

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel koloid padat, yang terdiri dari 10 nm hingga 1000 nm (Kreuter 1994). Ukuran nanopartikel yang sering digunakan untuk *nanomedicine* adalah < 200 nm (Couvreur 2002). Nanopartikel mengandung makromolekuler material dan dapat digunakan untuk pengobatan sebagai pembawa obat yang senyawa aktifnya telah terlarut, terjerat, dan enkapsulasi (Tiyaboonthai 2013). Nanopartikel dibagi menjadi nanokristal dan *nanocarrier*. Obat yang melalui suatu proses tertentu dibuat dengan berukuran nanometer disebut nanokristal dan senyawa obat yang di enkapsulasi dalam suatu sistem pembawa tertentu berukuran nanometer disebut *nanocarrier* (Rachmawati 2007). Nanopartikel awalnya dibuat menggunakan polimer non-biodegradabel, namun tergantikan oleh polimer yang biodegradable (Tiyaboonthai 2003). Nanopartikel dari polimer biodegradabel digunakan sebagai sistem penghantaran obat (Shidhaye 2008), yang memiliki sifat menguntungkan seperti mudah terdegradasi dalam tubuh, modifikasi dalam tubuh, dan fungsi yang dapat disesuaikan sesuai kebutuhan sehingga dapat mengatur sifat kestabilan farmakokinetik dari obat (Rawat 2006).

Tujuan pembuatan nanopartikel itu meningkatkan stabilitas senyawa aktif terhadap degradasi lingkungan, memperbaiki sistem penghantar obat dengan rute tertentu, memperbaiki absorpsi obat dan meningkatkan kelarutan suatu obat sehingga meningkatkan bioavailabilitas obat. Sistem penghantar obat yang tertarget sehingga dapat mengurangi toksisitas, meningkatkan efisiensi distribusi obat dalam tubuh. Nanopartikel dapat menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Buzea et al. 2007), adanya peningkatan afinitas dikarenakan adanya luas permukaan yang meningkat pada jumlah yang sama (Kawashima 2000). Nanopartikel dapat melindungi obat agar tidak terjadi degradasi baik secara kimia maupun enzimatis. Nanopartikel juga

dapat mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan dari beberapa zat aktif, ukuran partikel dan sifat permukaannya dapat diatur dengan mudah. Nanopartikel dapat mengontrol pelepasan zat aktif selama perjalanannya menuju lokasi bekerja, sehingga dapat meningkatkan efek terapi obat. Sistem pelepasan obat dalam nanopartikel dapat diatur dengan pemilihan matriks yang sesuai. Rute pemberian obat nanopartikel dapat menggunakan rute oral, nasal, parental, intra-ocular, dan lainnya.

Rajesh Singh (2006) menyatakan nanopartikel dapat menjadi obat tertarget untuk tumor, inflamasi, dan antigen berdasarkan peningkatan permeabilitas dan retensi efek pembuluh darah. Obat yang mencapai di tempat target ditandai dengan nanopartikel polimerik hidrofobik yang terurai dan bertindak sebagai obat lokal untuk terapi terapeutik di lokasi penyakit tumor, karena ukurannya yang nano bisa masuk melalui endotelium, epitel (misalnya, saluran usus dan hati), tumor, atau menembus mikrokapiler (Panyam and Labhassetwar 2003). Material nanopartikel dapat menunjukkan sifat fisika dan kimia yang sangat berbeda dari *bulk* materialnya, seperti kekuatan mekanik, elektronik, magnetik, kestabilan termal, katalitik dan optik (Deraz et al., 2009). Material nanopartikel menunjukkan potensi sebagai katalis karena material nanopartikel memiliki luas permukaan yang besar dan rasio-rasio atom yang tersebar secara merata pada permukaannya, sifat ini menguntungkan untuk transfer obat di dalam pori-pori (Widegren 2003).

2. SLN (*Solid Lipid Nanoparticle*)

Solid Lipid Nanoparticle (SLN) terbuat dari lipid padat sebagai pembawa obat koloid, sistem ini terdiri dari partikel lipid padat bola dalam rentang nanometer, yang terdispersi dalam air atau dalam larutan surfaktan berair (Shah 2011). SLN terbuat dari inti hidrofobik padat yang memiliki lapisan fosfolipid monolayer. Inti padat mengandung obat terlarut atau terdispersi dalam matriks lemak leleh padat yang tinggi. Rantai hidrofobik fosfolipid dalam matriks lemak berpotensi dapat membawa obat bersifat lipofilik atau hidrofilik (Shah 2011). SLN termasuk dalam emulsi minyak dalam air, keadaan padat dari matriks

nanopartikel memberikan perlindungan terhadap obat-obat yang tidak stabil (Lin 2017).

Ukuran partikel mempengaruhi laju pelepasan obat secara langsung tergantung pada parameter seperti formulasi SLN (surfaktan, lipid, obat) produksi metode dan kondisi (waktu produksi, peralatan, sterilisasi dan liofilisasi). Jenis surfaktan dan konsentrasinya akan mendispersi campuran fase air dan minyak, menstabilkan derajat ukuran partikel, karena konsentrasi surfaktan rendah menyebabkan *burst* minimal dan pelepasan obat (Bhattacharjee 2013 dan Annette 1998). Rachmawati (2007) mengatakan ukuran partikel yang kecil dapat mempengaruhi efisiensi distribusi obat dalam tubuh karena dengan berkurangnya ukuran partikel dapat meningkatkan luas permukaan partikel, sehingga meningkatkan disolusi dan kejenuhan larutan yang berhubungan dengan peningkatan kinerja obat secara *in vivo*.

Pemilihan material matriks sangat bergantung pada tipe administrasi yang diinginkan dari formulasi. Pemilihan untuk jenis *emulfier* juga berlaku untuk memastikan stabilitas formulasi yang baik serta kompatibilitas fisiologis yang baik, toksisitas potensial dari komponen harus dipertimbangkan secara khusus mengenai pemberian intravena (Nema 2011). Kelebihan dari SLN sebagai sistem penghantaran obat ukuran partikel dan muatan permukaan dapat mencapai penghantaran tertarget baik sistem aktif maupun pasif, mencapai lokasi aksi spesifik, dapat memperbaiki bioavailabilitas dan distribusi obat dalam tubuh sehingga meningkatkan efikasi dan mengurangi efek samping obat, menggunakan bahan tambahan yang bersifat biokompatibel dan *biodegradable*, dapat pembawa untuk bahan obat yang bersifat hidrofobik dan hidrofilik (Mohanraj 2006).

3. Metode Pembuatan SLN

Pembuatan SLN memiliki beberapa metode diantaranya adalah homogenisasi tekanan tinggi (HPH) pada suhu tinggi atau rendah (termasuk homogenisasi panas dan homogenisasi dingin), teknik mikroemulsi, *Solvent emulsification-evaporation-diffusion*, metode *Melting dispersion*, cairan

superkritis (ekstraksi fluida superkritis dari emulsi (SFEE)), ultrasonikasi atau kecepatan tinggi Homogenisasi (Jaishwal 2014).

3.1. High Pressure Homogenizer (homogenisasi tekanan tinggi).

Metode yang menggunakan tekanan tinggi (100-2.000 bar) dengan menekan cairan ke celah sempit di homogenizer. Proses pengecilan ukuran partikel dipengaruhi oleh daya dorong, kavitasi dan tumbukan. Keuntungan tidak menggunakan pelarut organik dan digunakan untuk produksi skala besar.

3.2. Homogenitas Panas. Obat dicampurkan dalam lipid cair dan padat dilelehkan pada suhu 5 °C hingga 10 °C diatas titik leburnya. Lemak yang berisi obat didispersi dalam air panas akan membentuk pre-emulsi, Homogenisasi dengan HPH pada suhu yang sama untuk mendapat nanoemulsi. Ukuran partikel menjadi lebih rendah terutama karena viskositas yang berkurang pada suhu tinggi.

3.3. Homogenitas Dingin. Lemak yang sudah didinginkan dihancurkan dengan ball milling untuk menghasilkan mikropartikel (50 µm hingga 100 µm). Kemudian lemak mikropartikel didispersi, lalu ditambahkan surfaktan/emulsifier. Setelah itu dihomogenkan didalam reaktor bertekanan tinggi dengan kondisi suhu dingin untuk menjadikannya pre-suspensi.

3.4. Teknik mikroemulsi. Lipid dilebur dan obat dimasukkan dalam lipid cair. Campuran air, kosurfaktan dan surfaktan dipanaskan pada suhu yang sama dengan lipid dan diadakan terbentuk mikroemulsi. Mikroemulsi didispersikan ke air dingin dan menyebabkan rekristalisasi.

3.5. Solvent emulsification evaporation-diffusion. Bahan lipofilik dan obat hidrofobik dilarutkan dalam pelarut organik yang larut dalam air dan diemulsikan dalam fase air menggunakan homogeniser kecepatan tinggi. (Shahgaldian et al. 2003)

3.6. Metode melting dispersion. Obat dan lipid padat dilelehkan dalam pelarut organik dianggap sebagai fase minyak, dan secara bersamaan fase air juga dipanaskan, selanjutnya fase minyak ditambahkan dikit sedikit ke fase air dan emulsi yang dihasilkan diaduk dengan kecepatan tinggi selama beberapa jam sampai menghasilkan nanopartikel

3.7. Ultrasonikasi atau Homogenitas kecepatan tinggi. Metode yang menggunakan gelombang mekanik longitudinal memiliki frekuensi 20 kHz untuk memecah ion-ion metal dalam molekul sehingga diharapkan proses pertumbuhan kristal dapat berlangsung dengan cepat dan dapat menghindarkan terjadinya oksidasi pada ion-ion metal yang mengakibatkan terbentuknya partikel amorf. Penggunaan gelombang ultrasonikasi dalam pembentukan nano sangat efektif karena pemanfaatannya pada efek kavitasi akustik. Ultrasonik tinggi dapat memberikan perubahan efek fisika kimia karena tingginya energi yang dapat diberikan dalam waktu singkat dengan tekanan tinggi dapat menimbulkan kavitasi. Efek kavitasi menyebabkan terdispersinya fase minyak yang mengandung nanosfer dalam fase air, sehingga nanosfer dapat terdispersi stabil. Hal-hal yang mempengaruhi kemampuan ultrasonik antara lain karakteristik ultrasonik seperti frekuensi, intensitas, amplitudo, daya, karakteristik produk (seperti viskositas, tegangan permukaan) dan kondisi sekitar seperti suhu dan tekanan (Williams, 1983).

3.8. Proses *bottom up*. Metode pembuatan nanopartikel melalui atom dan molekul yang berkumpul dan membesar (aglomerasi), dengan menghentikan proses pembesaran/aglomerasi sehingga ukuran partikel hanya sampai dalam skala nanometer. Prosesnya menggunakan reaksi kimia, yang akan bernukleasi dan atom-atom terus berkumpul di titik nukleasi tersebut dan beraglomerasi (koloid). Bahan-bahan lain dapat digunakan untuk memastikan proses aglomerasi ini tidak berjalan terus menerus. Lalu pengumpulan nanopartikel ini akan lebih mudah karena nanopartikel di dalam bahan ini akan lebih stabil. Tetapi kelemahan dari metode ini jika nanopartikel tersebut dibutuhkan untuk bereaksi secara bebas untuk membentuk struktur yang lebih besar. (Strambeanu 2015)

3.9. Proses *top down*. Proses yang membentuk nanopartikel dari partikel atau benda-benda lebih besar dan dalam bentuk zat padat. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan laser atau litografi untuk mendapatkan bentuk yang diinginkan. Keuntungan metode ini adalah kemampuan laser yang dapat

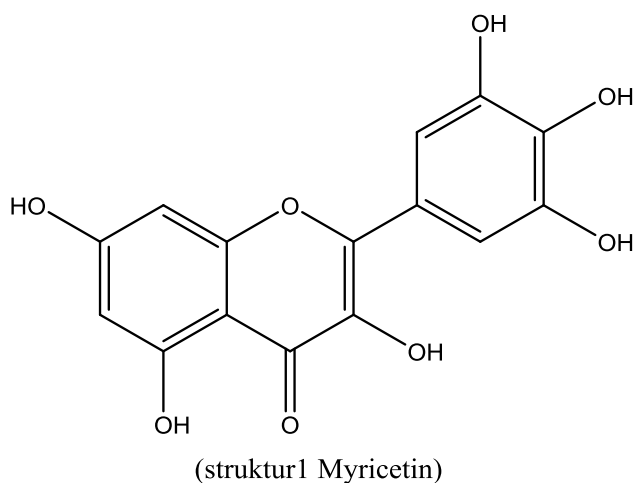
membentuk permukaan nanopartikel dengan sangat presisi dan jelas. Tetapi tentunya kelemahannya adalah biaya produksi yang sangat mahal dan tidak dapat digunakan untuk produksi dengan skala besar. Metode ini digunakan untuk fabrikasi mikroprosesor yang mampu menciptakan nano dibawah 100 nm. Proses penghancuran partikel besar dengan cara penggilingan/ ball milling untuk membuat nanopartikel. Proses ini cukup mudah dan dapat menghasilkan nanopartikel dalam skala besar meskipun membutuhkan energi yang cukup besar. Lalu nanopartikel yang dihasilkan tidak cukup seragam dan riskan akan kontaminasi. Biasanya metal oksida nanopartikel sering dihasilkan dengan cara ini (Strambeanu 2015).

4. Ultrasonikasi

Ultrasonik merupakan bagian dari spektrum suara (*sonic*) dengan rentang frekuensi dari 20 kHz sampai 10 MHz dan secara kasar dapat dibagi dalam tiga daerah utama: ultrasonik kekuatan tinggi (20–100 kHz), ultrasonik kekuatan menengah (100 kHz–1 MHz), dan frekuensi tinggi/ultrasonik kekuatan rendah (1–10 MHz) (Scroeder 2010). Prinsip sonokimia adalah pembentukan, pertumbuhan, dan pecahnya gelembung yang terbentuk dalam cairan. Dalam suatu penangas ultrasonikasi, dengan daya $0,3 \text{ W/cm}^2$, air telah diubah menjadi hidrogen peroksida. Hal tersebut didasarkan pada adanya partikel tidak terlihat, atau gelembung gas, yang menurunkan gaya intermolekular, memungkinkan pembentukan gelembung. Tahap kedua adalah pertumbuhan gelembung, yang terjadi melalui difusi uap terlarut ke volume gelembung. ketiga adalah pecahnya gelembung yang terjadi ketika ukuran gelembung mencapai ukuran maksimum (Gedanken 2003).

Ultrasonikasi didasarkan pada kavitasi dalam dispersi berair yang disebabkan oleh ultrasound yang kuat dengan frekuensi gelombang biasanya sekitar dan di atas 20kHz. Kavitasi menyebabkan disintegrasi fase lipid menjadi tetesan yang lebih kecil. Kavitasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya: frekuensi ultrasonik, suhu, tekanan, konsentrasi dan viskositas (Hielscher 2005).

5. Myrisetin



Gambar 1. Struktur Myticetin

Myrisetin merupakan senyawa flavonoid dengan subklas flovonol yang memiliki substitusi hidroksil pada posisi 3,5,7,3',4'dan 5, dan miliki efek neuroprotektif pada penyakit Parkinson baik secara *in vivo* maupun *in vitro* (Yang SF 2006), yang memiliki aktivitas anti-inflamasi, anti-tumor, anti-karsinogenik, antivirus, antimikroba, dan antioksidan (Murakami dan Ohnishi 2012; Kang 2011). Aktivitas senyawa myrisetin dapat dilihat dari kemampuannya dalam menurunkan pertumbuhan sel kanker pankreas dengan cara induksi apoptosis sel dan mampu memodulasi aktivitas protein kinase sehingga menyebabkan progresi siklus sel dan proliferasi (Xue 2015). Selain itu, Mirisetin juga telah ditemukan memiliki efek antioksidan sebagai aktifitas utama biologis (Yao 2013), dibuktikan pada penelitian Qu (2006) myrisetin dapat menghambat radikal bebas sebesar 71,5% dengan IC_{50} 9 $\mu\text{g/ml}$ dengan pengujian DPPH, dengan pengujian TEAC sebesar 2,40 mM (764 $\mu\text{g/ml}$) dengan IC_{50} 22 $\mu\text{g/ml}$. Gugus hidroksi pada C4' merupakan posisi yang memiliki aktifitas menghambat radikal lemak peroksida (Xie 2010).

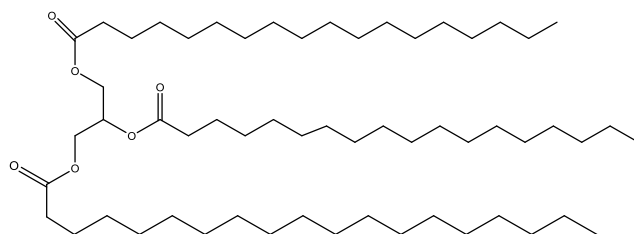
Kelarutan myrisetin 16,60 g / mL dalam air murni (pH 7,56), yaitu 1 g myrisetin dilarutkan dalam 60.241 mL air purut, ini menunjukkan bahwa myrisetin adalah zat yang praktis tidak larut menurut Chinese Pharmacopoeia (2010), Amerika Serikat Pharmacopoeia (USP 35) dan European Pharmacopoeia

(EP 7.8). Secara kromatografi cair dan kromatografi gas, myrisetin memiliki serapan maksimal dalam metanol sebesar 328 dan 359 nm (Yashu Yao 2014).

Meningkatkan kelarutannya dari myrisetin dalam media air dapat dengan penambahan surfaktan seperti *tyloxapol*, TPGS, *Cremophor* EL, Tween 80, yang memiliki nilai HLB (Hydrophile-Lipophile Balance) yang tinggi (Chen *et al.* 2006). Kelarutan mirisetin dapat di atasi dengan beberapa metode seperti liposom (Landi-Librandi *et al.* 2011), mikroemulsi (Zhang *et al.* 2010), dispersi padat (Wang *et al.* 2012), dan Inklusi β -siklodekstrin (Wang *et al.* 2008). Penelitian Hong (2014) mirisetin dibuat nanosuspensi karena efektif meningkatkan kelarutan mirisetin, menggunakan metode ultrasonikasi dan menghasilkan ukuran partikel antara 300-500 nm dan stabil secara fisik, kelarutan dan disolusi meningkat secara signifikan pada tikus.

6. Preformulasi

6.1 Tristearin (*Dynasan 118*) . *Dynasan 118* adalah lipid yang digunakan sebagai agen emolien, pengental pengemulsi, meningkatkan viskositas dan dispersan pada krim dan losion kulit (IOI 2012). *Dynasan 118* memiliki titik leleh 72 °C dan HLB 3-6, yang digunakan dalam pelepasan matriks dosis padat oral. Pelumas yang efektif untuk tablet atau kapsul. Ekstrusi lebur panas, pelelehan panas, nanopartikel lipid padat. *Dynasan* dapat menghasilkan ukuran nano, dibuktikan pada penelitian Josephprakash (20011) menggunakan imidapril sebagai zat aktif dan *dynasan* 3% dengan menggunakan surfaktan tween 80 sebanyak 20 ml menghasilkan ukuran partikel 200 nm.

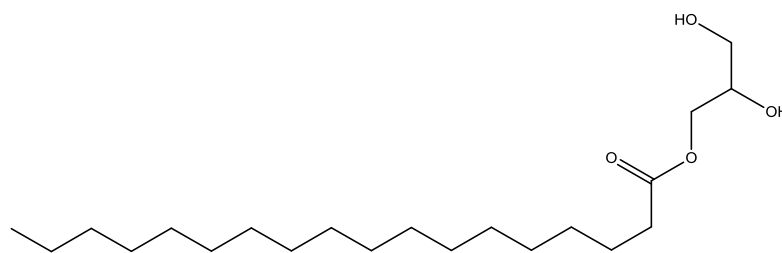


(Struktur2 Tristearin)

Gambar 2. Struktur Tristearin

6.2 Gliseril Monostearat (*Imwitor 941*) . *Imwitor 941* merupakan ester gliseril alami dari asam stearat yang berfungsi sebagai pelarut senyawa polar dan

senyawa nonpolar yang dapat membentuk air dalam minyak atau minyak dalam air pada sediaan emulsi. HLB imwitor adalah 3,8 memiliki titik leleh 55-60 °C. Praktis tidak larut dalam air tetapi larut dalam etanol panas, kloroform, aseton panas, minyak mineral dan minyak (Rowe 2012). Imwitor digunakan sebagai nano lipid untuk meningkatkan kelarutan obat, dibuktikan dengan obat voriconazole dengan menggunakan tween 20 konsentrasi surfaktan tween 20 (0% dan 0,5% v / v) menghasilkan Efisiensi penjejakan 84,24% dengan menggunakan metode *emulsion solvent evaporation* . Ukuran partikel dan morfologi permukaan berkisar 207-312 nm. Hasil ini menjadi sasaran studi ANOVA, ukuran SLN yang dibuat dari metode homogenisasi panas yang dimodifikasi ternyata kecil jika dibandingkan dengan yang dibuat dengan metode *emulsion solvent evaporatio* (Rajkumar 2018).



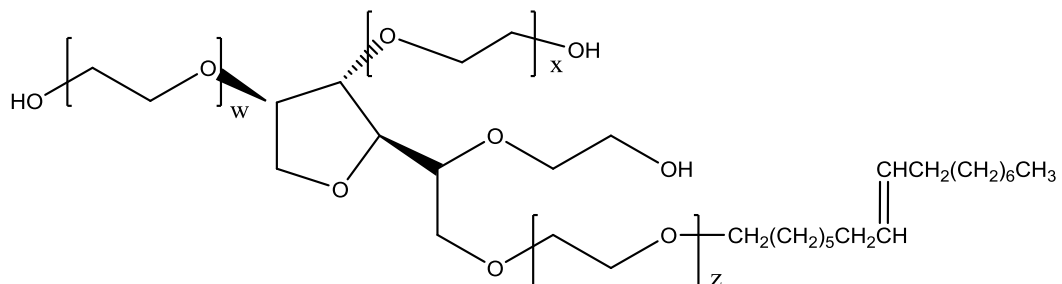
(Struktur3 Imwitor 941)

Gambar 3. Struktur Imwitor 941

6.3 Apifil. Apifil digunakan untuk emulsi karena air dapat masuk ke emulsi air dalam minyak. Formulasi oral digunakan sebagai lapisan gula pada obat. Apifil juga dapat mempengaruhi pelepasan obat dari resin penukar ion, dapat meningkatkan stabilitas, meningkatkan tekstur, meningkatkan konsistensi sebagai emolien karena penyerapan di epidermis, di mana dapat melumasi dan melembutkan kulit (Rowe 2012). Apifil memiliki HLB 9,4. Apifil dapat digunakan untuk membentuk ukuran nano pada NLC menggunakan twen 80 1,5% menghasilkan ukuran 60 -80 nm dan memiliki zeta potensial -38mV (Elwira 2013).

6.4 Tween 80. Tween 80 mengandung 20 unit *oxyethylene*, surfaktan nonionik hidrofilik yang digunakan secara luas sebagai agen pengemulsi dalam

emulsi minyak dalam air yang stabil. Tween 80 larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral (Rowe *et al* 2009). Tween 80 memiliki harga HLB sejumlah 15. Tween 80 juga dapat digunakan sebagai agen pelarut untuk berbagai zat termasuk minyak esensial dan vitamin yang larut dalam minyak, dan sebagai agen pembasahan dalam sediaan suspensi oral dan parenteral dan dapat meningkatkan bioavailabilitas molekul obat (Rowe 2012). HLB, berat molekul dari surfaktan, afinitas surfaktan terhadap lipid berbeda akan memengaruhi penstabilan partikel dalam media disper, bentuk kristalisasi lipid, dan meninggalkan ruang dalam kisi lipid. Ruang-ruang ini akan memunculkan kapasitas pemuatan obat yang lebih tinggi, penggabungan dalam ketidaksempurnaan di dalam matriks partikel dan akhirnya profil pelepasan yang lebih lambat. Surfaktan juga peran melalui ukuran partikel lipid yang terbentuk. Sifat fisikokimia SLN pada dasarnya dipengaruhi oleh jenis surfaktan yang digunakan (Gowda 2016).



(Struktur4 Tween 80)

Gambar 4. Struktur Tween 80

7. Validasi Metode Analisis

Validasi Metode Analisis merupakan suatu proses penilaian terhadap parameter analitik tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi syarat untuk tujuan penggunaannya. Validasi metode analisis ini bertujuan untuk mendapatkan suatu hasil analisis yang absah atau valid, dapat dipercaya dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan hasil analisis ini dapat menunjukkan kesesuaian dengan tujuan pengujian.

7.1 Akurasi. Keakuratan metode analisis yang menunjukkan kedekatan dari nilai (hasil uji) dengan nilai yang telah ditentukan dengan metode dengan nilai yang aktual (Chan 2014), untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar. Akurasi menggambarkan kesalahan sistematik dari suatu hasil pengukuran. Akurasi ditentukan dengan prolehan persen kemvali (% *Recovery*)

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{\text{Kadar hasil analisis}}{\text{Kadar sesungguhnya}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

7.1 Presisi. Presisi atau keseksamaan adalah tingkat kesesuaian diantara hasil analisis individual, jika prosedur dilakukan berulang kali terhadap sampel ganda atau beberapa sampel yang homogen. Presisi metode analisis ini dinyatakan sebagai simpangan baku relatif (SBR) atau Koefisien Variasi (KV). Adapun ukuran presisi metode analisis ini adalah mengetahui kesalahan karena sistem, tidak tergantung pada penyiapan sampel (Repeatabilitas Sistem) dan ukuran dari variabilitas intrinsik termasuk kesalahan karena penyiapan sampel (Repeatabilitas Metode) (Ibrahim, 2007). Dikatakan seksama jika memberikan $SBR \leq 2\%$ (Chen *et al.* 2014).

7.3 Linearitas. Linieritas merupakan kemampuan metode analisis untuk memnunjukkan respon/hasil uji secara langsung atau melalui transformasi matematika yang jelas, proporsional (sepadan) terhadap konsentrasi analit dalam sampel dan dalam rentang konsentrasi yang digunakan. Penetapan uji linearitas dengan larutan baku terdiri dari 5 konsentrasi yang naik dengan rentang 50-100% dari rentang komponen uji. Kemudian data diolah menggunakan regresi linear, sehingga dapat diperoleh respon linear terhadap konsentrasi larutan baku dengan nilai koefisien korelasi yang diharapkan mendekati angka 1 untuk metode analisis yang baik. Menggunakan analisis regresi linear $y = bx + a$. Nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama analisi yang digunakan (Harmita 2004).

7.4 Penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Limit Deteksi (LOD) adalah konsentrasi atau jumlah terkecil/terendah dari analit dalam sampel yang dapat terdeteksi, tetapi tidak perlu terkuantifikasi sehingga nilai yang dihasilkan tidak harus memenuhi kriteria akurasi dan presisi.

Nilai batas keberterimaan untuk akurasi kurang dari 5%, sedangkan untuk presisi batas keberterimaannya apabila nilai RSD (Standar Deviasi Relatif) lebih kecil dari nilai 2/3 (CVHorwitz).

Penentuan nilai limit deteksi dan kuantisasi tergantung pada analisis yang dilakukan menggunakan instrumen atau tidak menggunakan instrumen. Kegiatan analisis dilakukan tidak menggunakan instrumen maka limit deteksi dan kuatisasi ditentukan dengan mendeteksi sampel dengan pengenceran secara bertingkat, Jika kegiatan analisis dilakukan menggunakan instrumen maka limit deteksi dan kuantisasi ditentukan dengan mengukur respon blanko beberapa kali. Nilai limit deteksi dan kuantisasi dapat ditentukan dengan persamaan (Yulia 2010). Batas deteksi dan batas kuantifikasi penetapan kadar obat Myrisetin ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan membuat lima seri konsentrasi dibawah konsentrasi terkecil pada uji linearitas.

$$\text{LOD} = (3 S_y/x)/b \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{LOQ} = (10 S_y/x)/b \dots\dots\dots(3)$$

7.5 Selektivitas (Spesifisitas). Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

7.5 Ketangguhan metode (*ruggedness*) Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara lab dan antar analis.

8. Karakterisasi SLN

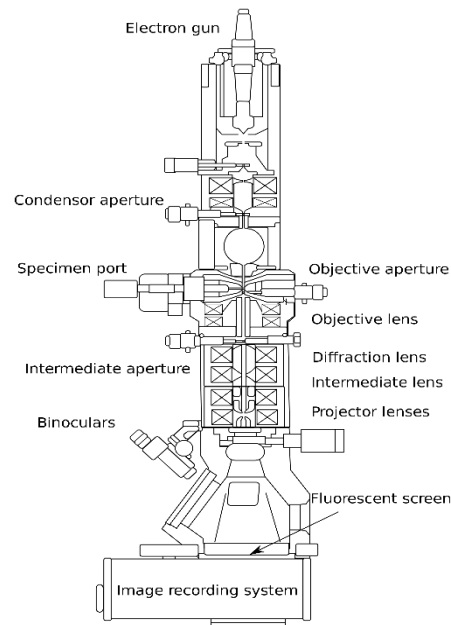
8.1 Ukuran Partikel dan Zeta Potensial. Pengukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), prinsip kerjanya adalah hamburan cahaya dinamis atau *dynamic light scattering* (DLS). PSA dapat diaplikasikan menggunakan prinsip ini untuk mengukur partikel dan molekul yang terdispersi dalam larutan, seperti protein, polimer, misel, karbohidrat, nanopartikel dispers koloid, emulsi, mikroemulsi (Malvern 2012). Partikel di dalam suspensi pada dasarnya memiliki gerak Brown, yang diinduksi oleh pelarut, jika partikel tersebut disinari cahaya maka intensitas cahaya yang dihamburkan partikel akan terjadi fluktuasi. Partikel yang lebih kecil akan lebih cepat berfluktuasi (Holler, Skoog, dan Crough 2007).

Analisis Potensial zeta adalah teknik untuk menentukan muatan permukaan nanopartikel dalam larutan (koloid). Besarnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai Potensial Zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi.

Penelitian Chao Hong (2014) membuktikan bahwa zat aktif yang digunakan myrisetin dibuat dengan sistem penghantar nanosuspensi, diukur zeta potensial menghasilkan -41,4 mV dan -28,2mV dan menghasilkan ukuran partikel 316,03 (0,22 P.I).

8.2 Transmission Electron Microscopy (TEM). Prinsip kerja instrumen TEM yaitu elektron dengan energi sangat tinggi (dipercepat pada tegangan ratusan kV) menembak permukaan sampel yang sangat tipis hingga mentransmisikan berkas elektron sekunder. Berkas elektron sekunder yang ditransmisikan akan ditangkap oleh detektor sebagai sinyal yang memberikan informasi tampilan partikel - partikel. Kemampuan elektron berinteraksi dengan permukaan sampel memberikan hasil yang berbeda-beda, bergantung pada permukaan sampel, jika elektron yang ditembakkan mampu menembus permukaan sampel dan tidak adanya energi yang berkurang, maka interaksi elastik antara sampel dengan berkas elektron ini menyebabkan sinyal yang ditransmisikan akan ditangkap oleh detektor sebagai bagian yang lunak. Sedangkan pada bagian yang dianggap keras

adalah jika interaksi sampel dengan berkas elektron primer menghasilkan interaksi inelastik maka menyebabkan absorpsi kompleks dan efek penyebaran yang mana dapat menghasilkan variasi. TEM yang berfungsi untuk analisis permukaan berdasarkan serapan elektron pada material yang bergantung pada ketebalan dan komposisi dari material yang dianalisis (Williams, 1996)



Gambar 5. Transmission Electron Microscopy (Tang 2017)

8.3 Stabilitas ukuran nanopartikel. Mekanisme *Ostwald ripening* dapat menjelaskan peningkatan ukuran partikel setelah penyimpanan. Ukuran partikel yang lebih besar (μm) memiliki kelarutan lebih kecil daripada ukuran partikel kecil (nm), sehingga zat aktif akan berdifusi ke ukuran partikel yang lebih besar sehingga ukuran partikel yang lebih besar akan semakin besar dan ukuran partikel yang kecil akan semakin kecil (Wu 2010).

Ukuran zat aktif mengalami peningkatan setelah proses penyimpanan, dibuktikan pada zat aktif myrisetin yang dibuat sistem penghantar obat nanosuspensi ukuran partikel mengalami peningkatan dari 316,03 nm menjadi 386,47 nm, hal ini kemungkinan karena penambahan bahan yang dapat membentuk jembatan didrofilik sehingga mengurangi gaya mengikat agregat anatr partikel (Hong 2014).

8.4 Efisiensi Penjerapan. Efisiensi Penjerapan merupakan perbandingan jumlah obat yang terjerap dalam lipid dengan jumlah obat yang digunakan dalam satuan persen. Pengujian efisiensi penjerapan zat aktif dilakukan untuk menentukan jumlah zat aktif yang terjerap dalam SLN.

$$Ee = \left(\frac{W_a - W_s}{W_a} \right) \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

$$L = \left(\frac{W_a - W_s}{W_l} \right) \times 100\% \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan :

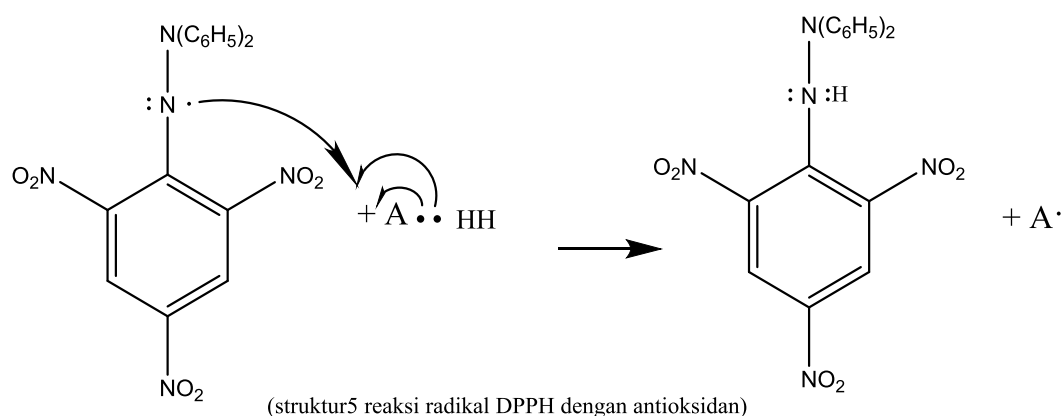
Wa : Jumlah obat yang ditambahkan dalam sistem

Ws : jumlah bahan obat yang bebas dalam supernatan

Wl : jumlah lipid yang digunakan dalam sistem

9. Pengujian DPPH

Metode DPPH adalah salah satu uji kuantitatif untuk mengetahui aktivitas antioksidan. Metode DPPH menunjukkan penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa, diikuti dengan penurunan absorbansi yang terjadi pada panjang gelombang yang sesuai akibat reduksi radikal tersebut oleh antioksidan. Radikal DPPH adalah suatu radikal stabil yang mengandung nitrogen dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah beraksi dengan senyawa antioksidan, DPPH akan tereduksi dan warna akan berubah menjadi warna kuning (Reynertson 2007). Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH, terjadi karena penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Pratimasari 2009).



Gambar 6. Struktur reaksi radikal DPPH dengan antioksidan

Nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) adalah konsentrasi antioksidan ($\mu\text{g/ml}$) yang dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Nilai IC_{50} diperoleh dari perpotongan garis antara daya hambat dan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan $y = a + bx$, dimana $y=50$ dan nilai x menunjukkan IC_{50} (hanani 2005).

Tabel 1. Kategori kekuatan antioksidan

Kategori	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
Sangat kuat	< 50
kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	151-200 μ

(Mardawati 2008)

B. Landasan Teori

Myrisetin Mirisetin merupakan senyawa flavonoid dengan subklas flovonol yang memiliki substitusi hidroksil pada posisi 3,5,7,3',4'dan 5, dan miliki efek neuroprotektif pada penyakit Parkinson baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. (Yang SF 2006). Selain itu, mirisetin juga telah ditemukan memiliki efek antioksidan sebagai aktifitas utama biologis (Yao 2013), dibuktikan pada penelitian Qu (2006) myrisetin dapat menghambat radikal bebas sebesar 71,5% dengan IC_{50} 9 $\mu\text{g/ml}$ dengan pengujian DPPH.

Teknologi SLN memberikan keuntungan meningkatkan luas permukaan partikel, sehingga meningkatkan disolusi dan kejenuhan larutan yang berhubungan dengan dapat memperbaiki bioavailabilitas dan distribusi obat dalam tubuh sehingga meningkatkan efikasi dan mengurangi efek samping obat, menggunakan bahan tambahan yang bersifat biokompatibel dan *biodegradable*, dapat pembawa untuk bahan obat yang bersifat hidrofobik dan hidrofilik (Mohanraj 2006). Formulasi dilakukan skrining dengan membandingkan bahan-bahan tambahan yang akan digunakan, bahan tambahan yang digunakan yaitu, lipid padat seperti Imwitor 941, *dynasan* 118 dan apifil digunakan untuk menghasilkan efektivitas penjerapan yang lebih besar dan ukuran partikel yang lebih kecil (Rahmawan *et al* 2012). Surfaktan digunakan yaitu tween 80, surfaktan digunakan sebagai eksipien untuk menstabilkan emulsi.

Teknik ultrasonikasi merupakan teknik yang banyak digunakan dalam pembuatan nanopartikel lemak padat karena metodenya yang sederhana dan efektif untuk menghasilkan SLN tanpa pelarut organik. Masalah dari metode ini adalah distribusi ukuran partikel yang lebih besar dan dapat mencapai rentang mikrometer. Kontaminasi logam yang disebabkan ultrasonikasi juga menjadi masalah pada teknik ini. Untuk mengatasi masalah-masalah tersebut, digunakan penggabungan teknik pengadukan kecepatan tinggi (homogenisasi) dan ultrasonikasi yang dilakukan pada suhu tinggi, yaitu diatas titik leleh lemak padatnya.

Partikel diukur dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) dengan parameter ukuran partikelnya 50-1000 nm (Muller 2000), yang mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan. Besarnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid, nilai Potensial Zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Uji disolusi merupakan salah satu kontrol kualitas yang dapat digunakan untuk memprediksi bioavailabilitas suatu obat dan menilai bioekuivalen (Sulaiman 2007).

Berkurangnya ukuran partikel akan meningkatkan kelarutan obat sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas obat sehingga sistem penghantar obat bisa stabil masuk ke reseptor targetnya, dengan berkurangnya ukuran partikel maka akan meningkatkan luas permukaan partikel, juga meningkatkan disolusi dan kejenuhan larutan yang berhubungan dengan peningkatan kinerja obat secara *in vivo*.

C. Hipotesa

1. Myrisetin dengan sistem penghantar SLN dapat dibuat menggunakan metode ultrasonikasi.
2. Myrisetin dengan sistem penghantar SLN dapat stabil selama proses penyimpanan.
3. Myrisetin dapat dikarakterisasi dengan sistem penghantaran SLN.