

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Nanopartikel**

Nanopartikel adalah partikel koloid atau padatan dengan diameter berkisar dari 50-1000 nm. Nanopartikel merupakan suatu partikel berdimensi tiga, yang memiliki ukuran berskala nanometer. Material yang berukuran nano memiliki sifat kimia, fisika dan biologi yang lebih unggul dibandingkan dengan material yang berukuran lebih besar. Nanopartikel dengan menggunakan polimer dapat dimanfaatkan untuk melarutkan obat untuk penghantaran sistemik, pelepasan obat terkendali, meningkatkan bioavailabilitas, atau sistem penghantaran tertarget. Sistem ini dapat digunakan untuk melindungi agen terapeutik akibat adanya degradasi enzim (nuklease dan protease) (Rauhatun dan Iis 2013).

Nanopartikel diyakini mampu melindungi obat agar tidak mengalami degradasi baik secara kimia maupun enzimatis. Nanopartikel juga terbukti mampu membawa obat (antibiotik, sitostatik, peptida, dan protein) ke target jaringan yang spesifik. Nanopartikel juga mampu mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan dari beberapa zat aktif. Salah satu keuntungannya nanopartikel yang digunakan sebagai sistem penghantaran obat 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 (Rawat *et al.* 2006).

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 pada sediaan farmasi dapat berupa sistem obat dalam matriks seperti nanokapsul, nanoliposom, nanoemulsi, dan sebagai sistem yang dikombinasikan dalam perancah (*scaffold*) dan penghantaran transdermal. Nanopartikel dapat digunakan untuk beberapa rute pemberian obat, seperti oral, nasal, parental, intra-okular, dan lainnya (Rawat *et al.* 2006).

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

SLN adalah generasi baru emulsi lipid yang berukuran submikron dimana lipid cair (minyak) telah digantikan oleh lemak padat. SLN menawarkan sifat unik seperti ukuran partikel yang relatif kecil, luas area permukaan yang besar, tingkat penyerapan obat yang tinggi serta berpotensi sebagai pembawa/ sediaan yang dapat meningkatkan kinerja obat-obatan. SLN merupakan sistem pembawa alternatif untuk pembawa koloid lainnya (emulsi, liposom dan polimer mikro dan nanopartikel) yang dapat digunakan untuk meningkatkan ketersediaan hayati dari obat dengan kelarutan yang rendah (Amalia *et al.* 2015)

Berkurangnya ukuran partikel dapat mempengaruhi efisiensi distribusi obat dalam tubuh karena dengan berkurangnya ukuran partikel maka akan meningkatkan luas permukaan partikel. Berkurangnya ukuran partikel juga meningkatkan disolusi dan kejenuhan larutan yang berhubungan dengan peningkatan kinerja obat secara *in vivo*. Sifat-sifat nanokristal secara umum tidak sama dengan senyawa obat tersebut dalam ukuran partikel yang lebih besar (Rachmawati *et al.* 2007).

SLN dapat menggabungkan keuntungan dan menghindari kelemahan dari pembawa koloid lain. Keuntungan SLN yaitu, memungkinkan pelepasan obat terkendali dan obat yang ditargetkan, bioavailabilitas yang tinggi, meningkatkan stabilitas obat, tidak adanya toksisitas dari pembawa, menghindari penggunaan pelarut organik. Kelemahan dari SLN ini adalah menyebabkan degradasi obat jika pembuatannya dengan tekanan tinggi (Mehnert dan Mader 2001).

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

Pembuatan SLN dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu *high shear homogenization and ultrasound, high pressure homogenization, emulsification solven evaporation*, teknik mikroemulsi, teknik emulsifikasi, teknologi *Bottom Up*, dan teknologi *Top Down* (Annisa *et al.* 2016).

### **1. High Shear Homogenization and Ultrasound**

Metode pengadukan berkecepatan tinggi dan ultrasonikasi merupakan pendispersi yang awalnya digunakan untuk persiapan nanodispersi lipid padat.

Metode ini mudah dan paling sering digunakan. Lipid yang telah melebur didispersikan pada fase air dengan suhu yang sama dengan pengadukan mekanik atau sonikasi (Singhal *et al.* 2011). Kualitas nanodispersi dapat dipengaruhi oleh adanya mikropartikel dan logam kontaminan, sehingga apabila menggunakan *ultrasound* harus dikompromikan (Pardeshi *et al.* 2012).

Metode *ultrasound* merupakan metode yang paling banyak digunakan karena peralatan yang dibutuhkan adalah peralatan yang umum ada di setiap laboratorium. Terdapat 2 alat yang dapat digunakan pada metode *ultrasound*, 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 sebelum digunakan dengan sentrifugasi (Pardeshi *et al.* 2012).

Penggunaan metode *ultrasound* saja memiliki kekurangan yaitu terbentuknya partikel yang lebih luas bahkan dalam ukuran mikrometer. Usaha yang dapat dilakukan untuk mendapatkan formulasi yang stabil yaitu dengan menggunakan gabungan pengadukan berkecepatan tinggi dan 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).

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

Metode *HPH* dapat meningkatkan kandungan lemak dalam formula sampai 40%, sedangkan dengan metode lain kandungan lemak dalam formula tidak boleh lebih dari 10% untuk mendapatkan nanopartikel. Tekanan diatur antara 100 bar hingga 2000 bar. Dua pendekatan untuk menghasilkan *SLN* dengan *HPH* yaitu proses panas dan dingin. Proses homogenisasi panas, kondisi suhu diatur diatas titik leleh lemak yang dipergunakan (5°C hingga 10°C). Kualitas pre-emulsi mempengaruhi produk akhir nanopartikel.

Pengaturan suhu dan tekanan sangat diperlukan untuk menghindari degradasi bahan aktif yang terkandung. Suhu yang tinggi dapat mengecilkan

ukuran partikel karena menurunnya viskositas fase cair. Tekanan yang tinggi juga berdampak naiknya suhu sampel sampai 10°C. Naiknya tekanan dan kecepatan putaran berdampak pada naiknya energi kinetik yang mengakibatkan ukuran partikel kembali membesar karena nanopartikel akan bergabung kembali. Memperoleh hasil SLN yang stabil, tidak merusak bahan aktif dan persentase nanopartikel lebih banyak perlu mengoptimisasi kondisi seperti tekanan, suhu dan kecepatan putaran.

HPH dikembangkan pula dengan proses dingin untuk mengatasi kekurangan yang terjadi pada proses panas. Lemak yang sudah didinginkan dihancurkan dengan *ball milling* untuk menghasilkan mikropartikel (50 µm hingga 100 µm). Lemak mikropartikel didispersi, lalu ditambahkan surfaktan/*emulsifier*. Dihomogenkan didalam reaktor bertekanan tinggi dengan kondisi suhu dingin untuk menjadikannya pre-suspensi. Proses HPH diteruskan sampai dihasilkan nanopartikel (Rahmi 2010).

### **3. *Emulsification Solven Evaporation***

Pembuatan SLN dengan cara emulsifikasi adalah dengan mengendapkan lemak yang sudah dicampurkan ke dalam o/w *emulsifier*. Formula yang bersifat lipofilik kemudian dilarutkan di dalam air dan pelarut organik (seperti *cyclohexane*). Pelarut organik kemudian dievaporasi untuk mendapatkan lemak mikropartikel. Lemak mikropartikel ini diendapkan lagi sampai dihasilkannya nanopartikel. Ukuran partikel yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh perpaduan lemak dengan surfaktan/*emulsifier* dan konsentrasi lemak dalam formula. Kelebihan dari metode ini adalah tidak merusak bahan aktif karena proses produksi dilakukan pada suhu rendah. Sementara kekurangan dari metode ini adalah berdampak racun karena pemakaian pelarut organik (Rahmi 2010).

### **4. Teknik *Emulsifikasi***

Teknik *emulsifikasi* dengan kapasitas pemuatan obat yang lebih tinggi dan ukuran partikel yang lebih kecil, dapat meningkatkan bioavailabilitas potensial (Pardeshi *et al* 2012). Keuntungan dari metode ini adalah lebih mudah dan dapat memberikan hasil pengebakan yang baik (Yuan *et al* 2007).

Metode emulsifikasi ini dilakukan dengan cara melelehkan fase lipid dengan menggunakan perbandingan lipid yang berbeda, serta bahan aktif pada suhu 65°C. Secara bersamaan, larutan surfaktan disiapkan dan dipanaskan pada suhu 65°C, setelah 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, dan timbang berat akhirnya (Yuan *et al* 2007).

### **5. Teknik Mikroemulsi**

Lipid padat dan cair dilelehkan pada suhu 5-10°C diatas titik leleh dari lipid, setelah leleh obat dilarutkan dalam lipid tersebut. Surfaktan cair ditambahkan lipid yang meleleh diaduk pada suhu yang sama. Komponen yang 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.

### **6. Teknologi Bottom Up**

Teknologi *Bottom Up* merupakan metode pembuatan nanopartikel dengan cara memperbesar ukuran dari senyawa yang berukuran kecil menjadi lebih besar. Presipitasi atau metode hidrosol yang paling banyak digunakan. Parameter yang perlu diperhatikan adalah kecepatan pengadukan, viskositas, suhu, konsentrasi obat, perbandingan antara pelarut dengan non pelarut, bahan penstabil yang digunakan dan jenis pelarut.

Keuntungan dari metode presipitasi yaitu peralatan yang digunakan sederhana. Kekurangannya 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).

### **7. Teknologi Top Down**

Teknologi *top down* merupakan metode pembuatan nanopartikel dengan menggunakan gaya mekanik, sehingga mengubah partikel berukuran besar

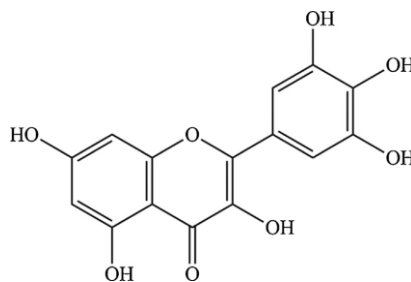
menjadi kecil. Hal yang perlu diperhatikan bila menggunakan metode *top down* adalah kekuatan atau keliatan bahan, bentuk dan ukuran partikel, sifat *abrasive*, kekerasan, serta sensitivitasnya terhadap suhu (Gupta dan Kompella 2006).

#### D. Mirisetin

Mirisetin [3,5,7-trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-1], adalah salah satu flavon yang lazimnya ditemukan pada berry, sayuran (bayam: 1660,9 mg / kg, wortel: 523,3 mg / kg, kacang polong: 146,2 mg / kg), buah-buahan, kacang-kacangan, teh ( teh hitam: 0,2-0,5 g / kg, teh hijau: 0,8-1,6 g / kg), anggur merah, dan tanaman obat (Devi *et al* 2015). Qian *et al* (2017) menyatakan bahwa mirisetin memiliki potensi sebagai hipoglikemia, antioksidan, antikanker dan masih banyak lainnya. Mirisetin memiliki kemampuan untuk mengurangi tekanan darah sistolik dan mengubah reaktivitas vaskular, yang signifikan untuk pengobatan penyakit jantung koroner.

Mirisetin memiliki potensi sebagai hipoglikemia, antioksidan, antikanker dan masih banyak lainnya. Mirisetin memiliki kemampuan untuk mengurangi tekanan darah sistolik dan mengubah reaktivitas vaskular, yang signifikan untuk pengobatan penyakit jantung koroner (Qian *et al* 2017). Mirisetin memiliki kemampuan pengkkelat zat besi yang kuat, antioksidan dan kegiatan pembersihan radikal bebas, mirisetin juga memiliki beberapa mekanisme potensial resistensi intrinsik terhadap karsinogen, mutasi, diabetes, trombosis, diare, serta perlindungan kardiovaskular (Ma dan Liu 2016).

Mirisetin adalah senyawa yang paling aktif, yang menunjukkan nilai  $IC_{50}$  150  $\mu$ M dan 1021  $\mu$ M untuk penghambatan aktifitas proteolitik dan hemoragik. Konsentrasi 1600  $\mu$ M yang diberikan secara lokal setelah di injeksi toksin menunjukkan penurunan  $28 \pm 6\%$  pada lesi hemoragik (Preciado *et al* 2018). Mirisetin praktis tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, methanol, aseton dan DMF (Dang *et al* 2014). Mirisetin memiliki kelarutan dalam air yang rendah yaitu 16,60  $\mu$ g/mL sehingga membuat mirisetin tidak larut dalam saluran gastrointestinal (GI), maka dapat membatasi efek terapi mirisetin yang diberikan secara oral. Bioavailabilitas mirisetin mutlak yang diberikan secara oral hanya 10%, yang sangat mengurangi efektivitas terapetiknya (Gaber *et al* 2017).



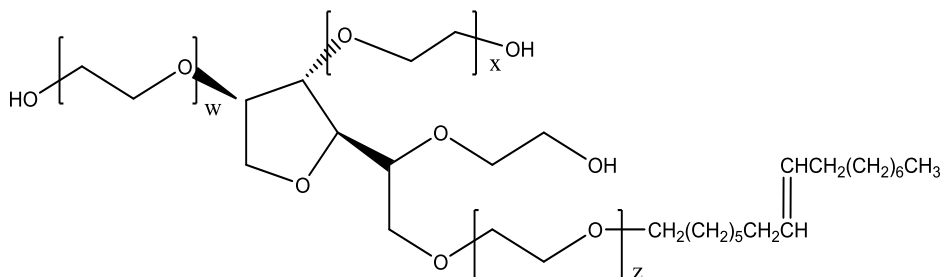
Gambar 1. Struktur kimia mirisetin (Qian *et al* 2017)

## E. Studi Preformulasi

### 1. Tween 80

Tween 80 atau *Polysorbate 80* merupakan cairan seperti minyak, jernih, bewarna kuning muda hingga coklat muda, bau khas lemah, rasa pahit, dan hangat. Kelarutan tween 80 yaitu, larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral.

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). Tween 80 memiliki harga HLB sejumlah 15 (Voigt 1995).

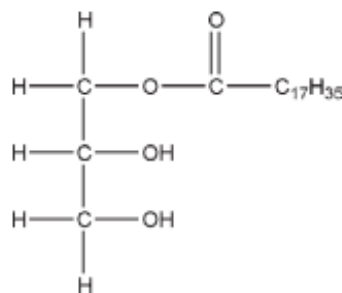


Gambar 2. Struktur Tween 80

### 2. Gliseril Monostearat

Gliseril monostearat dengan rumus kimia  $C_{21}H_{42}O_4$  memiliki warna putih hingga krem, seperti lilin padat dalam bentuk manik-manik, serpih, atau serbuk yang digunakan untuk stabilisator, emulsifier non-ionik, emolien. Bertindak sebagai penstabil yang efektif yaitu, sebagai pelarut bersama untuk senyawa polar dan senyawa nonpolar yang dapat membentuk air dalam minyak atau minyak di dalam air pada emulsi. Sifat-sifat tersebut juga bermanfaat sebagai pendispersi agen untuk pigmen dalam minyak atau padatan dalam lemak.

HLB dari gliseril monostearat adalah 3,8, memiliki titik leleh 55–60°C, dan titik nyala 240°C. Kelarutan dari gliseril monostearat yaitu larut dalam etanol panas, eter, kloroform, aseton panas, minyak mineral, dan minyak. Praktis tidak larut dalam air, tetapi dapat larut di dalam air dengan bantuan sedikit sabun atau surfaktan lainnya. Gliseril monostearat dapat membentuk nanopartikel lipid padat dan sebagai sistem pembawa koloid untuk pelepasan obat terkontrol (Rowe *et al.* 2009)

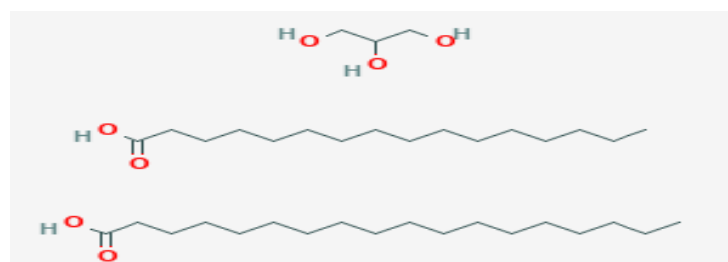


Gambar 3. Gliseril monostearat (Rowe *et al.* 2009)

### 3. Gliseril Palmitostearat (Presirol )

Gliseril palmitostearat yang memiliki nama lain presirol ini digunakan sebagai zat pelapis, gelling agent. Gliseril palmitostearat adalah campuran mono-, di-, dan trigliserida asam lemak C16 dan C18. Kelarutan Bebas larut dalam kloroform dan diklorometana, praktis tidak larut dalam etanol (95%), minyak mineral, dan air.

Gliseril palmitostearat tidak boleh disimpan pada suhu di atas 35°C. Penyimpanan untuk periode lebih dari 1 bulan, gliseril palmitostearate harus disimpan pada suhu 5–15°C di wadah kedap udara, terlindung dari cahaya dan kelembaban. Gliseril palmitostearat tidak beracun dan tidak beriritasi (Rowe *et al.* 2009).



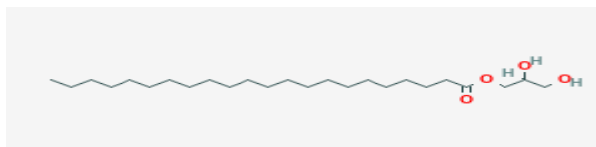
Gambar 4. Struktur Gliseril Palmitostearate (Aburahma *et al.* 2014)



#### 4. Gliseril Behenat (Compritol)

Gliseril dibehenate adalah campuran ester gliserol. Gliseril behenate sebagai serbuk putih-kuning halus, sebagai massa atau pelet lilin keras, atau serpih putih atau hampir putih, memiliki bau samar. Gliseril behenate dapat larut ketika dipanaskan, dalam kloroform dan diklorometana dan dalam banyak pelarut organik, sedikit larut dalam etanol panas (96%), praktis tidak larut dalam etanol dingin (95%), heksana, minyak mineral, dan air. Zat ini memiliki titik lebur 65–77°C. Kestabilan gliseril behenate harus disimpan dalam wadah tertutup rapat, di suhu kurang dari 35°C.

Gliseril behenate digunakan agen pengental, dan meningkatkan viskositas . Lipid ini memiliki sifat pengikatan yang baik, dan tidak terpengaruh oleh pencampuran atau parameter produksi (Rowe *et al.* 2009).



Gambar 5. Struktur Gliseril Behenate (Aburahma *et al.* 2014)

#### F. Validasi Metode Analisis

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

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

## 1. Linearitas

Linearitas ialah kemampuan metode analisis memberikan respon secara langsung maupun secara matematik, untuk mendapatkan hasil dari variabel data (absorbansi dan kurva kalibrasi) 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 meningkat dengan rentang 50–100% dari rentang komponen uji. Selanjutnya data yang diperoleh 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. Koefisien korelasi digunakan sebagai parameter adanya hubungan linier pada analisis regresi linear yaitu  $y = bx + a$ . Nilai  $a$  menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita 2004).

## 2. Akurasi

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

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

## 3. Presisi

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

#### 4. *Limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ)*

Batas deteksi atau LOD merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibanding dengan blangko (Harmita 2004). Batas deteksi dinyatakan dalam konsentrasi analit pada sampel dan dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi dengan rumus :

$$\text{LOD} = \frac{3 S_{y/x}}{b} \dots\dots\dots (2)$$

Batas kuantitasi atau LOQ merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang dapat memenuhi kriteria seksama dan cermat serta dapat dikuantifikasi dengan penentuan kuantitatif senyawa yang terdapat dalam konsentrasi rendah dalam matriks (Harmita 2004). LOQ dapat diukur secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi dengan rumus :

$$\text{LOQ} = \frac{10 S_{y/x}}{b} \dots\dots\dots (3)$$

### G. Karakterisasi *Solid Lipid Nanoparticles* (SLN)

#### 1. Ukuran Partikel

Pengukuran partikel dilakukan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA). Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas nanopartikel. Persyaratan ukuran partikel ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al.* 2000). Distribusi ukuran partikel dapat diketahui dari gambar yang dihasilkan. Ukuran tersebut dinyatakan dalam jari-jari untuk partikel yang berbentuk bola. Penentuan ukuran dan distribusi partikel menggunakan PSA dapat dilakukan dengan : difraksi sinar laser untuk partikel dari ukuran submikron sampai dengan milimeter, *counter principle* untuk mengukur dan menghitung partikel yang berukuran mikron sampai dengan milimeter, penghamburan sinar untuk mengukur partikel yang berukuran mikron sampai dengan nanometer.

#### 2. Stabilitas dalam penyimpanan

Potensial zeta merupakan aplikasi praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi. Potensial zeta ini mengatur derajat

tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan kecuali sistem yang mengandung stabilisator hidrofilik karena adsorpsi stabilisator hidrofilik akan menurunkan potensial zeta melalui pergeseran partikel. Secara umum, nilai potensial zeta yang tinggi cenderung menyebabkan deagregasi partikel dikarenakan terjadinya penolakan dengan adanya muatan listrik (Pardeshi *et al.* 2012).

Pengukuran potensial zeta menggunakan *zetasizer*. Besar kecilnya potensial zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Besar kecilnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta kurang dari -25 mV atau lebih besar dari +25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Ukuran partikel yang lebih besar ( $\mu\text{m}$ ) memiliki kelarutan lebih kecil daripada ukuran partikel kecil (nm), sehingga zat aktif akan berdifusi ke ukuran partikel yang lebih besar maka ukuran partikel yang lebih besar akan semakin besar dan ukuran partikel yang kecil akan semakin kecil (Ronson 2012).

### 3. Efisiensi Penjerapan (EE)

EE zat aktif dalam partikel nano lipid diatas 70%, namun dalam beberapa penelitian nilai L yang dilaporkan berfluktuasi antara 0,1% dan 80%. Parameter L sangat penting untuk mengamati kesesuaian SLN sebagai pembawa. Lipid cair didinginkan maka kelarutan obat dalam lipid akan berkurang, sehingga perlu menetapkan jumlah obat yang terikat dengan partikel lipid dan jumlah obat yang terlarut (Aldemar *et el.* 2018).

*Entrapment Efficiency* (EE) dihitung dengan persamaan berikut :

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

Keterangan :  $W_a$  : jumlah obat yang ditambahkan,  $W_s$  : jumlah bahan obat yang bebas,  $W_l$  : jumlah lipid yang digunakan.

Penentuan kadar obat yang terlarut ditentukan dengan menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* melalui nilai absorbansi (Patel *et al.* 2010). Absorbansi meliputi transisi dari tingkat rendah ke tingkat yang lebih tinggi, yakni tingkat tereksitasi. Kemampuan bahan semikonduktor dalam menyerap radiasi atau energi disebut sebagai absorbansi yang dimana masing-masing bahan semikonduktor memiliki nilai absorbansi dengan rentang panjang gelombang yang berbeda-beda.

#### 4. Uji DPPH

Uji DPPH merupakan suatu uji yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya yang tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Uji ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai free radical scavengers atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk. Uji DPPH dapat digunakan pada sampel padatan maupun cairan (Prakash, Rigelhof, dan Miller 2001).

**Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH**

<b>Intensitas</b>	<b>IC<sub>50</sub></b>
Sangat kuat	<50 µg/mL
Kuat	50-100 µg/mL
Sedang	100-150 µg/mL
Lemah	150-200 µg/mL
Sangat lemah	>200 µg/mL

(Sumber: Molyneux, 2004)

#### H. Landasan Teori

Penggunaan mirisetin sebagai senyawa aktif obat yang siap digunakan masih sangat sedikit karena masalah kelarutan dan laju disolusi senyawa ini di dalam air. Mirisetin praktis tidak larut dalam air dan memiliki permeabilitas tinggi, maka dapat digolongkan dalam *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas II. Obat yang memiliki kelarutan rendah akan mengakibatkan laju disolusinya juga rendah sehingga absorpsinya kurang sempurna dan memiliki bioavailabilitas yang rendah pula (Shargel dan Yu 2005). Teknologi formulasi yang dapat meningkatkan kelarutan obat yaitu salah satunya dengan sistem penghantaran SLN. Sistem penghantaran SLN ini dapat meningkatkan kelarutan obat akan masuk kedalam lipid dan akan terlarut bersama dengan lipid tersebut, sehingga dapat meningkatkan absorpsi obat, stabilitas obat dalam penyimpanan jangka panjang, dan dapat meningkatkan kelarutan obat tersebut serta memungkinkan pelepasan obat terkendali dan obat yang ditargetkan (Mehnert dan Mader 2001).

Metode yang digunakan dalam pembuatan SLN ada beberapa cara seperti HPH, teknik emulsifikasi, HSH dan ultrasound. Metode yang akan digunakan yaitu metode emulsifikasi, parameter yang harus diperhatikan metode ini adalah kecepatan pengadukan, suhu, tekanan, dan viskositas. Kelebihan metode ini adalah alat yang digunakan sederhana, mudah dalam proses pembuatan, dan dapat memberikan hasil penjerapan yang baik. Metode emulsifikasi didapatkan hasil pencampuran berupa matriks yang dapat menjerap obat dalam jumlah yang relatif besar dibandingkan dengan metode lainnya (Souto dan Muller 2007).

Sistem SLN menggunakan lipid berupa lipid padat. Lipid padat yang digunakan pada penelitian ini adalah golongan gliserida. Gliserida yaitu ester yang terbentuk dari gliserol dan asam lemak. Penelitian ini menggunakan lipid padat berupa GMS (gliseril monostearat), compritol, dan presirol yang memiliki perbedaan pada panjang rantai karbon. Makin panjang rantai karbon maka makin stabil. Lipid padat golongan gliserida pada penelitian ini digunakan sebagai agen pengemulsi untuk fase minyak. Kelebihan lipid golongan gliserida yaitu dapat memberikan peningkatan pemuatan obat yang stabil secara molekul kimia (Rowe *et al.* 2009). Surfaktan yang digunakan yaitu Tween 80 sebagai penstabil emulsi juga tween dapat menurunkan ukuran partikel dan dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi (Trisnawati dan Cahyaningrum 2014).

Lipid padat dengan variasi konsentrasi yang dibuat dapat berpengaruh pada karakterisasi SLN mirisetin yang dihasilkan. Karakterisasi ini meliputi efisiensi penjerapan, ukuran partikel, morfologi partikel, dan stabilitas dalam penyimpanan. Banyak sedikitnya obat yang terjerap pada lipid dapat dilihat dengan parameter efisiensi penjerapan (Zhang *et al* 2007). Supernatan yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang divalidasi setelah dilakukan pengenceran yang sesuai (Abhijit *et al* 2011).

Partikel diukur dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Syarat dari parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al.* 2000). Pengukuran potensial zeta digunakan 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. Besar kecilnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai Potensial Zeta kurang dari -25 mV atau lebih besar dari +25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena adanya ikatan *Van Der Waals* antar-partikel (Ronson 2012).

Lipid padat golongan gliserida dibuat dengan rentang antara 2-6% bertujuan untuk mengetahui konsentrasi manakah yang dapat membentuk SLN mirisetin terbaik yang stabil selama penyimpanan.

### **I. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu,

1. Mirisetin dapat diformulasi menjadi sediaan SLN dengan menggunakan lipid padat golongan gliserida dengan metode *emulsifikasi*.
2. Variasi konsentrasi lipid padat golongan gliserida dapat berpengaruh terhadap ukuran partikel, stabilitas dan efisiensi penjerapan SLN mirisetin.
3. Formula SLN mirisetin dapat stabil dengan lipid padat golongan gliserida.