

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi merupakan semua objek yang menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *solid self-nanoemulsifying drug delivery system* (s-SNEEDS) naringenin.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah bagian dari populasi yang diteliti, yang ciri-ciri dan keberadaannya diharapkan mampu mewakili atau menggambarkan keberadaan populasi yang sebenarnya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini variasi komposisi stearin dan PEG 1000 dalam *solid* SNEDDS naringenin.

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

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

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel utama dari penelitian ini yaitu optimasi formula SNEDDS naringenin dan karakterisasi *solid* SNEDDS naringenin.

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

**2.1 Variabel bebas.** Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi komposisi stearin dan PEG 1000.

**2.2 Variabel tergantung.** Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini dan memberikan respon jika dihubungkan dengan variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah *emulsification time*, *% transmittan*, uji disolusi, serta uji difusi.

**2.3 Variabel terkontrol.** Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan yang mempengaruhi variabel tergantung selain variabel bebas.

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah suhu dan kecepatan *magnetic stirrer* serta waktu pencampuran *solid SNEDDS*.

### C. Bahan dan Alat

#### 1. Bahan

Naringenin yang diperoleh dari Thanen Chemicals P.R China, kolliphor-EL (PT. Brataco, Indonesia), PEG 1000 (PT. Brataco Indonesia), kalium dihidrogenfosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), natrium monohidrat fosfat, natrium hidroksida (NaOH), metanol p.a, dan aquadestilata.

#### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (Ohaus PA213 ketelitian 1 mg dan Ohaus AV264 ketelitian 0,1 mg), magnetik stirrer (Thermo Scientific, China), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10s, Thermoscientific), alat uji difusi, mikrotube, mikropipet.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Tempat penelitian

Penelitian Tugas Akhir ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Instrumen Universitas Setia Budi di Surakarta.

#### 2. Pembuatan kurva kalibrasi

**2.1 Pembuatan dapar fosfat pH 6,8.** Sebanyak 0,5 gram kalium dihidroksi fosfat dimasukkan ke dalam beaker glass 1 liter kemudian ditambah 8,86 natrium monohidrat fosfat dan ditambah aquadestilata hingga 1 liter. Derajat keasaman (pH) disesuaikan dengan asam fosfat 10% atau larutan NaOH 1N hingga diperoleh nilai pH 6,8 (USP 2015).

**2.2 Pembuatan dapar fosfat pH 7,4.** Pembuatan 1 L larutan PBS dilakukan dengan menimbang semua bahan yaitu NaCl 8 gram; KCl 0,2 gram;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1,44 gram;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,24 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah 1000 mL, ditambahkan 800 ml WFI/air destilasi, dikocok sampai homogen dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Kemudian ditambahkan

WFI/air destilasi sampai 1000 mL, kemudian di cek pH PBS dengan menggunakan pH meter yang sudah dikalibrasi sebelumnya hingga pH 7,4.

**2.3 Pembuatan larutan standar naringenin.** Standar naringenin ditimbang 50 mg, kemudian dilarutkan dalam metanol dalam labu ukur 50 mL. Larutan tersebut dipipet 10 mL dan ditambahkan etanol sampai dengan 100 mL.

**2.4 Pembuatan larutan HCl 0,1 N.** Pembuatan 1 L larutan HCl 0,1 N dilakukan dengan sebanyak 8,26 mL HCl 12,1 N ditambahkan dengan 1 liter aquadestilata.

**2.5 Penetapan panjang gelombang maksimum.** Larutan standar naringenin dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 400-200 nm dengan methanol sebagai blangko. Hasil scan *wavelength* menunjukkan nilai absorbansi tertinggi terdapat pada panjang gelombang maksimum.

**2.6 Uji stabilitas larutan.** Uji stabilitas larutan dilakukan dengan mengukur larutan standar naringenin dalam waktu tertentu yaitu 2, 5, 10, 15, 20, 30, dan 60 menit kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

**2.7 Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi.** Panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan untuk pengukuran serapan naringenin selanjutnya. Dari larutan 10 µg/ml, dipipet masing-masing 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 µg/mL, kemudian diencerkan dalam metanol masing-masing dalam labu takar 10 mL Larutan tersebut kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum sebelumnya. Model obat dibuat dalam suatu fungsi antara absorbansi dan konsentrasi menggunakan analisis regresi linear dengan replikasi dua kali pada setiap seri konsentrasi.

### **3. Pembuatan basis *solid* SNEDDS Naringenin**

Minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang terpilih yaitu stearin, kolliphor EL, PEG 1000 dibuat basis *solid* SNEDDS. Tahap pertama dalam pembuatan basis basis *solid* SNEDDS adalah ditimbang semua bahan sesuai dengan perbandingan formula. Tahap kedua, campuran basis dipanaskan dengan suhu 50<sup>0</sup>C dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 5 menit.gtf

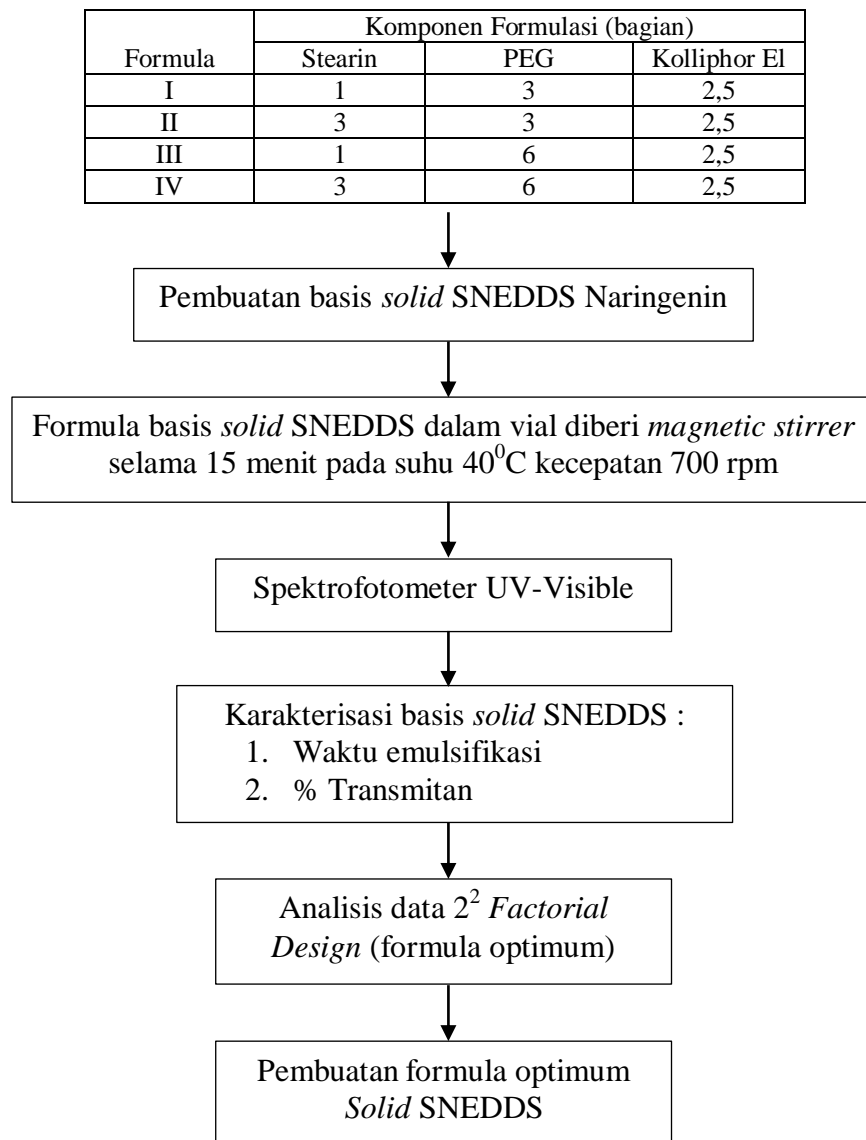
#### 4. Uji karakterisasi basis *solid* SNEDDS Naringenin

**4.1 *Emulsification time.*** *Emulsification time* menunjukkan waktu yang dibutuhkan SNEDDS untuk membentuk nanoemulsi ketika bertemu dengan cairan saluran cerna. Sampel basis *solid*-SNEDDS naringenin 0,1 gram dan aquadest sebanyak 10 ml aquadestilata dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian *distirrer* dengan kecepatan 500 rpm, kemudian catat waktu yang diperlukan untuk menjadi emulsi.

**4.2 *Transmitan.*** Pengujian % transmitan dilakukan untuk mengukur kejernihan nanoemulsi yang terbentuk. Pengukuran % transmitan merupakan salah satu faktor penting melihat sifat fisik nanoemulsi yang terbentuk. Hasil emulsifikasi dari uji *emulsification time* dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 633 nm menggunakan aquadestilata sebagai blankonya. Jika hasil transmitan mendekati 100% maka sampel mendekati transmitan aquadestilata maka sampel memiliki kejernihan yang menyerupai air.

#### 5. Optimasi basis *solid* SNEDDS Naringenin

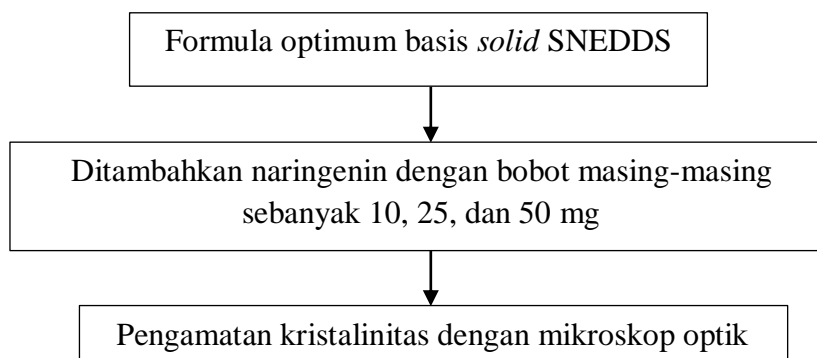
Penelitian ini setelah diperoleh beberapa formulasi dengan variasi komponen minyak, surfaktan, ko-surfaktan kemudian diuji karakterisasi nanoemulsi masing-masing formula, kemudian data yang diperoleh dimasukkan dalam program  $2^2$  *Factorial Design* sehingga memperoleh formula optimum untuk *solid* SNEDDS naringenin.



Gambar 6. Skema pembuatan basis *solid* SNEDDS naringenin.

## 6. Uji kadar naringenin dalam basis *solid* SNEDDS

Uji muatan naringenin dilakukan dengan bobot naringenin 10, 25 dan 50 gram diinkorporasikan pada 1 gram basis *solid* SNEDDS. Pengamatan kristalinitas dilakukan dengan mikroskop optik.



Gambar 7. Skema uji muatan naringenin

## 7. Uji karakterisasi *solid* SNEDDS Naringenin

**7.1 Emulsification time.** *Emulsification time* menggambarkan waktu yang dibutuhkan SNEDDS untuk membentuk nanoemulsi ketika bertemu dengan cairan saluran cerna. Sampel *solid* SNEDDS naringenin 0,1 mL dan aquadestilata sebanyak 10 mL aquadestilata dimasukan ke dalam Erlenmeyer kemudian distirrer dengan kecepatan 500 rpm, kemudian catat waktu yang diperlukan untuk menjadi emulsi.

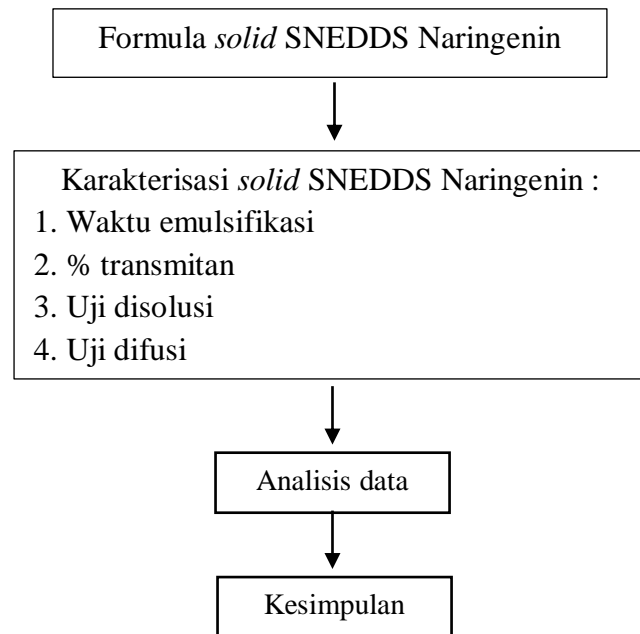
**7.2 Transmittan.** Pengujian % transmittan dilakukan untuk mengukur kejernihan nanoemulsi yang terbentuk. Pengukuran % transmittan merupakan salah satu faktor penting melihat sifat fisik nanoemulsi yang terbentuk. Hasil emulsifikasi dari uji *emulsification time* dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 633 nm menggunakan aquadestilata sebagai blankonya. Jika hasil transmittan mendekati 100% maka sampel mendekati transmittan aquadestilata maka sampel memiliki kejernihan yang menyerupai air.

**7.3 Uji disolusi.** Ditimbang dengan seksama *solid* SNEDDS naringenin setara dengan 10 mg naringenin standar. Uji disolusi dilakukan menggunakan apparatus 2 yaitu metode dayung pada suhu  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  dalam medium 500 mL larutan HCl 0,1 N dengan kecepatan 50 rpm. Pengambilan sampel dilakukan pada menit ke 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30 dan menit ke 60 sebanyak 10 mL kemudian di saring menggunakan membran filter 0,45 mm. Setiap pengambilan sampel selalu digantikan dengan medium yang digunakan sebanyak 10 mL

dengan suhu yang sama, kemudian dilakukan tiga kali replikasi pada masing-masing formula, lalu diukur serapannya.

**7.4 Uji difusi.** Ditimbang 2 gram *solid* SNEDDS naringenin kemudian ditambahkan 100 mL HCl 0,1 N sampai membentuk nanoemulsi. Sebanyak 10 mL nanoemulsi dimasukkan kedalam membran selofan yang sebelumnya telah direndam dengan menggunakan HCl 0,1 N kemudian dijepit menggunakan penjepit talipusar dan dimasukkan ke dalam alat disolusi tipe dayung dengan suhu 37 °C dengan kecepatan 50 rpm selama 2 jam dengan menggunakan medium dapar fosfat pH 7,4. Pengambilan sampel dilakukan pada menit ke 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, dan menit ke 120 sebanyak 10 mL. Setiap pengambilan sampel selalu digantikan dengan medium yang digunakan sebanyak 10 mL dengan suhu yang sama, kemudian dilakukan tiga kali replikasi pada masing-masing formula, lalu diukur serapannya.

**7.5 Penentuan akurasi dan presisi.** Pada model obat naringenin 500 ppm diambil 3 titik dari seri kurva kalibrasi yang mendekati yaitu dipipet masing-masing 0,3; 0,7; dan 1,4 mL (masing-masing dengan 3 kali replikasi) dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL ditambahkan dapar phospat pH 7,4 sebanyak 25 mL dan dikocok selama 15 menit kemudian ditambahkan dapar phospat pH 7,4 sapai tanda batas 50 mL. Larutan dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum naringenin dengan dapar phospat pH 7,4 sebagai blangko. Nilai perolehan kembali (%) diperoleh persentase antara jumlah obat yang terukur dibandingkan dengan jumlah obat yang ditambahkan. Kemudian ditentukan rata-rata perolehan kembali dan dihitung nilai simpangan baku relatifnya. Nilai perolehan kembali yang diterima antara 95-105% dan nilai simpangan baku relatif tidak lebih dari 2% (USP).



**Gambar 8.** Skema pembuatan *solid* SNEDDS naringenin.



## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita 2004). Validasi metode yang dilakukan yaitu akurasi dan presisi. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 1. Parameter validasi metode analisis kurva kalibrasi naringenin**

Parameter	Hasil
Koefisien determinasi ( $R^2$ )	0,9957
Koefisien korelasi (R)	0,9979
Perolehan kembali ( <i>Recovery</i> )	98,65%
Simpangan Baku Relatif (RSD)	0,02%

#### 1. Penetapan akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kriteria kecermatan sangat tergantung kepada konsentrasi analit dalam matriks sampel dan pada keseksamaan metode (RSD) (Harmita 2004). Berdasarkan Gandjar dan Rohman (2012) nilai rentang % *recovery* yaitu antara 98-102%, dan berdasarkan *Association of Official Analytical Chemists* (2002) yaitu 85-115% (kadar 10-100ppm). Berdasarkan hasil percobaan yang diperoleh nilai perolehan kembali (*recovery*) dalam dapar fosfat pH 7,4 sebesar 98,65% sehingga metode yang digunakan memiliki akurasi yang baik.

#### 2. Penetapan presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita 2004). Hasil dari percobaan memiliki nilai simpangan baku

relative (RSD) sebesar 0,02%, nilai tersebut memiliki presisi yang baik karena nilai yang didapat  $\leq 2\%$  (Harvey 2000).

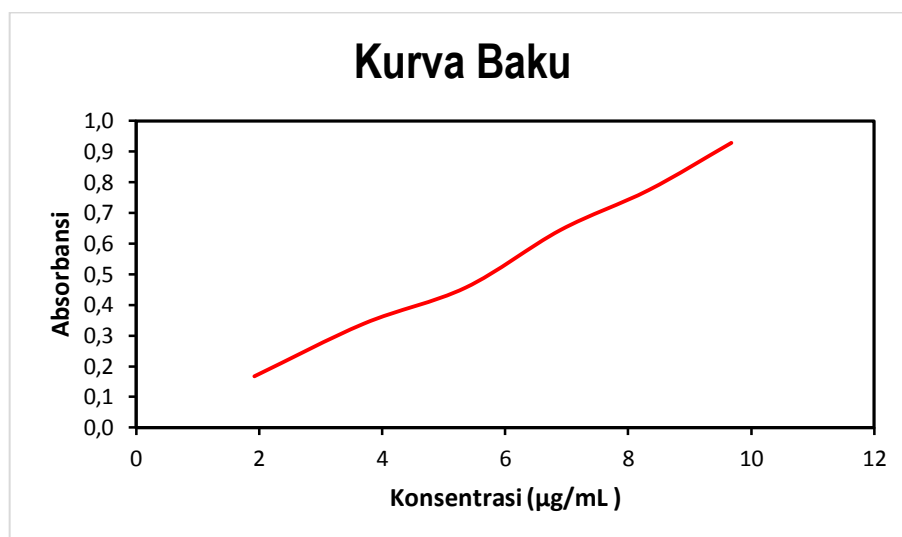
## B. Pembuatan Kurva Kalibrasi

### 1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum dari obat naringenin dilakukan dengan *scanning* larutan naringenin dengan konsentrasi 10  $\mu\text{g/mL}$  pada rentang panjang gelombang 400-200 nm sehingga diperoleh panjang gelombang sebesar 322 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil panjang gelombang maksimum pada 322 nm memperoleh serapan absorbansi sebesar 0,6296. Hasil panjang gelombang maksimum naringenin menggunakan dapar fosfat pH 7,4 pada lampiran 2.

### 2. Kurva kalibrasi

Pembuatan seri konsentrasi naringenin yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10  $\mu\text{g/ml}$  dari larutan stok 100 ppm pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali replikasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu  $y = - 0,032 + 0,9876x$ , dimana diperoleh nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9957. Tabel kurva kalibrasi pada lampiran 2.



Gambar 9. Kurva kalibrasi naringenin pelarut dapar fosfat pH 7,4

### C. Optimasi Formula basis *Solid* SNEDDS Naringenin

Tabel 2. Rancangan Formula *solid* SNEDDS Naringenin

Formula	Komposisi SNEDDS (bagian)		
	Stearin	PEG 1000	Kolliphor EL
1	1	3	2,5
2	3	3	2,5
3	1	6	2,5
4	3	6	2,5

### D. Uji Pendahuluan basis *Solid* SNEDDS

Pengujian pendahuluan karakterisasi basis *solid* SNEDDS Naringenin bertujuan untuk mengetahui bahwa sediaan basis *solid* SNEDDS Naringenin memenuhi syarat dan stabil. Parameter uji karakteristik basis *solid* SNEDDS antara lain waktu emulsifikasi dan % transmittan. Syarat waktu emulsifikasi untuk membentuk nanoemulsi yaitu kurang dari satu menit, sedangkan untuk % transmittan nanoemulsi mendekati 100% (transmittan air). Hasil karakteristik *solid* SNEDDS Naringenin tertera pada Tabel 3.

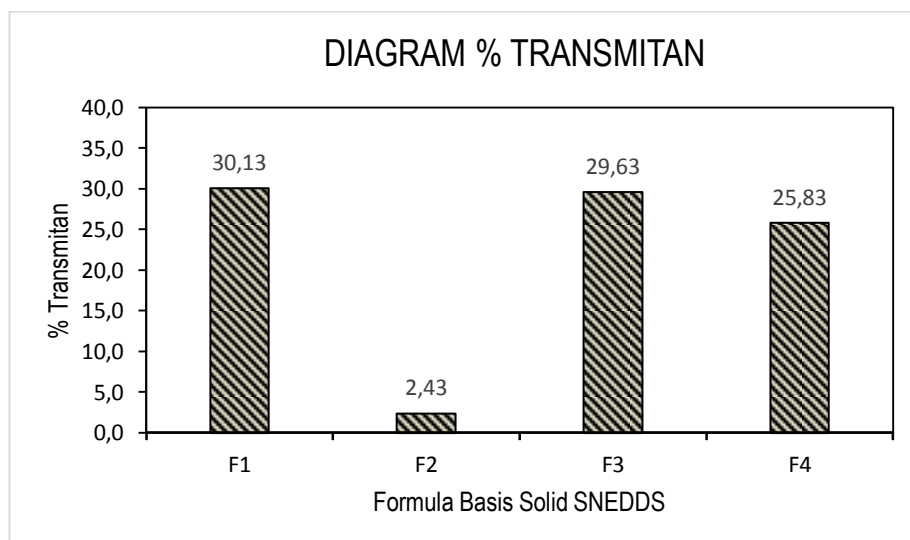
Tabel 3. Hasil Karakterisasi basis *Solid* SNEDDS Naringenin

Formula	Komposisi SNEDDS (bagian)			Karakterisasi <i>Solid</i> SNEDDS Naringenin	
	Stearin	Kolliphor EL	PEG 1000	<i>Emulsification time</i> (detik)	% <i>Transmittan</i>
1	1	3	2,5	21,67±2,08	30,13±0,49
2	3	3	2,5	10,67±2,08	2,43±0,06
3	1	6	2,5	13,67±0,58	29,63±0,51
4	3	6	2,5	46,00±2,00	25,83±0,15

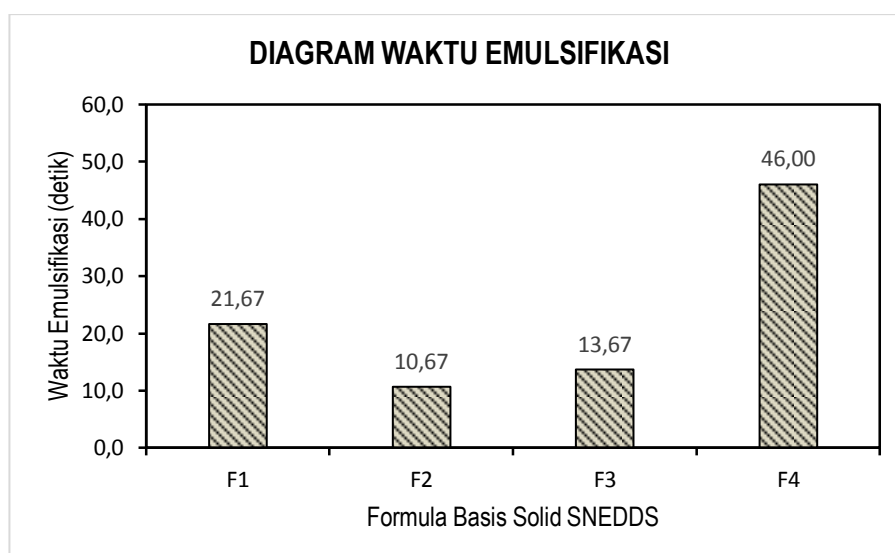
Pengaruh dari masing-masing komponen *solid* SNEDDS terhadap parameter karakterisasi *solid* SNEDDS saling berkaitan namun tidak selalu berbanding lurus. Sifat fisikokimia bahan aktif dan bahan tambahan menjadi pertimbangan yang paling utama dalam menentukan formulasi sediaan *solid* SNEDDS karena hal tersebut berpengaruh terhadap karakteristik nanoemulsi yang dihasilkan. Komponen minyak dalam formulasi SNEDDS berperan dalam menentukan ukuran emulsi yang terbentuk serta kapasitas zat aktif yang dapat dibawa karena minyak merupakan pembawa utama zat aktif dalam SNEDDS (Date *et al*, 2010). Stearin memiliki sifat yang sangat lipofil dikarenakan termasuk lipid padat dan termasuk minyak dengan rantai C (karbon) yang panjang. Stearin

sebagai minyak memiliki peran dalam melarutkan zat aktif naringenin sehingga dapat menentukan zat aktif yang terlarut dalam formula basis *solid* SNEDDS. Penggunaan minyak dalam komposisi basis *solid* SNEDDS dapat mempengaruhi % transmisi, apabila penggunaan minyak terlalu besar perbandingannya maka semakin kecil % transmisi yang dihasilkan dan pembentukan waktu emulsifikasi dalam *solid* SNEDDS semakin lama.

Penambahan komponen surfaktan dan kosurfaktan dapat membantu meningkatkan kinerja minyak dalam melarutkan zat aktif. Penggunaan kolliphor EL sebagai surfaktan non-ionik berpengaruh besar terhadap pembentukan nanoemulsi (Pate *et al*, 2011). Kollipor EL memiliki sifat yang hampir mirip dengan stearin yaitu lipofil sehingga dapat bercampur. Surfaktan berfungsi untuk menurunkan tegangan antarmuka dan berpengaruh besar terhadap proses pembentukan nanoemulsi, serta ukuran tetesan nanoemulsi. Kemampuan SNEDDS terdispersi secara cepat dalam kondisi pengadukan ringan ditentukan oleh kemampuan emulsifikasi surfaktan (Patel *et al*. 2011). Penggunaan PEG 1000 sebagai kosurfaktan selain bentuknya *solid* dikarenakan PEG 1000 memiliki viskositas yang rendah dibandingkan dengan PEG yang berbentuk *solid* (PEG > 1000), PEG 1000 memiliki viskositas 22-30 mPas semakin tinggi viskositas maka pembentukan waktu emulsifikasi akan semakin lama. Penggunaan PEG 1000 sebagai kosurfaktan dapat meningkatkan *drug loading* dan mempercepat *self emulsification* (Date *et al*, 2010). Stearin yang digunakan dalam formula *solid* SNEDDS dengan perbandingan yang lebih kecil dan dibantu dengan penggunaan kolliphor EL dan PEG 1000 sebagai surfaktan dan kosurfaktan sehingga dapat diperoleh *emulsification time* dan % transmisi yang baik. Penggunaan minyak yang terlalu besar dalam formulasi *solid* SNEDDS dapat meningkatkan waktu emulsifikasi dan dapat membuat ukuran globul menjadi lebih besar. Hasil pengujian pendahuluan karakteristik *solid* SNEDDS naringenin sebagai berikut.



**Gambar 10. Diagram % Transmitan Formula basis Solid SNEDDS**



**Gambar 11. Diagram waktu emulsifikasi formula basis solid SNEDDS**

### **E. Penentuan Formula Optimum**

Penentuan formula optimum bertujuan untuk menentukan kandungan zat aktif yang digunakan untuk dapat terlarut dalam basis yang terpilih. Formula optimum basis *solid* SNEDDS naringenin dengan menggunakan komponen stearin, kolliphor EL, dan PEG 1000 dengan karakteristik *solid* SNEDDS berupa % transmitan dan waktu emulsifikasi yang diperoleh berdasarkan  $2^2$  *Factorial Design* dengan program *Design Expert* versi 7.1.5. Hasil penentuan formula optimum dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Nilai parameter optimum basis Solid SNEDDS program *Design Expert 7.1.5***

Parameter	Importance	Target	Batas	
			Min	Max
Waktu Emulsifikasi	+++	Minimize	9	48
Transmitan	+++	Maximize	2.4	30.7

Komponen yang dioptimasi adalah minyak dan kosurfaktan. Pembobotan disebut juga *importance*, dimana terdapat pilihan tanda positif satu (+) hingga positif 5 (+++++). Semakin tinggi tingkat kepentingan dari komponen dan respon parameter yang diukur, maka semakin besar bobot kepentingan yang diberikan. Berdasarkan tabel respon parameter yang diukur berupa % transmitan dan waktu emulsifikasi memberikan bobot kepentingan (*importance*) tiga (+++). Bobot kepentingan (*importance*) dari transmitan dengan target *maximize* yang berarti formula optimal yang diinginkan untuk diperoleh respon transmitan yang paling tinggi yang artinya formula yang diperoleh memiliki nanoemulsi yang jernih. Respon waktu emulsifikasi memberikan bobot kepentingan (*importance*) 3 (+++) dengan target *minimize* yang berarti formula yang diinginkan dapat memberikan waktu emulsifikasi yang singkat.

## F. Formula Optimum

Komposisi formula optimum basis *solid* SNEDDS naringenin dengan menggunakan program *Design Expert 7.1.5* secara prediksi memperoleh proporsi komponen basis *solid* SNEDDS sebagai berikut.

**Tabel 5. Formula optimum solid SNEDDS Naringenin program *Design Expert***

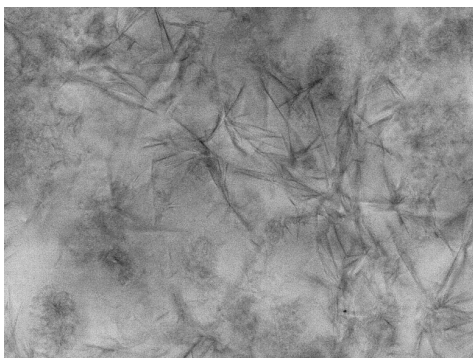
Number	Stearin	PEG 1000	Waktu Emulsifikasi	Transmitan	Desirability	
1	1.00	6.00	13.6667	29.6333	0.920	<i>Selected</i>
2	1.00	5.98	13.7083	29.6359	0.920	
3	1.01	6.00	13.8432	29.6126	0.918	

Berdasarkan Tabel 5. Hasil dari optimasi pada program *Design expert 7.1.5* diperoleh perbandingan komponen basis *solid* SNEDDS naringenin pada formula 3 yaitu komponen stearin sebanyak 1 bagian dan komponen PEG 1000 sebanyak 6 bagian. Formula basis yang optimum dipilih dengan melihat angka *desirability* paling tinggi yang mendekati 1,000. Nilai *desirability* dari formula

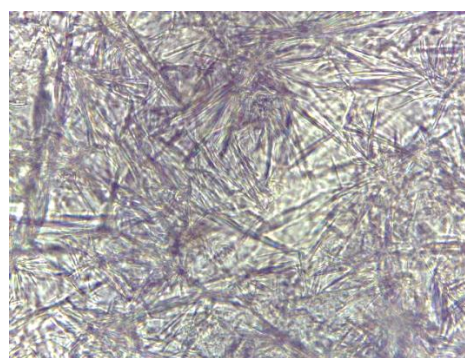
optimum adalah 0,920 yang berarti formula tersebut akan menghasilkan karakteristik paling optimum dan sesuai dengan keinginan peneliti sebesar 92,0%. Formula basis *solid* SNEDDS naringenin yang diperoleh digunakan untuk mengetahui seberapa banyak zat aktif naringenin yang dapat terlarut dalam basis *solid* SNEDDS.

### G. Uji Kadar Naringenin

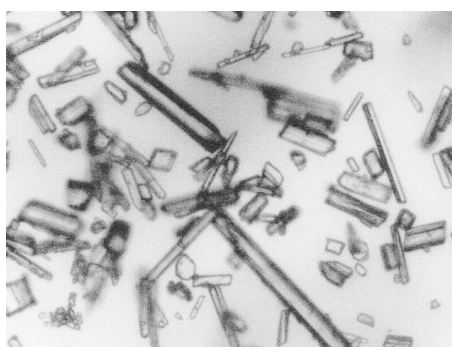
Uji kadar naringenin dilakukan untuk mengetahui kandungan naringenin yang terlarut dalam basis dengan menggunakan variasi bobot naringenin yaitu 10, 25, dan 50mg diinkorporasikan ke dalam 1 gram basis *solid* SNEDDS kemudian diamati pembentukan kristalinitas dengan menggunakan mikroskop optik sehingga diperoleh kandungan sebesar 20mg naringenin dalam 1 gram basis *solid* SNEDDS dengan pengamatan berupa tidak terbentuknya *liquid* kristal dan dibandingkan dengan pengamatan bentuk kristal dalam basis *solid* SNEDDS.



Gambar 12. Basis dan 20mg NRG



Gambar 13. Basis *solid* SNEDDS



Gambar 14. Kristal NRG

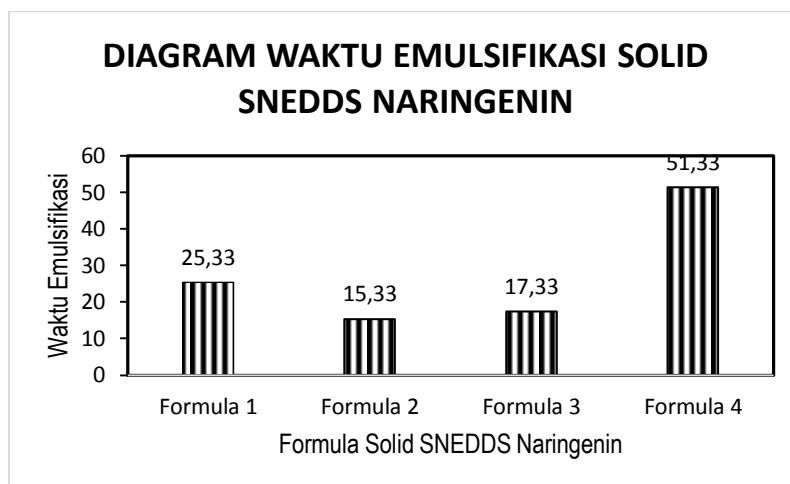
## H. Pembuatan *Solid* SNEDDS Naringenin

Pembuatan *solid* SNEDDS Naringenin dilakukan dengan menimbang seluruh komponen penyusun *solid* SNEDDS naringenin. Komponen basis *solid* SNEDDS dicampur dengan menggunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 40 °C kecepatan 400 rpm. Penambahan zat aktif naringenin dilakukan apabila basis *solid* SNEDDS homogen. Pembuatan *solid* SNEDDS naringenin dengan kandungan naringenin sebanyak 200 mg dalam 10 gram basis *solid* SNEDDS.

## I. Karakterisasi *Solid* SNEDDS Naringenin

### 1. Waktu Emulsifikasi (*Emulsification time*)

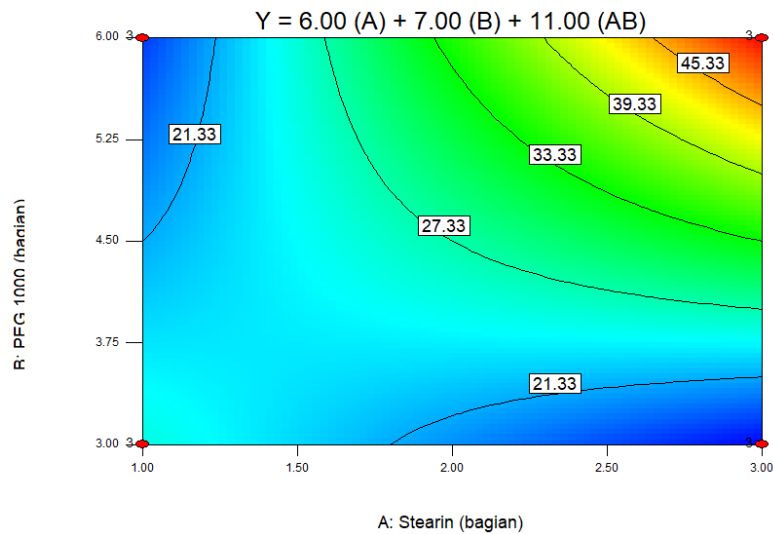
Karakterisasi *solid* SNEDDS naringenin berupa waktu emulsifikasi. Waktu emulsifikasi dilakukan untuk memperoleh gambaran kemampuan sediaan SNEDDS membentuk emulsi secara spontan atau *spontaneous emulsification* saat bertemu dengan cairan dalam tubuh. Waktu emulsifikasi yang baik untuk membentuk nanoemulsi yaitu kurang dari satu menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata waktu emulsifikasi dari keempat formula *solid* SNEDDS naringenin.



**Gambar 15. Diagram waktu emulsifikasi *solid* SNEDDS naringenin.**

Dari hasil pemeriksaan waktu emulsifikasi kemudian dilakukan persamaan regresi berganda dengan menggunakan pendekatan  $2^2$  *Factorial design* dengan program *Design Expert 7.1.5* sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut.





**Gambar 16. Counter Plot Waktu Emulsifikasi Solid SNEDDS Naringenin**

Berdasarkan gambar 16. *Counter plot* waktu emulsifikasi *solid* SNEDDS naringenin pada program *Design Expert 7.1.5* diperoleh persamaan linear berganda sebagai berikut.

$$Y = 6.00 (A) + 7.00 (B) + 11.00 (AB) \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

Y : Waktu emulsifikasi

A : Stearin

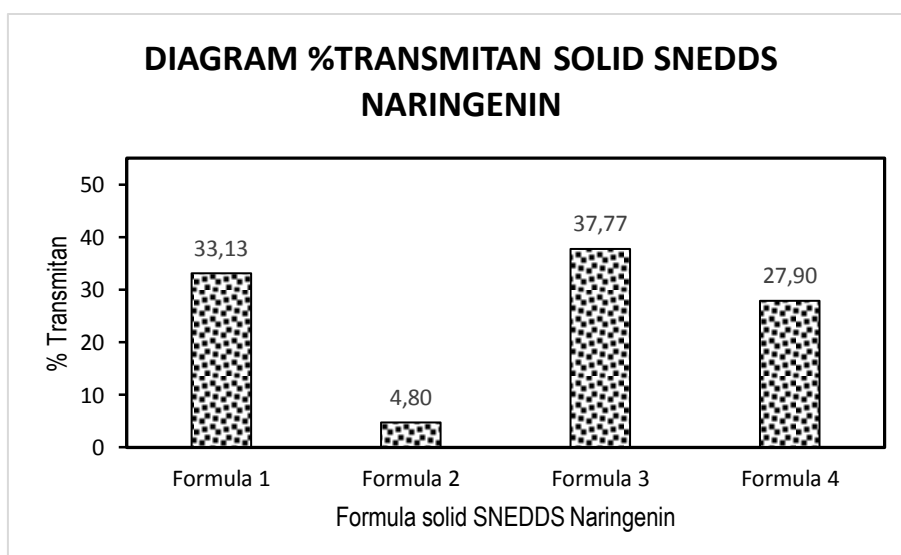
B : PEG 1000

Berdasarkan persamaan yang diperoleh dapat diketahui bahwa pengaruh dari masing-masing komponen terhadap waktu emulsifikasi. Stearin berpengaruh terhadap peningkatan waktu emulsifikasi sebesar 6.00 dan komponen PEG 1000 juga berpengaruh terhadap peningkatan waktu emulsifikasi sebesar 7.00 dalam hal ini PEG 1000 sebagai kosurfaktan lebih dominan dalam meningkatkan waktu emulsifikasi *solid* SNEDDS naringenin. Komponen stearin berpengaruh terhadap pembentukan waktu emulsifikasi sebesar 17,44%, sedangkan komponen PEG 1000 berpengaruh terhadap waktu emulsifikasi sebesar 23,74% berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui pengaruh komponen stearin dan PEG 1000 terhadap waktu emulsifikasi memiliki perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ), komponen PEG 1000 yang berperan sebagai kosurfaktan berperan lebih besar dalam peningkatan waktu emulsifikasi, hasil tersebut sesuai dengan teori bahwa

penggunaan PEG 1000 sebagai kosurfaktan dapat meningkatkan *drug loading* dan dapat mempercepat *self emulsification* (Date *et al.*, 2010). Hasil gambar *counter plot* waktu emulsifikasi, daerah yang berwarna merah menunjukkan waktu emulsifikasi tertinggi dengan konsentrasi stearin aras tinggi dan PEG 1000 aras tinggi, sedangkan daerah yang berwarna biru menunjukkan waktu emulsifikasi terendah dengan konsentrasi stearin aras rendah dan PEG 1000 aras tinggi serta konsentrasi stearin aras tinggi dan PEG 1000 aras rendah.

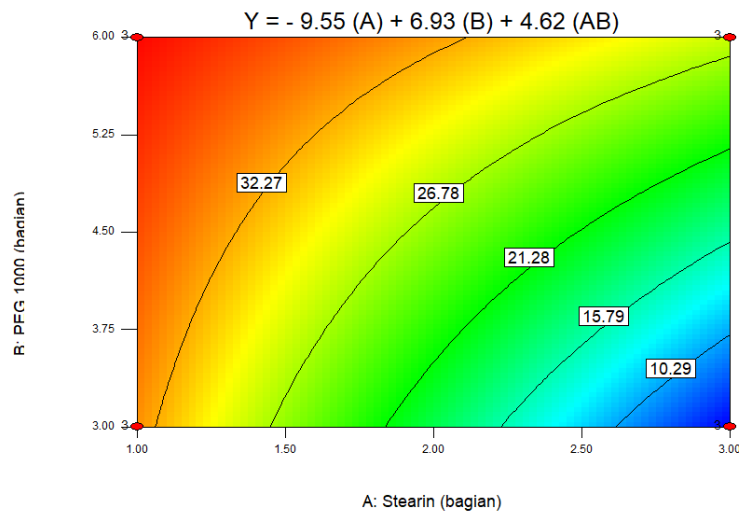
## 2. % Transmitan

Transmitan yang baik mendekati transmitan air yaitu 100% serta dapat mempengaruhi profil disolusi yang lebih baik dibandingkan dengan naringenin murni. Pengukuran % transmitan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 633 nm dengan menggunakan aquadestilata sebagai blangko untuk mengetahui tingkat kejernihannya. Semakin jernih atau absorbansi semakin mendekati absorbansi aquadestilata maka diperkirakan tetesan emulsi telah mencapai ukuran nanometer (Patel *et al.* 2011).



**Gambar 17. Diagram % transmitan solid SNEDDS naringenin**

Dari hasil pemeriksaan % transmitan kemudian dilakukan persamaan regresi berganda dengan menggunakan pendekatan  $2^2$  *Factorial design* dengan program *Design Expert 7.1.5* sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut.



**Gambar 18. Counter Plot % Transmitan *Solid* SNEDDS Naringenin**

Berdasarkan gambar 17. *Counter plot* transmitan *solid* SNEDDS naringenin pada program *Design Expert 7.1.5* diperoleh persamaan sebagai berikut

$$Y = -9.55(A) + 6.93(B) + 4.62(AB) \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

- Y : Transmitan
- A : Stearin
- B : PEG 1000

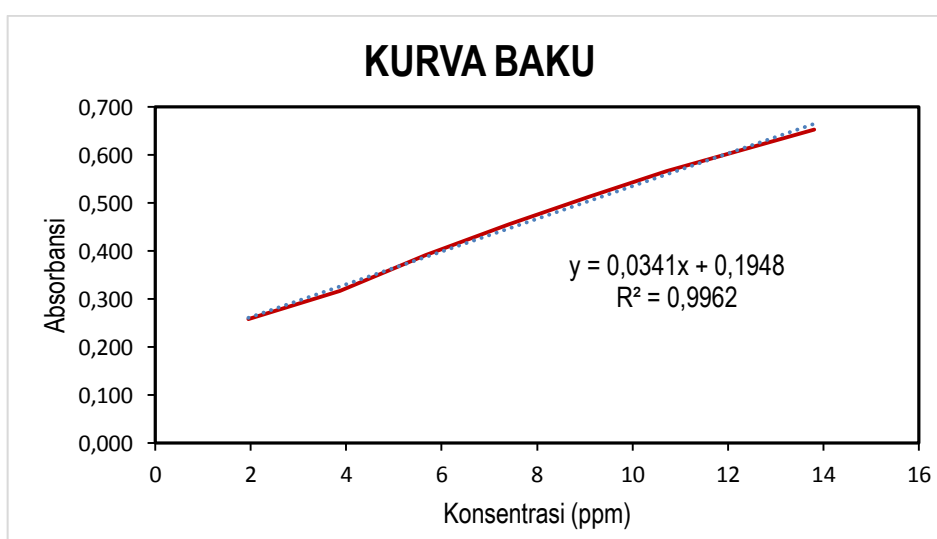
Berdasarkan persamaan yang diperoleh dapat diketahui pengaruh dari masing-masing komponen terhadap % transmitan. Stearin berpengaruh terhadap penurunan % transmitan sebesar 9.55 dan PEG 1000 berpengaruh terhadap peningkatan % transmitan sebesar 6.93 dalam hal ini stearin sebagai minyak memiliki peran lebih dominan dalam meningkatkan % transmitan dalam formula *solid* SNEDDS naringenin dibandingkan dengan PEG 1000. Komponen stearin memiliki pengaruh terhadap pengukuran % transmitan sebesar 56,79%, sedangkan komponen PEG 1000 memiliki pengaruh terhadap pengukuran % transmitan sebesar 29,93%, berdasarkan hasil bahwa pengaruh komponen stearin dan PEG 1000 terhadap nilai % transmitan memiliki perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ). Peran komponen stearin terhadap pembentukan % transmitan lebih besar dibandingkan dengan komponen PEG 1000. Pengaruh banyaknya komposisi minyak dalam SNEDDS akan mempengaruhi % transmitan, komposisi minyak yang sedikit

dalam SNEDDS saat bertemu dengan air akan bercampur secara cepat dan berpengaruh terhadap kejernihan yang mendekati air serta ukuran globul yang kurang dari 100 nm. Hasil gambar *counter plot* transmittan, daerah yang berwarna merah menunjukkan transmittan tertinggi dengan konsentrasi stearin aras rendah dan PEG 1000 aras tengah sampai aras tinggi, sedangkan daerah yang berwarna biru menunjukkan transmittan terendah dengan konsentrasi stearin aras tinggi dan PEG 1000 aras rendah.

### 3. Uji Disolusi

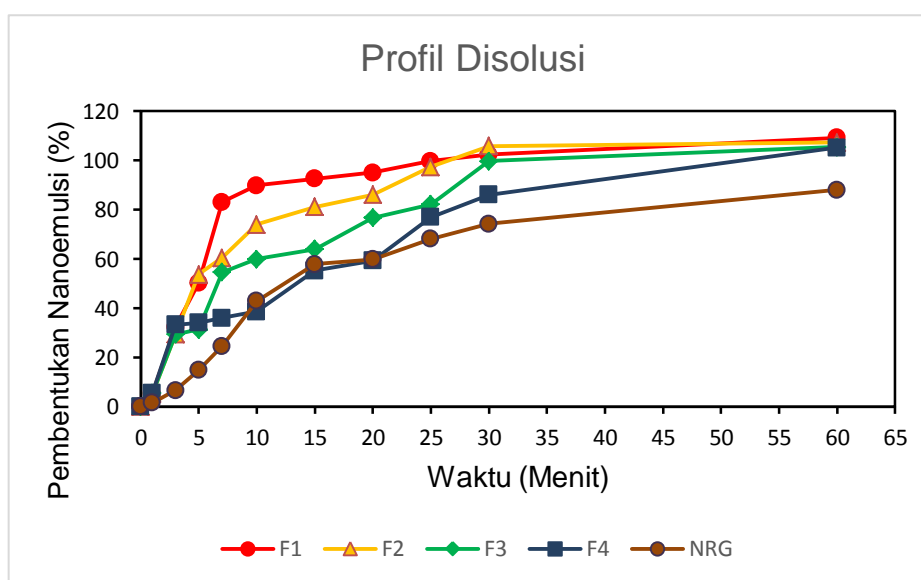
**3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Naringenin dengan Pelarut HCl 0,1 N.** Panjang gelombang maksimum dilakukan dengan *scanning* larutan induk 10 µg/ml pada panjang gelombang antara 400-200 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan hasil serapan terbesar yaitu pada panjang gelombang 288 nm dengan serapan sebesar 0,5505 nm. Hasil panjang gelombang maksimum naringenin dengan pelarut HCl 0,1 N pada lampiran 3.

**3.2 Kurva Kalibrasi Naringenin dengan pelarut HCl 0,1 N.** Pembuatan seri konsentrasi naringenin yaitu 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 µg/ml dari larutan stok 100 ppm pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali replikasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu  $y = 0.0341x + 0,1948$ , dimana diperoleh nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9981.



Gambar 19. Kurva kalibrasi Naringenin dengan pelarut HCl 0,1 N.

**3.3 Disolusi.** Uji disolusi digunakan untuk menentukan profil pelepasan obat dan mengetahui pembentukan nanoemulsi dari *solid* SNEDDS naringenin. Profil disolusi menghasilkan suatu grafik antara waktu dengan % pembentukan nanoemulsi dalam medium HCl 0,1 N. Hasil disolusi *solid* SNEDDS naringenin digambarkan antara waktu dengan % pelepasan zat aktif dalam medium HCl 0,1 N yang menggambarkan profil pelepasan obat secara *in vitro*. Pengujian disolusi menggunakan sediaan *solid* SNEDDS naringenin sebanyak 1 gram dengan kandungan zat aktif naringenin 20mg

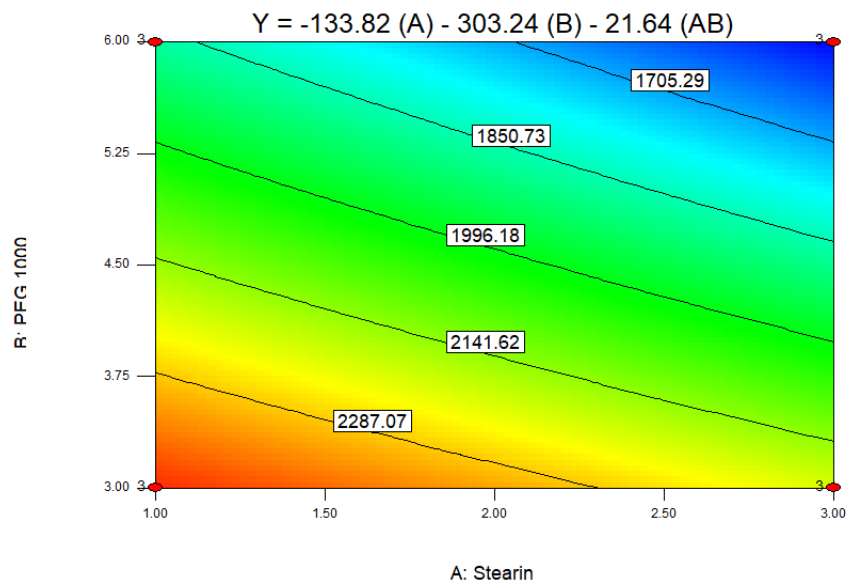


**Gambar 20. Profil disolusi *solid* SNEDDS naringenin**

Berdasarkan gambar 20. Profil disolusi *solid* SNEDDS Naringenin diatas menunjukkan bahwa pola profil disolusi memiliki model peningkatan grafik yang sama yang berarti bahwa variasi konsentrasi masing-masing komponen *solid* SNEDDS tidak memberikan pengaruh yang bermakna. Profil disolusi *solid* SNEDDS Naringenin dari keempat formula dapat diketahui bahwa formula yang memiliki pelepasan zat aktif paling cepat berdasarkan polanya yaitu formula 1 dikarenakan pada menit ke 10 menunjukkan bahwa % pelepasan zat aktif mencapai 89,82%. Pelepasan zat aktif paling lambat terjadi pada formula 4 dikarenakan % pelepasan zat aktif pada menit ke 10 hanya sebesar 38,58%. Berdasarkan nilai  $Q_{30}$  dari keempat formula berturut-turut yaitu 102,76%; 105,90%; 99,78%; dan 86,03%, hasil tersebut memenuhi persyaratan bahwa nilai  $Q_{30}$  berdasarkan

Farmakope Indonesia IV dalam waktu 30 menit obat yang terlarut tidak kurang dari 80%. *Dissolution Efficiency* (DE) adalah harga efisiensi disolusi yang digunakan untuk mengetahui kecepatan pelarutan atau untuk mengetahui kemampuan obat melepaskan zat aktifnya sampai suatu waktu tertentu. Hasil pengujian DE yang digunakan yaitu DE<sub>10</sub> dari keempat formula yaitu formula 1 (51,53%), formula 2 (43,64%), formula 3 (35,59%), dan formula 4 (29,07%).

Dari hasil pengujian disolusi dengan parameter AUC dan Q<sub>30</sub> kemudian dilakukan persamaan regresi berganda dengan menggunakan pendekatan 2<sup>2</sup> *Factorial design* dengan program *Design Expert 7.1.5* sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut.



**Gambar 21. Counter plot AUC uji disolusi**

Berdasarkan gambar 21. *Counter plot* AUC uji disolusi dengan menggunakan 2<sup>2</sup> *Factorial Design* program *Design Expert 7.1.5* diperoleh persamaan linear berganda sebagai berikut.

$$Y = - 133.82 (A) - 303.24 (B) - 21.64 (AB) \dots\dots\dots (4)$$

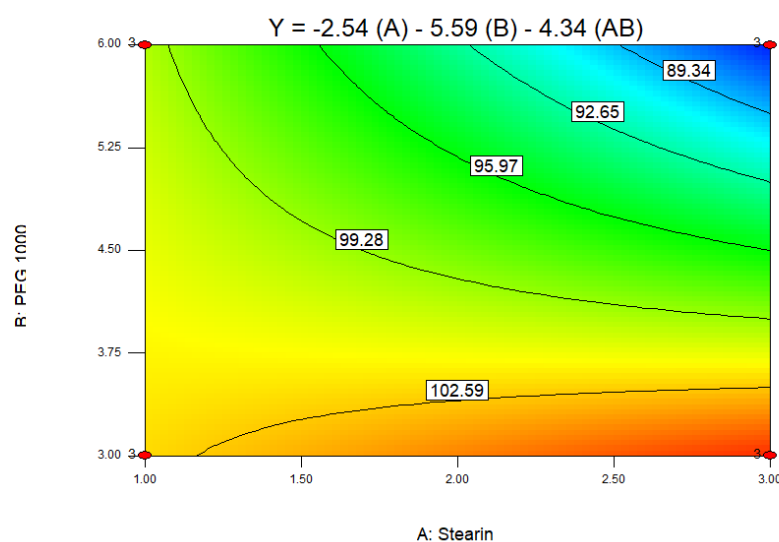
Keterangan:

Y = AUC

A = Stearin

B = PEG 1000

Berdasarkan persamaan 4 dapat diketahui pengaruh dari masing-masing komponen terhadap *Area Under Curve* (AUC) uji disolusi *solid* SNEDDS Naringenin. Pengaruh stearin terhadap AUC uji disolusi yaitu dapat menurunkan AUC disolusi sebesar 133.82, sedangkan PEG 1000 berpengaruh terhadap AUC disolusi yaitu dapat menurunkan AUC sebesar 303.24. Komponen stearin berpengaruh terhadap AUC sebesar 16,02% dan PEG 1000 berpengaruh terhadap AUC sebesar 83,18%. Hal tersebut dapat diketahui bahwa komponen PEG 1000 memiliki pengaruh lebih dominan terhadap penurunan AUC total pengujian disolusi *solid* SNEDDS naringenin daripada komponen stearin. Berdasarkan hasil dapat diketahui bahwa pengaruh masing-masing komponen stearin dan PEG 1000 terhadap AUC uji disolusi memiliki perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil *counter plot* AUC uji disolusi bahwa daerah yang berwarna merah menunjukkan AUC yang lebih besar dengan konsentrasi stearin aras rendah dengan PEG 1000 aras rendah, sedangkan daerah berwarna biru menunjukkan AUC lebih rendah dengan konsentrasi stearin aras tinggi dan PEG 1000 aras tinggi.



**Gambar 22. Counter plot  $Q_{30}$  uji disolusi**

Berdasarkan gambar 22. Hasil *counter plot*  $Q_{30}$  uji disolusi diperoleh persamaan sebagai berikut.

$$Y = - 2.54 (A) - 5.59 (B) - 4.34 (AB)$$

Keterangan:

Y =  $Q_{30}$

A = Stearin

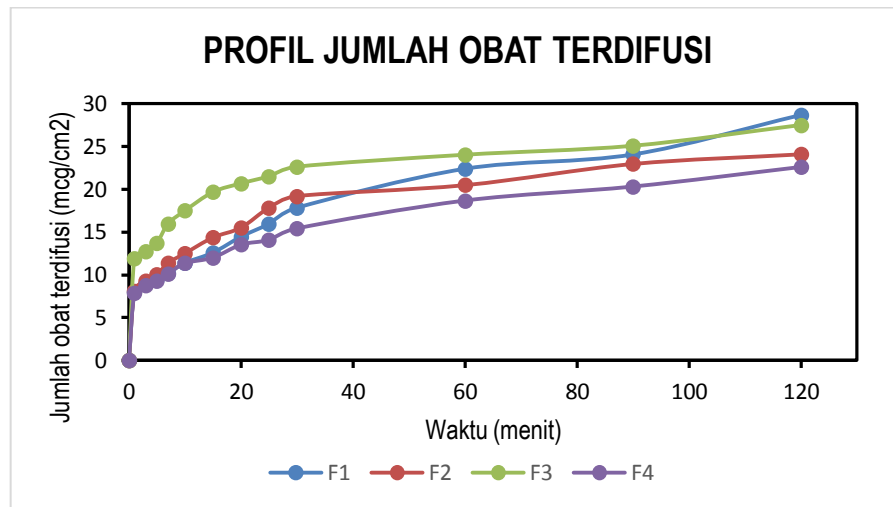
B = PEG 1000

Berdasarkan persamaan 4 dapat diketahui pengaruh dari masing-masing komponen terhadap  $Q_{30}$  uji disolusi *solid* SNEDDS Naringenin. Pengaruh stearin terhadap  $Q_{30}$  uji disolusi yaitu dapat menurunkan  $Q_{30}$  disolusi sebesar 2.54, sedangkan PEG 1000 berpengaruh terhadap  $Q_{30}$  disolusi yaitu dapat menurunkan  $Q_{30}$  sebesar 5.59. Komponen stearin berpengaruh terhadap  $Q_{30}$  sebesar 11,26% dan PEG 1000 berpengaruh terhadap  $Q_{30}$  sebesar 54,70%. Hal tersebut dapat diketahui bahwa komponen PEG 1000 memiliki pengaruh lebih dominan terhadap penurunan  $Q_{30}$  disolusi *solid* SNEDDS naringenin daripada komponen stearin. Berdasarkan hasil dapat diketahui bahwa pengaruh komponen stearin dan PEG 1000 terhadap  $Q_{30}$  uji disolusi memiliki perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil *counter plot*  $Q_{30}$  uji disolusi bahwa daerah yang berwarna merah menunjukkan  $Q_{30}$  yang lebih besar dengan konsentrasi stearin aras tengah sampai aras tinggi dengan PEG 1000 aras rendah, sedangkan daerah berwarna biru menunjukkan  $Q_{30}$  lebih rendah dengan konsentrasi stearin aras tinggi dan PEG 1000 aras tinggi.

#### 4. Uji Difusi

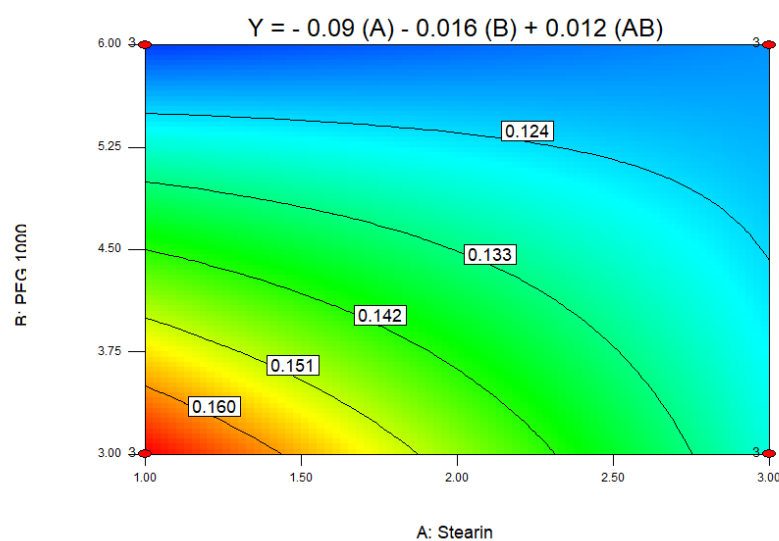
Difusi adalah pergerakan molekul suatu zat secara random yang menghasilkan pergerakan molekul efektif dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Pengujian difusi bertujuan untuk mengetahui jumlah obat yang terdifusi yang dapat menembus membrane dengan luas tertentu dalam satuan waktu dengan menggunakan alat disolusi tipe dayung. Pengujian dilakukan dengan menggunakan nanoemulsi sediaan *solid* SNEDDS naringenin sebanyak 10mL ke dalam membran selofan kemudian dijepit menggunakan penjepit tali puser pada kedua ujung membran dan dilakukan pengujian hingga 2 jam dengan menggunakan medium disolusi dapar fosfat pH 7,4 dengan volume medium sebanyak 500mL.





**Gambar 23. Profil Jumlah Obat Terdifusi *Solid* SNEDDS Naringenin**

Berdasarkan pola profil jumlah obat yang terdifusi dari *solid* SNEDDS Naringenin dapat dilihat pola grafik obat terdifusi memiliki pola sama yang menunjukkan bahwa variasi konsentrasi tidak memiliki pengaruh yang bermakna. Pengujian difusi dengan membran selofan dapat diketahui bahwa obat yang terdifusi tidak dapat mencapai 100% dikarenakan transport membran antar kompartemen donor dengan aseptor paling besar maksimal 50%. Transport pasif merupakan transport yang tidak memerlukan energi untuk melewati membran salah satunya dengan menggunakan difusi. Konstanta difusi adalah jumlah obat yang terdifusi per satuan luas membran yang digunakan (mcg/cm<sup>2</sup>).



**Gambar 24. Counter plot konstanta uji difusi**

Berdasarkan gambar 24. Hasil *counter plot* konstanta difusi diperoleh persamaan sebagai berikut.

$$Y = - 0.09 (A) - 0.016 (B) + 0.012 (AB) \dots\dots\dots$$

Keterangan:

Y = Konstanta Difusi

A = Stearin

B = PEG 1000

Berdasarkan persamaan 4 dapat diketahui pengaruh dari masing-masing komponen terhadap konstanta difusi *solid* SNEDDS Naringenin. Pengaruh stearin terhadap konstanta difusi yaitu dapat menurunkan konstanta difusi sebesar 0,09, sedangkan PEG 1000 berpengaruh terhadap konstanta difusi yaitu dapat menurunkan konstanta difusi sebesar 0,016. Komponen stearin berpengaruh terhadap konstanta difusi sebesar 17,91% dan PEG 1000 berpengaruh terhadap konstanta difusi sebesar 52,31%. Hal tersebut dapat diketahui bahwa komponen PEG 1000 memiliki pengaruh lebih dominan terhadap penurunan konstanta difusi *solid* SNEDDS naringenin daripada komponen stearin. Berdasarkan hasil dapat diketahui bahwa pengaruh masing-masing komponen terhadap konstanta difusi memiliki perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil *counter plot* konstanta difusi bahwa daerah yang berwarna merah menunjukkan konstanta difusi yang lebih besar dengan konsentrasi stearin aras rendah dengan PEG 1000 aras rendah, sedangkan daerah berwarna biru menunjukkan konstanta difusi lebih rendah dengan seluruh konsentrasi stearin dan PEG 1000 aras tinggi.

#### **J. Hasil Optimasi Solid SNEDDS Naringenin**

Hasil optimasi *solid* SNEDDS naringenin dengan parameter waktu emulsifikasi, % transmitan, AUC disolusi, Q<sub>30</sub> disolusi, AUC difusi, dan Q<sub>120</sub> difusi sehingga diperoleh perbandingan komponen stearin 1 bagian dan PEG 1000 3 bagian dengan karakterisasi waktu emulsifikasi sebesar 25,33 detik, % transmitan sebesar 33,13%, AUC disolusi sebesar 2432,51, Q<sub>30</sub> disolusi sebesar 102,93%, dan konstanta difusi sebesar 0,169.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Pertama, berdasarkan 4 formula *solid* SNEDDS naringenin diperoleh formula optimum dengan menggunakan  $2^2$  *Factorial Design* yaitu formula dengan perbandingan komponen stearin 1 bagian dan PEG 1000 3 bagian dengan memiliki karakterisasi waktu emulsifikasi 25,33 detik, % transmitan sebesar 33,13 %, AUC disolusi sebesar 2432,51,  $Q_{30}$  disolusi sebesar 102,93%, dan konstanta difusi sebesar 0,169.

Kedua, pengaruh komponen stearin dapat meningkatkan % transmitan dari formula *solid* SNEDDS naringenin, sedangkan pengaruh komponen PEG 1000 dapat menurunkan waktu emulsifikasi (*emulsification time*), AUC total dan  $Q_{30}$  uji disolusi serta dapat menurunkan konstanta difusi dari formulasi *solid* SNEDDS naringenin.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam karakterisasi *solid* SNEDDS naringenin untuk dapat melihat gambaran lebih jelas mengenai parameter kritis *solid* SNEDDS.

Kedua, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk mengetahui perbandingan antara sediaan *solid* SNEDDS naringenin dengan naringenin murni agar mengetahui keefektifan aktivitas dari sediaan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azeem A, Rizwan M, Ahmad FJ, Iqbal Z, Khar RK, Aqil M, et al., 2009, Nanoemulsion Components Screening and Selection: a Technical Note. *AAPS PharmSciTech*, 10: 69–76.
- Astika DN. 2015. Pengaruh Penambahan Surfaktan Tween 80 terhadap Sifat Mutu Fisik Stabilitas Mikroemulsi Ketoprofen [Skripsi]. Jember: fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Balakumar K, Raghavan CV, Selvan NT, Prasad RH, dan Abdu S, 2013. Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of Rosuvastatin Calcium: Design, Formulation, Bioavailability and Pharmacokinetic Evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112: 337–343.
- Bali B, Ali M, Ali J. (2010). Study Of Surfactant Combinations And Development of A Novel Nanoemulsion for Minimising Variations in Bioavailability of Ezetimibe. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces* 76:410–20.
- Basiron Y. 2005. Palm oil. Dalam Shahidi F (Ed). Bailey's Industrial Oil and Fat Product. P. 333-429. *John Wiley & Sons Inc.* Hoboken.
- Benita, S., 2006, *Microencapsulation: Methods & Industrial Applications Vol 158*, 2nd Edition, 2-5.
- Bugianesi, R., G. Catasta, P. Spignoo, A. D'Uva, and G. Malani. 2002. Naringenin from cooked tomato paste is bioavailable in men. *J. Nutr* 132 (11) : 3349-3352.
- Bolton S. 1997. *Pharmaceutical Statistics, Practical and Clinical Applications. Ed ke-3*. New York: Marcel Dekker. hlm 326-352.
- Bolton S and Bon C. 2004. *Pharmaceutical Statistics*. New York: Marcell Dekker Inc. hlm 265-281.
- Date AA, Desai N, Dixit R, dan Nagarsenker M. 2010. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System: Formulation Insights, Applications and Advances, *Nanomedicine*, 5: 1595–1616.
- Debnath S, Satyanarayana, dan Kumar GV., 2011, *Nanoemulsion-A Method to Improve The Solubility of Lipophilic Drugs*, *Pharmanest.*, 2 (2-3), 72-76.
- Fudholi A. 2013. *Disolusi dan Pelepasan Obat In-vitro*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

- Gupta S, Chavan S, dan Sawant KK. 2011, Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System for Adefovir Dipivoxil: Design, Characterization, in Vitro and ex Vivo Evaluation, *Physicochem. Eng. Aspects*. 392, 145-155.
- Harmita. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian 1:117-135.
- Hsiu SL, Huang TY, Hou YC, Chin DH, Chao PD. 2001. Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life Sciences* 70, 1481-1489.
- Kaur G, Pankaj C, & Halikumar SL. 2013. Formulation Development of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of Celecoxib for Improvement of Oral Bioavailability. *Pharmacophore*; 4(4); 120-133.
- Kommuru TR, Gurley B, Khan MA, Reddy IK. 2001. Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) of Coenzyme Q10: Formulation Development and Bioavailability Assessment. *Int. J. Pharm.* 212, 233-246.
- Makadia HA, Bhatt AY, Parmar RB, Paun JS, dan Tank HM. 2013. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS): Future Aspects, *Asian J Pharm Res*, 3(1) : 21-24.
- Martin A, Swatbrick J, & Cammarata A. 1993. *Farmasi Fisik Jilid 2* diterjemahkan oleh Yoshita Edisi III, UI-Press : Jakarta.
- Miryala V, Kurakula M. 2013. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) for Oral Delivery of Atorvastatin – Formulation and Bioavailability Studies. *J. Drug Deliv. Ther* 3,, 131-142.
- Patel J, Kevin G, Patel A, Raval M, dan Sheth N. 2011a, Design and Development of a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System for Telmisartan for Oral Drug Delivery, *Int J Pharm Investig*, 1: 112–118.
- Patel J, Patel A., Raval M, dan Sheth N., 2011b, Formulation and Development of a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System of Irbesartan, *J Adv Pharm Technol Res*, 2: 9–16.
- Pinto Reis C, Neufeld RJ, Ribeiro ANJ, dan Veiga F. 2006. Nanoencapsulation I, Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles, *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2: 8-21.
- Pusat Nasional Informasi Bioteknologi. PubChem Compound Database; CID – 439246, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/439246> [14 Desember 2018].
- Rai MK, Yadaw AP, Gade AK. 2011. Biogenic nanoparticles: an introduction to what they are, how they are synthesized and their applications. In: Rai MK,

- Duran N (eds) Metal nanoparticles in microbiology, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, pp 1-16
- Rao PV, Rohini P, Bhagyasree P. 2017. Flavonoid: A Review on Naringenin. *J. Pharmacology and Phytochemistry*. 6(5): 2778-2783.
- Rowe RC, Sheskey PJ, dan Quinn ME. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition, sixth. Ed*, Pharmaceutical Press, London.
- Sahumena MH. 2014. Pengembangan Nanopartikel Ketoprofen dengan Teknik SNEDDS dan Uji Aktifitas Antiinflamasi. [Tesis program Pasca Sarjana]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Shafiq-un-Nabi S, Shakeel F, Talegaonkar S, Ali J, Baboota S, Ahuja A, 2007, Formulation Development and Optimization using Nanoemulsion Technique: A technical note, *AAPS Pharm SciTech*, 8: E12 – E17.
- Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Faisal MS, dan Shafiq S. 2008. Stability Evaluation of Celecoxib Nanoemulsion Containing Tween 80, *Thai Journal Pharm Sci*, 32: 4-9.
- Singh B, Bandopadhyay S, Kapil R, Singh R, dan Katare O. 2009. Self-emulsifying Drug Delivery System (SEDDS): Formulation Development, Characterization and Applications, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 26: 427–521.
- Wang Y, Sun J, Zhang T, Liu H, He P, He Z. 2011. Enhanced Oral Bioavailability Of Selfmicroemulsifying Drug Delivery System of Oridonin. *Int. J. Pharm.* 355, 269-276.
- Zhang P, Liu Y, Feng N, Xu J. 2008. Preparation and evaluation of selfmicroemulsifying drug delivery system of oridonin. *Int. J. Pharm.* 355, 269–276.
- Zhang L, Song L, Zhang P, Liu T, Zhou L, Yang G, Lin R, Zhang J. 2015. Solubilities of Naringin and Naringenin in Different Solvents and Dissociation Constants of Naringenin. *J. Chem. Eng. Data*. 40.

**L**

**A**

**M**

**P**

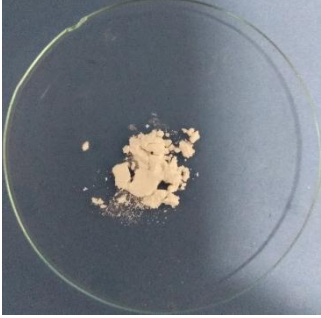

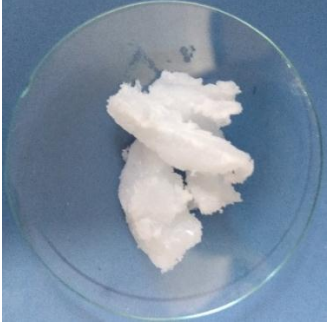

**I**

**R**



**A**

**N**

**Lampiran 1. Komponen Penyusun Solid SNEDDS Naringenin dan Alat**

<b>GAMBAR BAHAN</b>	<b>NAMA BAHAN</b>
	ZAT AKTIF NARINGENIN
	STEARIN (MINYAK)
	PEG 1000
	KOLLIPHOR EL



<b>GAMBAR BAHAN</b>	<b>NAMA BAHAN</b>
	<p>MIKROPIPET</p>
	<p>MAGNETIC STIRRER</p>

## Lampiran 2. Kurva Kalibrasi Dapar Fosfat Ph 7,4

### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Dapar Fosfat pH 7,4

Larutan induk naringenin 5000  $\mu\text{g/mL}$  = 50,0 mg Naringenin + 10 mL metanol

Larutan stok naringenin 100  $\mu\text{g/mL}$

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

$$10000 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} = V2 \times 5000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 200 \text{ mL}$$

(200 mL larutan induk naringenin 5000  $\mu\text{g/mL}$  + 9,8 mL lar. dapar fosfat pH 7,4)

Larutan naringenin 10  $\mu\text{g/mL}$

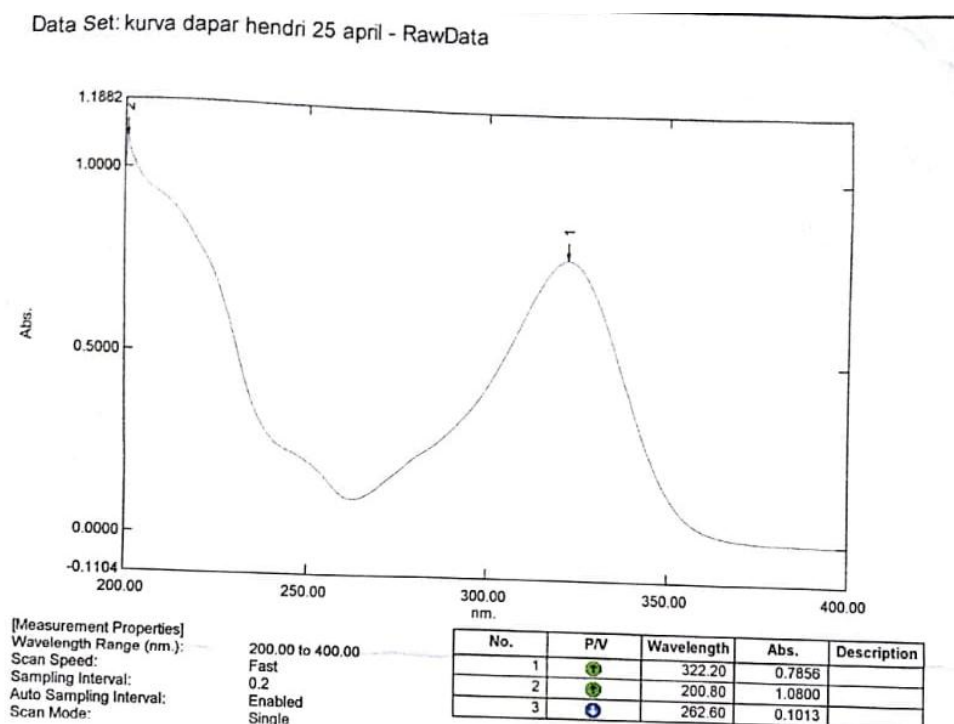
$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$10000 \text{ mL} \times 10 \mu\text{g/mL} = V2 \times 100 \mu\text{g/mL}$$

$$V2 = 1000 \text{ mL}$$

(1000 mL larutan stok naringenin + 9 mL larutan dapar fosfat pH 7,4)

Scanning panjang gelombang maksimum



<b>Konsentrasi (ppm)</b>	<b>Replikasi 1</b>	<b>Replikasi 2</b>	<b>Replikasi 3</b>	<b>Replikasi 4</b>	<b>Rata- rata</b>
1,92	0,166	0,176	0,163	0,164	0,167
3,70	0,325	0,328	0,349	0,354	0,339
5,36	0,457	0,461	0,451	0,457	0,457
6,90	0,636	0,637	0,649	0,654	0,644
8,33	0,762	0,767	0,785	0,784	0,775
9,68	0,909	0,915	0,944	0,946	0,929

### Lampiran 3. Kurva Kalibrasi HCl 0,1N

#### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum HCl 0,1 N

Larutan induk naringenin 5060  $\mu\text{g/mL}$  = 50,6 mg Naringenin + 10 mL metanol

Larutan stok naringenin 101,2  $\mu\text{g/mL}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$3000 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} = V_2 \times 5060 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 59,29 \text{ mL}$$

(59 mL larutan induk naringenin 5000  $\mu\text{g/mL}$  + 3 mL lar. HCl 0,1 N)

Larutan naringenin 10  $\mu\text{g/mL}$

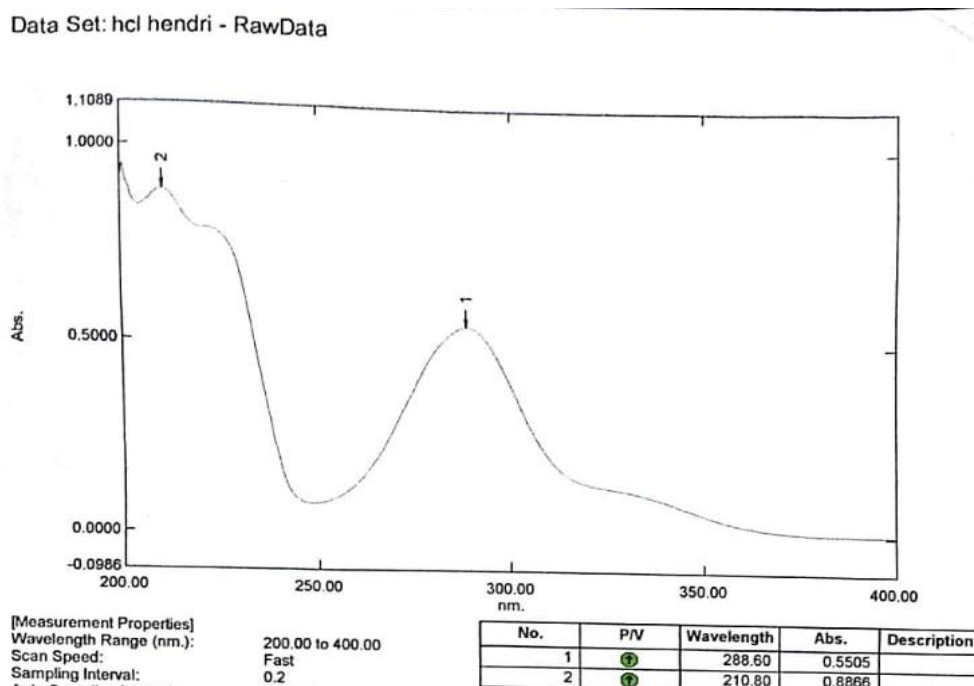
$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$3000 \text{ mL} \times 10 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 101,2 \mu\text{g/mL}$$

$$V_2 = 296,44 \text{ mL}$$

(296,44 mL larutan stok naringenin + 3 mL larutan HCl 0,1 N)

Scanning panjang gelombang maksimum



**Tabel Kurva Kalibrasi HCl 0,1 N**

<b>Vol. Pengambilan</b>	<b>Vol. Pembuatan</b>	<b>F. Pengenceran</b>	<b>Kons.</b>	<b>Replikasi 1</b>	<b>Replikasi 2</b>	<b>Replikasi 3</b>	<b>Replikasi 4</b>	<b>Rata- rata</b>
59	3000	51,85	1,95	0,259	0,257	0,257	0,257	0,258
119	3000	26,21	3,86	0,315	0,318	0,317	0,318	0,317
178	3000	17,85	5,67	0,392	0,393	0,39	0,392	0,392
237	3000	13,66	7,41	0,455	0,456	0,455	0,455	0,455
296	3000	11,14	9,09	0,512	0,513	0,513	0,514	0,513
355	3000	9,45	10,71	0,565	0,567	0,564	0,567	0,566
474	3000	7,33	13,81	0,652	0,651	0,653	0,655	0,653

#### Lampiran 4. Validasi Metode Analisis

##### a. Dapar Fosfat pH 7,4

##### - Akurasi

Konsentrasi	Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi	Kons. sebenarnya	% Recovery	Rata-Rata
80%	1	0,343	3,84	3,7	104%	103,23%
	2	0,340	3,81	3,7	103%	
	3	0,339	3,80	3,7	103%	
100%	1	0,451	4,95	5,36	92%	92,36%
	2	0,445	4,89	5,36	91%	
	3	0,457	5,01	5,36	94%	
120%	1	0,647	6,96	6,9	101%	100,37%
	2	0,640	6,89	6,9	100%	
	3	0,644	6,93	6,9	100%	
					<b>% Recovery</b>	<b>98,65%</b>

##### - Presisi

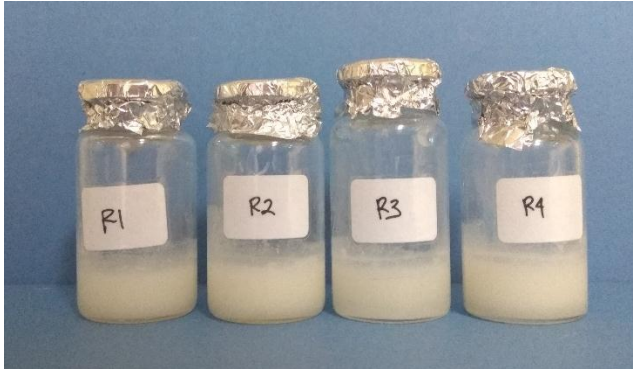
Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi
1	0,420	4,633
2	0,439	4,828
3	0,443	4,869
4	0,442	4,858
5	0,444	4,879
6	0,447	4,910
7	0,433	4,766
8	0,439	4,828
9	0,445	4,889
10	0,457	5,012
<b>SD</b>	0,0987	
<b>Rata-rata</b>	4,8470	
<b>CV</b>	0,0204	

**b. HCl 0,1 N**  
**- Akurasi**

Konsentra si	Replika si	Absorban si	Konsentra si	Kons. Sebenarn ya	% Recover y	Rata- Rata	
80%	1	0,515	9,3936	9,088	103%	101,96 %	<b>100,29</b> %
	2	0,506	9,1295	9,088	100%		
	3	0,511	9,2762	9,088	102%		
100%	1	0,566	10,8771	10,708	102%	101,61 %	
	2	0,5658	10,8838	10,708	102%		
	3	0,56575	10,8823	10,708	102%		
120%	1	0,65278	13,4354	13,808	97%	97,30%	
	2	0,65273	13,4339	13,808	97%		
	3	0,65275	13,4345	13,808	97%		

**- Presisi**

REPLIKASI	ABS	KONSENTRASI
1	0,562	10,772
2	0,560	10,714
3	0,563	10,802
4	0,561	10,743
5	0,562	10,772
6	0,565	10,860
7	0,564	10,831
8	0,560	10,714
9	0,561	10,743
10	0,556	10,596
SD	0,073437	
Rata-rata	10,7547	
CV	0,006828	

**Lampiran 5. Bentuk Sediaan *Solid* SNEDDS Naringenin****- Sediaan *Solid* SNEDDS Naringenin****- Nanoemulsi Solid SNEDDS Naringenin**



**Lampiran 6. Data Waktu Emulsifikasi dan % Transmitan Solid SNEDDS Naringenin.**

- **Waktu Emulsifikasi**

<b>Waktu Emulsifikasi (detik)</b>				
<b>Replikasi</b>	<b>Formula 1</b>	<b>Formula 2</b>	<b>Formula 3</b>	<b>Formula 4</b>
1	26	15	18	51
2	26	15	17	52
3	24	16	17	51
<b>Rata-Rata</b>	25,33	15,33	17,33	51,33
<b>SD</b>	1,15	0,58	0,58	0,58
<b>RSD</b>	4,56	3,77	3,33	1,12

- **% Transmitan**

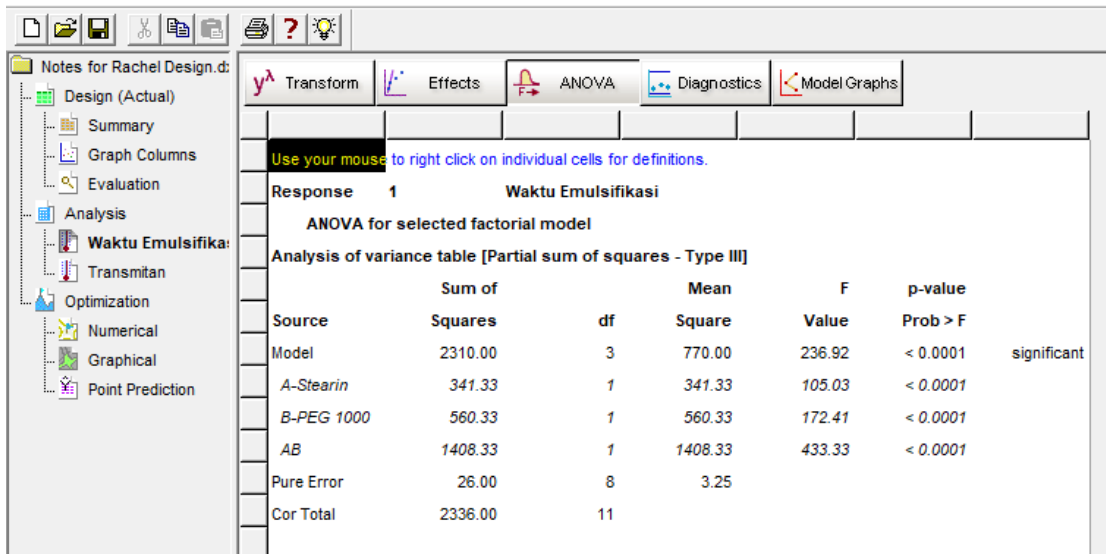
<b>% Transmittan</b>				
<b>Replikasi</b>	<b>Formula 1</b>	<b>Formula 2</b>	<b>Formula 3</b>	<b>Formula 4</b>
1	33	4,6	37,5	28
2	33,1	4,8	37,8	27,9
3	33,3	5	38	27,8
<b>Rata-Rata</b>	33,13	4,80	37,77	27,90
<b>SD</b>	0,15	0,20	0,25	0,10
<b>RSD</b>	0,46	4,17	0,67	0,36

## Lampiran 7. Penentuan Formula Optimum Basis *Solid* SNEDDS Naringenin

Select	Std	Run	Factor 1 A:Stearin bagian	Factor 2 B:PEG 1000 bagian	Response 1 Waktu Emulsifikasi detik	Response 2 Transmitan %
1		8	1.00	3.00	20	30.7
2		1	1.00	3.00	21	29.9
3		12	1.00	3.00	24	29.8
4		7	3.00	3.00	13	2.5
5		9	3.00	3.00	9	2.4
6		3	3.00	3.00	10	2.4
7		10	1.00	6.00	14	30.2
8		11	1.00	6.00	13	29.2
9		6	1.00	6.00	14	29.5
10		5	3.00	6.00	48	26
11		2	3.00	6.00	46	25.8
12		4	3.00	6.00	44	25.7

### A. Waktu Emulsifikasi

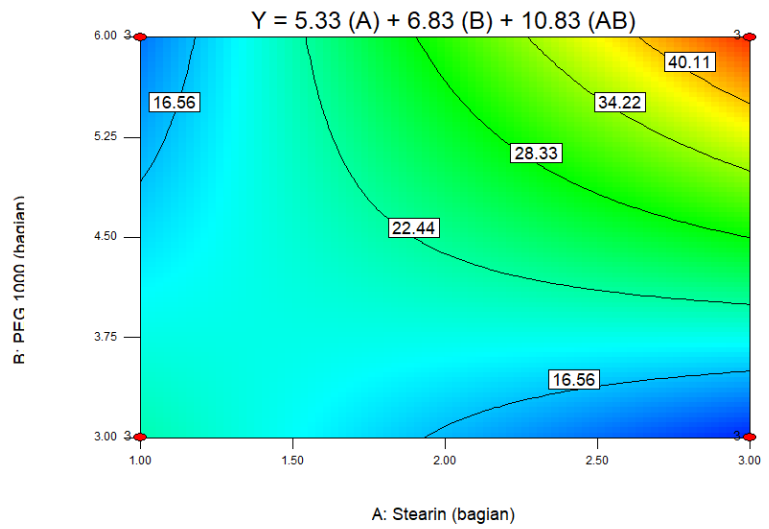
Term	Stdized Effects	Sum of Squares	% Contribution
Intercept			
M A-Stearin	10.67	341.33	14.61
M B-PEG 1000	13.67	560.33	23.99
M AB	21.67	1408.33	60.29
Lack Of Fit		0.000	0.000
Pure Error		26.00	1.11
Lenth's ME	15.62		
Lenth's SME	20.18		



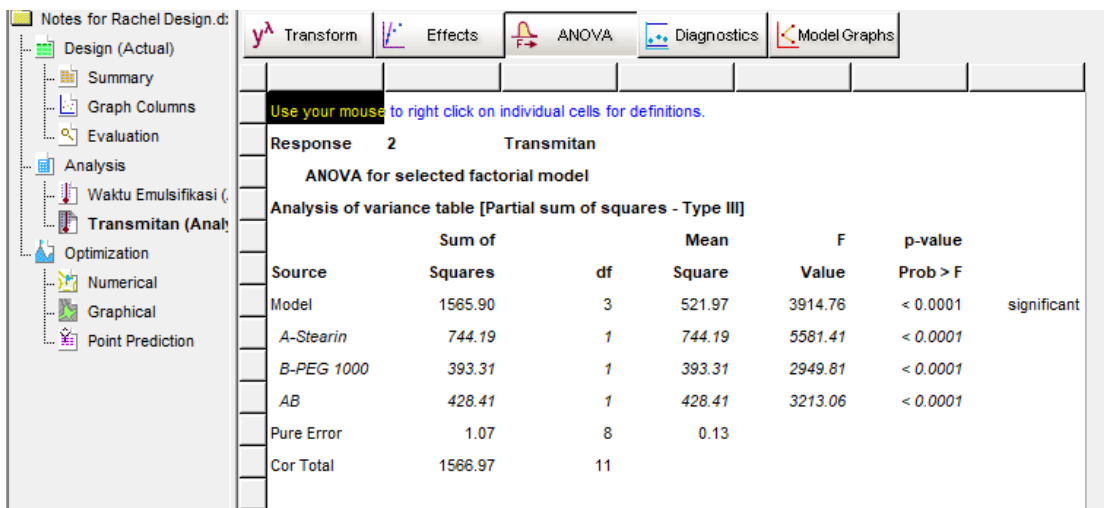
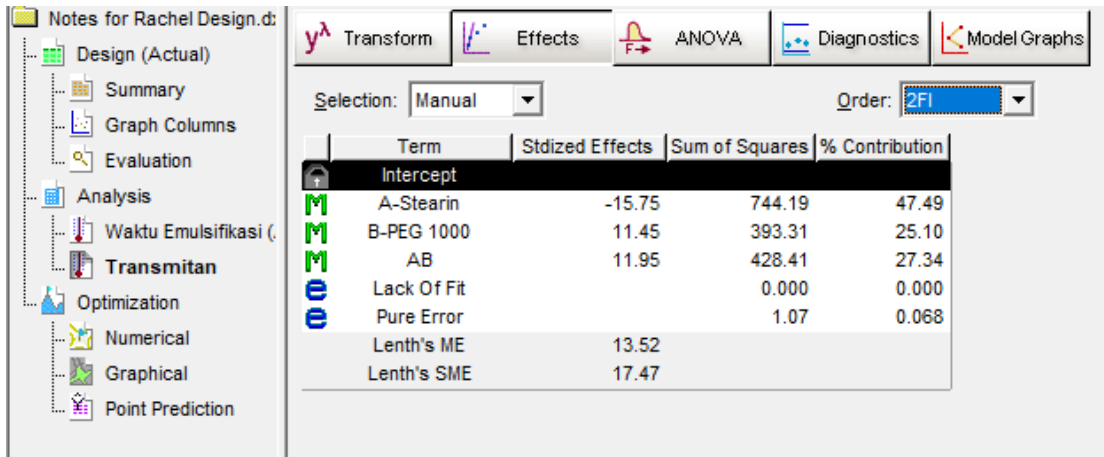
Design-Expert® Software

Waktu Emulsifikasi  
 • Design Points  
 48  
 9

X1 = A: Stearin  
 X2 = B: PEG 1000



### B. % Transmitan



Design-Expert® Software

Transmitan

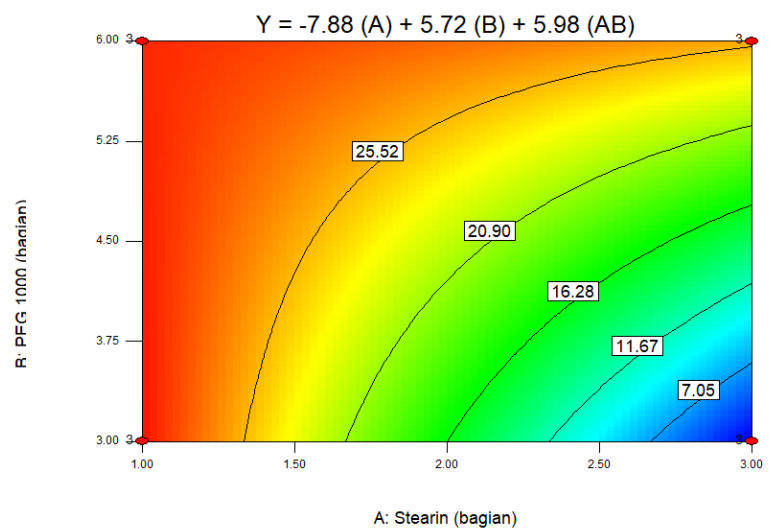
• Design Points

30.7

2.4

X1 = A: Stearin

X2 = B: PEG 1000



### C. Formula Optimum basis Solid SNEDDS Naringenin

Notes for Rachel Design.d

Design (Actual)

- Summary
- Graph Columns
- Evaluation
- Analysis
- Waktu Emulsifikasi (
- Transmitan (Analysi
- Optimization
- Numerical
- Graphical
- Point Prediction

Solutions Tool

- Report
- Ramps
- Bar Graph

Criteria Solutions Graphs

Solutions 1 2

Constraints		Lower	Upper	Lower	Upper		
Name	Goal	Limit	Limit	Weight	Weight	Importance	
Stearin	is in range	1	3	1	1	3	
PEG 1000	is in range	3	6	1	1	3	
Waktu Emulsifika	minimize	9	48	1	1	3	
Transmitan	maximize	2.4	30.7	1	1	3	

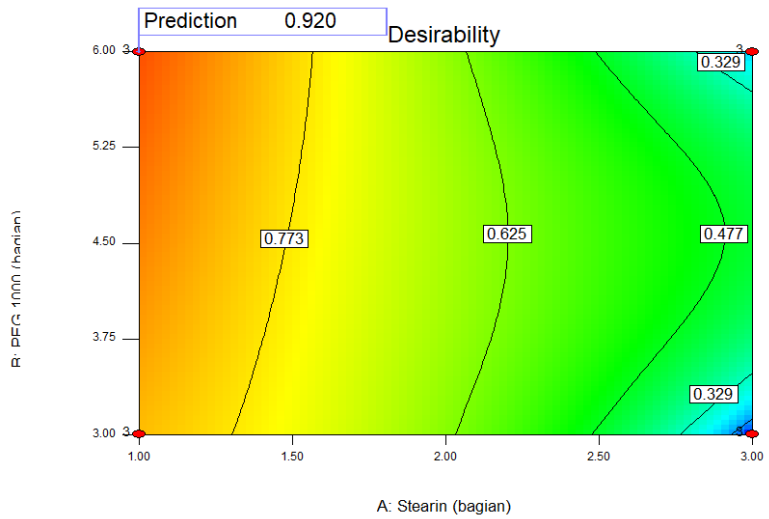
Solutions						
Number	Stearin	PEG 1000	Waktu Emulsifi	Transmitan	Desirability	
1	1.00	6.00	13.6667	29.6333	0.920	Selected
2	1.02	6.00	13.973	29.5973	0.916	

2 Solutions found

Design-Expert® Software

Desirability  
 ● Design Points  
 1  
 0

X1 = A: Stearin  
 X2 = B: PEG 1000



### Lampiran 8. Uji Disolusi Solid SNEDDS Naringenin

Waktu (menit)	Rata-rata (% Release)				SD			
	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	5,29	5,29	5,44	5,51	0,30	0,44	0,74	1,48
3	32,37	29,39	29,39	33,25	0,45	0,88	1,32	0,43
5	50,12	53,73	31,34	34,03	0,75	0,59	0,89	0,44
7	83,04	60,44	54,59	36,02	0,46	2,36	1,14	0,58
10	89,82	74,05	59,87	38,58	1,05	1,50	0,57	0,90
15	92,58	81,17	63,99	55,28	2,69	1,22	0,92	0,86
20	95,02	86,04	76,74	59,23	3,60	0,79	0,86	0,99
25	99,80	97,46	82,12	77,01	2,01	0,50	1,20	1,87
30	102,29	105,90	99,78	86,03	0,85	1,39	1,65	1,26
60	109,22	107,35	105,49	105,27	1,15	0,81	0,64	1,80

### Lampiran 9. Tabel Konstanta Difusi Solid SNEDDS Naringenin

Waktu	Konstanta Difusi				SD			
	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	8,017	8,109	11,935	7,835	0,00	0,46	0,09	0,18
3	9,009	9,283	12,692	8,734	0,18	0,27	0,00	0,28
5	9,462	10,013	13,729	9,276	0,18	0,36	0,36	0,19
7	10,193	11,387	15,959	10,096	0,09	0,18	0,46	0,18
10	11,386	12,500	17,482	11,348	0,46	0,09	0,55	0,21
15	12,589	14,352	19,656	12,005	0,08	0,55	0,19	0,27
20	14,442	15,493	20,665	13,517	0,17	0,28	0,26	0,66
25	15,947	17,828	21,501	14,072	0,45	0,28	0,19	0,47
30	17,830	19,183	22,616	15,420	0,36	0,38	0,17	1,11
60	22,372	20,458	24,013	18,663	0,54	0,20	0,26	0,16
90	24,043	22,929	25,058	20,298	0,37	0,07	0,19	0,02
120	28,644	24,056	27,478	22,585	0,17	0,07	0,35	0,61

## Lampiran 10. Hasil Optimasi Solid SNEDDS Naringenin

### A. Waktu Emulsifikasi

Selection:	Manual	Order:	2FI
Term	Stdized Effects	Sum of Squares	% Contribution
Intercept			
M A-Stearin	12.00	432.00	17.44
M B-PEG 1000	14.00	588.00	23.74
M AB	22.00	1452.00	58.63
e Lack Of Fit		0.000	0.000
e Pure Error		4.67	0.19
Lenth's ME	15.86		
Lenth's SME	20.50		

Response 1 Waktu Emulsifikasi

ANOVA for selected factorial model

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

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	2472.00	3	824.00	1412.57	< 0.0001	significant
A-Stearin	432.00	1	432.00	740.57	< 0.0001	
B-PEG 1000	588.00	1	588.00	1008.00	< 0.0001	
AB	1452.00	1	1452.00	2489.14	< 0.0001	
Pure Error	4.67	8	0.58			
Cor Total	2476.67	11				

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned} \text{Waktu Emulsifikasi} = & \\ & +27.33 \\ & +6.00 * A \\ & +7.00 * B \\ & +11.00 * A * B \end{aligned}$$

## B. % Transmitan

Selection: <b>Manual</b>		Order: <b>2FI</b>		
	Term	Stdized Effects	Sum of Squares	% Contribution
	Intercept			
M	A-Stearin	-19.10	1094.43	56.79
M	B-PEG 1000	13.87	576.85	29.93
M	AB	9.23	255.76	13.27
e	Lack Of Fit		0.000	0.000
e	Pure Error		0.27	0.014
	Lenth's ME	15.69		
	Lenth's SME	20.27		

Response 2 Transmitan

ANOVA for selected factorial model

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

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	1927.05	3	642.35	18800.46	< 0.0001
A-Stearin	1094.43	1	1094.43	32032.10	< 0.0001
B-PEG 1000	576.85	1	576.85	16883.51	< 0.0001
AB	255.76	1	255.76	7485.76	< 0.0001
Pure Error	0.27	8	0.034		
Cor Total	1927.32	11			

significant

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned} \text{Transmitan} = & \\ & +25.90 \\ & -9.55 * A \\ & +6.93 * B \\ & +4.62 * A * B \end{aligned}$$



### C. AUC Disolusi

Selection: Manual		Order: 2FI		
	Term	Stdized Effects	Sum of Squares	% Contribution
	Intercept			
M	A-Stearin	-266.20	2.126E+005	16.02
M	B-PEG 1000	-606.47	1.103E+006	83.18
M	AB	-43.29	5622.07	0.42
e	Lack Of Fit		0.000	0.000
e	Pure Error		4972.49	0.37
	Lenth's ME	302.65		
	Lenth's SME	391.05		

Response 4 AUC Disolusi

ANOVA for selected factorial model

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

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1.322E+006	3	4.405E+005	708.77	< 0.0001	significant
A-Stearin	2.126E+005	1	2.126E+005	342.02	< 0.0001	
B-PEG 1000	1.103E+006	1	1.103E+006	1775.24	< 0.0001	
AB	5622.07	1	5622.07	9.05	0.0169	
Pure Error	4972.49	8	621.56			
Cor Total	1.327E+006	11				

Final Equation in Terms of Coded Factors:



$$\begin{aligned} \text{AUC Disolusi} = & \\ & +2017.82 \\ & -133.10 * A \\ & -303.24 * B \\ & -21.64 * A * B \end{aligned}$$

### D. Q<sub>30</sub> Disolusi

Selection:	Manual	Order:	2FI
Term	Stdized Effects	Sum of Squares	% Contribution
Intercept			
M A-Stearin	-5.08	77.27	11.26
M B-PEG 1000	-11.19	375.54	54.70
M AB	-8.68	226.11	32.94
e Lack Of Fit		0.000	0.000
e Pure Error		7.57	1.10
Lenth's ME	9.89		
Lenth's SME	12.78		

Response 3 Q30 Disolusi

#### ANOVA for selected factorial model

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

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	678.92	3	226.31	239.17	< 0.0001	significant
A-Stearin	77.27	1	77.27	81.66	< 0.0001	
B-PEG 1000	375.54	1	375.54	396.88	< 0.0001	
AB	226.11	1	226.11	238.97	< 0.0001	
Pure Error	7.57	8	0.95			
Cor Total	686.49	11				

#### Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Q30 Disolusi} = & \\
 & +98.50 \\
 & -2.54 * A \\
 & -5.59 * B \\
 & -4.34 * A * B
 \end{aligned}$$

### E. Konstanta Difusi

Selection:	Manual	Order:	2FI
Term	Stdized Effects	Sum of Squares	% Contribution
Intercept			
M A-Stearin	-0.018	1.008E-003	17.91
M B-PEG 1000	-0.031	2.945E-003	52.31
M AB	0.023	1.587E-003	28.18
E Lack Of Fit		0.000	0.000
E Pure Error		9.000E-005	1.60
Lenth's ME	0.026		
Lenth's SME	0.034		

Response 5 Konst. Difusi

ANOVA for selected factorial model

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

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	5.541E-003	3	1.847E-003	164.17	< 0.0001	significant
A-Stearin	1.008E-003	1	1.008E-003	89.63	< 0.0001	
B-PEG 1000	2.945E-003	1	2.945E-003	261.81	< 0.0001	
AB	1.587E-003	1	1.587E-003	141.07	< 0.0001	
Pure Error	9.000E-005	8	1.125E-005			
Cor Total	5.631E-003	11				

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Konst. Difusi} = & \\
 & +0.13 \\
 & -9.167E-003 * A \\
 & -0.016 * B \\
 & +0.012 * A * B
 \end{aligned}$$

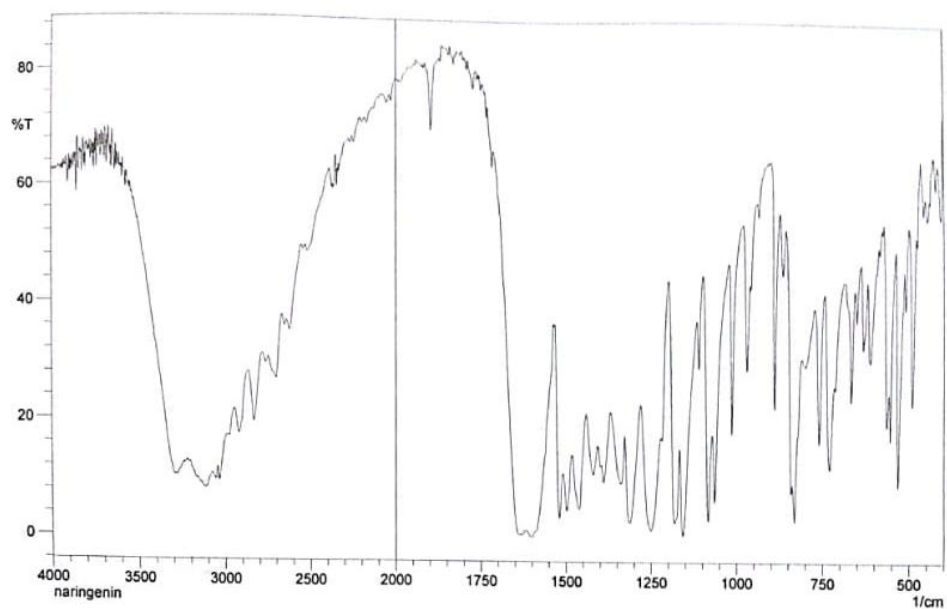
### Lampiran 11. Hasil Formula Optimum Solid SNEDDS Naringenin

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Stearin	is in range	1	3	1	1	3
PEG 1000	is in range	3	6	1	1	3
Waktu Emulsifikasi	minimize	15	52	1	1	3
Transmitan	maximize	4.6	38	1	1	3
Q30 Disolusi	maximize	85.18	106.94	1	1	3
AUC Disolusi	maximize	1548.62	2474.52	1	1	3
Konst. Difusi	maximize	0.111	0.169	1	1	3

#### Solutions

Number	Stearin	PEG 1000	Waktu Emulsifikasi	Transmitan	Q30 Disolusi	AUC Disolusi	Konst. Difusi	Desirability	Selectec
1	<u>1.00</u>	<u>3.00</u>	<u>25.3333</u>	<u>33.1333</u>	<u>102.293</u>	<u>2432.51</u>	<u>0.169</u>	<u>0.857</u>	Selectec

### Lampiran 12. FT-IR Naringenin



Lampiran 13. *Certificate Of Analysis (CO-A) Naringenin*

泽世化学  
TIANEN CHEMICALS

ADDRESS: RM1707, BLDG 5, CHANGFA, 101-1# TAIHU ROAD, 213022, P.R.CHINA  
TEL.: +86 519 89880626 FAX: +86-519-89880629 Email: tcc@tianenschem.com

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

<b>Product Name</b>	Naringenin	<b>Code</b>	BPBE-622-A																																																						
<b>Botanical Source</b>	Citrus Grandis (L.) Osbeck	<b>Used Part</b>	Fruit																																																						
<b>Batch No.</b>	H020862217A	<b>Mfg. Date</b>	Aug. 15, 2017																																																						
<b>Packing</b>	25kg/Drum	<b>Retest Date</b>	Aug. 14, 2019																																																						
<b>Quantity</b>	25g	<b>Report Date</b>	Aug. 21, 2017																																																						
<b>Specification</b>	98%(HPLC)																																																								
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ITEM</th> <th>SPECIFICATION</th> <th>RESULT</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Assay(HPLC)</b></td> <td>≥98.0%</td> <td>98.23%</td> </tr> <tr> <td><b>Appearance</b></td> <td>White powder</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td><b>Odor</b></td> <td>Characteristic</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td><b>Particle Size</b></td> <td>NLT 95% pass 80 mesh</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td><b>Loss on Drying</b></td> <td>≤5.0%</td> <td>0.53%</td> </tr> <tr> <td><b>Sulphated Ash</b></td> <td>≤0.1%</td> <td>0.05%</td> </tr> <tr> <td><b>Heavy Metals</b></td> <td>≤10ppm</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td>-Pb</td> <td>≤1ppm</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td>-As</td> <td>≤1ppm</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td>-Cd</td> <td>≤1ppm</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td>-Hg</td> <td>≤0.1ppm</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td><b>Total Plate Count</b></td> <td>≤1000cfu/g</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td>-Yeast &amp; Mold</td> <td>≤100cfu/g</td> <td>Complies</td> </tr> <tr> <td>-E.Coli</td> <td>Negative</td> <td>Negative</td> </tr> <tr> <td>-Salmonella</td> <td>Negative</td> <td>Negative</td> </tr> <tr> <td><b>Conclusion</b></td> <td colspan="2">Comply with the Specification.</td> </tr> <tr> <td><b>Storage</b></td> <td colspan="2">Preserve in tight containers, protected from strong light and high heat. Store in dry cool place.</td> </tr> </tbody> </table>				ITEM	SPECIFICATION	RESULT	<b>Assay(HPLC)</b>	≥98.0%	98.23%	<b>Appearance</b>	White powder	Complies	<b>Odor</b>	Characteristic	Complies	<b>Particle Size</b>	NLT 95% pass 80 mesh	Complies	<b>Loss on Drying</b>	≤5.0%	0.53%	<b>Sulphated Ash</b>	≤0.1%	0.05%	<b>Heavy Metals</b>	≤10ppm	Complies	-Pb	≤1ppm	Complies	-As	≤1ppm	Complies	-Cd	≤1ppm	Complies	-Hg	≤0.1ppm	Complies	<b>Total Plate Count</b>	≤1000cfu/g	Complies	-Yeast & Mold	≤100cfu/g	Complies	-E.Coli	Negative	Negative	-Salmonella	Negative	Negative	<b>Conclusion</b>	Comply with the Specification.		<b>Storage</b>	Preserve in tight containers, protected from strong light and high heat. Store in dry cool place.	
ITEM	SPECIFICATION	RESULT																																																							
<b>Assay(HPLC)</b>	≥98.0%	98.23%																																																							
<b>Appearance</b>	White powder	Complies																																																							
<b>Odor</b>	Characteristic	Complies																																																							
<b>Particle Size</b>	NLT 95% pass 80 mesh	Complies																																																							
<b>Loss on Drying</b>	≤5.0%	0.53%																																																							
<b>Sulphated Ash</b>	≤0.1%	0.05%																																																							
<b>Heavy Metals</b>	≤10ppm	Complies																																																							
-Pb	≤1ppm	Complies																																																							
-As	≤1ppm	Complies																																																							
-Cd	≤1ppm	Complies																																																							
-Hg	≤0.1ppm	Complies																																																							
<b>Total Plate Count</b>	≤1000cfu/g	Complies																																																							
-Yeast & Mold	≤100cfu/g	Complies																																																							
-E.Coli	Negative	Negative																																																							
-Salmonella	Negative	Negative																																																							
<b>Conclusion</b>	Comply with the Specification.																																																								
<b>Storage</b>	Preserve in tight containers, protected from strong light and high heat. Store in dry cool place.																																																								
<b>Analyst:</b>	<b>QC Manager:</b>	<b>QA:</b>																																																							