsifikasi secara spontan (Nazzal *et al.* 2002).

2. Keuntungan dan kerugian SNEDDS

Keuntungan yang didapat dari sediaan SNEDDS yaitu melindungi dari zat obat yang sensitif terhadap lambung, meningkatkan bioavailabilitas zat aktif obat melalui penggunaan secara oral, mampu mengurangi frekuensi pemberian obat karena memiliki sistem yang stabil, mampu membawa dan menyampaikan zat aktif obat hingga ke sel targetnya tanpa mempengaruhi kondisi sekitarnya, serta meningkatkan luas permukaan didalam saluran cerna (Patel *et al.* 2008).

SNEDDS juga menimbulkan kerugian dalam penggunaannya yaitu membutuhkan dasar lipid yang berbeda untuk membuat formulasi, kurangnya model secara *in-vitro* yang baik untuk formulasi karena profil disolusi yang masih tradisional menjadi tidak bekerja sebab formulasi tersebut berpotensi saat sebelum proses pelepasan obat dalam saluran pencernaan (Prajapati *et al.* 2007; Vergote *et al.* 2001).

SNEDDS dipengaruhi oleh beberapa pertimbangan diantaranya penggunaan obat dengan dosis yang sangat tinggi tidak sesuai untuk formulasi SNEDDS kecuali bila mereka menunjukkan kelarutannya yang baik pada salah satu komponen SNEDDS, tepatnya dalam fase lipofilik, obat yang menunjukkan kelarutan rendah dalam air dan lemak sangat sulit untuk dilepaskan oleh SNEDDS. Kemampuan SNEDDS mempertahankan obat dalam bentuk larutan sangat dipengaruhi oleh kelarutan obat dalam minyak. Kombinasi antara surfaktan dan kosurfaktan dalam jumlah yang lebih besar untuk larutan obat akan menimbulkan resiko terjadinya presipitasi, seperti pengenceran SNEDDS menyebabkan penurunan kapasitas pelarut dalam surfaktan maupun kosurfaktan (Kim *et al.* 2000).

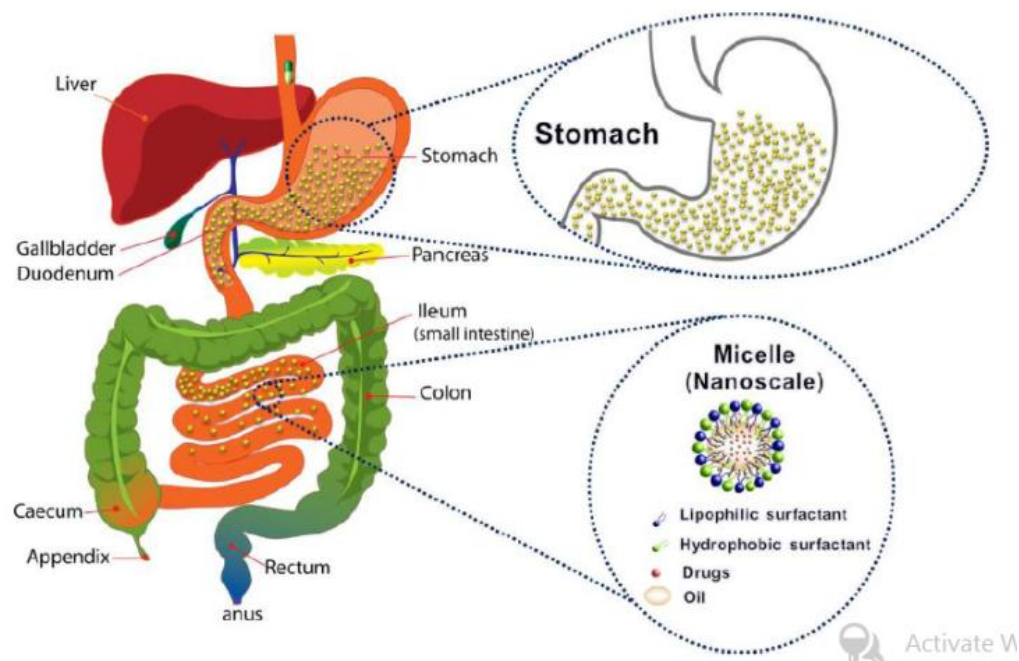
Keberhasilan formulasi SNEDDS dipengaruhi oleh tingkat pemahaman terhadap proses nanoemulsifikasi yang secara spontan dan juga sifat fisikokimia serta unsur biologis komponen yang digunakan untuk membuat SNEDDS. Faktor yang mendukung SNEDDS berupa sifat fisikokimia alami dan konsentrasi fase minyak, surfaktan, kosurfaktan; rasio komponen terutama rasio minyak-surfaktan; suhu dan pH fase air dimana proses nanoemulsifikasi terjadi; faktor fisikokimia obat seperti hidrofilik/lipofilisitas, pKa dan polaritas (Kim *et al.* 2000).

3. Mekanisme SNEDDS

Menurut Reiss, *self-emulsification* terjadi saat energi entropi fase terdispersi lebih besar daripada energi yang diperlukan untuk meningkatkan luas permukaan fase terdispersi (Reiss 1975). Energi bebas dalam emulsi konvensional nilainya sebanding dengan energi yang diperlukan untuk memperluas permukaan antara fase minyak sebagai fase terdispersi terhadap air sebagai fase dispers, sesuai dengan persamaan :

$$\Delta G = \Sigma N14\pi r2\sigma \dots\dots\dots(1)$$

Keterangannya meliputi ΔG sebagai energi bebas, N sebagai jumlah *droplet*, r sebagai jari-jari *droplet*, dan σ sebagai energi antar muka. Dua fase emulsi cenderung memisah bukan disebabkan karena penurunan energi bebas dan energi antar muka tetapi emulsi distabilkan oleh agen pengemulsi dimana membentuk monolayer *droplet* emulsi, oleh sebab itu energi antar muka dapat untuk mencegah terjadinya *coalescence* (Makadia *et al.* 2013).



Gambar 3. Mekanisme SNEDDS dalam tubuh (Zhao 2015).

4. Karakterisasi SNEDDS

4.1 Waktu emulsifikasi. Perhitungan waktu emulsifikasi dilakukan terhadap formula nanoemulsi dalam media *aquadest* menggunakan alat *magnetic stirrer* yang dijaga konstan kecepatannya dan dalam suhu ruangan. Pengamatan dilakukan terhadap waktu yang diperlukan sejak awal peneteskan hingga terbentuk konsistensi nanoemulsi. Efisiensi nanoemulsi berupa kecepatan waktunya, transparansi, serta pemisahan fase antara komponen nanoemulsi yang satu dengan lainnya. Nanoemulsi yang terbentuk dapat ditandai dengan terlarutnya SNEDDS secara sempurna kedalam media dimana waktu yang diperlukan terbentuk nanoemulsi kurang dari satu menit (Patel *et al.* 2011).

4.2 Penetapan *drug loading*. Penentuan *drug loading* digunakan untuk mengetahui kemampuan SNEDDS dalam melarutkan obat hingga tepat jenuh serta mengetahui kadar obat didalam formula SNEDDS. Penentuannya dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis yang dibaca serapannya pada gelombang maksimum (Yuliani 2016).

4.3 Persen transmittan. Pengujian persen transmittan dilakukan untuk menilai bahwa sediaan nanoemulsi yang terbentuk jernih dan tidak terjadi pemisahan dalam kisaran 99-100% (Yuliani 2016). Pengujian dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis dimana digunakan aquadest sebagai blankonya, bila hasil yang diperoleh mendekati 100% maka dapat dikatakan bahwa nanoemulsi tersebut memiliki kejernihan yang seperti air (Yuliani 2016).

4.4 Ukuran partikel. Pengujian ukuran partikel untuk mengetahui ukuran partikel yang terbentuk memenuhi kriteria ukuran partikel nanoemulsi yaitu dibawah 100 nm. Pengujian ukuran partikel menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) dengan tipe *Dynamic Light Scattering*. Prinsip dasar alat ini adalah sampel akan ditembak dengan sinar laser dan akan terjadi penghamburan cahaya. Penghamburan cahaya tersebut akan dideteksi pada sudut tertentu secara cepat. Hasil pengukuran droplet dinyatakan sebagai diameter dari droplet yang terdapat pada medium dispers (Volker 2009).

4.5 Zeta potensial. Zeta potensial adalah ukuran permukaan muatan partikel yang tersebar dalam kaitannya dengan medium pendispersi. Partikel harus memiliki muatan atau zeta potensial yang tinggi disbanding 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 hydrogen dan ikatan van der waals, dengan mengendalikan zeta potensial akan didapatkan kondisi yang ideal untuk terjadi agregasi (Vaughn & Williams 2007). Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi (Ronson 2012).

5. Komponen SNEDDS

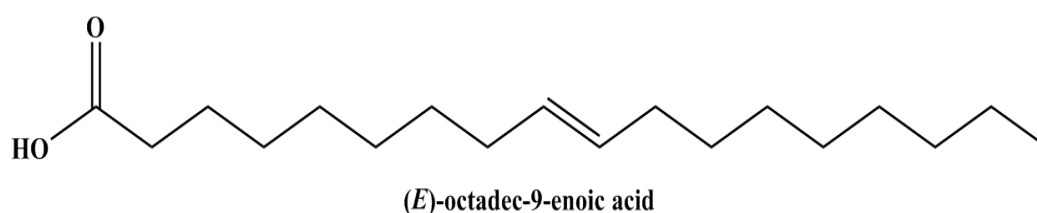
5.1 Minyak. Fase minyak merupakan media pembawa obat dalam formulasi SNEDDS, minyak merupakan komponen penting dalam formulasi SNEDDS seperti unsur fisikokimia minyak yaitu *molecular volume*, polaritas dan viskositas, secara signifikan menentukan spontanitas proses nanoemulsifikasi (Anton *et al.* 2008; Bouchemal *et al.* 2004), ukuran *droplet* nanoemulsi dan kelarutan obat (Porter *et al.* 2008). Minyak berpotensi menghasilkan kelarutan yang tinggi terhadap beberapa golongan obat untuk formulasi SNEDDS. Minyak yang terpilih harus dapat menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran *droplet* yang kecil.

Pemilihan fase minyak seringkali dipertimbangkan kemampuannya dalam melarutkan obat dan memfasilitasi formasi nanoemulsi berdasarkan karakter yang diinginkan (Solans *et al.* 2005). Lipofilitas minyak dan konsentrasi fase minyak dalam SNEDDS secara langsung dibandingkan dengan ukuran nanoemulsi, meski demikian, mungkin akan menyulitkan komponen minyak tunggal menghasilkan formula yang optimum terhadap proses nanoemulsifikasi dan penghantaran obat. Penggunaan campuran minyak dapat digunakan untuk membuat fase minyak tersebut menjadi optimum, menggunakan konsep yang sama telah digunakan pada nanoemulsi dan mikroemulsi (Anton *et al.* 2009; Jumaa *et al.* 2002).

Minyak nabati mengandung rantai trigliserida sedang dan panjang yang sering digunakan dalam pengembangan formula SNEDDS karena aman untuk dikonsumsi (Patel 2011)., selain itu minyak nabati mudah untuk melarutkan obat yang bersifat lipofil. Faktor penentu berhasil atau tidaknya suatu formulasi SNEDDS berdasarkan modifikasi pada panjang atau pendeknya rantai trigliserida, beserta tingkat kejenuhan rantai trigliserida (Singh & Liliard 2009).

5.1.1 Minyak zaitun. Minyak zaitun (*olive oil*) adalah minyak yang didapatkan dengan pemerasan secara langsung dari buah zaitun matang, baik menggunakan alat maupun tidak yang memiliki tingkat keasaman tinggi dibandingkan dengan minyak zaitun lainnya. Minyak zaitun merupakan campuran dari asam lemak gliserida. Minyak zaitun digunakan untuk aktivitas *choloretic* atau koagulan, sebagian orang percaya minyak zaitun digunakan sebagai obat

laksatif, penghilang rasa sakit dan juga dapat untuk bahan pelarut. Minyak zaitun mengandung asam palmitat 7,5-20%; palmitoleat <3,5%; stearat 0,5-5%; oleat 56-85%; linoleat 3,5-20%; linolenat <1,2%; arachidonat <0,7%; eikosenoat <0,4%; gadoleat dan lignoserik <0,2%. Kandungan tertinggi pada minyak zaitun yaitu asam oleat $n.CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$ (*cis-9-octadecenoic acid*) (Ansel *et al.* 2011).



Gambar 4. Struktur kimia asam oleat (Wade & Weller 2004).

Asam oleat umumnya digunakan sebagai agen pengemulsi dan penetrasi untuk kulit, memperbaiki profil kelarutan yang rendah dalam air, dapat juga digunakan sebagai bahan tambahan untuk formulasi SNEDDS oral. (Ansel *et al.* 2009). Asam oleat merupakan minyak yang berwarna kuning pucat kecoklatan, asam oleat terdiri dari (Z)-9-octadecenoic acid bersama dengan variasi asam lemak yang jenuh dan tidak jenuh (Ansel *et al.* 2011).

Asam lemak ini pada suhu ruangan berupa cairan kental dengan warna kuning pucat atau kuning kecoklatan serta memiliki aroma yang khas. Asam oleat tidak larut dalam air, titik leburnya 15,3°C dan titik didihnya 360°C. Asam lemak oleat mampu melarutkan obat yang bersifat lipofil, sehingga dapat digunakan dalam sediaan SNEDDS (Rowe *et al.* 2009).

5.1.2 Virgin coconut oil. *Virgin coconut oil* (VCO) atau minyak kelapa memiliki komposisi yang terdiri dari asam lemak, trigliserida, dan senyawa fenolik. VCO mengandung asam lemak seperti kaproat (0,5%), kaprilat (7%), kapriat (6%), laurat (47%), miristat (19%), palmitat (9%), stearate (3%), oleat (7%), linoleat (2%), linolenat (0,1%) dan ekosanot (0,1%). VCO memiliki titik leleh (21-27°C) (Singh & Liliard 2009), sedangkan asam lemak utama dalam VCO adalah asam laurat sebanyak 43-53%. Asam laurat (C₁₂H₂₄O₂) merupakan suatu asam lemak jenuh dengan 12 rantai karbon yang memiliki efek antimikroba,

khususnya terhadap *Listeriamonocytogenes*. Kandungan senyawa fenolik dalam VCO berupa asam protokatekuat, asam vanilat, asam kafenat, asam siringat, asam ferulat serta asam p-kumarat yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Mansor *et al.* 2012).

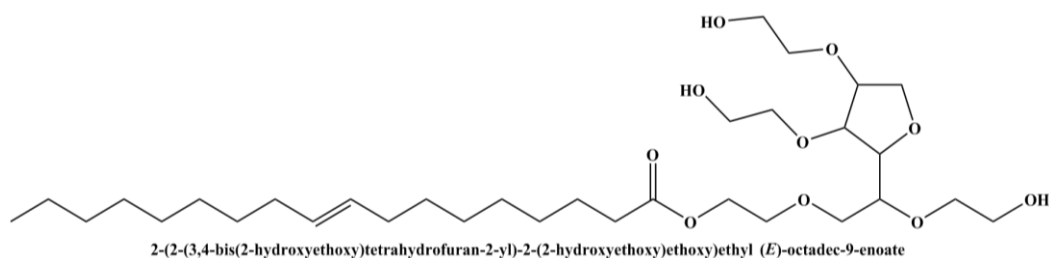
5.2 Surfaktan. Pemilihan surfaktan menjadi titik kritis untuk formulasi SNEDDS. Unsur surfaktan seperti HLB (dalam minyak), viskositas dan afinitas untuk fase minyak sangat mempengaruhi proses nanoemulsifikasi, *self-nanoemulsification* dan ukuran *droplet* nanoemulsi. Konsentrasi surfaktan dalam SNEDDS yang besar mempengaruhi ukuran *droplet* nanoemulsi (Date *et al.* 2007). Surfaktan memiliki dua bagian yang berinteraksi dengan dua media yang berbeda, yaitu bagian hidrofil dan bagian hidrofob. Bagian hidrofil terdiri atas gugus karboksilat yang terionkan, fungsinya memudahkan untuk berinteraksi dengan air. Bagian hidrofob terdiri atas rantai hidrokarbon yang bersifat non-polar sehingga memudahkan dalam berinteraksi dengan bagian non-polar seperti minyak, lipid, triasil gliserol, dan lainnya (Mc Murry 2008). Dua faktor yang menjadi pertimbangan dalam menentukan pilihan surfaktan adalah HLB dan faktor *safety*. HLB berfungsi untuk menentukan ukuran *droplet* SNEDDS yang dihasilkan.

Karakteristik *self-emulsifying* yang baik (waktu emulsifikasi, penentuan *drug loading*, persen transmittan, ukuran partikel dan zeta potensial), dapat ditentukan apabila komponen surfaktan memberikan nilai HLB yang tinggi sehingga akan memberikan *droplet* emulsi yang bertipe O/W, yang akan mendukung dispersi *droplet* yang cepat dalam pengadukan ringan pada media cairan pencernaan (Constantinides 1995).

Surfaktan alami atau surfaktan non-ionik lebih sering digunakan dalam formulasi SNEDDS karena memberi tingkat keamanan yang lebih baik daripada surfaktan yang ionik atau sintetis (Constantinides 1995). Surfaktan non-ionik memiliki toksisitas rendah dibandingkan jenis surfaktan ionik tetapi umumnya jenis surfaktan non-ionik dapat memberikan perubahan permeabilitas lumen intestinal, namun faktor ini sifatnya dapat terbalikkan (*reversible*). Jenis surfaktan non-ionik yang sering digunakan berupa surfaktan yang memiliki nilai HLB tinggi

seperti *ethoxylatedpolyglycolized glycerides*, *poloxyethylene sorbitan monooleate* (Tween 80) (Liliard *et al.* 2009).

5.2.1 Tween 80. Tween 80 memiliki nama sinonim yaitu Polysorbate 80, Armotan PMO 20, Cremophor PS 80, Crillet 4, Crillet 50, Drewpone 80K, Durfax 80K, E433, Emrite 6120, Emulgin SMO, Glycosperse O-20, Liposorb O-20, Liposorb O-20K, Montanox 80, Polyoxyethylene 20 oleate, Protasorb O-20, Ritabate 80, (Z)-sorbitan mono-9-octadecenoate poly (*oxyll*, *2-ethanediyl*) *derivates*, Tego SMO 80, Tego SMO 80V, Tween 80. Nama kimia Tween 80 adalah *Polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate* dan memiliki rumus molekul $C_{64}H_{124}O_{26}$ dengan berat molekul sebesar 1310 (Rowe *et al.* 2009).



Gambar 5. Struktur kimia tween 80 (Rowe *et al.* 2009)

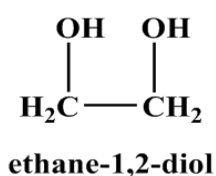
Penggunaan Tween 80 dalam *Pharmaceutical Formulation* sebagai *Emulsifying agent*, *non-ionik surfactant*, *solubilizing agent*, *wetting agent*, dan *suspending agent*. Tween 80 memiliki nilai HLB 15 yang sesuai dengan karakter surfaktan yang diperlukan dalam SNEDDS. Tween 80 dapat larut dalam etanol dan air. Selain itu Tween 80 juga memiliki tegangan permukaan 42,5 serta viskositas 425 (Rowe *et al.* 2009).

Tween 80 merupakan salah satu surfaktan non-ionik yang secara umum digunakan dalam formulasi produk farmasi cair, kosmetik, serta makanan karena kemampuannya mensolubilisasi, menurunkan tegangan permukaan dan tegangan antar muka serta membasahi fase hidrofil maupun lipofil dari fase yang tidak saling bercampur (Rowe *et al.* 2009).

5.3 Kosurfaktan. Kosurfaktan dalam formulasi SNEDDS HCT digunakan sebagai fasilitator proses dispersi serta mempercepat terdispersinya emulsi kedalam media (Solans *et al.* 2005). Penambahan kosurfaktan ditujukan supaya terjadi peningkatan *drug loading*, mempercepat *emulsification time*, dan mengatur ukuran tetesan emulsi. Peran dalam *drug loading* ini yaitu menurunkan koefisien partisi obat agar mudah larut dalam air (Solans *et al.* 2005).

Pemilihan kosurfaktan didasarkan atas mudah tidaknya kosurfaktan menguap. Penggunaan dari segi penguapan ini memberikan kerugian yaitu akan terjadi evaporasi dalam cangkang kapsul sehingga akan menyebabkan terjadinya endapan obat (Solans *et al.* 2005). Kosurfaktan dengan struktur molekul rantai pendek lebih sering digunakan karena kemampuannya dalam mengurangi tegangan antar muka dan fluiditas antar muka.

5.3.1 PEG 400. Polyethylen Glikol merupakan senyawa yang memiliki sinonim Carbowax, Carbowax Sentry, Lipoxol, Lutrol E, macrogola, PEG, Pluriol E, Polyoxyethylene glycol. Nama kimianya yaitu *-Hydro- -hydroxypoly(oxy-1,2-ethanediyl)*. Rumus kimia dari PEG 400 adalah HOCH₂(CH₂OCH₂)_mCH₂OH dimana (m) merupakan angka gugus oxyethylene dengan nilai 8,7. PEG 400 memiliki berat molekul sebesar 190-210 (Rowe *et al.* 2009).



Gambar 6. Struktur kimia PEG 400 (Rowe *et al.* 2009).

PEG 400 berupa cairan kental, tidak berwarna, dan transparan. PEG 400 merupakan hasil kondensasi dari polimer etilen glikol. Keunggulan PEG 400 adalah tidak mahal, mudah terdegradasi dalam tubuh, tidak mudah terbakar, toksisitasnya rendah, dan mudah larut bersama solven organik (Rowe *et al.* 2009).

PEG 400 dalam bentuk larutan merupakan zat yang sangat higroskopis namun tingkat higroskopisitas menurun seiring dengan peningkatan berat molekul. PEG larut dalam air dan dapat dicampur dengan beberapa bagian PEG lain. PEG larut dalam aseton, alkohol, benzene, gliserin, dan glikol. PEG secara

kimia stabil di udara dan tidak berbau tengik. PEG dalam bentuk larutan dapat disterilkan menggunakan autoklaf, *filtration* atau radiasi gamma. Sterilisasi dari bentuk serbuknya dapat dilakukan dengan metode panas kering yaitu pada suhu 150 (Rowe *et al.* 2009).

Struktur kimia dari PEG tersusun atas dua gugus hidroksil, keduanya akan secara mudah mengalami *esterifikasi*. Aktivitas oksidasi dapat terjadi karena dipengaruhi oleh peroksida yang kemudian akan terjadi autooksidasi. Bentuk PEG yang berupa larutan atau serbuk akan sangat inkompatibel dengan *coloring agents* (Rowe *et al.* 2009).

6. Penelitian SNEDDS pada beberapa obat

Berdasarkan penelitian dalam mengatasi permasalahan obat yang memiliki kelarutan yang rendah dan permeabilitas yang rendah dan termasuk BCS kelas III dapat diatasi dengan metode SNEDDS.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Pankajkumar S. Yadav *et al* (2014) mengenai uji kelarutan untuk seleksi fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan dalam preparasi SNEDDS HCT.

Tabel 1. Hasil uji kelarutan HCT (Pankajkumar S. Yadav *et al.* 2014)

Pembawa	Kelarutan ($\mu\text{g/mL}$)
Maisine 35-1	1.97 ± 0.7
Oleic acid	$2.65 \pm 0,85$
Capmum MCM	3.43 ± 0.54
Castor oil	1.68 ± 0.54
Captex 355 EP/NF	2.26 ± 0.8
Tween 80	16146 ± 2.54
Cremophor EL	2719 ± 1.15
Cremophor RH 40	13.15 ± 1.2
Span 20	1.49 ± 0.73
Lauroglycol	1.34 ± 0.74
PEG 400	357.14 ± 2.94
Propylene glycol	53.60 ± 1.05
Transcutol P	288.72 ± 2.56

E. Metode pembuatan Nanoemulsi

Formulasi nanoemulsi terdiri dari obat aktif, bahan tambahan dan emulsifier. Berbagai metode untuk pembuatan nanoemulsi meliputi dua metode yaitu emulsifikasi energi tinggi dan emulsifikasi rendah energi. Metode

emulsifikasi energi tinggi termasuk *high-energy stirrer*, emulsifikasi ultrasonik, *high-pressure homogenization*, *microfluidization*, dan emulsifikasi membran (Tiwari & Amiji 2006; Perdiguier *et al.* 1997; Banker *et al.* 2002). Metode emulsifikasi rendah energi termasuk *phase inversion temperature*, *inversion point*, dan *spontaneous emulsification* (Ahuja *et al.* 2008).

1. Emulsifikasi ultrasonik

Emulsifikasi ultrasonik sangat efisien dalam menurunkan ukuran tetesan. Dalam emulsifikasi ultrasonik, energi disediakan melalui sonotrodes yang disebut sebagai sonikator. Sonikator berisi kristal kuarsa piezoelektrik yang dapat memperluas kontak dengan cairan, maka akan menghasilkan getaran mekanik dan kavitasi pun terjadi. Kavitasi adalah proses runtuhnya rongga udara dalam cairan. Gelombang ultrasound bisa langsung digunakan untuk menghasilkan emulsi di mana ukuran emulsi tetesan serendah 0,2 mikrometer dapat diperoleh (Jaiswal *et al.* 2014).

2. High-Pressure Homogenization

Penyusunan nanoemulsi membutuhkan *high-pressure homogenization*. Teknik ini memanfaatkan pompa tekanan tinggi homogenizer / piston untuk menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran partikel yang sangat rendah (sampai dengan 1 nm) (Asua 2002; Anton *et al.* 2008). Keuntungan yang terdapat pada alat ini dibandingkan dengan metode lain adalah besar ukuran partikel ditentukan berdasarkan besar energi yang dihasilkan dan viskositas larutan yang digunakan. Alat *high-pressure homogenizer* dapat menghasilkan energi tinggi dalam menghomogenisasi sampel sehingga mampu menghasilkan *droplet* dengan ukuran hingga kurang dari 0,1 μm . Emulsi kasar yang diumpankan pada alat ini dapat diatur ukurannya dengan memvariasikan ukuran katup dan tekanannya (Genakela 2014).

3. Mikrofluidasi

Mikrofluidasi adalah teknologi pencampuran yang sudah dipatenkan, yang menggunakan perangkat yang disebut *microfluidizer*. Alat ini menggunakan tekanan tinggi yang memaksa produk obat melalui ruang interaksi dan

menghasilkan partikel yang sangat halus kisaran submicron. Proses ini diulang beberapa kali untuk mendapatkan ukuran partikel nanoemulsi yang diinginkan dan seragam (Jaiswal *et al.* 2014).

4. *Phase Inversion Temperature*

Metode ini melibatkan perubahan fase dengan menggunakan suhu tinggi untuk mikroemulsi (El-Aasser *et al.* 1986; Pouton 1997). *Phase Inversion Temperature* (PIT) dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan emulsi ditandai ukuran tetesan yang rendah dan stabilitas dalam jangka panjang (Shinoda & Saito 1969). Proses emulsi minyak dalam air menjadi emulsi air dalam minyak adalah parameter proses penting dalam PIT. Semakin tinggi suhu fase inversi, maka emulsi minyak dalam air akan lebih stabil di suhu lingkungan (Shinoda & Saito 1969). Proses PIT dipengaruhi oleh konsentrasi pengemulsi, dan sifat dari minyak, serta pada nilai HLB (Kunieda & Ishikawa 1985; Kunieda & Miyajima 1989).

5. *Emulsi Spontan*

Emulsifikasi spontan terjadi dengan melakukan pengadukan berkelanjutan terhadap fase minyak yang telah bercampur dengan surfaktan ke dalam fase air (Gullota *et al.* 2014). Metode ini melibatkan 3 langkah:

- a. Persiapan larutan organik homogen yang terdiri dari minyak dan surfaktan lipofilik dalam air dan surfaktan hidrofilik.
- b. Fase organik disuntikkan dalam fase air dibawah pengadukan *magnetic* yang kontinyu dan emulsi o/w akan terbentuk.
- c. Fase air dihilangkan dengan penguapan di bawah tekanan rendah (Solans *et al.* 2005; Tadros *et al.* 2004).

F. *Simplex Lattice Design (SLD)*

Simplex lattice design adalah salah satu metode optimasi formula dengan perbedaan variasi komponen dalam jumlah tertentu, dimana hasil totalnya dibuat menjadi satu bagian yang sama (Pratiwi 2016). Penelitian ini perlu dikembangkan dasarnya untuk memperoleh hasil formulasi nanoemulsi yang optimum.

Keberhasilan penelitian akan berpengaruh pada pengembangan yang lebih lanjut terhadap potensi bahan dari penelitian sebelumnya.

Optimasi merupakan suatu metode atau desain eksperimental untuk memudahkan dalam penyusunan dan interpretasi data secara matematis. Formula yang optimal sering kali didapat dari penerapan SLD. Penerapan SLD digunakan untuk menentukan formula optimal dari campuran bahan. Suatu formula merupakan campuran yang terdiri dari beberapa komponen. Setiap perubahan fraksi salah satu komponen dari campuran akan merubah sedikitnya satu variabel / bahkan lebih dari fraksi komponen lain (Florentina 2013).

Hubungan fungsional antara respon (variabel tergantung) dengan komposisi (variabel bebas) dinyatakan dengan persamaan :

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \dots \quad (1)$$

Keterangan :

Y : respon

X1 dan X2 : fraksi dari tiap komponen

β_1 dan β_2 : koefisien regresi dari X1 dan X2

β_{12} : koefisien regresi interaksi antara X1-X2

Koefisien diketahui dari perhitungan regresi dan Y adalah respon yang diinginkan. Nilai X1 ditentukan, maka nilai X2 dapat dihitung. Nilai yang telah diperoleh lalu dimasukkan kedalam garis maka akan didapatkan *contour plot* yang diinginkan (Amstrong dan James 1986). Penentuan formula optimum perlu diperhatikan sifat fisiknya yaitu ukuran partikel nano, zeta potensial dan sifat polidispersnya. Penentuan formula optimum didapatkan dari respon total yang paling besar, respon total dapat dihitung dengan rumus :

$$R \text{ total} = R_1 + R_2 + R_3 + R_4 + \dots \quad (2)$$

R 1, 2, 3 dan n adalah respon masing-masing sifat fisik nanoemulsi. Formula optimum yang telah diperoleh kemudian dilakukan verifikasi pada tiap formula yang memiliki respon paling optimum pada setiap uji sifat fisik nanoemulsi. Tujuan verifikasi ini adalah untuk menentukan formula yang nilainya paling optimum (Amstrong dan James 1986).

G. Landasan Teori

HCT tergolong dalam BCS (*Biopharmaceutical Class System*) kelas III yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas rendah serta kelarutannya dalam air murni sebesar 0,7 mg/mL (Sanphui & Rajput 2014), sehingga penelitian ini dibuat untuk memperbaiki permasalahan bioavailabilitas obat HCT dengan memformulasikannya kedalam bentuk SNEDDS dengan komposisi minyak, surfaktan dan kosurfaktan.

SNEDDS merupakan campuran isotopik antara minyak, surfaktan dan obat bila diperlukan dapat ditambahkan kosurfaktan. Sistem ini bisa dengan mudah terdispersi ketika bertemu dengan media air disertai agitasi yang ringan supaya membentuk sistem nanoemulsi dengan ukuran dibawah 100 nm untuk meningkatkan bioavailabilitas obat dalam tubuh dengan meningkatkan kelarutan dalam obat.

Ketercapaian formula SNEDDS HCT yang optimum tidak terlepas dari penggunaan minyak, surfaktan dan kosurfaktan karena komponen ini menjadi faktor utama terhadap penentuan waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel serta potensial zeta yang mewakili dalam ukuran nanoemulsi. Penelitian ini menggunakan minyak zaitun sebagai fase minyak, surfaktan jenis tween 80 serta PEG 400 sebagai kosurfaktannya.

Minyak zaitun dijadikan pilihan sebagai fase minyak karena minyak zaitun memiliki kandungan asam oleat terbesar yaitu 56-85%, jika dilihat pada struktur asam oleat, asam oleat merupakan asam lemak tak jenuh yang memiliki satu ikatan rangkap. Asam oleat menunjukkan potensi kelarutan yang tinggi pada pembuatan SNEDDS atorvastis dan juga asam oleat memiliki kemampuan spontanitas yang tinggi terhadap emulsifikasi (Miryala dan Kurakula 2013). Wahyuningsih (2015) melakukan penelitian tentang surfaktan jenis tween 80 yang menunjukkan kelarutan furosemide lebih besar dibandingkan tween 20 dan cremophor. Tween 80 memiliki HLB yang tinggi sehingga mampu membentuk nanoemulsi tipe o/w, selain itu surfaktan tersebut bersifat non-ionik yang dianggap ketoksikannya lebih aman untuk digunakan, sehingga surfaktan jenis tween 80 dijadikan pilihan untuk penelitian ini. Wahyuningsih (2015) melakukan penelitian bahwa pada obat furosemid lebih larut dalam PEG 400 dibandingkan

propilenglikol hal ini mengindikasikan bahwa polaritas PEG 400 sama dengan furosemid, sehingga kosurfaktan PEG 400 dijadikan pilihan untuk penelitian ini.

Penggunaan minyak zaitun bersama dengan tween 80 akan mudah bercampur karena kandungan dua komponen tersebut sebagian besar adalah asam oleat seperti teori *like dissolve like* bahwa dua komponen yang memiliki karakteristik sama akan saling melarutkan. Komposisi minyak zaitun, tween 80, bersama PEG 400 akan memberikan formula SNEDDS yang baik terhadap waktu emulsifikasi, *drug loading*, persen transmitan, ukuran partikel dan potensial zeta (Fathoroni 2014).

Keberhasilan formula SNEDDS dapat diamati dari parameter waktu emulsifikasi, *drug loading* dan persen transmitan. Waktu emulsifikasi dapat ditentukan dari lamanya waktu yang dibutuhkan untuk SNEDDS dan *aquadest* tercampur homogen. Persen transmitan dapat diamati dari kejernihan SNEDDS, hasil persen transmitan sampel bila mendekati persen transmitan *aquadest* yaitu 100%, maka sampel tersebut memiliki kejernihan atau transparansi yang mirip dengan air sehingga bisa dikatakan memenuhi konsistensi ukuran nano. Penentuan *drug loading* digunakan untuk menghitung kadar obat HCT dalam komposisi SNEDDS, bila hasil yang diperoleh semakin tinggi maka sampel tersebut dapat digunakan dengan baik bila masuk kedalam tubuh.

H. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini berupa:

1. Proporsi optimum untuk minyak zaitun sebagai fase minyak 12,5%, tween 80 sebagai surfaktan 57,5%, dan PEG 400 sebagai kosurfaktan 30% dapat membentuk konsistensi yang stabil sesuai dengan karakterisasi SNEDDS berupa uji waktu emulsifikasi, persen trasmitan, *drug loading*, ukuran partikel dan zeta potensial.
2. Karakteristik formula optimum dari sediaan SNEDDS HCT dengan minyak zaitun sebagai fase minyak, tween 80 sebagai surfaktan dan PEG 400 sebagai surfaktan yang meliputi uji karakteristik waktu emulsifikasi, persen trasmitan, *drug loading*, ukuran partikel dan zeta potensial.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan semua objek yang menjadi sasaran untuk penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi SNEDDS menggunakan hidroklortiazid.

Sampel merupakan bagian dari populasi yang diteliti berdasarkan ciri dan sifatnya, serta keberadaannya mampu mendeskripsikan populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi SNEDDS menggunakan formula hidroklortiazid dengan minyak zaitun, surfaktan tween 80 dan kosurfaktan PEG 400.

B. Variabel dalam Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat. Variabel utama dari penelitian ini yaitu formulasi SNEDDS Hidroklortiazid.

2. Klasifikasi variabel

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat yaitu konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan yang berbeda.

2.2 Variabel terikat. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini dan memberikan respon jika dihubungkan dengan variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakterisasi sediaan nanoemulsi HCT meliputi waktu emulsifikasi, *drug loading*, ukuran partikel, zeta potensial dan persen transmittan.

2.3 Variabel terkontrol. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar dapat diulang dalam penelitian ini dengan tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu lama dan kecepatan pengadukan saat

pembuatan, kondisi pengujian seperti panjang gelombang pada spektrofotometer, suhu dan kelembapan, jumlah minyak zaitun, tween 80, PEG 400 yang digunakan dalam formula hidroklortiazid dan peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

SNEDDS HCT merupakan pengembangan formulasi untuk mengatasi *problem* permeabilitas obat yang rendah dengan membuat suatu formula nanoemulsi berbasis minyak, surfaktan, dan kosurfaktan untuk menghasilkan formula yang optimal sehingga obat diharapkan mampu terabsorpsi dengan baik di dalam tubuh.

Nanoemulsi merupakan sistem emulsi yang transparan, tembus cahaya dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan oleh lapisan film dari surfaktan atau molekul surfaktan yang memiliki ukuran *droplet* dibawah 100 nm.

Surfaktan adalah molekul yang terdiri dari gugus hidrofilik yang dapat menyatukan campuran air dan minyak. Penelitian ini menggunakan Tween 80.

Kosurfaktan berperan dalam membantu surfaktan meningkatkan kelarutan zat terlarut dalam medium dispers dengan meningkatkan fleksibilitas lapisan di sekitar area *droplet*, penelitian ini menggunakan PEG 400.

Parameter yang digunakan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas sediaan nanoemulsi secara fisik yang meliputi waktu emulsifikasi, *drug loading*, ukuran partikel, zeta potensial dan persen transmitan. Sifat fisik yang baik pada nanoemulsi ditandai dengan warna larutan yang jernih dan transparan, tidak terjadi pemisahan fase, memiliki tipe nanoemulsi o/w.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi obat hidroklortiazid, minyak zaitun, tween 80, PEG 400, *aquadest*, dan metanol.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *particle size analyzer* (Beckman Coulter Delta® Nano C, USA), Spektrofotometri UV-Vis (UV-1800

Series), *magnetic stirrer*, neraca analitik (Ohaus PA213 ketelitian 1 mg dan Ohaus AV264 ketelitian 0,1 mg), dan alat-alat gelas.

D. Rencana Jalannya Penelitian

1. Komposisi Formula SNEDDS HCT

Tabel 2. Proporsi dengan format Design Expert

Select	Std	Run	Component 1 A: minyak zaitu %	Component 2 B:tween 80 %	Component 3 C:PEG 400 %	Response 1 waktu emulsifi detik	Response 2 transmittan %	Response 3 drug loading ppm
1		13	100.000	0.000	0.000	25	23.49	71.32
2		11	50.000	50.000	0.000	16	15.76	17.43
3		4	50.000	0.000	50.000	15	16.13	49.51
4		12	0.000	100.000	0.000	20	11.53	26.13
5		8	0.000	50.000	50.000	14	25.56	15.63
6		1	0.000	0.000	100.000	20	13.01	40.13
7		5	66.667	16.667	16.667	30	4.32	11.28
8		10	16.667	66.667	16.667	34	48.1	17.66
9		9	16.667	16.667	66.667	30	8.53	30.54
10		14	33.333	33.333	33.333	40	33.71	12.08
11		2	100.000	0.000	0.000	26	24.31	60.34
12		3	0.000	100.000	0.000	25	11.12	45.48
13		7	0.000	0.000	100.000	24	12.82	49.25
14		6	50.000	50.000	0.000	13	15.63	16.46

Tabel 3. Hasil formula SNEDDS HCT

Formula	Minyak zaitun	Tween 80	PEG 400
1	4 ml	5 ml	1 ml
2	1 ml	3 ml	6 ml
3	3 ml	5 ml	2 ml
4	2 ml	7 ml	1 ml
5	2 ml	6 ml	2 ml
6	2 ml	5 ml	3 ml
7	3,4 ml	5,3 ml	1,3 ml
8	2,3 ml	6,4 ml	1,3 ml
9	2,3 ml	5,3 ml	2,4 ml
10	2,5 ml	5,5 ml	2 ml
11	4 ml	5 ml	1 ml
12	2 ml	7 ml	1 ml
13	2 ml	5 ml	3 ml
14	1 ml	3 ml	6 ml

SNEDDS HCT dibuat sebanyak 10 mL dengan perbandingan Minyak zaitun = 20 – 40 %; Tween 80 = 50 – 70 %; PEG = 10 – 30%.

2. Pembuatan SNEDDS HCT

Nanoemulsi HCT dibuat dengan metode SNEDDS, tahap pertama adalah menimbang obat HCT sesuai dengan dosisnya yaitu 25 mg. Kedua mengukur

masing-masing komponen SNEDDS (minyak zaitun, tween 80, dan PEG 400) sesuai dengan formula pada SLD. Ketiga, mencampurkan komponen SNEDDS dari setiap formula dengan obat HCT, kemudian *dimixing* menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400-500 rpm pada suhu ruang selama 15 menit. Keempat, empat belas formula tersebut yang sudah terbentuk suatu proporsi yang homogen, dimasukkan kedalam botol vial 10 ml untuk dilakukan uji karakteristik SNEDDS.

3. Kurva kalibrasi dan validasi metode analisis

3.1 Pembuatan kurva kalibrasi.

3.1.1 Pembuatan larutan induk. Pembuatan larutan induk HCT dengan menimbang 100 mg dan dimasukkan pada labu takar 100 ml, lalu dilarutkan menggunakan metanol dan di tambahkan hingga tanda batas, maka didapat larutan induk dengan kadar 1000 ppm. Diambil 1 ml larutan stok tersebut, lalu dilakukan pengenceran sampai 100 ml dengan metanol maka didapat larutan stok 10 ppm.

3.1.2 Penentuan panjang gelombang maksimum (λ max) HCT. Larutan induk HCT dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 220-320 nm, sehingga dapat diperoleh panjang gelombang maksimal yang memiliki nilai serapan paling tinggi pada pelarut metanol.

3.1.3 Kurva baku. Larutan induk HCT dibuat seri konsentrasi 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, 9 ppm dan 10 ppm. Seri larutan ini diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum HCT. Serapan yang diperoleh dibuat kurva regresi linier antara kadar HCT dan serapannya sehingga diperoleh persamaan regresi linier.

3.2 Validasi metode analisis.

3.2.1 Linearitas (*Linearity*). Penentuan linearitas dilakukan dengan mengukur absorbansi suatu seri konsentrasi larutan induk HCT dalam pelarut yaitu 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, 9 ppm, dan 10 ppm pada panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan membuat persamaan garis regresi linier dan ditentukan koefisien korelasi (nilai r). Hasil ini selanjutnya digunakan untuk menentukan linearitas yaitu dengan membandingkan nilai r hitung dengan nilai r tabel pada taraf kepercayaan 95%.

Nilai linearitas dikatakan baik dan dapat digunakan untuk menghitung akurasi serta presisi bila r hitung $>$ r tabel.

3.2.2 Penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi dan batas kuantifikasi penetapan kadar obat HCT ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan membuat enam seri konsentrasi pada uji linearitas. Nilai pengukuran dapat juga diperoleh dari nilai b (*slope*) pada persamaan regresi linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x). Batas deteksi dan kuantifikasi dapat ditentukan dengan persamaan :

$$\text{LOD} = \frac{3 Sy/x}{b} \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 Sy/x}{b} \dots\dots\dots (4)$$

Keterangan :

Sy/x = simpangan baku residual dari serapan

b = *slope* persamaan regresi linear kurva kalibrasi

3.2.3. Penentuan *operating time*. Penentuan *operating time* bertujuan untuk memudahkan dalam melihat kestabilan reaksi larutan dari suatu senyawa yang dianalisis. Reaksi larutan yang stabil ditunjukkan dengan tidak berubahnya nilai serapan selama waktu tertentu. *Operating time* ditentukan dengan menggunakan seri konsentrasi HCT yang paling besar yaitu 100 ppm selama 60 menit, karena pada konsentrasi tersebut panjang gelombang maksimum obat HCT dapat terbaca. Hasil *operating time* selama 60 menit menunjukkan bahwa larutan HCT stabil.

4. Karakteristik SNEDDS hidroklortiazid

4.1 Pengujian Waktu Emulsifikasi. Penentuan waktu emulsifikasi SNEDDS HCT dilakukan dengan cara mencampur SNEDDS yang sudah jadi dengan *aquadest* menggunakan *magnetic stirrer*. Pertama, menimbang dengan seksama SNEDDS HCT sebanyak 25 mg. Kedua, sebanyak 10 ml *aquadest* dimasukkan kedalam *beaker glass* ukuran 100 ml lalu *dimixing* menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 500 rpm (pengadukan ringan), kemudian ditambahkan 25 mg SNEDDS HCT. Ketiga, *menstirrer* kembali kedua bahan

tersebut sambil menghitung waktunya untuk mencapai emulsifikasi dengan *stopwatch*.

4.2 Penentuan persen transmittan. Penentuan persen transmittan dilakukan dengan memakai hasil dari penentuan waktu emulsifikasi kemudian dianalisis menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Blanko yang digunakan yaitu aquadest sedangkan sampelnya memakai 15 ml aquadest dan 25 mg SNEDDS HCT. Tahap selanjutnya, membaca persen transmittan pada alat Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 350 nm.

4.3 Pengujian *drug loading*. Uji penetapan *drug loading* ini dilakukan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis. Pertama, memipet dengan teliti 1 mL sampel formula SNEDDS HCT kedalam labu takar ukuran 10 ml, kemudian dicukupkan volumenya hingga tanda batas dengan metanol 10 ml, lalu digojog secara perlahan hingga larutan jernih. Kedua, membaca absorbansi larutan tersebut pada alat spektrofotometer UV-Vis secara cermat sesuai dengan panjang gelombang maksimum obat HCT, dimana digunakan blanko metanol Ketiga, kadar obat HCT dihitung menggunakan persamaan regresi linier pada kurva standar kalibrasi.

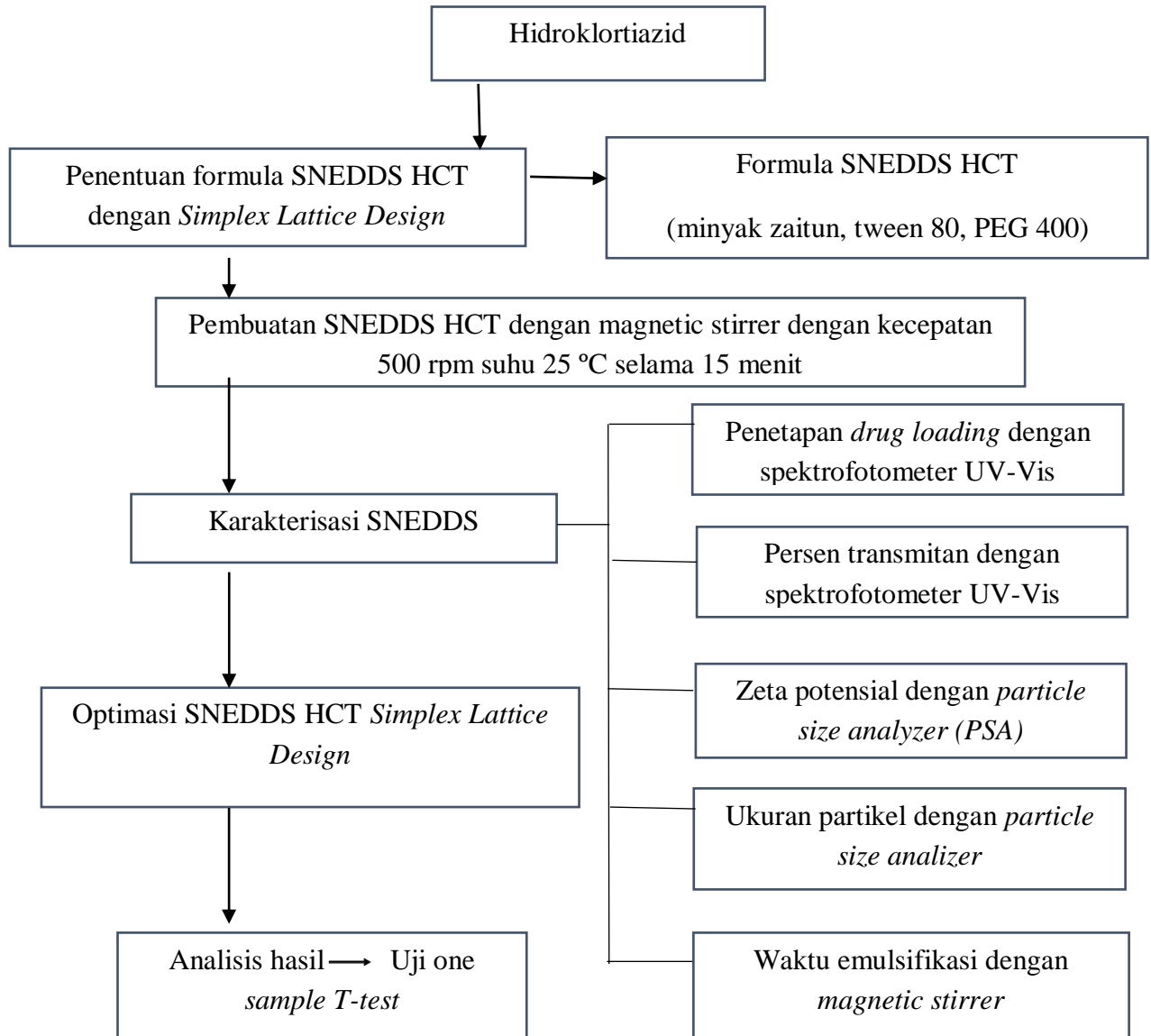
4.4 Ukuran partikel. Ukuran partikel nanoemulsi dilakukan dengan pengukuran menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Sebanyak 2 tetes sampel SNEDDS diemulsikan kedalam 5 ml akuades, diambil 3 ml dan dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis.

4.5 Zeta potensial. Uji zeta potensial dilakukan dengan pengukuran menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Sebanyak 2 tetes sampel SNEDDS diemulsikan kedalam 5 ml akuades, diambil 3 ml dan dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis.

5. Analisis Data

Data hasil optimasi SNEDDS HCT, uji karakterisasi nanoemulsi HCT yang meliputi waktu emulsifikasi, penetapan *drug loading*, persen trasmittan, ukuran partikel dan zeta potensial, masing-masing dibandingkan dengan hasil yang terdapat pada *Simplex Lattice Design* dan Uji-t.

6. Skema Penelitian



Gambar 6. Skema jalannya penelitian

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

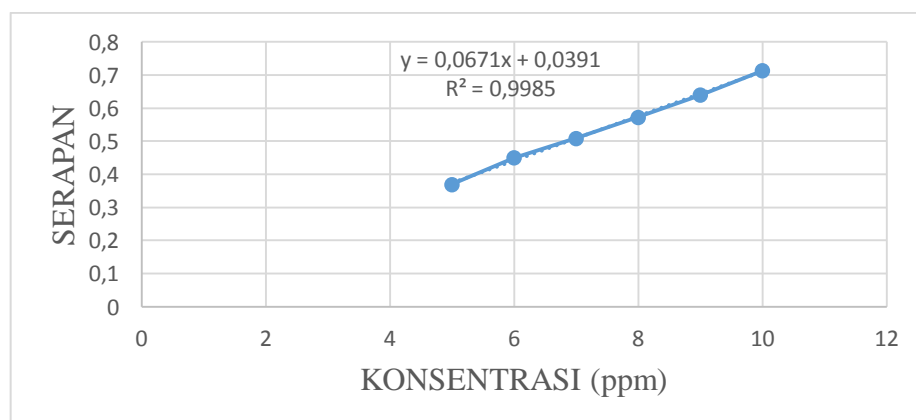
A. Kurva Kalibrasi dan Verifikasi Metode Analisis

1. Pembuatan kurva kalibrasi

1.1. Penentuan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum dari obat HCT dilakukan dengan *scanning* larutan induk HCT dengan konsentrasi 10 ppm pada panjang gelombang 220-320 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum HCT diperoleh pada panjang gelombang 270,5 nm dengan nilai serapannya sebesar 0,7094 nm. Hasil panjang gelombang maksimum HCT dapat dilihat pada Gambar 10.

1.2. Penentuan *operating time*. Penentuan *operating time* bertujuan untuk memudahkan dalam melihat kestabilan reaksi larutan dari suatu senyawa yang dianalisis. Reaksi larutan yang stabil ditunjukkan dengan tidak berubahnya nilai serapan selama waktu tertentu. *Operating time* ditentukan dengan menggunakan seri konsentrasi HCT yang paling besar yaitu 10 ppm selama 60 menit, karena pada konsentrasi tersebut panjang gelombang maksimum obat HCT dapat terbaca. Hasil *operating time* selama 60 menit menunjukkan bahwa larutan HCT stabil. Hasil *operating time* tertera pada Lampiran 2 (b).

1.3. Kurva kalibrasi



Gambar 7. Kurva kalibrasi HCT dalam medium metanol.

Grafik kurva kalibrasi antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi dapat dilihat pada Gambar 9. Kurva kalibrasi HCT dibuat dari medium metanol dengan

ditentukan dalam enam seri konsentrasi yaitu 5, 6, 7, 8, 9 dan 10 ppm, dimana pembacaan dilakukan secara *triplo*. Hasil serapan yang diperoleh dibuat plot antara konsentrasi (ppm) dan serapan yang dihasilkan. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y = 0,0391 + 0,0671x$, x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah serapan, dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9985. Persamaan regresi linear yang diperoleh telah memenuhi standar parameter linearitas yaitu memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) mendekati 0,999 dengan enam seri konsentrasi yang berbeda (Miller 1993).

2. Verifikasi metode analisis.

Verifikasi metode dilakukan untuk menjamin mutu analisis kuantitatif bahwa metode analisis bersifat akurat, spesifik, *respondusible*, dan tahan terhadap kisaran analit yang dianalisis (Gandjar & Rohman 2012). Parameter verifikasi metode analisis yang dilakukan yaitu penentuan linearitas, penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil verifikasi metode analisis ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 4. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi HCT

Parameter	Hasil
Linearitas (R^2)	0,9985
Batas deteksi (LOD)	0,0473
Batas kuantifikasi (LOQ)	0,0638

R^2 (koefisien determinasi) menjelaskan besarnya pengaruh variabel x (konsentrasi) terhadap variabel y (serapan). Hasil verifikasi metode analisis menunjukkan bahwa absorbansi yang dipengaruhi oleh HCT sebesar 99,85%. Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) menggunakan metode perhitungan berdasarkan simpangan baku respon dan kemiringan (*slope*) kurva baku. Simpangan baku respon dapat ditentukan berdasarkan simpangan blanko pada simpangan baku residual garis regresi linear atau intersep- y pada garis regresi. Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi serta memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko, sedangkan batas kuantifikasi merupakan parameter yang diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi cermat dan seksama (Harmita 2004). Penentuan batas deteksi menunjukkan bahwa jumlah

analit terkecil yang masih dapat dideteksi yaitu dengan konsentrasi 1,104 ppm, jika disubstitusikan kedalam persamaan $y = 0,0391 + 0,0671x$ diperoleh nilai serapan LOD 4,5054 yang berarti nilai serapan tersebut dibawah batas deteksi sehingga tidak dapat diterima dalam analisa analit.

B. Pembuatan Formula SNEDDS HCT

Penentuan formula SNEDDS dilakukan untuk mengetahui kualitas SNEDDS dalam melarutkan HCT pada masing-masing perbandingan formula menggunakan aplikasi *Simplex Lattice Design* pada program *Design Expert 7.1.5*, dimana terdiri tiga komponen yaitu minyak zaitun, tween 80 dan PEG 400 dengan *order* digunakan model *quadratic* sehingga diperoleh empat belas formula. Hasil perbandingan formula dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil perbandingan formula SNEDDS HCT berdasarkan *Simplex Lattice Design*

Select	Std	Run	Component 1 A: minyak zaitun %	Component 2 B: tween 80 %	Component 3 C: PEG 400 %	Response 1 waktu emulsifikasi detik	Response 2 transmittan %	Response 3 drug loading ppm
1		13	100.000	0.000	0.000	25	23.49	71.32
2		11	50.000	50.000	0.000	16	15.76	17.43
3		4	50.000	0.000	50.000	15	16.13	49.51
4		12	0.000	100.000	0.000	20	11.53	26.13
5		8	0.000	50.000	50.000	14	25.56	15.63
6		1	0.000	0.000	100.000	20	13.01	40.13
7		5	66.667	16.667	16.667	30	4.32	11.28
8		10	16.667	66.667	16.667	34	48.1	17.66
9		9	16.667	16.667	66.667	30	8.53	30.54
10		14	33.333	33.333	33.333	40	33.71	12.08
11		2	100.000	0.000	0.000	26	24.31	60.34
12		3	0.000	100.000	0.000	25	11.12	45.48
13		7	0.000	0.000	100.000	24	12.82	49.25
14		6	50.000	50.000	0.000	13	15.63	16.46

Masing-masing formula dibuat SNEDDS 10 mL sesuai perbandingan. Minyak zaitun sebagai fase minyak, tween 80 sebagai surfaktan dan PEG 400 sebagai kosurfaktan.

Formula yang sudah diketahui tersebut kemudian dibuat SNEDDS dengan mencampurkan minyak, surfaktan dan kosurfaktan sesuai dengan perbandingan formula. Hasilnya kemudian ditambahkan obat HCT yang sudah ditimbang 25 mg dan *dimixing* menggunakan *magnetic stirrer* yang dilakukan pada suhu ruang. Proses *mixing* dilakukan selama 15 menit dengan kecepatannya dijaga konstan (melalui orientasi 500 rpm) hingga diperoleh nanoemulsi yang homogen. Tujuan dari penggunaan *magnetic stirrer* adalah untuk meningkatkan homogenitas nanoemulsi dengan memperkecil ukuran partikelnya. Hasil pembuatan SNEDDS

tersebut terdapat beberapa formula yang mengalami fase pemisahan yaitu pada formula 2, dan 14 (Lampiran 3). Kondisi tersebut mengakibatkan formula SNEDDS menjadi tidak homogen.

Proses selanjutnya dilakukan uji karakterisasi SNEDDS, dimana keempat belas formula hasil karakterisasi tersebut nantinya akan dilakukan studi optimasi untuk menentukan satu formula yang paling optimum dan sesuai dengan syarat masing-masing parameter karakterisasi.

C. Karakterisasi SNEDDS HCT

Sediaan nanoemulsi dikatakan stabil dan memenuhi syarat apabila memiliki pengamatan visual yang jernih, tidak terjadi pemisahan antar fase, memiliki tipe nanoemulsi *O/W*, nilai persen transmittan mendekati 100%, nilai *drug loading* atau kadar obat yang semakin tinggi, waktu terbentuknya nanoemulsi < 1 menit serta ukuran *droplet* <100 nm dan zeta potensial +25 mV atau -25 mV. Karakterisasi SNEDDS HCT dilakukan dengan menggunakan alat *magnetic stirrer* untuk waktu emulsifikasi, spektrofotometer UV-Vis untuk penentuan *drug loading* serta persen transmittan dan PSA untuk penentuan ukuran partikel serta nilai zeta potensial. Hasil karakterisasi SNEDDS HCT dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil karakterisasi SNEDDS HCT

Formula SNEDDS	Komponen SNEDDS			Karakterisasi SNEDDS		
	Minyak zaitun	Tween 80	PEG 400	Waktu emulsifikasi (detik)	Penentuan drug loading (ppm)	Persen transmittan (%)
1	1,000	0,000	0,000	25,00±1,26	23,49±0,183	71,32±0,100
2	0,500	0,500	0,000	16,00±0,87	15,76±0,390	17,43±0,540
3	0,500	0,000	0,500	15,00±0,76	16,13±0,014	49,51±0,100
4	0,000	1,000	0,000	20,00±0,58	11,53±0,0016	26,13±1,480
5	0,000	0,500	0,500	14,00±0,29	25,56±0,001	15,63±0,121
6	0,000	0,000	1,000	20,00±1,53	13,01±0,014	40,13±0,448
7	0,667	0,167	0,167	30,00±0,00	4,32±0,0002	11,28±0,424
8	0,167	0,667	0,167	34,00±0,00	48,10±0,014	17,66±0,183
9	0,167	0,167	0,667	30,00±0,36	8,53±0,0016	30,54±0,183
10	0,333	0,333	0,333	4,00±0,20	33,71±0,0006	12,08±0,183
11	1,000	0,000	0,000	26,00±0,00	24,31±0,0043	60,34±0,99
12	0,000	1,000	0,000	25,00±0,55	11,12±0,0016	45,48±0,102
13	0,000	0,000	1,000	24,00±1,39	12,82±0,014	49,25±0,660
14	0,500	0,500	0,000	13,00±1,21	15,63±0,0003	16,46±0,520

1. Waktu emulsifikasi

Perhitungan waktu emulsifikasi dilakukan untuk mendapatkan gambaran waktu yang dibutuhkan SNEDDS dalam membentuk proporsi nanoemulsi yang jernih ketika berinteraksi dengan saluran cerna didalam tubuh. Pengamatan visual waktu emulsifikasi dapat dilihat pada Lampiran 4, sedangkan hasil perhitungan waktu emulsifikasi tertera dalam Tabel 6. Hasil yang diperoleh pada Tabel 6 tersebut yang menunjukkan waktu emulsifikasi paling cepat adalah formula 2 dan 5, keduanya memiliki konsistensi jernih dibandingkan formula lain (Lampiran 4) yang cenderung keruh dan ukuran globulnya masih besar. Formula 2 dan 5 berisi komponen tween 80 serta obat HCT, saat keduanya dicampurkan, obat cepat melarut kedalam tween 80 tersebut sehingga waktu yang diperlukan untuk emulsifikasi juga sangat cepat dibandingkan yang lain. Penampakan visual keduanya juga menunjukkan tidak terjadi pemisahan fase setelah dilakukan proses *mixing* dengan *magnetic stirrer*. Keseluruhan formula (F1-F14) mampu membentuk nanoemulsi dalam media *aquadest* 10 ml dengan rata-rata waktu yang dibutuhkan kurang dari satu menit. Penggunaan *aquadest* sebagai media untuk mencampur dengan SNEDDS karena *aquadest* netral terhadap komponen SNEDDS sehingga tidak akan mempengaruhi komposisi didalamnya. Hasil perhitungan waktu emulsifikasi SNEDDS HCT dilakukan pendekatan dengan aplikasi *Desain Expert versi 7.1.5* metode *Simplex Lattice design* kemudian diperoleh persamaan :

$$Y = 25,45 (A) + 23,21 (B) + 31,63 (C) - 36,69 (A)(B) - 57,55 (A)(C) - 50,97 (B)(C) + 839,05 (A)(B)(C) \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan :

Y = Waktu emulsifikasi (detik)

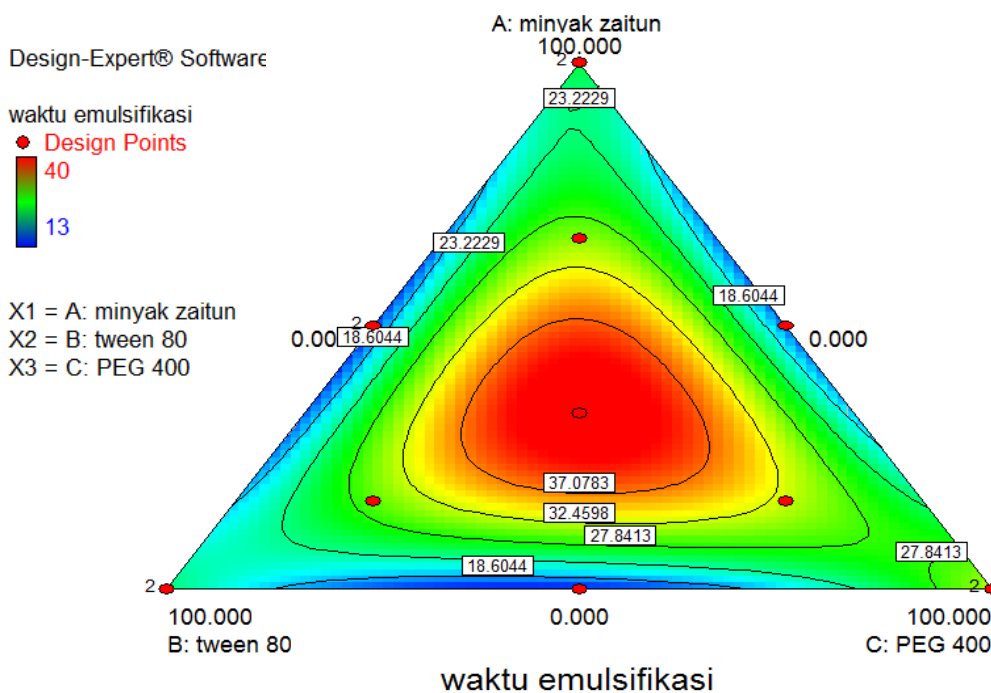
A = Minyak zaitun

B = Tween 80

C = PEG 400

Persamaan *Simplex Lattice Design* tersebut menjelaskan bahwa masing-masing komponen maupun campurannya saling mempengaruhi waktu emulsifikasi. Koefisien regresi menunjukkan nilai yang tinggi pada PEG 400 (C)

sebesar 36,69, nilai tersebut paling berpengaruh terhadap kecepatan waktu emulsifikasi dibandingkan komponen tween 80 (23,21); minyak zaitun (25,52) maupun campuran ketiganya (839,05). Persamaan diatas menunjukkan bahwa penambahan minyak zaitun terlalu banyak akan berakibat pada lamanya waktu emulsifikasi dan juga akan mempengaruhi fungsi dari komponen SNEDDS yang lainnya. Minyak zaitun dalam SNEDDS berperan sebagai pembawa obat. Jumlah komposisi minyak yang besar dalam SNEDDS akan menyebabkan kemampuan bahan surfaktan dan kosurfaktan untuk membentuk emulsi yang transparan akan semakin lama sehingga waktu emulsifikasinya semakin meningkat, demikian juga sebaliknya. Minyak zaitun memiliki kandungan asam oleat yang tinggi, dimana asam oleat tersebut mampu melakukan *self-emulsifying* serta kemampuan melarutkan obat yang tinggi, ketika obat cepat larut maka waktu emulsifikasi juga semakin cepat (Miryala & Kurakula 2013). *Contour plot* waktu emulsifikasi dapat dilihat pada Gambar 10. Hasilnya menandakan bahwa terdapat interaksi antara komponen SNEDDS yang satu dengan lainnya, hal tersebut ditunjukkan dengan adanya gradasi warna pada *contour plot*nya.



Gambar 8. *Contour plot* waktu emulsifikasi.

Hasil *contour plot* tersebut menunjukkan bahwa warna merah adalah batas dari nilai yang paling tinggi, sedangkan warna biru tua merupakan batas paling rendah, apabila waktu emulsifikasi semakin lama, maka pergerakan *contour plot* semakin keatas mendekati warna merah yaitu pada minyak zaitun, begitupun sebaliknya, jika waktu emulsifikasi semakin cepat maka *contour plot* akan bergerak kearah warna biru tua.

2. Penentuan drug loading

Penentuan *drug loading* dilakukan untuk mendapatkan nilai kadar obat dalam campuran nanoemulsi yaitu SNEDDS, jika nilai yang diperoleh semakin tinggi, maka obat dapat tersampaikan dengan baik ke sel target dalam tubuh tanpa terpengaruh dengan kondisi didalam saluran cerna karena adanya SNEDDS yang membantu mengikat obat tersebut. Hasil *drug loading* formula SNEDDS HCT yang paling tinggi tertera dalam Tabel 6. Hasil penentuan *drug loading* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum menunjukkan bahwa nilai kadar obat yang diperoleh paling tinggi diantara keempat belas formula SNEDDS HCT adalah formula 8 yaitu sebesar 40,19 ppm. Nilai kadar tersebut paling tinggi karena komposisi formula yang paling banyak adalah tween 80 sehingga mempengaruhi besarnya *drug loading*, karena tween 80 berperan dalam *self-emulsifying* didalam tubuh. Penentuan kadar tersebut dilakukan replikasi pembacaan serapan secara *triplo*, dengan digunakan metanol sebagai blanko. Kadar obat HCT diperoleh dari persamaan regresi linear $y = a + bx$, dimana nilai y sebagai serapan rata-rata sampel formula dan x sebagai nilai kadar obat (ppm). Hasil perhitungan waktu emulsifikasi SNEDDS HCT dilakukan pendekatan dengan aplikasi *Desain Expert versi 7.1.5* metode *Simplex Lattice Design* kemudian diperoleh persamaan :

$$Y = 21,93 (A) + 30,44 (B) + 15,65 (C) - 40,29 (A) (B) - 13,05 (A) (C) + 8,12 (B)(C) + 369,09(A)(B)(C) - 368,34(A)(B)(AB) + 253,96(A)(C)(AC) \dots \dots \dots (6)$$

Keterangan:

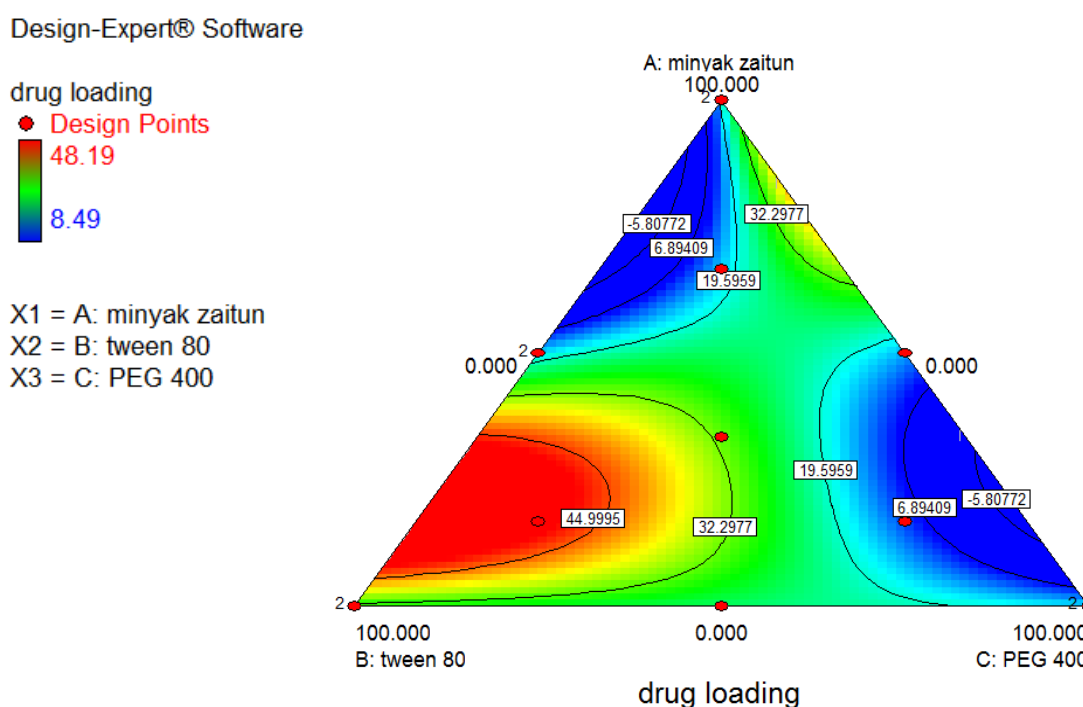
Y = *Drug loading* (ppm)

A = Minyak zaitun

B = Tween 80

C = PEG 400

Persamaan *Simplex Lattice Design* tersebut menjelaskan bahwa masing-masing komponen saling mempengaruhi dalam meningkatkan *drug loading*. Koefisien regresi menunjukkan peningkatan pada tween 80 (B) sebesar 30,44, nilai tersebut paling berpengaruh terhadap besarnya *drug loading* dibandingkan komponen minyak zaitun (21,93) dan PEG 400 (15,65). Peran tween 80 sebagai surfaktan terhadap nilai *drug loading* yaitu kemampuannya mensolubilisasi, menurunkan tegangan permukaan dan tegangan antar muka serta membasahi fase hidrofil maupun lipofil dari fase yang tidak saling bercampur (Rowe *et al.* 2009) sehingga meningkatkan kelarutan HCT dalam menghasilkan *drug loading*. *Contour plot* penentuan *drug loading* dapat dilihat pada Gambar 11. Hasilnya menandakan bahwa terdapat interaksi antara komponen SNEDDS yang satu dengan lainnya, hal tersebut ditunjukkan dengan adanya gradasi warna pada



Gambar 9. *Contour plot* penentuan *drug loading*.

Hasil *contour plot* tersebut menunjukkan bahwa warna hijau muda adalah batas dari nilai yang paling tinggi, sedangkan warna biru tua merupakan batas paling rendah, apabila *drug loading* semakin besar, maka pergerakan *contour plot*

semakin mendekati begitupun sebaliknya, jika *drug loading* semakin kecil nilainya maka *contour plot* tidak akan terjadi perbedaan warna.

3. Persen transmittan

Persen transmittan digunakan untuk menentukan SNEDDS HCT yang dibuat sudah termasuk dalam nanoemulsi dengan konsistensi kejernihan mendekati 100%. Persen transmittan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan *aquadest* sebagai blanko pada panjang gelombang maksimum 650 nm. Hasil pemeriksaan persen transmittan dapat dilihat pada Tabel 7. Hasil yang tertera pada Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai persen transmittan sudah mendekati angka 100%, hal ini membuktikan bahwa sediaan SNEDDS yang dibuat memiliki karakteristik jernih sehingga ukuran partikel tersebut tergolong nanoemulsi. Hasil penentuan persen transmittan SNEDDS HCT dilakukan pendekatan dengan aplikasi *Desain Expert versi 7.1.5* metode *Simplex Lattice Design* kemudian diperoleh persamaan (8)

$$Y = 72,85 (A) + 59,23 (B) + 61,44 (C) - 217,76 (A)(B) + 1,19 (A)(C) - 3,03 (B)(C) \dots \dots \dots (8)$$

Keterangan:

Y = Persen transmittan (%)

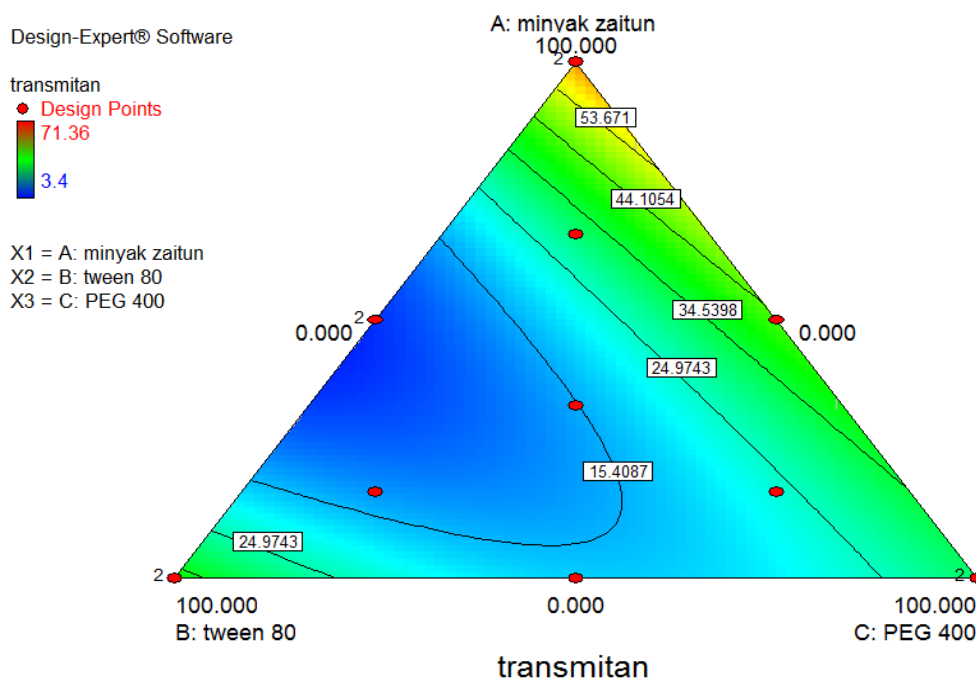
A = Minyak zaitun

B = Tween 80

C = PEG 400

Persamaan *Simplex Lattice Design* tersebut menjelaskan bahwa masing-masing komponen maupun campurannya saling mempengaruhi besarnya persen transmittan. Koefisien regresi menunjukkan peningkatan pada minyak zaitun (A) sebesar 72,85, nilai tersebut paling berpengaruh terhadap besarnya persen transmittan dibandingkan komponen tween 80 (59,23); PEG 400 (61,44); campuran antara minyak zaitun dan PEG 400 (1,19). Persamaan diatas menunjukkan bahwa penambahan minyak zaitun yang terlalu banyak dapat mempengaruhi konsistensi kejernihan dan fungsi dari komponen SNEDDS yang lain. Jumlah komposisi minyak yang besar dalam SNEDDS akan menyebabkan kemampuan bahan surfaktan dan kosurfaktan untuk membentuk emulsi yang transparan akan semakin sulit sehingga persen transmittan semakin meningkat, demikian juga sebaliknya. Minyak zaitun dalam SNEDDS berperan sebagai

pembawa obat, karena tipe emulsi SNEDDS adalah minyak dalam air (*O/W*), komposisi minyak yang sedikit dalam SNEDDS saat bertemu dengan air dapat bercampur secara cepat sehingga memperoleh tingkat kejernihan yang mendekati air dengan nilai persen transmittan sebesar 100% dan membentuk ukuran globul yang kurang dari 100 nm. Minyak zaitun memiliki kandungan asam oleat yang tinggi, dimana asam oleat tersebut mampu melakukan *self-emulsifying* serta kemampuan melarutkan obat yang tinggi, sehingga SNEDDS akan lebih cepat mencapai kejernihan karena obat dapat larut kedalam larutan pembawanya (Kurakula 2013).



Gambar 10. Contour plot persen transmittan.

Contour plot persen transmittan dapat dilihat pada Gambar 12. Hasilnya menandakan bahwa terdapat interaksi antara komponen SNEDDS yang satu dengan lainnya, hal tersebut ditunjukkan dengan adanya gradasi warna pada *contour plot*nya. Hasil *contour plot* tersebut menunjukkan bahwa warna merah adalah batas dari nilai yang paling tinggi, sedangkan warna biru tua merupakan batas paling rendah, apabila persen transmittan semakin besar, maka pergerakan *contour plot* semakin keatas mendekati warna merah, begitupun sebaliknya, jika

persen transmittan semakin kecil maka *contour plot* tidak akan terjadi perbedaan warna.

D. Penentuan Formula Optimum SNEDDS HCT

Formula optimum SNEDDS HCT ditentukan berdasarkan hasil uji karakterisasi dari waktu emulsifikasi, penentuan *drug loading*, dan persen transmittan, kemudian dilakukan studi optimasi menggunakan *Simplex Lattice Design* pada program *Design Expert 7.1.5*. Optimasi berguna dalam penentuan komposisi SNEDDS HCT yang mampu menghasilkan nanoemulsi stabil dan tidak terjadi pemisahan antar fase setelah pencampuran. Hasil penentuan formula optimum menggunakan bobot dan *goal* dari uji karakterisasi SNEDDS seperti yang tercantum pada Tabel 6. Nilai *desirability* yang diperoleh termasuk sangat baik yaitu 1,00, nilai tersebut menandakan bahwa komposisi SNEDDS optimum.

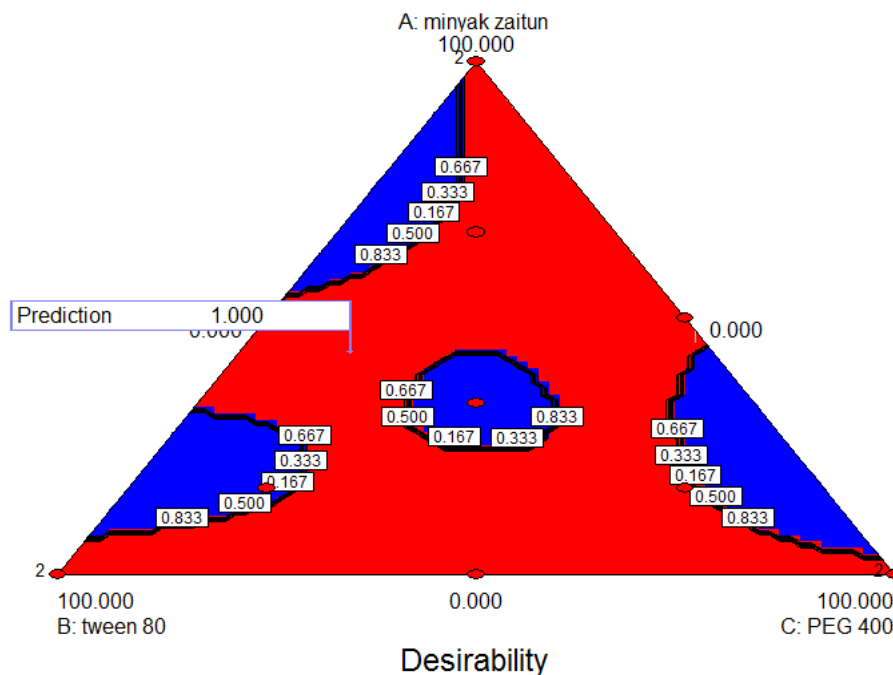
Tabel 7. Nilai dan Bobot dari uji karakteristik formula optimum SNEDDS HCT.

Lower Limit	Upper Limit	Goal	Uji Karakteristik
13	40	In range	Waktu emulsifikasi
3,4	71,36	In range	Transmittan
8,49	48,19	In range	<i>Drug loading</i>

Contour plot desirability formula optimum dapat dilihat pada Gambar 13. *Desirability* menyatakan besarnya nilai yang sesuai dengan yang dikehendaki, tercapainya nilai yang maksimum pada *desirability* menandakan bahwa pemilihan *goal* pada ketiga uji karakterisasi sudah tepat. Hasil dari optimasi dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 8. Prediksi formula optimum menggunakan *Simplex Lattice Design*

Komponen SNEDDS	Formula Optimum	Karakterisasi SNEDDS		
		Waktu emulsifikasi	Transmittan	<i>Drug Loading</i>
Minyak Zaitun	4,33 ml			
Tween 80	4,33 ml	33,15 detik	10,21 %	30,57 ppm
PEG 400	1,34 ml			



Gambar 11. Contour plot desirability formula optimum.

Hasil pada Tabel 7 menunjukkan bahwa formula optimum diprediksi pada komponen SNEDDS yaitu minyak zaitun sebesar 4,33; tween 80 sebesar 4,33; dan PEG 400 sebesar 1,34 yang akan menghasilkan nilai pada uji karakterisasi waktu emulsifikasi sebesar 33,15 detik, *drug loading* sebesar 30,57 ppm dan persen transmittan sebesar 10,21%.

E. Ukuran Partikel dan Distribusi partikel formula optimum

Ukuran partikel sangat penting dalam pembuatan suatu nanopartikel, maka dari itu pengamatan ukuran partikel dapat dilakukan menggunakan alat PSA (*Particle Size Analyzer*). Ukuran partikel dapat dipengaruhi oleh jenis konsentrasi penstabil, kecepatan homogenisasi dan konsentrasi polimer. Hasil ukuran partikel dari penelitian ini secara keseluruhan dapat dilihat pada tabel 8, bahwa ukuran partikel tersebut masuk dalam rentang ukuran nanopartikel, karena ukurannya 229,65 nm dimana hasil menunjukkan < dari 500 nm sehingga dapat dikatakan sebagai nanopartikel.

Indeks polidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel (Nindin *et al.* 2008). Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Nilai indeks yang mendekati 0 menunjukkan disperse ukuran yang homogen, sedangkan indeks polidispersitas dengan nilai lebih dari 0,5 menunjukkan heterogenitas yang tinggi (Avadi *et al.* 2010). Hasil penelitian muncul 2 pick pada distribusi ukuran partikel yaitu menunjukkan bahwa distribusi ukuran partikel tidak homogen sehingga muncul 2 pick, hal ini dikarenakan pengadukan yang kurang lama dan terdapat jeda pada saat analisis sehingga SNEDDS yang tidak bermuatan ini membentuk globul yang besar sehingga terflokulasi.

F. Zeta Potensial Formula Optimum

Potensial zeta menunjukkan kestabilan dari koloid. Interaksi antar partikel mempunyai peran penting dalam stabilitas dari suatu koloid. Potensial zeta merupakan ukuran kekuatan tolak menolak antara partikel. Sebagian besar sistem koloid dalam air distabilkan oleh gaya tolak elektrostatis, semakin besar kekuatan tolak menolak antara partikel maka semakin kecil kemungkinan partikel untuk bergabung dan membentuk agregat. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih dari +/- 25 Mv telah terbukti stabil dalam suspensi sebagai muatan permukaan yang mencegah agregasi. Hasil penelitian uji zeta potensial menunjukkan hasil bahwa konduktivitas < 0,2 sehingga dapat dikatakan bahwa SNEDDS tidak bermuatan.

Tabel 9. Ukuran partikel dan zeta potensial formula optimum

Komponen SNEDDS	Formula Optimum	Karakterisasi SNEDDS		
		Ukuran partikel	Zeta potensial	Pdi
Minyak Zaitun	4,33 ml			
Tween 80	4,33 ml	229,65±6,87	-89,7±12,72	0,68±0,31
PEG 400	1,34 ml			

G. Verifikasi Formula Optimum SNEDDS HCT

Formula optimum yang dipilih yaitu formula yang memiliki komponen SNEDDS HCT dengan minyak zaitun sebesar 4,33 ml; tween 80 sebesar 4,33 ml; dan PEG 400 sebesar 1,34 ml. Hasil karakterisasi SNEDDS HCT yang telah diujikan berdasarkan formula optimum tersebut dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 10. Hasil uji karakterisasi SNEDDS HCT sesuai formula optimum

Karakterisasi SNEDDS	Prediksi <i>SLD</i>	Hasil percobaan
Waktu emulsifikasi (detik)	33,15	32,9 ±0,36*
<i>Drug loading</i> (ppm)	30,57	30,04±0.51*
Persen transmitan (%)	10,21	9,95±0.21*

*: tidak berbeda bermakna ($p>0,05$), **: terdapat perbedaan bermakna

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Hasil optimasi formula optimum yaitu minyak zaitun sebesar 4,33ml; tween 80 sebesar 4,33 ml; dan PEG 400 sebesar 1.34 ml.
2. Hasil uji karakterisasi dari formula optimum yaitu waktu emulsifikasi sebesar 20,6 detik, *drug loading* sebesar 26,52 ppm, persen transmitan sebesar 47,86%, ukuran partikel 229,65 dan zeta potensialnya -89,7.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk modifikasi pembuatan sediaan SNEDDS menjadi *solid*-SNEDDS dalam upaya meningkatkan kualitas sediaan farmasi.

Kedua, perlu pelepasan obat secara *in-vivo* dari HCT murni dengan SNEDDS.

DAFTAR PUSTAKA

- Amstrong NA, James KC. 1986. Pharmaceutical experimental design and interpretation. Taylor and Francis Ltd, London, Gunpowder Square 205-215.
- Ansel HC, Popovich HG, Allen Jr Lv. 2011. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 9th Ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. Hlm 236-238.
- Anton N, Benoit JP, Saulnier P. 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates. *J Control Release* 128: 185-199.
- Anton N, Vandame TF. 2009. The university of low-energy nano-emulsification. *Int J Pharm.* 377: 142-147.
- Avadi, M.R., Assal M.M.S., Nasser M., Saideh A., Fatemeh A., Rassoul D., dan Morteza R. 2010. Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticle Using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelatin Method. *Nanomedicine: Nanohecnology, Biology, and Medicine* 6. Pages : 58-63
- Bhatt P, Madhav S. 2011. A detailed review on nanoemulsion drug delivery system. *Int Journal Of Pharmaceutical Science and Research* 2:2482-2489.
- Bouchemal K, Briancon S, Fessi H, Perrier E. 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil, and surfactant optimisation. *Int. J. Pharm* 280: 241-251.
- Departemen Kesehatan RI., 2014, *Informatorium Obat Nasional Indonesia 2014*, CV. Sagung Seto, Jakarta.
- Donsi F, Huang Q, Wang Y. 2011. *Freezeethaw Stability Of Lecithin and Modified Starch-Based Nanoemulsion*. *Food Hydrocolloids* 25:1327-1336.
- Fanum M. 2010. *Colloids in Drug Delivery*. CRC Press: Florida.
- Fathoroni A. 2014. Formulasi SNEDDS simvastatin menggunakan surfaktan tween 80 dan kosurfaktan PEG 400 [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Florentia S. 2013. Optimasi formula tablet hisap ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Sceff.] Boerl.) menggunakan campuran pengisi laktosa-sorbitol dengan metode *Simplex Latice Design* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.

- Holm, R., Jensen, I.H.M., Sonnergaard, J., 2006. Optimization of *self-microemulsifying drug delivery systems* (SMEDDS) using a D-optimal design and the desirability function. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 32, 1025–1032.
- Kim HJ, Yoon KA, Hahn M, Park ES, Chi SC. 2000. Preparation and in vitro evaluation of Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems containing idebenone. *Drug Dev and In Pharm* 26(5): 523-529.
- Makadia H. 2013. *Self-nanoemulsifying drug delivery system* (SNEDDS) : future aspect. *Asian J. Pharm. Res.* 3(1):21-27.
- Mason TG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves SM. 2006. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *J Phys Condens Matter* 18: 635-666.
- MIMS. 2013. *Mims Bahasa Indonesia Edisi 14*. Jakarta : PT Bhuana Ilmu Populer (Kelompok gramedia). H 439.
- Miryala V, Kurakula M. 2013. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) for oral delivery of atorvastatin-formulation and bioavailability studies. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 3(3): 131-142.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D. dan Widdop, B., 2011, Clarke's *Analysis of Drugs and Poisons*, 4th ed., Pharmaceutical Press, London, p. 1493.
- Mozayani, A., dan Raymon, L., 2012, *Handbook of Drug Interaction: A clinican and Forensic Guide*, 2nd ed, Springer Science Bussines Media LLC, New York, p.340.
- Nazzal S, Smalyukh II, Lavrentovich OD, Khan MA. 2002. Preparation and in vitro characterization of a eutectic based semisolid self nanoemulsified drug delivery systems (SNEDDS) of ubiquinone: mechanism and progress of emulsion formation. *Int J Pharm* 235: 247-265.
- P. Sanphui and L. Rajput. "Tuning solubility and stability of hydrocholo-thiazide co-crystals" *Acta Crystallographica Section B: structural Science, Crystal Engineering and materials*, vol.70, n0. 1, pp. 81-90, 2014.
- Patel J, Kevin G, Patel A, Raval M, Sheth N. 2011a . Design and development of a Self-nanoemulsifying Drug Delivery System for Telmisartan of Oral Drug Delivery. *Int J Pharm Investig* 1: 112-118.
- Patel J, Patel A, Raval M, Sheth N. 2011b. Formulation and development of a Self-nanoemulsifying Drug Delivery System of Irbesartan. *J Adv Pharm Technol Res* 2:9-16.

- Patel J, Shah A. 2008. Self emulsifying delivery systems for poorly absorbed drugs. *Int J Pharm Sci and Nano Tech* 1(2): 123-128.
- Porter CJ, Pouton CW. 2008. Formulation of Lipid-Based Delivery System For Oral Administration : Materials, Methods and Strategies. *Adv. Drug Deliv. Rev* 60(6): 625-637.
- Prajapati BG, Patel MM. 2007. Conventional and alternative pharmaceutical methods to improve oral bioavailability of lipophilic drugs. *Asian journal of pharmaceutics* 1(1): 1-8.
- Pratiwi L, Fudholi A, Martien R, Pramono S. 2016. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) of ethyl acetate fraction from mangosteen peel (*Garcinia mangostana, L*). *Int Journal of Pharm Tech Research* 9(6): 380-387.
- Qian C, DJ McClements. 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25:1000-1008.
- Reiss H. 1975. Entropy-induced dispersion of bulk liquids. *J Colloids Interface Sci* 53:61-70.
- Rowe, R.C., Paul J, Sheskey, P.J. & Quinn M. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. London: *Pharmaceutical Press*.
- Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Faisal MS, Shafiq S. 2008. Stability evaluation of celecoxib nanoemulsion containing tween 80. *Thai Journal Pharm Sci*: 32-49.
- Sheikh S, Shakeel F, Talegonkar S, Ahmad F, Khar R, Ali M. 2007. *Development and Bioavailability Assessment Of Rampipril Nanoemulsion Formulation*. *Eur J Pharm Biopharm* 66:227-43.
- Silva HD, Miguel AC, Antonio AV. 2012. *Nanoemulsions for food applications: development and characterization*. *Food Bioprocess Technol* 5:854-867
- Solans C, Sadurni N, Azemar N, Garcia MJ. 2005. Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications. *Eur J Pharm Sci* 26: 438-445.
- Vergote GJ, Vervaet C, Van DI, Hoste S, Smedt DS, Demesteer J, Jain RA, Ruddy S, Remon JP. 2001. An oral controlled release matrix pellet formulation containing nanocrystalline ketoprofen. *Int J Pharm* 291(1): 81-87.

- Wahyuningsih I, Sugiyanto, Yuswanto A, Martien R. 2015. Uji kelarutan untuk seleksi fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan dalam preparasi self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) furosemide. *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*. 1-6.
- Yuliani HS, Hartini M, Stephanie, Pudyastuti B, Istyastono EP. 2016. Comparison of physical stability properties of *Pomegranate* seed oil nanoemulsion dosage forms with long-chain triglyceride and medium-chain triglyceride as the oil phase. *Traditional Medicine Journal* 21(2): 93-98.
- Zhao T. 2015. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for the oral delivery of lipophilic drugs. Departement of Industrial Engineering University of Trento: Italy.
- Zhongcheng K, Zhu ZP, Xu ZY, Fang C, Hu SQ. 2015. Formulation design and *In Vitro* evaluation of Berberine loaded Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System. *Trop J Pharm Research* 14(5): 747-752.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Kurva kalibrasi dan verifikasi metode analisis

➤ Pembuatan larutan induk

Berat HCT	= 100 mg
Volume metanol	= 100 ml
Larutan stok	= 100 mg/100 ml
	= 1000 ppm

Larutan induk 1000 ppm ➡ dibuat dalam 100 ml, memipet 1 ml dari larutan stok, diperoleh kadar HCT :

$V_1 \times C_1$	= $V_2 \times C_2$
1 ml x 1000 ppm	= 100 ml x C2
C2	= 1000 ml/100 ml
C2	= 10 ppm

➤ Perhitungan dalam kurva baku

Larutan induk HCT dibuat seri konsentrasi 5, 6, 7, 8, 9 dan 10 ppm dalam 10 ml.

1. 5 ppm

$V_1 \times C_1$	= $V_2 \times C_2$
10 ml x 5 ppm	= $V_2 \times 100$ ppm
V2	= 0,5 ml

2. 6 ppm

$V_1 \times C_1$	= $V_2 \times C_2$
10 ml x 6 ppm	= $V_2 \times 100$ ppm
V2	= 0,6 ml

3. 7 ppm

$V_1 \times C_1$	= $V_2 \times C_2$
10 ml x 7 ppm	= $V_2 \times 100$ ppm
V2	= 0,7 ml

4. 8 ppm

$V_1 \times C_1$	= $V_2 \times C_2$
10 ml x 8 ppm	= $V_2 \times 100$ ppm
V2	= 0,8 ml

5. 9 ppm

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$10 \text{ ml} \times 9 \text{ ppm} = V2 \times 100 \text{ ppm}$$

$$V2 = 0,9 \text{ ml}$$

6. 10 ppm

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$100 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm} = V2 \times 1000 \text{ ppm}$$

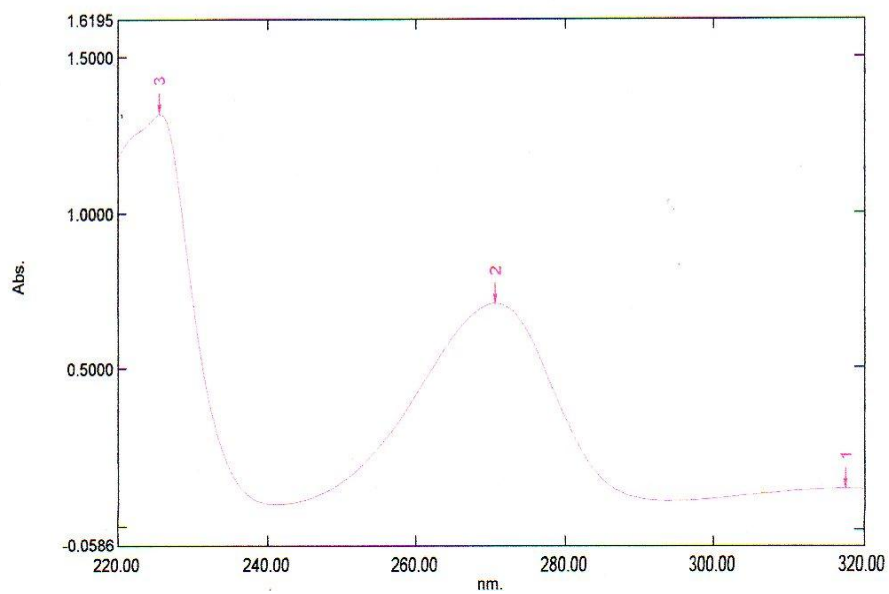
$$V2 = 1 \text{ ml}$$

a. Penetapan panjang gelombang maksimum

Spectrum Peak Pick Report

04/10/2018 11:50:10 AM

Data Set: File_180410_114822 - RawData



[Measurement Properties]
 Wavelength Range (nm.): 220.00 to 320.00
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 0.5
 Auto Sampling Interval: Disabled
 Scan Mode: Single

[Instrument Properties]
 Instrument Type: UV-1800 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1.0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340.0 nm
 S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
 Attachment: None

[Operation]
 Threshold: 0.0010000
 Points: 4
 InterPolate: Disabled
 Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	①	317.50	0.1136	
2	①	270.50	0.7094	
3	①	225.50	1.3168	
4	①	293.50	0.0756	
5	①	241.50	0.0665	

Panjang gelombang maksimum larutan HCT sebesar 270,50 nm dengan nilai serapannya sebesar 0,7094

b. Penentuan *operating time*

Time (Minute)	RawData ...
0.0000	0.7126
1.0000	0.7125
2.0000	0.7142
3.0000	0.7146
4.0000	0.7155
5.0000	0.7168
6.0000	0.7174
7.0000	0.7193
8.0000	0.7205
9.0000	0.7210
10.0000	0.7222
11.0000	0.7231
12.0000	0.7236
13.0000	0.7240
14.0000	0.7246
15.0000	0.7258
16.0000	0.7261
17.0000	0.7270
18.0000	0.7276
19.0000	0.7289
20.0000	0.7297
21.0000	0.7302
22.0000	0.7306
23.0000	0.7319
24.0000	0.7319
25.0000	0.7328
26.0000	0.7338
27.0000	0.7340

28.0000	0.7356
29.0000	0.7359
30.0000	0.7365
31.0000	0.7380
32.0000	0.7390
33.0000	0.7400
34.0000	0.7406
35.0000	0.7424
36.0000	0.7434
37.0000	0.7449
38.0000	0.7466
39.0000	0.7467
40.0000	0.7489
41.0000	0.7499
42.0000	0.7505
43.0000	0.7521
44.0000	0.7539
45.0000	0.7545
46.0000	0.7559
47.0000	0.7568
48.0000	0.7579
49.0000	0.7593
50.0000	0.7604

Time (Minute)	RawData ...
51.0000	0.7617
52.0000	0.7626
53.0000	0.7655
54.0000	0.7652
55.0000	0.7664
56.0000	0.7676
57.0000	0.7687
58.0000	0.7696
59.0000	0.7706
60.0000	0.7713

Scanning operating time menunjukkan bahwa sampel larutan HCT pada seri konsentrasi 10 ppm stabil, ditunjukkan dengan nilai serapan yang stabil selama 30 menit.

c. Kurva kalibrasi

Konsentrasi (ppm)	Serapan			Rata - rata	SD
	Pembacaan 1	Pembacaan 2	Pembacaan 3		
5	0,366	0,380	0,365	0,370	0,008386
6	0,450	0,447	0,453	0,450	0,003
7	0,509	0,509	0,509	0,509	0
8	0,559	0,559	0,565	0,561	0,003464
9	0,644	0,637	0,639	0,640	0,003606
10	0,717	0,710	0,714	0,714	0,003512

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

$$a = 0,0391$$

$$b = 0,0671$$

$$r = 0,9985$$

keterangan: x = konsentrasi (ppm) : y = serapan

d. verifikasi metode analisis

Konsentrasi (ppm)	Serapan (y)	\hat{y}	$y - \hat{y}$	$ y - \hat{y} ^2$
5	0,370	0,3746	0,0046	0,00002116
6	0,450	0,4417	0,0083	0,00006889
7	0,509	0,5088	0,0002	0,00000004
8	0,573	0,5759	0,0029	0,00000841
9	0,640	0,643	-0,003	-0,000009
10	0,713	0,7101	0,0029	0,00000841
Jumlah total ($\Sigma y - \hat{y} ^2$)				

Nilai \hat{y} diperoleh dari substitusi konsentrasi (x) dalam persamaan $y = a+bx$, yaitu $0.0391 + 0.0671x$, 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

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

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{0,0000979}{6-2}} = 0,00247361$$

$$\text{LOD} = 3,3 \times \frac{S_{x/y}}{b}$$

$$\text{LOD} = 3,3 \times \frac{0,00247361}{0,0671}$$

$$\text{LOD} = 0,122 \text{ ppm}$$

$$y = 0,0391 + (0,0671 \times 0,122)$$

$$\text{Serapan LOD} = 0,0473 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{S_{x/y}}{b}$$

$$= 10 \times \frac{0,00247361}{0,0671}$$

$$= 0,3686 \text{ ppm}$$

$$y = 0,0391 + (0,0671 \times 0,3686)$$

$$\text{Serapan LOQ} = 0,0638 \text{ ppm}$$

Lampiran 2. Pembuatan formula SNEDDS HCT

Select	Std	Run	Component 1 A: minyak zaitu %	Component 2 B:tween 80 %	Component 3 C:PEG 400 %	Response 1 waktu emulsifi detik	Response 2 transmittan %	Response 3 drug loading ppm
	1	13	100.000	0.000	0.000	25	23.49	71.32
	2	11	50.000	50.000	0.000	16	15.76	17.43
	3	4	50.000	0.000	50.000	15	16.13	49.51
	4	12	0.000	100.000	0.000	20	11.53	26.13
	5	8	0.000	50.000	50.000	14	25.56	15.63
	6	1	0.000	0.000	100.000	20	13.01	40.13
	7	5	66.667	16.667	16.667	30	4.32	11.28
	8	10	16.667	66.667	16.667	34	48.1	17.66
	9	9	16.667	16.667	66.667	30	8.53	30.54
	10	14	33.333	33.333	33.333	40	33.71	12.08
	11	2	100.000	0.000	0.000	26	24.31	60.34
	12	3	0.000	100.000	0.000	25	11.12	45.48
	13	7	0.000	0.000	100.000	24	12.82	49.25
	14	6	50.000	50.000	0.000	13	15.63	16.46

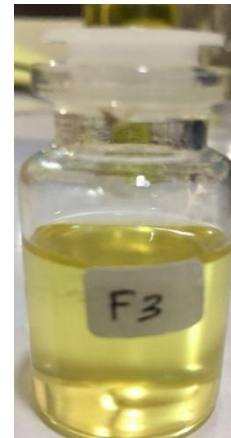
Visualisasi formula SNEDDS HCT yang sudah dibuat



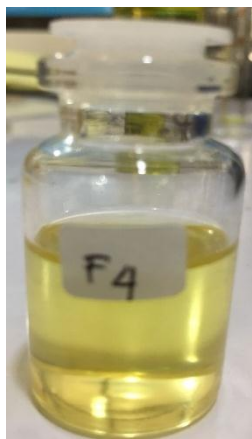
1:0:0
(jernih, tidak memisah)



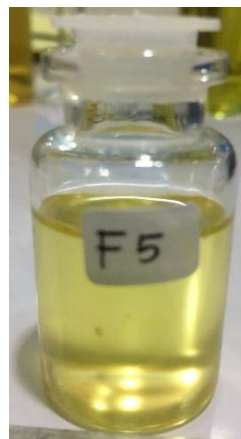
0,5:0,5:0
(jernih, memisah)



0,5:0:0,5
(jernih, tidak memisah)



0:1:0
(jernih, tidak memisah)



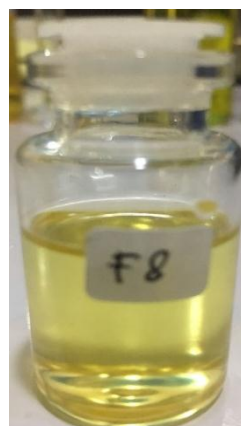
0:0,5:0,5
(jernih, tidak memisah)



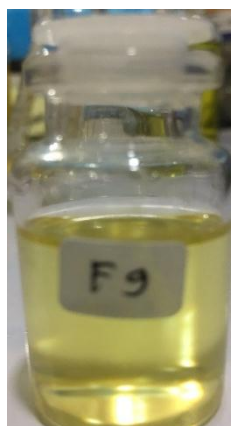
(jernih, tidak memisah)



0,667:0,167:0,167
(jernih, tidak memisah)



0,167:0,667:0,167
(jernih, tidak memisah)



0,167:0,167:0,167
(jernih, tidak memisah)



0,333:0,333: 0,333
(jernih, tidak memisah)



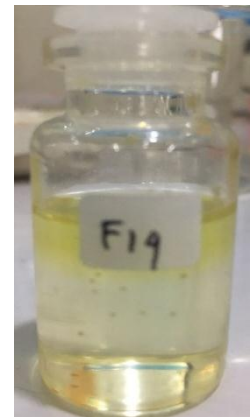
1:0:0
(jernih, tidak memisah)



0:1:0
(jernih, tidak memisah)



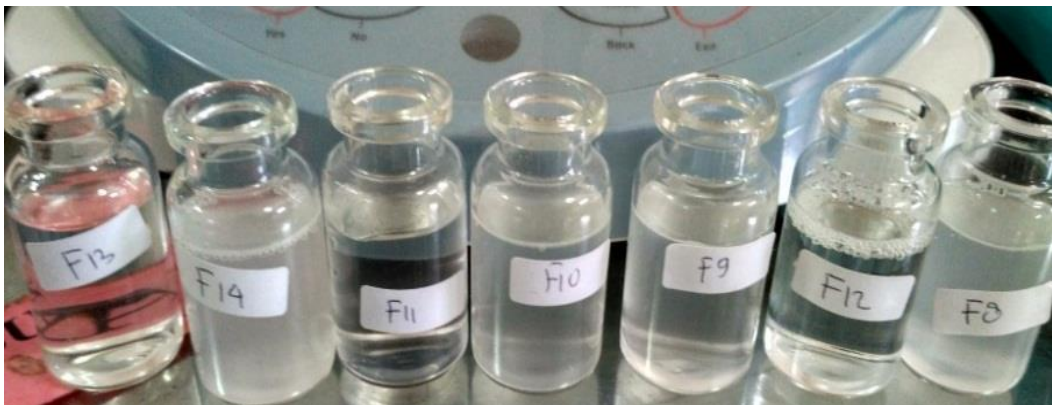
0:0:1
(jernih, tidak memisah)



0,5:0,5:0
(jernih, memisah)

Lampiran 3. Karakterisasi SNEDDS HCT.

a. Waktu emulsifikasi



Waktu emulsifikasi



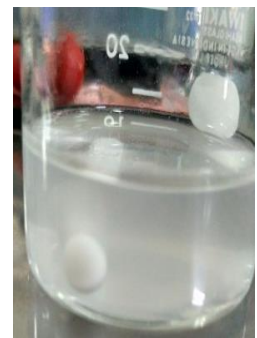
F1
(keruh, globul kecil)



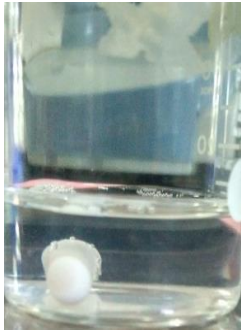
F2
(keruh, globul kecil)



F3
(keruh, globul kecil)



F4
(jernih)



F5
(jernih)



F6
(jernih)



F7
(keruh, globul kecil)



F8
(keruh)



F9
(jernih)



F10
(jernih)



F11
(keruh, globul besar)



F12
(jernih)



F13
(jernih)



F14
(keruh, globul kecil)

b. Penentuan *drug loading*

Sampel formula	Serapan			Rata - rata	Kadar obat (ppm)
	Pembacaan 1	Pembacaan 2	Pembacaan 3		
1	0,198	0,196	0,199	0,197	23,49
2	0,144	0,142	0,149	0,145	15,76
3	0,149	0,142	0,152	0,147	16,13
4	0,116	0,117	0,115	0,116	11,53
5	0,204	0,211	0,219	0,211	25,56
6	0,128	0,125	0,127	0,126	13,01
7	0,066	0,070	0,068	0,068	4,32
8	0,378	0,355	0,348	0,362	48,10
9	0,096	0,095	0,096	0,096	8,53
10	0,193	0,204	0,203	0,265	33,71
11	0,204	0,203	0,201	0,202	24,31
12	0,113	0,116	0,114	0,114	11,12
13	0,128	0,129	0,120	0,125	12,82
14	0,148	0,145	0,141	0,144	15,63

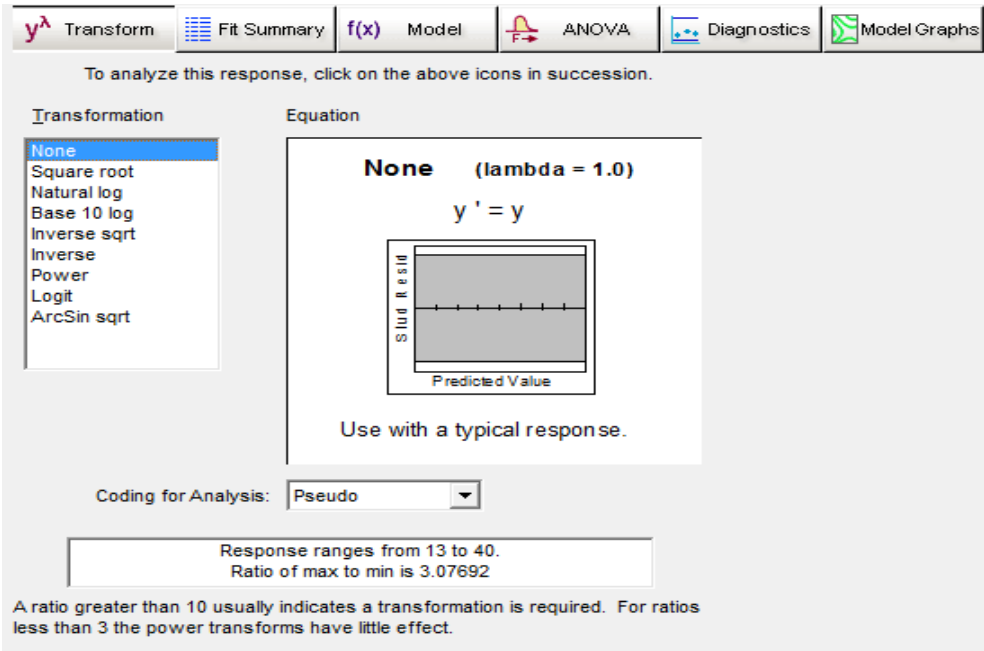
Nilai kadar diperoleh dari persamaan $y = a + bx$, dimana nilai y adalah absorbansi rata – rata sampel formula sedangkan x adalah kadar obat (ppm)

a =	0,0391								
b =	0,0671								
r =	0,9985								
kadar obat diperoleh dari persamaan $y = a + bx$									
1	$y = a + bx$		6	$y = a + bx$		11	$y = a + bx$		
	$0,197 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,126 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,202 = 0,0391 + 0,0671x$		
	23,49			13,01			24,31		
2	$y = a + bx$		7	$y = a + bx$		12	$y = a + bx$		
	$0,145 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,068 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,114 = 0,0391 + 0,0671x$		
	15,76			4,32			11,12		
3	$y = a + bx$		8	$y = a + bx$		13	$y = a + bx$		
	$0,147 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,362 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,125 = 0,0391 + 0,0671x$		
	16,13			48,10			12,82		
4	$y = a + bx$		9	$y = a + bx$		14	$y = a + bx$		
	$0,116 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,096 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,144 = 0,0391 + 0,0671x$		
	11,53			8,53			15,63		
5	$y = a + bx$		10	$y = a + bx$					
	$0,211 = 0,0391 + 0,0671x$			$0,265 = 0,0391 + 0,0671x$					
	25,56			33,71					

Lampiran 4. Simplex Lattice Design

a. Waktu emulsifikasi

Transformasi waktu emulsifikasi



To analyze this response, click on the above icons in succession.

Transformation

- None
- Square root
- Natural log
- Base 10 log
- Inverse sqrt
- Inverse
- Power
- Logit
- ArcSin sqrt

Equation

None (lambda = 1.0)

$$y' = y$$

Slurk Resid

Predicted Value

Use with a typical response.

Coding for Analysis: Pseudo

Response ranges from 13 to 40.
Ratio of max to min is 3.07692

A ratio greater than 10 usually indicates a transformation is required. For ratios less than 3 the power transforms have little effect.

Anova

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
A-minyak zaitun	25.45	1	3.50	17.17	33.72	1.62
B-tween 80	23.21	1	3.50	14.93	31.49	1.62
C-PEG 400	31.63	1	3.50	23.35	39.91	1.50
AB	-36.69	1	17.39	-77.81	4.43	1.94
AC	-57.55	1	22.11	-109.82	-5.27	1.93
BC	-50.97	1	22.11	-103.25	1.30	1.93
ABC	839.05	1	153.16	476.88	1201.22	2.22

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components:

$$\text{waktu emulsifikasi} =$$

$$+25.45 * A$$

$$+23.21 * B$$

$$+31.63 * C$$

$$-36.69 * A * B$$

$$-57.55 * A * C$$

$$-50.97 * B * C$$

$$+839.05 * A * B * C$$

Final Equation in Terms of Real Components:

[y^A Transform](#) | [Fit Summary](#) | [f\(x\) Model](#) | [ANOVA](#) | [Diagnostics](#) | [Model Graphs](#)

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response 1 waktu emulsifikasi

ANOVA for Mixture Special Cubic Model

*** Mixture Component Coding is L_Pseudo. ***

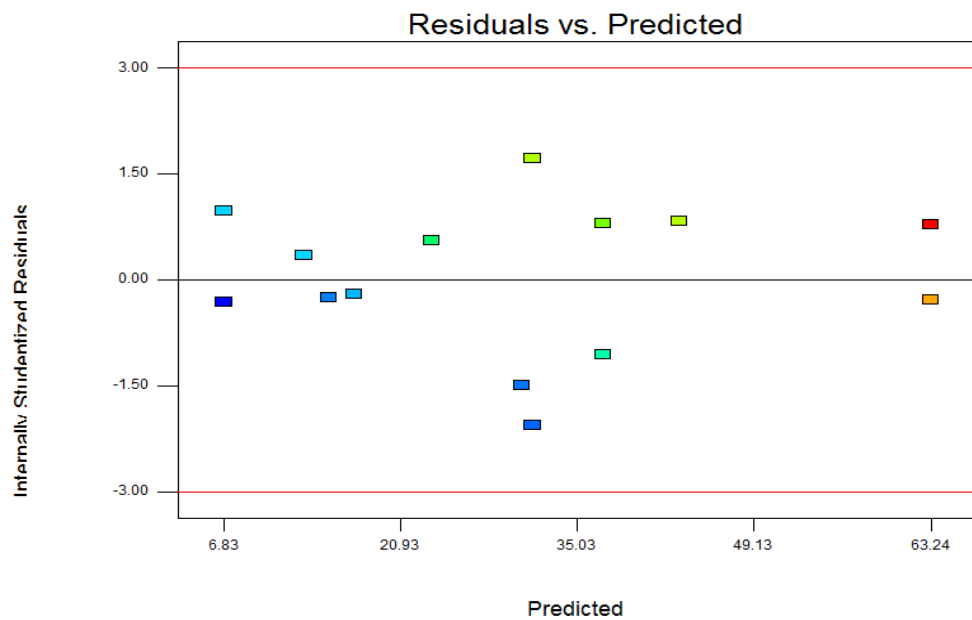
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	876.00	6	146.00	5.75	0.0184	significant
Linear Mixture	107.75	2	53.88	2.12	0.1904	
AB	113.01	1	113.01	4.45	0.0728	
AC	172.03	1	172.03	6.78	0.0353	
BC	134.98	1	134.98	5.32	0.0545	
ABC	761.92	1	761.92	30.01	0.0009	
Residual	177.72	7	25.39			
Lack of Fit	32.22	3	10.74	0.30	0.8280	not significant
Pure Error	145.50	4	36.38			
Cor Total	1053.71	13				

The Model F-value of 5.75 implies the model is significant. There is only a 1.84% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case AC, ABC are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.



b. Penentuan transmittan

Transformasi transmittan

Transformasi transmittan

Transform Transform Fit Summary f(x) Model ANOVA Diagnostics Model Graphs

To analyze this response, click on the above icons in succession.

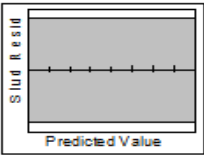
Transformation

- None
- Square root
- Natural log
- Base 10 log
- Inverse sqrt
- Inverse
- Power
- Logit
- ArcSin sqrt

Equation

None (lambda = 1.0)

$y' = y$



Use with a typical response.

Coding for Analysis: Pseudo

Response ranges from 3.4 to 71.36.
Ratio of max to min is 20.9882

A ratio greater than 10 usually indicates a transformation is required. For ratios less than 3 the power transforms have little effect.

Anova

Anova

Transform Fit Summary f(x) Model ANOVA Diagnostics Model Graphs

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response 2 transmittan

ANOVA for Mixture Quadratic Model

*** Mixture Component Coding is L_Pseudo. ***

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	4270.04	5	854.01	4.13	0.0376	significant
Linear Mixture	1138.55	2	569.28	2.75	0.1231	
AB	2787.51	1	2787.51	13.48	0.0063	
AC	18.04	1	18.04	0.087	0.7752	
BC	301.42	1	301.42	1.46	0.2618	
Residual	1654.34	8	206.79			
Lack of Fit	545.30	4	136.32	0.49	0.7457	not significant
Pure Error	1109.04	4	277.26			
Cor Total	5924.38	13				

The Model F-value of 4.13 implies the model is significant. There is only a 3.76% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case AB are significant model terms.

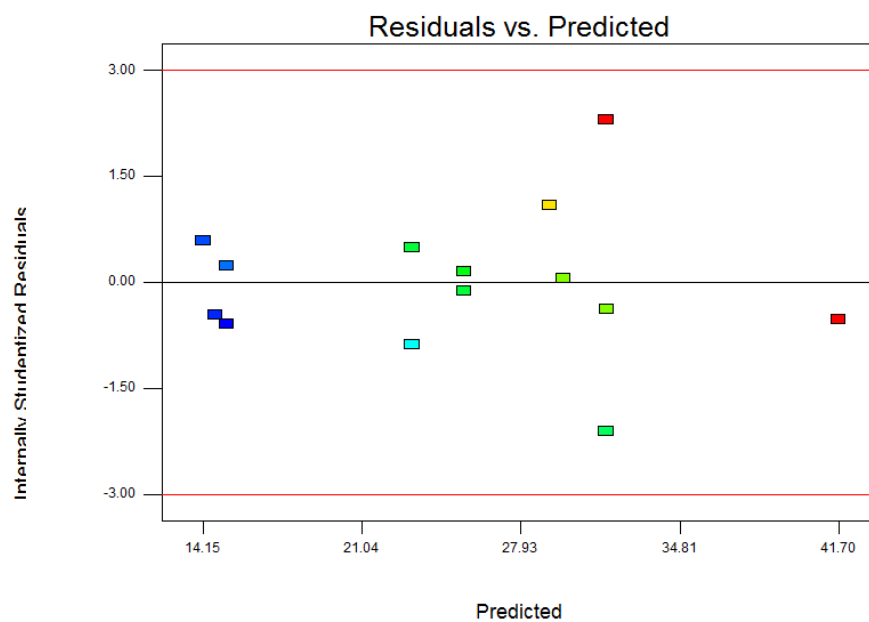
Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
A-minyak zaitun	63.24	1	9.98	40.22	86.25	1.62
B-tween 80	37.10	1	9.98	14.08	60.12	1.62
C-PEG 400	31.45	1	9.97	8.46	54.44	1.50
AB	-173.36	1	47.22	-282.25	-64.48	1.76
AC	-16.72	1	56.60	-147.23	113.79	1.55
BC	-68.33	1	56.60	-198.84	62.18	1.55

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components:

$$\text{transmitan} = +63.24 * A + 37.10 * B + 31.45 * C - 173.36 * A * B - 16.72 * A * C - 68.33 * B * C$$

Final Equation in Terms of Real Components:

$$\text{transmitan} = +63.23654 * \text{minyak zaitun}$$


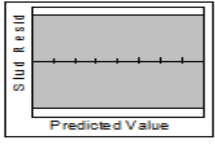
c. *Persen drug loading*Transformasi *drug loading*

Transform Fit Summary f(x) Model ANOVA Diagnostics Model Graphs

To analyze this response, click on the above icons in succession.

Transformation
 None
 Square root
 Natural log
 Base 10 log
 Inverse sqrt
 Inverse
 Power
 Logit
 ArcSin sqrt

Equation
None (lambda = 1.0)
 $y' = y$



Use with a typical response.

Coding for Analysis: Pseudo

Response ranges from 8.49 to 48.19.
Ratio of max to min is 5.67609

A ratio greater than 10 usually indicates a transformation is required. For ratios less than 3 the power transforms have little effect.

Anova

Transform Fit Summary f(x) Model ANOVA Diagnostics Model Graphs

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response 3 drug loading

ANOVA for Mixture Cubic Model (Aliased)

*** Mixture Component Coding is L_Pseudo.***

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

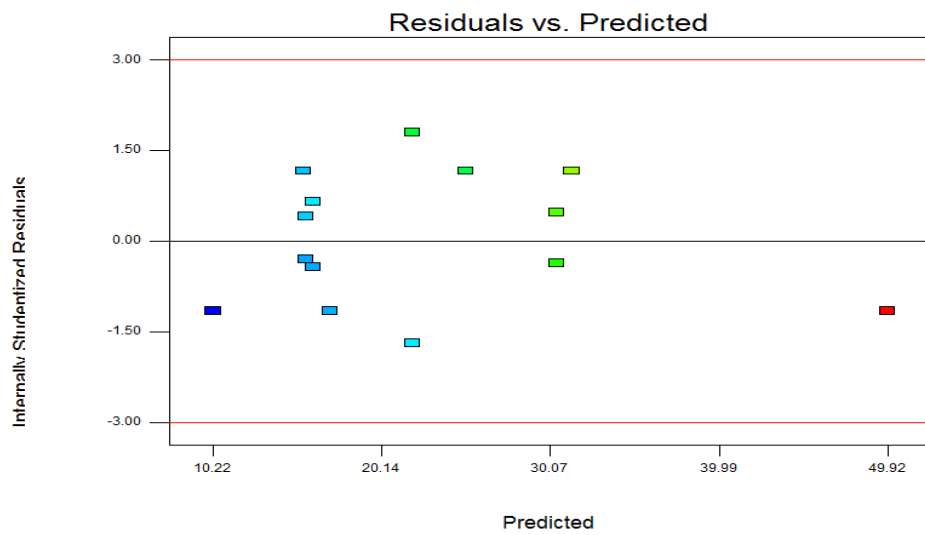
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1366.98	8	170.87	13.90	0.0050	significant
Linear Mixture	479.97	2	239.99	19.52	0.0043	
AB	135.47	1	135.47	11.02	0.0210	
AC	8.59	1	8.59	0.70	0.4413	
BC	3.33	1	3.33	0.27	0.6250	
ABC	146.93	1	146.93	11.95	0.0181	
AB(A-B)	542.75	1	542.75	44.16	0.0012	
AC(A-C)	264.41	1	264.41	21.51	0.0056	
BC(B-C)	0.000	0				
Residual	61.46	5	12.29			
Lack of Fit	16.64	1	16.64	1.48	0.2900	not significant
Pure Error	44.82	4	11.21			
Cor Total	1428.44	13				

The Model F-value of 13.90 implies the model is significant. There is only a 0.50% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case Linear Mixture Components, AB, ABC, AB(A-B), AC(A-C) are significant model

$$\begin{aligned} \text{drug loading} = & \\ & +21.93 * A \\ & +30.44 * B \\ & +15.65 * C \\ & -40.29 * A * B \\ & -13.05 * A * C \\ & +8.12 * B * C \\ & +369.09 * A * B * C \\ & -368.34 * A * B * (A-B) \\ & +253.96 * A * C * (A-C) \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Components:



Lampiran 5. Penentuan formula optimum SNEDDS HCT

Constraints

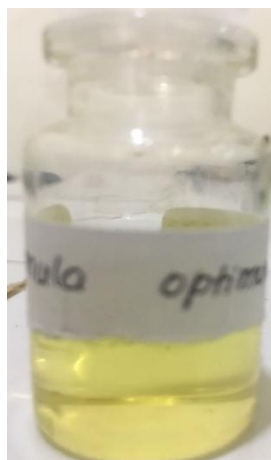
Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
minyak zaitun	is in range	0	100	1	1	3
tween 80	is in range	0	100	1	1	3
PEG 400	is in range	0	100	1	1	3
waktu emulsifikasi	is in range	13	40	1	1	3
transmitan	is in range	3.4	71.36	1	1	3
drug loading	is in range	8.49	48.19	1	1	3

- Hasil formula optimum berdasarkan SLD

Komponen SNEDDS	Formula Optimum	Karakterisasi SNEDDS		
		Waktu emulsifikasi	Transmittan	Drug Loading
Minyak Zaitun	4,33 ml			
Tween 80	4,33 ml	33,15 detik	10,21 %	30,57 ppm
PEG 400	1,34 ml			

Solutions							
	Number minyak zaitun	tween 80	PEG 400 waktu emulsif	transmitan	drug loading	Desirability	Selected
1	100.000	0.000	0.000	25.4462	63.2365	21.926	1.000
2	43.333	43.333	13.333	33.1483	10.2054	30.572	1.000
3	50.000	50.000	0.000	15.1544	6.82812	16.1119	1.000
4	16.667	16.667	66.667	31.6562	23.4241	10.2183	1.000
5	50.000	0.000	50.000	14.1512	43.1636	15.5239	1.000
6	66.667	16.667	16.667	29.755	30.5646	17.0783	1.000
7	0.000	100.000	0.000	23.2082	37.1013	30.441	1.000
8	0.000	0.000	100.000	31.6294	31.45	15.646	1.000
9	6.667	46.667	46.667	25.4361	15.4119	29.8606	1.000
10	0.000	50.000	50.000	14.675	17.1931	25.0739	1.000
11	48.804	39.908	11.288	31.0851	11.4539	23.3969	1.000
12	41.699	51.126	7.175	26.1666	7.62793	32.8192	1.000
13	32.069	54.480	13.452	32.1491	8.70543	43.8498	1.000
14	73.333	10.777	15.890	26.2462	38.5495	20.7042	1.000
15	43.888	27.867	28.246	39.9204	18.3219	27.0771	1.000
16	29.198	50.881	19.920	36.4059	9.95268	43.2459	1.000
17	59.729	30.271	10.000	28.9434	17.7346	10.6559	1.000
18	36.369	48.697	14.933	34.1405	9.18131	38.6425	1.000
19	51.704	19.809	28.487	36.1347	24.9297	23.6546	1.000
20	12.545	29.415	58.040	32.1	17.8196	21.5214	1.000
21	35.954	56.722	7.324	26.0465	7.44981	41.1027	1.000

Lampiran 6. Verifikasi formula optimum SNEDDS HCT



Formula optimum

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test				
		waktuemulsifikasi	drugloading	transmittan
N		3	3	3
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	32.9000	30.1400	10.0200
	Std. Deviation	.10000	.16462	.08185
Most Extreme Differences	Absolute	.175	.374	.263
	Positive	.175	.374	.263
	Negative	-.175	-.272	-.198
Kolmogorov-Smirnov Z		.303	.648	.456
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.794	.985
a. Test distribution is Normal.				
b. Calculated from data.				

a. Waktu emulsifikasi

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Waktuemulsifikasi	3	32.9967	.17616	.10171

One-Sample Test

	Test Value = 33.15					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
Waktuemulsifikasi	-1.508	2	.271	-.15333	-.5909	.2843

b. Drug loading

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Drugloading	3	30.6633	.40129	.23168

One-Sample Test

	Test Value = 30.57					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
Drugloading	.403	2	.726	.09333	-.9035	1.0902

c. Persen transmittan

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
transmittan	3	10.0200	.08185	.04726

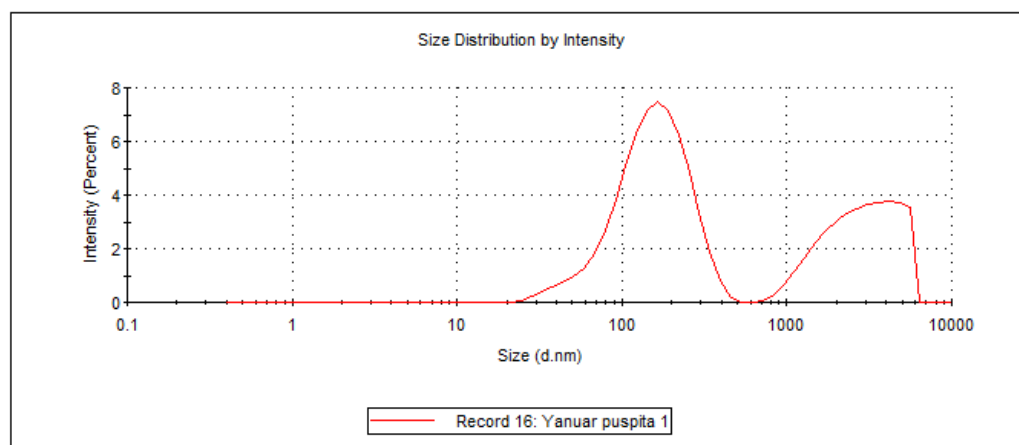
One-Sample Test

	Test Value = 10.21					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
transmittan	-4.020	2	.057	-.19000	-.3933	.0133

Lampiran 7. Uji T Formula Optimum

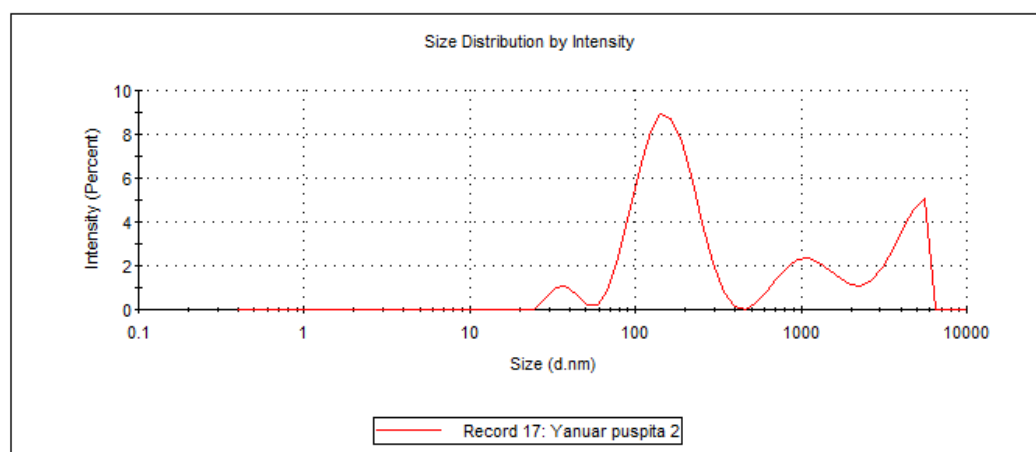
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 222.2	Peak 1: 165.7	63.2	78.62
Pd: 0.725	Peak 2: 3064	36.8	1366
Intercept: 0.857	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality : Refer to quality report



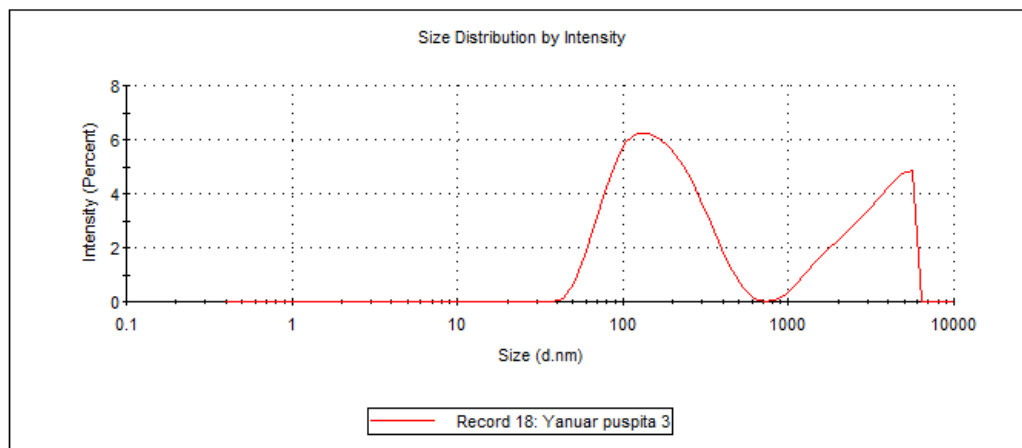
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 227.1	Peak 1: 160.7	59.7	59.56
Pd: 0.666	Peak 2: 4266	20.2	1024
Intercept: 0.848	Peak 3: 1245	16.4	472.8

Result quality : Good



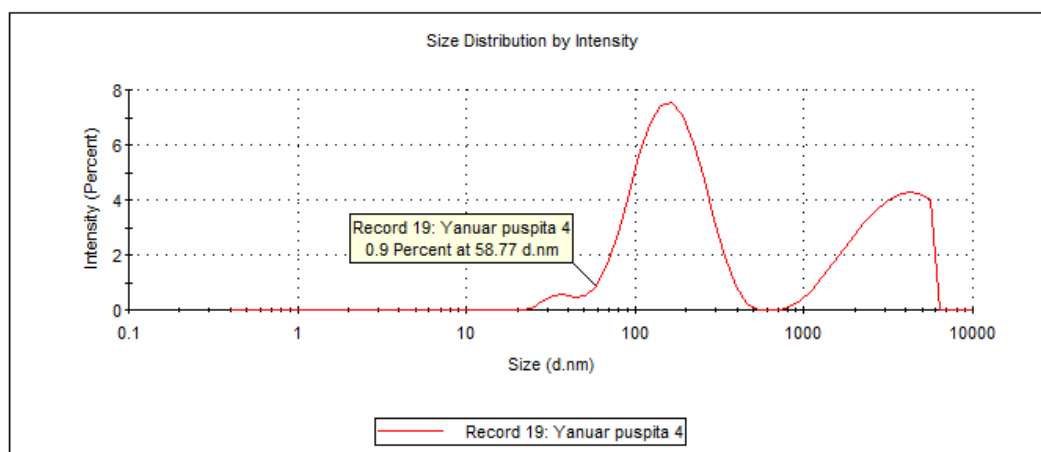
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 238.5	Peak 1: 176.9	65.4	99.60
Pdl: 0.654	Peak 2: 3434	34.6	1370
Intercept: 0.847	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality : Good



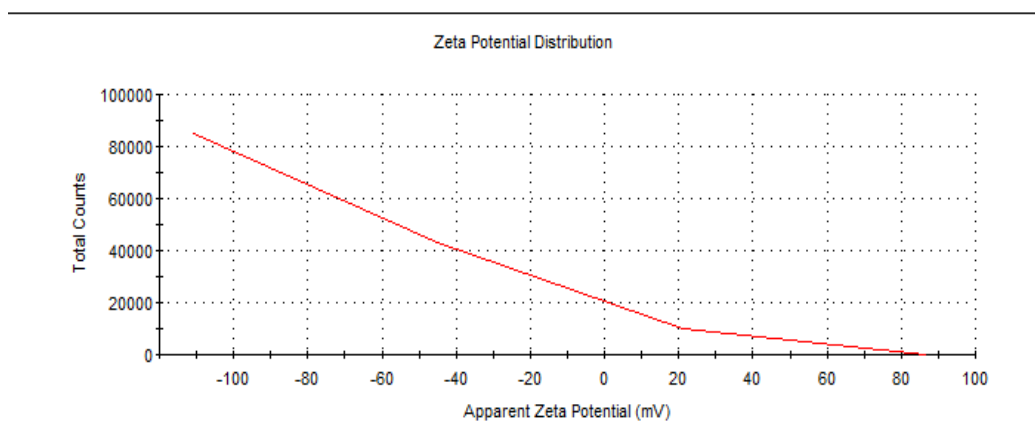
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 230.8	Peak 1: 169.1	61.8	76.50
Pdl: 0.676	Peak 2: 3268	36.2	1332
Intercept: 0.839	Peak 3: 35.69	2.0	5.879

Result quality : Good



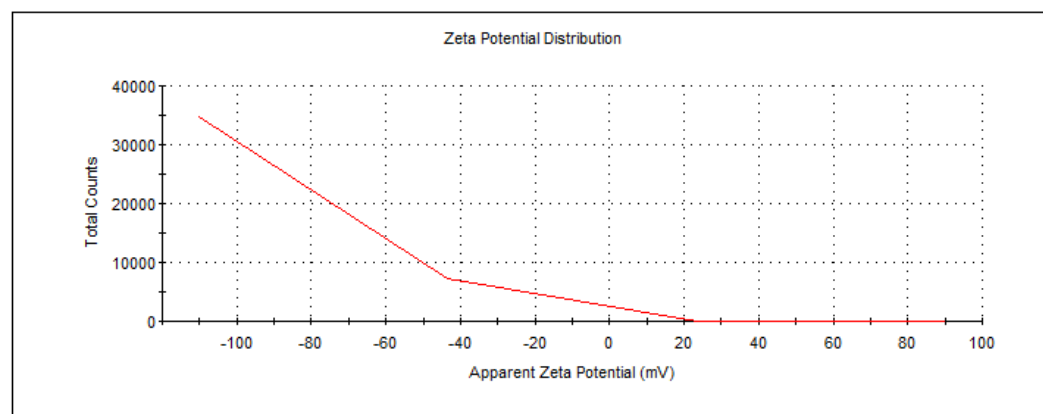
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -475	Peak 1: -80.7	100.0	41.4
Zeta Deviation (mV): 157	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.192	Peak 3: 0.00	0.0	0.00

Result quality : **Good**



	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -547	Peak 1: -98.7	100.0	25.1
Zeta Deviation (mV): 145	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.195	Peak 3: 0.00	0.0	0.00

Result quality : **Good**



Lampiran 8. Dokumentasi penelitian

PT. Kimia Farma (Persero)
 Plant Bandung
 Jl. Pajadran No. 29 - 31 Bandung 40171
 Telp. 022- 4204643 Fax. 022-4237079

kimia farma

INSPECTION REPORT

Bahan aktif

Inspection Lot : 1000024257	Start Inspection Date : 30.10.2017
Material Document : 500078636/0001/2017	End Inspection Date : 31.10.2017
Material Number : 31000200	Inspected By : FADLI
Material Description : HYDROCHLOROTHIAZIDE	Production Date : 01.09.2017
Batch Number : 000025986	Expiration Date : 31.09.2022
Vendor Batch : 17056HCRH	Next Inspection Date : 01.11.2018
Lot Size : 250 KG	Purchase Order : 620000313
Sample Size : 0.033 KG	Manufacturer : IPCA LABORATORIES LTD
Vendor : IPCA LABORATORIES LTD	Sampling Date : 30.10.2017
	Sampling By : Fadi

Characteristic	Result	Unit	Specification	Method
Bentuk	Serbuk kristal		Serbuk kristal	USP 34
Warna	putih atau praktis putih		Putih atau praktis putih	USP 34
Bau	Praktis tidak berbau		Praktis tidak berbau	USP 34
Suasat Pengembanan (%)	0.02	%	0.0 - 0.5	USP 34
Sisa Penjeraman (%)	0.02	%	0.0 - 0.1	USP 34
Kadar (%)	100.46	%	98.0 - 102.0	USP 34
Klorida	Tidak lebih banyak dari larutan baku		Tidak lebih banyak dari larutan baku	USP 34
Logam Berat	<0.001	%	0.000 - 0.001	USP 34
Keluaran dalam air	Sangat sukar larut dalam air		Sangat sukar larut dalam air	USP 34
Identifikasi - Instrumen	Spektrum zat uji sesuai zat baku		Spektrum zat uji sesuai zat baku	USP 34
Kesamaan dan kebebasan	0.22	ml	0.00 - 0.40	BP 2009

Usage Decision : DILULUSKAN

Note :

Authorization	In Charge/Position	Signature	Date/Time	Note
Prepared By	Sofia Suliharti, S.Sc. Adl Spv. Perm. Bahan Baku	<i>[Signature]</i>	01-11-2017	
Approve	Nuzul Fatholah, S.Farm. Adl Asman Pengawasan Mutu	<i>[Signature]</i>	01-11-2017	

1 of 1

TEL: 022- 4204 2104/2105/2106
 TELEFAX: 022- 4204 2103/2102

ipca Laboratories Limited
 P.O. BOX 72 05, RD. DIT, ALLAMUN P.

ipca

QUALITY DIVISION CERTIFICATE OF ANALYSIS

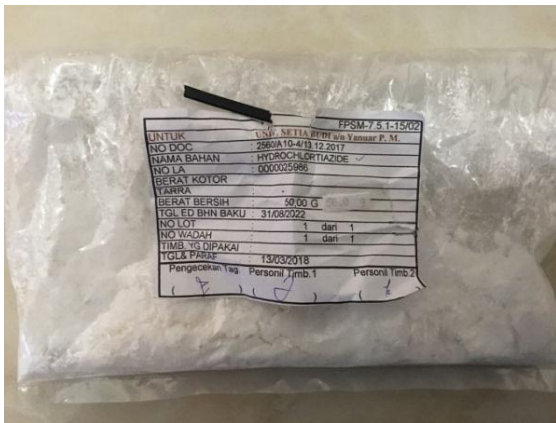
NAME OF THE PRODUCT : HYDROCHLOROTHIAZIDE BP	
BATCH SIZE : 471.8 Kgs	BATCH No. : 17056HCRH
MFG. DATE : Sep. 2017	A. R. No. : IBD - 176988
EXP. DATE : Aug. 2022	DATE : 29/09/2017

TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTS
CHARACTERS	Appearance: A white or almost white, crystalline powder. Solubility: Very slightly soluble in water, soluble in acetone, sparingly soluble in ethanol (95%), it dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.	White crystalline powder Conforms
IDENTIFICATION	The infrared absorption spectrum of sample and standard are concordant.	Conforms
ACIDITY OR ALKALINITY	The solution is yellow. NMT 0.4 ml of 0.01M hydrochloric acid is required to change the colour of the indicator to red.	0.3 ml
RELATED SUBSTANCES (By HPLC)	4-Amino-5-Chloro-1,3,4-Benzoxadiazole NMT 0.50% 5-Chloro-N-[1,3,4-dihydro-2,4-dihydroxy-1,2,4-benzoxadiazin-7-yl]benzamide NMT 0.50% 1,7-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,4-dihydro-2,4-dihydro-1,2,4-benzoxadiazin-7-ylbenzamide 1,1-dioxide NMT 0.20% Chlorothiazide (Impurity A) NMT 0.10% Any Unspecified Impurity NMT 1.0%	Not Detected 0.01% 0.02% 0.18% w/w
CHLORIDES	Sum of all responses NMT 1.0% w/w	Not Detected 0.01%
LOSS ON DRYING (at 105°C)	NMT 0.5% w/w	< 100 ppm 0.18% w/w
SULPHATED ASH	NMT 0.1% w/w	0.04% w/w
ASSAY (By HPLC)	97.5% - 102.0% of C ₁₂ H ₁₁ N ₃ O ₂ S (on dried basis)	95.8% (total)

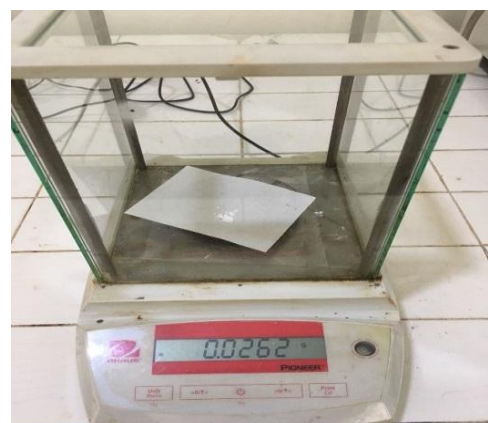
REMARKS : The above sample CONFORMS as per BP specifications

PREPARED BY DATE _____

MANAGER QUALITY CONTROL DATE _____



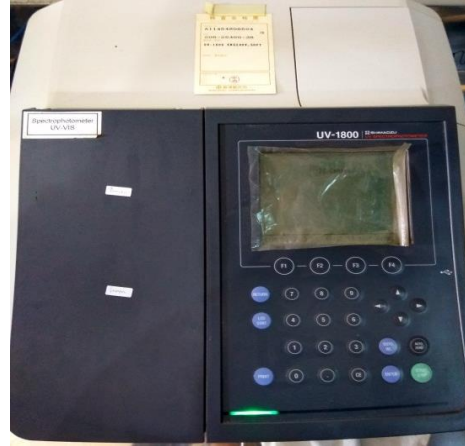
Obat HCT murni



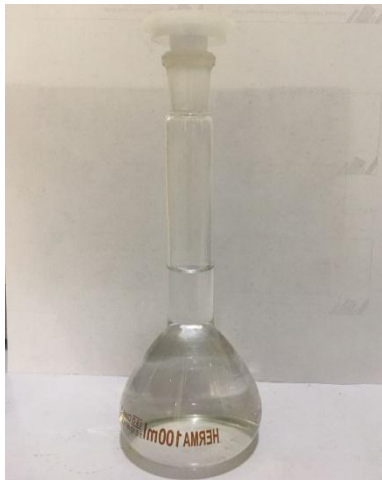
Neraca analitik



Magnetic stirrer



Spektrofotometer UV-Vis



Kurva Baku



Larutan baku