

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Nanopartikel**

Nanopartikel merupakan partikel koloid atau partikel padat dalam ukuran nanometer yaitu berkisar antara 10-1000 nm (Mohanraj & Chen 2006). Nanopartikel menggunakan polimer dapat dimanfaatkan untuk sistem pengiriman tertarget yang potensial, meningkatkan stabilitas obat, pelepasan obat yang terkontrol, atau melarutkan obat untuk penghantaran sistemik (Mohanraj & Chen 2006).

Nanopartikel menjadi penelitian yang menarik, sebab material dalam ukuran nano memiliki partikel dengan sifat fisika kimia yang lebih unggul dibandingkan dengan material berukuran besar (*bulk*) (Vestal *et al.* 2004; Guozhong 2004). Hal utama yang membuat nanopartikel berbeda dengan material berukuran besar (*bulk*), yakni ukurannya yang sangat kecil menyebabkan nanopartikel mempunyai nilai perbandingan antara volume yang besar dan luas permukaan daripada dengan partikel sejenis dalam ukuran besar. Sehingga sifatnya lebih reaktif, atom-atom pada permukaan nanopartikel menjadi penentu reaktifitas suatu material, karena atom tersebut yang bersentuhan langsung dengan material lain. Kemudian saat ukuran partikel menuju *ordenanometer*, hukum fisika yang berlaku adalah hukum fisika kuantum (Abdullah *et al.* 2008).

Hukum kuantum menyebabkan perubahan sifat nanopartikel yang berakibat pada terbatasnya ruang gerak elektron dan muatan pembawa lainnya dalam partikel menyebabkan perubahan sifat material seperti transparansi, warna yang dipancarkan, konduktifitas listrik, kekuatan mekanik, dan magnetisasi. Adapun perubahan rasio jumlah atom pada permukaan terhadap jumlah atom keseluruhan yang menyebabkan perubahan pada titik beku, titik didih, dan reaktifitas kimia. Nanopartikel diharapkan bisa menjadi lebih unggul daripada partikel bulk dengan adanya perubahan-perubahan tersebut (Abdullah *et al.* 2008).

Nanopartikel sebagai sistem pengiriman obat memiliki keuntungan seperti, bisa digunakan untuk berbagai rute administrasi seperti parenteral, oral, intra okular, dll. Obat-obatan dapat langsung dimasukkan tanpa reaksi kimia untuk menjaga aktivitas obat, dapat mengontrol dan mempertahankan pelepasan obat dilokasi target sehingga berhasil mencapai tingkat terapi obat yang diinginkan sekaligus mengurangi efek samping dari obat tersebut. Nanopartikel memiliki keterbatasan yaitu, luas permukaan yang besar dan ukuran partikel yang kecil menyebabkan agregasi partikel (Mohanraj & Chen 2006).

Nanopartikel mampu mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan dari beberapa zat aktif. Menurut Rawat *et al* (2006), nanopartikel yang digunakan sebagai sistem penghantaran obat memiliki banyak keuntungan. Salah satu keuntungannya yaitu, ukuran partikel dan sifat permukaannya dapat diatur dengan mudah. Nanopartikel dapat mengontrol pelepasan zat aktif selama perjalanannya menuju lokasi obat tersebut bekerja, sehingga dapat meningkatkan efek terapi obat dan mengurangi efek sampingnya. Sistem pelepasan obat dalam bentuk nanopartikel dapat diatur dengan jalan memilih matriks yang tepat sehingga nantinya dapat dihasilkan sistem pelepasan obat yang berbeda-beda. Nanopartikel dapat digunakan untuk banyak rute pemberian obat, seperti oral, nasal, parental, intra-okular dan lainnya.

### **B. *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN)**

*Solid Lipid Nanoparticles* (SLN) merupakan sistem pembawa koloid yang diselubungi oleh matriks berupa lipid padat berukuran nano dengan kisaran rentang 10-1000 nm. SLN merupakan alternatif sistem pembawa koloid tradisional seperti emulsi lipid cair yang dikembangkan menjadi lipid padat, terdispersi dalam air atau dalam surfaktan (Kesharwani 2016).

Keunggulan dari SLN diantaranya, luas permukaan besar, *drug load* tinggi, dan menarik karena berpotensi meningkatkan kinerja obat dalam tubuh, serta ukuran partikel yang kecil dari partikel lipid dapat memudahkan kontak dengan *stratum corneum* sehingga jumlah obat yang menembus kedalam kulit meningkat (Ekambaram *et al.* 2012; Jennings *et al.* 2000). Keuntungan lain dari

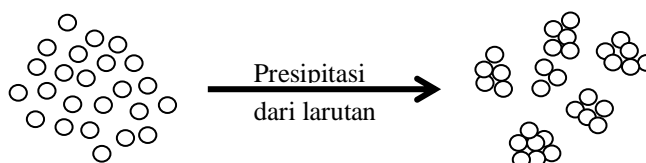
SLN yakni, tidak mengiritasi kulit, tidak beracun, karena terdiri dari lipid fisiologis sehingga cocok untuk kulit yang alergi (Muller *et al.* 2000).

### C. Metode Pembuatan *Solid Lipid Nanoparticle* (SLN)

Pembuatan *Solid Lipid Nanoparticle* (SLN) dapat dibagi menjadi beberapa cara diantaranya:

#### 1. Teknologi Bottom Up

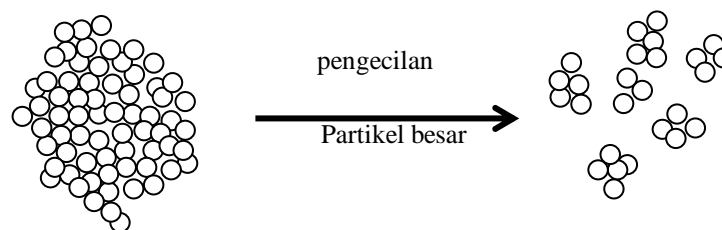
Metode pembuatan nanopartikel dengan cara memperbesar ukuran dari senyawa yang berukuran kecil menjadi lebih besar merupakan teknologi dari *Bottom Up*. Metode presipitasi atau metode hidrosol telah banyak digunakan. Parameter yang harus diperhatikan dalam metode ini adalah suhu, kecepatan pengadukan, jenis pelarut, perbandingan antara pelarut dengan non pelarut, konsentrasi obat, viskositas, dan bahan penstabil yang digunakan. Keuntungan dari metode presipitasi adalah menggunakan peralatan yang sederhana. Kekurangan metode presipitasi yaitu obat harus dapat larut setidaknya dalam satu pelarut dimana pelarut tersebut harus dapat bercampur dengan *non*-pelarut (Gupta dan Kompella 2006). Keterbatasan metode *bottom up* adalah kesulitan saat *scale up* adanya residu dari pelarut yang digunakan (Shegokar dan Müller 2010).



Gambar 1. Skema umum mekanisme teknologi bottom-up  
(Gupta dan Kompella 2006)

#### 2. Teknologi top down

Metode pembuatan nanopartikel dengan menggunakan gaya mekanik, sehingga mengubah partikel berukuran besar menjadi kecil merupakan teknologi *top down*. Hal yang perlu diperhatikan bila menggunakan metode *top down* adalah kekuatan atau keliatan bahan, kekerasan, sifat *abrasive*, bentuk dan ukuran partikel, serta sensitivitasnya terhadap suhu (Gupta dan Kompella 2006; Van Eerdenbrugh *et al.* 2008).



**Gambar 2. Skema umum mekanisme teknologi *top down* (Gupta dan Kompella 2006)**

Metode pembuatan dengan teknologi ini terdiri dari berbagai cara, yaitu :

**2.1. Pearl Milling (*Ball Milling*).** Alat yang digunakan dalam *pearl milling* terdiri dari wadah dan bola yang bergerak. Metode ini obat didispersikan dalam larutan surfaktan kemudian dimasukkan ke dalam alat *pearl milling*. Keuntungan metode ini adalah teknologi sederhana dan biaya produksi relatif murah. Kekurangan metode ini adalah potensi kontaminasi dari bahan *milling*, durasi proses lama, adanya potensi pertumbuhan kuman pada fase air karena proses pembuatan yang lama (Müller *et al* 2006; Shegokar dan Müller 2010).

**2.2. High Pressure Homogenizer (*homogenisasi tekanan tinggi*).** Metode homogenisasi tekanan tinggi dibagi menjadi 2 macam, yaitu *piston gap homogenization* dan *jet stream arrangement*. Metode *piston gap homogenization* menghancurkan suspensi kasar dengan mendorong partikel kasar masuk ke dalam suatu celah (*gap*). Proses pengecilan ukuran partikel dipengaruhi oleh daya dorong, kavitasi dan tumbukan antar partikel. Contoh alat homogenisasi tekanan tinggi adalah Micron Lab<sup>®</sup> 40. Keuntungan metode ini adalah efektif dalam proses pengurangan ukuran partikel, proses produksi dapat divalidasi, terhindar dari kontaminasi, proses relatif sederhana dan biaya relatif rendah. Teknologi yang sudah dikembangkan menggunakan metode ini adalah Dissocubes<sup>®</sup>. Dissocubes<sup>®</sup> menggunakan media dispersi air dan melalui kavitasi dengan memberikan tekanan yang tinggi pada media dispersi (Müller *et al.* 2006; Shegokar dan Müller 2010).

Teknik ini merupakan teknik terbaik yang digunakan untuk persiapan SLN. Teknik ini memiliki keunggulan diantaranya, tidak menggunakan pelarut organik dan mendorong cairan dengan tekanan tinggi (100-2000 bar) melalui celah sempit dengan kecepatan sangat tinggi (>1000 km/jam) tekanan yang sangat tinggi mampu mendorong partikel mencapai ukuran submikron (nano) (Wolfgang

dan Karsten 2001). Teknik ini memiliki 2 metode yakni teknik homogenisasi panas dan teknik homogenisasi dingin :

**2.2.1 Metode Homogenisasi Panas.** Obat dan lipid padat dilelehkan pada suhu diatas titik leleh dari lipid berkisar antara 5-10°C. pra-emulsi dimasukan dalam larutan surfaktan dengan air panas dilelehkan dilakukan pengadukan, untuk memperoleh emulsi minyak dalam air. Homogenisasi dengan HPH pada suhu yang sama untuk mendapat nanoemulsi panas, kemudian dinginkan sampai suhu kamar untuk kristalisasi lipid dan membentuk SLN. Secara umum, dilakukan 3-5 siklus homogenisasi pada tekanan 500-1500 bar (Akanksha *et al.* 2012).

**2.2.2 Metode Homogenisasi Dingin.** Obat dilarutkan dalam campuran lipid padat dan cair yang dilelehkan pada suhu 5-10°C diatas titik leleh dari lipid, padatkan untuk mendapatkan partikel mikro lipid. Larutan surfaktan berair didinginkan untuk mendapatkan pra suspense, kemudian di homogenisasi untuk mendapatkan SLN. Metode ini digunakan untuk obat-obat hidrofilik.

### **3. Metode *High shear homogenization and ultrasound***

Metode pengadukan berkecepatan tinggi dan ultrasonikasi merupakan pendispersi yang awalnya digunakan untuk persiapan nanodispersi lipid padat. Kedua metode ini mudah ditangani dan paling sering digunakan. Metode ini leburan lipid didispersikan pada fase air dngan suhu yang sama dengan pengadukan mekanik atau sonikasi (Singhal *et al.* 2011). Kehadiran mikropartikel dan logam kontaminan memiliki pengaruh besar pada kualitas nanodispersi dan harus dikompromikan jika menggunakan ultrasound. Metode ultrasound sendiri merupakan teknik yang paling banyak digunakan karena peralatan yang dibutuhkan adalah umum di setiap laboratorium. Metode ultrasound dapat digunakan dengan 2 alat, yang pertama yaitu dengan menggunakan alat *probe sonikator* dengan bagian ujungnya menyediakan masukan energi tinggi untuk dispersi lipid tetapi kadang-kadang menyebabkan degradasi lipid karena terlalu panas dari dispersi lipid, yang kedua dengan menggunakan alat sonikator bath dengan prinsip kerja cenderung melepaskan partikel logam ke dalam dispersi,

yang harus dihilangkan dengan sentrifugasi sebelum digunakan (Pardeshi *et al.* 2012).

Masalah yang paling berat apabila hanya menggunakan metode ultrasound adalah terbentuknya partikel yang lebih luas bahkan dalam ukuran mikrometer. Upaya yang dapat dilakukan untuk mendapatkan formulasi yang stabil yaitu dengan menggunakan gabungan pengadukan berkecepatan tinggihan teknik ultrasonikasi yang dilakukan pada suhu tinggi. Ukuran dan distribusi ukuran dari dispersi lipid dipengaruhi oleh komposisi dan konsentrasi lipid, waktu dan kekuatan sonication, dan suhu (Pardeshi *et al.* 2012).

#### **4. Teknik Mikroemulsi**

Obat dilarutkan dalam campuran lipid padat dan cair yang dilelehkan pada suhu 5-10°C diatas titik leleh dari lipid. Surfaktan cair ditambahkan lipid yang meleleh diaduk pada suhu yang sama. Komponen dicampur dengan rasio yang benar maka terbentuk mikro-emulsi, tambahkan air dingin sedikit demi sedikit dengan pengadukan ringan secara terus menerus hingga terbentuk SLN. Ukuran partikel yang kecil disebabkan oleh presipitasi dan pengadukan non mekanik.

#### **5. Teknik Emulsifikasi**

Obat surfaktan dan campuran lipid dicairkan, biarkan tersebar menjadi surfaktan cair panas dilakukan pengadukan ringan pada suhu yang sama hingga terbentuk emulsi primer. Emulsi primer hangat dilakukan ultrasonik untuk mendapatkan nanoemulsi, kemudian didinginkan dengan cepat dalam air dingin lalu diaduk sampai didapatkan dispersi SLN yang seragam.

Teknik emulsifikasi memiliki keuntungan dibandingkan metode pembuatan yang lainnya, metode ini lebih mudah dan dapat memberikan hasil penjebaran yang baik (Yuan *et al.* 2007). Pada metode ini dilakukan dengan cara melelehkan fase lipid dengan menggunakan perbandingan lipid yang berbeda, serta bahan aktif pada suhu 65°C. Larutan surfaktan disiapkan dan dipanaskan pada suhu 65°C diwaktu yang sama. Larutan surfaktan panas kemudian didispersikan ke dalam fase lipid panas menggunakan ultra-turax dengan kecepatan 3400 rpm selama 30 menit. Tahap selanjutnya adalah tahap pendinginan, kemudian diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan

100 rpm hingga mencapai suhu 25°C. SLN yang telah jadi ditimbang untuk mengetahui berat akhir SLN (Khurana *et al.* 2013; Han *et al.* 2008; Yuan *et al.* 2007). Teknik emulsifikasi dengan kapasitas pemuatan obat yang lebih tinggi dan ukuran partikel yang lebih kecil, dapat meningkatkan bioavailabilitas potensial (Pardeshi *et al.* 2012).

#### D. Fisetin

Fisetin merupakan flavonoid tanaman bioaktif yang memiliki struktur diphenylpropane terdiri dari dua cincin aromatik terikat melalui tiga cincin heterosiklik karbon oksigen, dilengkapi dengan empat substitusi gugus hidroksil dan satu kelompok okso (Kashyap *et al.* 2018). Fisetin termasuk obat golongan BCS kelas II dengan absorpsi dan bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10% serta kelarutan 0,002 mg/ml (Dang *et al.* 2014; Yao *et al.* 2013).

**Tabel 1. Sifat Fisikokimia Fisetin**

Nama IUPAC	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,7 dihydrochromen-4-satu
Formula Kimia	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>
Titik Lebur	330°C
Massa Molar	286,239 g / mol
Kelarutan	Alkohol, aseton, asam asetat. Solusi alkali tetap hidroksida, DMSO; Praktis tidak larut dalam air, eter, benzena, kloroform dan petroleum eter.

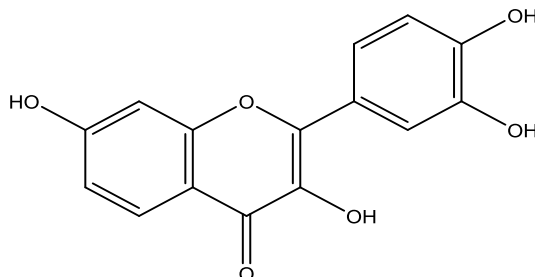
(Kashyap *et al.* 2018)

Fisetin-tetrahydroxyflavone (3,7,3',4'1), dikenal sebagai *Natural Brown* yang banyak dijumpai dalam berbagai buah-buahan dan sayur-sayuran, seperti anggur, bawang, mentimun, apel, kesemek dan stroberi. Tingkat flavonol alami memiliki konsentrasi yang berkisar antara 2-160 mg / g dan diperkirakan asupan harian rata-rata fisetin sebesar 0,4 mg pada manusia (Kashyap *et al.* 2018).

Fisetin memiliki berbagai manfaat biologis diantaranya sebagai antiinflamasi, antiangiogenic, antioksidan, hipolipidemik, saraf, dan efek antitumor. Dosis 10mg/kg BB tikus pada Fisetin dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes (Prasath dan Subramanian 2011).

Kegiatan aktivitas biologis fisetin tergantung posisi hidroksil pada 3,7,3',4' dan okso pada posisi 4 dengan ikatan ganda antara C2 dan C3. Ikatan ganda antara C2 dan C3 serta gugus hidroksil pada C-7 berperan penting dalam

aktivitas antioksidan, begitupun adanya gugus hidroksi pada C-3 dirantai B dikaitkan dengan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Kashyap *et al.* 2018).



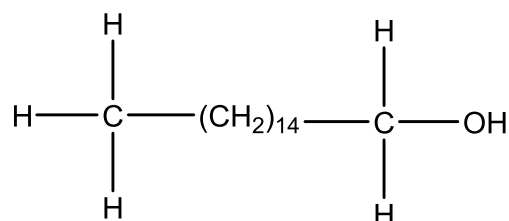
**Gambar 3. Struktur kimia fisetin**  
(Michal *et al.* 2014)

## E. Studi Preformulasi

### 1. Setil Alkohol

Setil alkohol adalah serbuk hablur putih, berbentuk granul seperti dadu, lunak, memiliki rasa hambar dan berbau khas. Setil alkohol terdiri dari campuran alkohol alifatik padat. Nama kimia dari setil alkohol adalah hexadecane-1-ol dengan berat molekul 242,44 dan rumus kimia  $C_{16}H_{34}O$ . material murni dari setil alcohol memiliki titik didih sebesar 316-344 dan titik leleh sebesar 45-52,49°C (Rowe *et al.* 2009).

Setil alkohol berbentuk serpihan licin yang berasal dari alkohol lemak, berbentuk granul menyerupai kubus yang mengandung susunan hidroksil. Setil alkohol digunakan sebagai bahan pengeras dan pengemulsi dalam sediaan semi padat. Setil alcohol sangat larut dalam eter dan ethanol 95% serta tidak larut dalam air. Semakin tinggi suhu, kelarutannya akan meningkat. Setil alcohol sebagai bahan pengeras digunakan konsentrasi 2-10%, sedangkan sebagai bahan pengemulsi ataupun emollient digunakan konsentrasi 2-5%. Kegunaan setil alkohol dalam penelitian ini sebagai lipid padat yang akan dilakukan skrining.

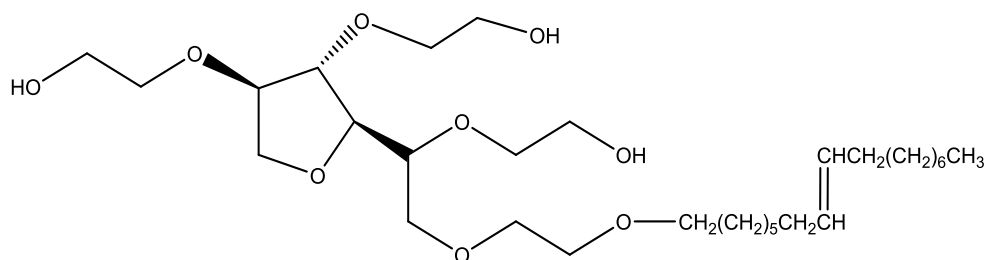


**Gambar 4. Struktur Setil alkohol**  
(Sumber : Rowe *et al.* 2009)



## 2. Tween 80 (*Polysorbate 80*)

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



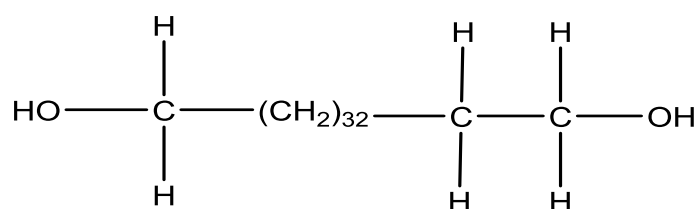
Gambar 5. Struktur tween 80  
(Salager 2002)

## 3. Cetostearil Alkohol

Cetostearil alkohol berwarna putih atau krem, serpih, pelet atau butiran. Ia memiliki bau manis yang khas. Pada pemanasan, alkohol cetostearyl meleleh menjadi cairan yang jernih, berwarna atau pucat berwarna kuning bebas dari bahan yang tersuspensi. Titik didih 300-368°C (suhu degradasi) Kepadatan (bulk) 0,8 g / cm<sup>3</sup> pada 208°C. Kelarutan larut dalam etanol (95%), eter, dan minyak; praktistidak larut dalam air. Kondisi stabilitas dan penyimpanan cetostearil alkohol harus disimpan dalam wadah tertutup di tempat yang sejuk dan kering.

Cetostearil alkohol stabil dalam kondisi penyimpanan normal. Cetostearil alkohol digunakan dalam kosmetik dan sediaan farmasi topikal. Dalam formulasi farmasi topikal, alkohol cetostearil akan meningkatkan viskositas dan bertindak sebagai emulsifier baik dalam emulsi air dalam minyak dan minyak

dalam air. Cetostearil alkohol akan menstabilkan emulsi dan juga bertindak sebagai *co-emulsifier*, sehingga menurunkan jumlah total surfaktan yang dibutuhkan untuk membentuk emulsi yang stabil. Dalam kombinasi dengan surfaktan lainnya, cetostearil alkohol membentuk emulsi dengan struktur mikro yang sangat kompleks. Mikrostruktur ini dapat termasuk kristal cair, struktur pipih, dan fase gel (Rowe *et al.* 2009). Kegunaan cetostearil alkohol dalam penelitian ini sebagai lipid padat yang akan dilakukan skrining.

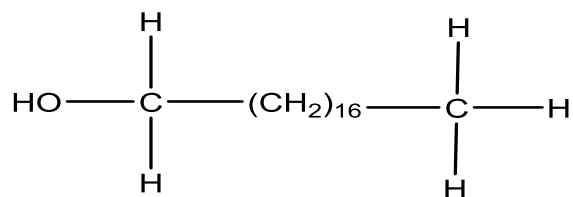


**Gambar 6. Struktur Cetostearil alkohol**  
(Sumber: PubChem 2018)

#### 4. Stearil Alkohol

Pemerian stearyl alkohol keras, putih, potongan lilin, serpih, atau granula dengan sedikit bau khas dan rasa hambar. Stearyl alkohol stabil terhadap asam dan alkali dan biasanya tidak menjadi tengik. Stearyl alkohol disimpan dalam wadah tertutup dengan baik pada tempat yang sejuk dan kering. Stearyl alkohol digunakan dalam sediaan farmasi seperti kosmetik dan krim topikal serta salep sebagai agen pengeras. Stearyl alkohol dapat meningkatkan viskositas suatu emulsi, sehingga stabilitasnya juga akan meningkat. Stearyl alkohol juga memiliki beberapa emulsen dan pengemulsi yang lemah, digunakan untuk meningkatkan kapasitas menahan air pada sediaan salep, misal petrolatum. Selain itu, stearyl alkohol telah digunakan dalam tablet yang dilepaskan terkontrol, supositoria, dan mikrosfer. Ini juga telah diteliti untuk digunakan sebagai penetrasi transdermal.

Reaksi merugikan dari stearyl alkohol pada sediaan topikal dilaporkan bahwa terjadi kontak urtikaria dan reaksi hipersensitivitas, yang mungkin disebabkan oleh kotoran yang terkandung dalam stearyl alkohol dengan dosis manusia oral yang mematikan mungkin lebih besar dari 15 g / kg. LD<sub>50</sub> (tikus, oral): 20 g / kg. Kegunaan stearyl alkohol dalam penelitian ini sebagai lipid padat yang akan dilakukan skrining.



**Gambar 7. Struktur Stearil alkohol**  
(sumber : Rowe et al. 2009)

## F. Validasi Metode Analisis

Kegiatan analisis kimia bertujuan untuk menghasilkan data hasil uji yang valid. Data yang valid tersebut diperoleh dari metode yang valid. Validasi metode analisis merupakan suatu proses penilaian terhadap metode analisis tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan (Harmita 2004). Validasi metode memiliki beberapa manfaat lain yaitu untuk mengevaluasi kerja suatu metode analisis, menjamin prosedur analisis, menjamin keakuratan dan mengurangi risiko kesalahan yang mungkin terjadi (Wulandari 2007).

Parameter-parameter dalam proses validasi metode ditentukan dengan menggunakan peralatan yang memenuhi spesifikasi, bekerja dengan baik dan terkalibrasi. Beberapa parameter validasi metode analisis yaitu linearitas, presisi, akurasi, limit deteksi serta limit kuantitasi.

### 1. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis memberikan respon secara langsung atau dengan matematik, untuk mendapatkan hasil dari variabel data (absorbansi dan kurva kalibrasi) dimana secara langsung proporsional dengan konsentrasi, serta untuk mengetahui kemampuan standar dalam mendeteksi analit (Chan *et al.* 2004).

Penentuan uji linearitas dilakukan dengan larutan baku yang terdiri dari 5 konsentrasi yang naik dengan rentang 50–100 % dari rentang komponen uji. Kemudian data diolah dengan regresi linear, sehingga dapat diperoleh respon linier terhadap konsentrasi larutan baku dengan nilai koefisien korelasi yang diharapkan mendekati angka 1 untuk suatu metode analisis yang baik. Sebagai parameter adanya hubungan linier, digunakan koefisien korelasi pada analisis

regresi linear  $y = bx + a$ . Nilai  $a$  pada regresi linear menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita 2004).

## 2. Akurasi

Akurasi merupakan kedekatan hasil uji antara hasil yang diperoleh dengan nilai sebenarnya atau dengan nilai referensinya (Chan *et al.* 2004). Akurasi menggambarkan kesalahan sistematik dari suatu hasil pengukuran. Berbagai macam kesalahan yang mungkin terjadi meliputi kelembaban, bahan referensi serta metode analisis. Akurasi dapat dinyatakan sebagai persen kembali analit yang ditambahkan sedangkan nilai akurasi dapat dinyatakan dengan persen perolehan kembali (persen recovery) dengan nilai 5% atau kurang.

Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

**Tabel 2. Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks**

<b>Analit pada matriks sampel (%)</b>	<b>Rata-rata yang diperoleh (%)</b>
100	98-102
>10	98-102
>1	97-103
>0,1	95-105
0,01	90-107
0,001	90-107
0,000.1 (1 ppm)	80-110
0,000.01 (100 ppb)	80-110
0,000.001 (10 ppb)	60-115
0,000.000.1 (1 ppb)	40-120

## 3. Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji dengan cara memperoleh pengukuran dari penyebaran hasil uji jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran homogen. Diukur sebagai simpangan baku atau simpangan relatif (koefisien variasi). Akurasi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (repeatability) atau ketertiruan (reproducibility). Dikatakan seksama jika metode memberikan simpangan baku relatif yaitu  $\leq 2$  ( Chan *et al.* 2004).

## G. Karakterisasi SLN

### 1. Ukuran Partikel

Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas nanopartikel (Singh *et al* 2009). Pengukuran partikel dilakukan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA). Persyaratan parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al* 2000). Potensial zeta diukur dengan menggunakan *zetasizer*. Potensial zeta mempunyai aplikasi praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi, karena potensial ini mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan (Sinko 2012). 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. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena atraksi Van Der Waals antar-partikel (Ronson 2012).

### 2. Stabilitas Selama Penyimpanan

Potensial zeta merupakan aplikasi praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi, karena potensial ini mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan kecuali sistem yang mengandung stabilisator sterik atau hidrofilik karena adsorpsi stabilisator sterik akan menurunkan potensial zeta melalui pergeseran partikel (Pardeshi *et al.* 2012). Potensial zeta dapat menggambarkan prediksi mengenai stabilitas penyimpanan dari dispersi koloid. Secara umum, nilai potensial zeta yang tinggi cenderung menyebabkan deagregasi partikel karena terjadinya penolakan dengan adanya muatan listrik.

Potensial zeta diukur dengan menggunakan *zetasizer*. Besarnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai potensi zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena atraksi Van Der Waals antar-partikel (Ronson 2012).

### 3. Efisiensi penjebakan

Persentase bahan aktif yang terjebak di dalam partikel lipid merupakan suatu efisiensi penjebakan atau *Entrapment Efficiency* (EE). Untuk bahan aktif yang bersifat lipofilik biasanya memiliki nilai EE antara 90-98% (Zhang *et al.* 2007). Efisiensi penjebakan (EE) sesuai dengan persentase obat yang dikemas dan teradsorpsi pada nanopartikel. Dispersi nanopartikel (1 ml) disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm (*Eppendorf mini-centrifuge*) selama 20 menit sampai nanopartikel terpisah. Larutan elektrolit NaCl digunakan untuk memfasilitasi pemisahan nanopartikel. Supernatan yang didapatkan dianalisis menggunakan metode spektrofotometri UV yang divalidasi setelah dilakukan pengenceran yang sesuai (Abhijit *et al.* 2011).

Kegunaan *spektrofotometer UV-Vis* adalah untuk menentukan lebar celah pita energi dalam semikonduktor, yang menentukan sejumlah sifat fisis semikonduktor tersebut.

Pengukuran dengan *spektrofotometer UV-Vis* dilakukan pada nilai absorbansi. Absorbansi dengan simbol A dari larutan merupakan logaritma dari (1/T atau logaritma I<sub>0</sub>/I). Absorbansi meliputi transisi dari tingkat dasar ke tingkat yang lebih tinggi, yakni tingkat tereksitasi. Menelaah frekuensi bahan yang tereksitasi maka dapat diidentifikasi dan dianalisis karakteristik dari sebuah bahan.

Bahan semikonduktor, kemampuan dalam menyerap radiasi atau energi disebut sebagai absorbansi dimana masing-masing bahan semikonduktor memiliki nilai absorbansi dengan rentang panjang gelombang yang berbeda-beda. Absorbansi yang diukur dengan instrument UV-Vis sesuai dengan hukum Lambert Beer :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dengan    A = Absorbansi (unit absorbansi / a.u.)  
            $\epsilon$  = Absorptivitas molar ( $M^{-1}cm^{-1}$ )  
           b = tebal larutan (cm)  
           c = konsentrasi larutan (M)

$$\alpha = \frac{1}{b} \ln \frac{I_0}{I}$$

Dimana  $\alpha$  = koefisien absorpsi  
 $b$  = tebal sampel (cm)  
 $I_0$  = intensitas cahaya yang menuju sampel ( $W/m^2$ )  
 $I$  = intensitas cahaya yang keluar dari sampel ( $W/m^2$ )

Pengaruh *Entrapment Efficiency* (EE) dan dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Entrapment Efficiency (EE)} = \left( \frac{W_o - W_s}{W_s} \right) \times 100\%$$

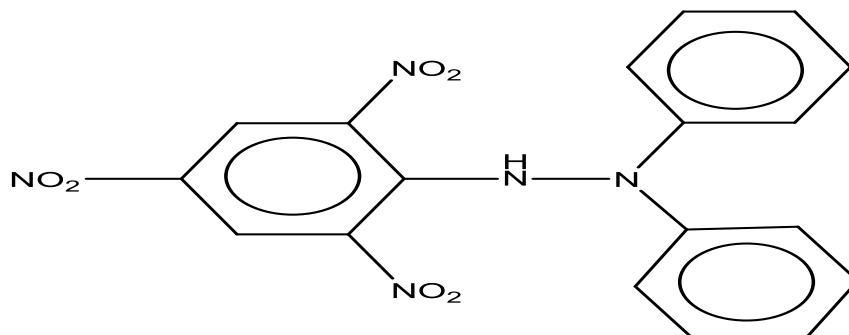
Keterangan :

$W_o$  : Jumlah obat yang ditambahkan ke dalam sistem

$W_s$  : Jumlah bahan obat bebas dalam supernatan

### H. Uji Aktifitas Antioksidan (DPPH)

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Vanselow 2007). Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Prayoga 2013).



**Gambar 8. Struktur DPPH**

(Sumber : Molyneux 2004)

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi efektif formula yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga 50 disubstitusikan sebagai nilai y dan akan didapatkan x sebagai nilai  $IC_{50}$ . Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  semakin tinggi aktivitas antioksidan (Badarinath 2010). Kemudian nilai  $IC_{50}$  yang didapat kemudian dibuat dengan analisis statistik.

### I. Landasan Teori

Fisetin merupakan obat yang memiliki bioavailabilitas rendah permeabilitas tinggi namun kelarutannya rendah sesuai dalam BCS kelas II yang memiliki sifat demikian, mengakibatkan absorpsinya kurang sempurna karena laju disolusinya juga rendah (Shargel dan Yu 2005). Fisetin banyak dijumpai dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayur-sayuran, namun pemanfaatannya belum maksimal. Fisetin pada penelitian ini bisa dibuat sebagai antioksidan dengan sistem penghantaran SLN, karena fisetin termasuk zat aktif yang memenuhi syarat BCS kelas II sehingga bisa dibuat SLN dimanateknologi formulasi dengan sistem ,penghantaran SLN menggunakan obat-obat BCS kelas II untuk meningkatkan kelarutan dari obat tersebut. SLN memberikan keunggulan seperti luas permukaan besar, efisiensi penjabakan tinggi, stabil dalam penyimpanan jangka panjang dan menarik karena berpotensi meningkatkan kinerja obat dalam tubuh, serta ukuran partikel yang kecil dari partikel lipid dapat memudahkan kontak dengan *stratum corneum* sehingga jumlah obat yang menembus kedalam kulit meningkat (Ekambaram *et al.* 2012; Jennings *et al.* 2000). Keuntungan lain dari SLN yakin, tidak mengiritasi kulit, tidak beracun, karena terdiri dari lipid fisiologis sehingga cocok untuk kulit yang alergi (Muller *et al.* 2000).

Bahan yang digunakan berupa lipid padat golongan alkohol, dimana lipid ini tidak dapat terhidrolisis dan termasuk senyawa hidrokarbon yang memiliki rantai panjang, bersifat asam lemak jenuh karena tidak memiliki ikatan rangkap



sehingga tidak mudah rusak dan stabil dalam suhu tinggi maupun rendah (Rinidar *et al.* 2014). Lipid padat yang digunakan yaitu setil alkohol, cetostearil alkohol, dan stearil alkohol. Perbedaan ketiga lipid tersebut terdapat pada panjang rantai, dimana setil alkohol memiliki gugus C sebanyak 16 lalu stearil alkohol memiliki gugus C sebanyak 18 sedangkan cetostearil alkohol merupakan gabungan antara setil alkohol dan cetostearil alkohol sehingga memiliki gugus C paling banyak yakni 34. Panjang rantaidapat mempengaruhi kestabilan dari SLN yang akan dibuat, maka berdasarkan panjang rantainya cetostearil alkohol merupakan lipid yang paling stabil dalam penyimpanan. Surfaktan yang digunakan adalah Tween 80 karena bersifat nonionik, sehingga tidak mudah mengiritasi, nontoksik, dan tidak beracun.

Variasi konsentrasi untuk lipid padat golongan alkohol berdasarkan literatur 2-10 % , namun untuk skrining lipid berupa setil alkohol, stearil alkohol, dan cetostearil alkohol digunakan 2%;4%; dan 6%. Konsentrasi lipid tersebut dapat mempengaruhi SLN fisetin yang akan dibuat karena semakin tinggi konsentrasi lipid tersebut maka viskositasnya akan meningkat, sehingga dibuat konsentrasi yang kecil. SLN fisetin yang diinginkan yakni tidak kental, tidak keruh, tidak memisah selama penyimpanan, berbentuk cairan untuk mempermudah karakterisasinya.

Sistem pembawa SLN bagus untuk diaplikasikan pada kulit karena dapat meningkatkan penetrasi obat kedalam kulit, dan baik untuk kulit yang alergi karena komponennya berupa surfaktan non ionik yang bersifat tidak mengiritasi kulit, dan lipid digunakan sebagai sistem penghantaran topikal berkaitan dengan sifat fisiologis karena dapat mengurangi toksisitas dan iritasi lokal, serta tidak beracun. Persiapan SLN topikal semakin menarik bagi industri kosmetik selama beberapa tahun terakhir ini. Selain itu, studi *in vivo* menunjukkan bahwa SLN dapat meningkatkan hidrasi kulit melalui efek oklusi yang dipengaruhi oleh ukuran partikel, volume sampel, konsentrasi lipid, dan kristanilitas matriks lipid (Swarnavalli *et al.* 2014).

Metode yang digunakan dalam sistem penghantaran SLN ini adalah metode kombinasi antara *emulsifikasi-sonikasi* berupa metode yang paling sering

digunakan, cara pembuatannya yang mudah, alat yang umumnya ada dalam setiap laboratorium dan dapat memberi hasil pengebakan yang baik, metode ini memiliki beberapa parameter diantaranya suhu, kecepatan pengadukan, waktu, dan tekanan.

Validasi metode dapat dilihat dengan melakukan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut telah memenuhi persyaratan mutu yang dilakukan. Ketika metode yang digunakan telah valid, maka data yang dihasilkan juga akan valid (Harmita 2004). Linearitas, akurasi, presisi adalah beberapa contoh parameter yang digunakan dalam validasi metode.

*Particle Size Analyzer* (PSA) dilakukan untuk mengukur suatu partikel. Parameter ini memiliki syarat pada periode waktu tertentu dapat stabil dan ukuran partikel 10-1000 nm (Muller *et al* 2000). *Zetasizer* merupakan alat yang digunakan dalam pengukuran potensial zeta. Potensial zeta mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang saling berdekatan dan bermuatan sama, sehingga dapat digunakan secara praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi (Sinko 2012). Stabilitas koloid dapat diprediksi dari besarnya potensial zeta. Nanopartikel dengan nilai Potensial Zeta kurang dari -25 mV atau lebih besar dari +25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Atraksi Van Der Waals antar-partikel akan menghasilkan agregat karena dispersi dengan nilai potensial zeta rendah (Ronson 2012).

Dilakukan uji DPPH pada zat aktif fisetin yang diyakini memiliki aktifitas antioksidan (Chen *et al.* 2014). Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi efektif formula yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga 50 disubstitusikan sebagai nilai y dan akan didapatkan x sebagai nilai  $IC_{50}$ . Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  semakin tinggi aktivitas antioksidan (Badarinath 2010).

Kemampuan SLN dalam melarutkan obat hingga tepat jenuh serta menentukan kadar obat yang larut adalah dengan penentuan efisiensi penjebakan. Penentuan kadar obat yang larut dapat dilihat dari nilai absorbansi dengan menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* (Patel *et al.* 2010). Dilihat dari persentasi bahan aktif yang terjebak didalam lipid. Bahan aktif yang bersifat lipofilik biasanya memiliki nilai EE antara 90-98% (Zhang *et al.* 2007).

Penelitian terdahulu melakukan berbagai cara untuk meningkatkan kelarutan fisetin antara lain seperti nanokelat (Bothirija *et al.* 2014), kokristal (Sowa *et al.* 2014), liposom (Mignet *et al.* 2012), nanoemulsi (Ragelle *et al.* 2012), dan kompleks inklusi siklodekstrin (Guzzo *et al.* 2006). Kendala keterbatasan pemahaman tentang sifat biologi dan sifat fisika kimia fisetin, membuat penelitian tersebut belum mampu meningkatkan kelarutan fisetin secara signifikan (Yao *et al.* 2013). Sehingga dilakukan penelitian fisetin yang dibuat sistem penghantaran SLN untuk melihat kemampuannya dalam meningkatkan kelarutan.

## **J. Hipotesis**

1. Fisetin dengan sistem penghantaran *solid lipid nanoparticle* (SLN) dapat stabil menggunakan lipid padat golongan alkohol dan metode *emulsifikasi-sonikasi*, serta memiliki efektivitas antioksidan yang tinggi pada formula SLN fisetin.
2. Variasi konsentrasi lipid padat golongan alkohol dapat berpengaruh terhadap karakterisasi SLN fisetin.
3. Lipid padat golongan alkohol yang diformulasikan dapat membentuk sistem SLN.