

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN NANOKRISTAL
DENGAN METODE *BOTTOM UP* (PRESIPITASI)**



Oleh :

**Ade Al Faruq
20144205A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN NANOKRISTAL
DENGAN METODE *BOTTOM UP* (PRESIPITASI)**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Ade Al Faruq
20144205A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN NANOKRISTAL
DENGAN METODE *BOTTOM UP* (PRESIPITASI)**

Oleh :
Ade Al Faruq

20144205A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 3 Januari 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Dr. R. A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt.

Pembimbing Utama

Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Siti Aisyah, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt.

2. Anita Nilawati, M.Farm., Apt.

3. Dr. Drs. Supriyadi, M.Si.

4. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt.

PERSEMBAHAN

“Waktu akan terus berjalan, tapi pilihan tetap ditangan kita”

Kupersembahkan Skripsi ini untuk :

Dengan segala kebanggaan dan kerendahan hati, hasil karya ini kupersembahkan kepada :

- Tuhan yang Maha Esa.
- Ibu dan Ayah tercinta sebagai bakti serta rasa hormatku.
- Keluarga besarku yang selalu memberi semangat belajarku selama ini.
- Dosen-dosen Universitas Setia Budi yang selalu memberi ilmu yang diajarkan kepada saya dengan ikhlas.
- Teman seperjuangan di Universitas ini. Terlebih untuk FST-OA 2014.
- Gengs upak-upuk (alka, hadi, rifky, sekar, hilda, desi, fania, kiki) yang selalu memberi motivasi dan dukungan untuk mengerjakan tugas kuliah maupun tugas akhir.
- Teman-teman skripsi terimakasih atas kebersamaan serta bantuannya selama ini.
- Kakak-kakak FST-OA 2013 terimakasih selalu membimbing belajar selama ini.
- Teman-teman dirumahku yang selalu menghibur pada saat lelahku.
- Teman-teman sekosan ku yang selalu menemaniku di kota ini dengan canda tawa selalu.
- Almamater, Nusa, Bangsa dan Agama.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Januari 2018



Ade Al Faruq

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas segala rahmat dan berkatNya, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Syukur kepada Tuhan, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“FORMULASI DAN KARAKTERISASI Fisetin NANOKRISTAL DENGAN METODE *BOTTOM UP* (PRESIPITASI)”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

Penyusunan Skripsi ini tidak bisa lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
5. Siti Aisyah, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. Selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
8. Orang tuaku tercinta, adekku, semua saudara, keluarga dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan Skripsi ini. Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Surakarta, Januari 2018

Ade Al Faruq

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Nanopartikel	5
B. Nanokristal.....	6
C. Metode Pembuatan Nanokristal.....	7
1. Teknologi <i>Bottom Up</i>	7
2. Teknologi <i>Top Down</i>	7
2.1 <i>Pearl Milling (Ball Milling)</i>	8
2.2 <i>High Pressure Homogenizer</i>	8
3. Teknologi <i>Smart Crystal</i>	9
D. Fisetin	9
E. Bahan Penstabil	10
1. Penstabil Jenis Elektrostatik	11

2. Penstabil Jenis Sterik	12
F. Studi Preformulasi	13
1. PVP K-30	13
2. Polysorbate 80 (Tween 80)	14
3. Polivinil Alkohol (PVA)	14
4. Sodium Dodesil Sulfat (SDS)	14
5. Hidroksi Propil Metil Selulosa (HPMC)	16
6. Poloxamer 188	17
G. Karakterisasi Nanokristal	18
1. Ukuran Partikel dan Potensial Zeta	18
2. <i>Scanning Elektron Microscopy</i> (SEM)	18
3. <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD)	19
4. <i>Differential Scanning Calorimetry</i> (DSC)	20
5. Stabilitas Ukuran Nanopartikel	20
6. Liofilisasi/ <i>Freeze Drying</i>	21
7. Potensial Zeta	21
8. Uji Disolusi	22
H. Landasan Teori	23
I. Hipotesis	25
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	26
A. Populasi dan Sampel	26
1. Populasi	26
2. Sample	26
B. Variabel Penelitian	26
1. Identifikasi Variable Utama	26
2. Klasifikasi Variable Utama	26
3. Definisi Operasional Variable Utama	27
C. Bahan dan Alat	27
1. Bahan	27
2. Alat	27
D. Jalannya Penelitian	28

1. Percobaan Pendahuluan	28
2. Screening Stabilizer Fisetin Nanokristal.....	28
3. Pembuatan Fisetin Nanokristal	29
4. Karakterisasi Fisetin Nanosuspensi	30
4.1 Penetapan Distribusi Ukuran Partikel dan Potensial Zeta	30
4.2 Uji Stabilitas Fisetin Nanokristal Setelah Penyimpanan	30
4.2.1. Pengamatan secara visual	30
4.2.2. Pengukuran ukuran partikel dan potensial zeta	30
5. Verifikasi Metode Analisis	30
5.1 Linearitas (<i>Linearity</i>)	30
5.2 Penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ)	30
6. Karakterisasi Fisetin Nanokristal.....	31
6.1.Pengujian Morfologi Nanopartikel	31
6.2.Pengujian Sifat Kristalinitas.....	31
6.3.Uji Penyetaraan Dosis	31
6.4.Uji Kelarutan Kinetik Fisetin nanokristal	31
7. Pengujian Disolusi	32
7.1.Pembuatan Larutan Induk	32
7.2.Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	32
7.3.Pembuatan Larutan Seri Kurva Kalibrasi	32
8. Uji Disolusi Fisetin Nanokristal	32
E. Analisis Hasil.....	33
F. Skema Jalannya Penelitian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Percobaan Pendahuluan	35
B. Pembuatan Fisetin Nanokristal	36
C. Karakterisasi Fisetin Nanokristal	36
1. Penetapan Distribusi & Ukuran Partikel	36
2. Stabilitas Fisetin Nanokristal dalam Penyimpanan	37
2.1. Pengamatan secara visual	37

2.2. Pengukuran ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.	38
3. Pengujian Morfologi Nanopartikel	39
4. Pengujian Sifat Kristalinitas	40
D. Kurva kalibrasi dan verifikasi metode analisis.	41
1. Pembuatan kurva kalibrasi	41
1.1. Penentuan panjang gelombang maksimum	41
1.2. Kurva kalibrasi	41
1.3. Verifikasi metode analisis	43
E. Penyetaraan Konsentrasi antara Fisetin Murni dan Nanokristal	44
F. Uji Kelarutan Kinetik	44
G. Uji Disolusi	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema Umum Mekanisme Teknologi <i>Bottom-Up</i>	7
Gambar 2. Skema Umum Mekanisme Teknologi <i>Top Down</i>	8
Gambar 3. Struktur Kimia Fisetin.....	9
Gambar 4. Ilustrasi Sederhana Interkasi DLVO	11
Gambar 5. Struktur Kimia PVP	13
Gambar 6. Struktur Tween 80.....	14
Gambar 7. Struktur Kimia PVA	14
Gambar 8. Struktur Sodium Dodesil Sulfat	16
Gambar 9. Struktur Kimia HPMC	17
Gambar 10. Struktur Poloxamer	17
Gambar 11. Difraksi Sinar X	20
Gambar 12. Mekanisme Oswald ripening.....	21
Gambar 13. Skema jalannya penelitian.....	34
Gambar 14. Morfologi fisetin nanokristal menggunakan SEM.....	39
Gambar 15. Sifat kristalinitas menggunakan XRD.....	40
Gambar 16. Kurva kalibrasi	42
Gambar 17. Kelarutan fisetin murni dan nanokristal.....	44
Gambar 18. Disolusi fisetin murni dan nanokristal	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. <i>Screening Stabilizer</i> Nanokristal Fisetin.....	29
Tabel 2. Hasil penetapan distribusi & ukuran partikel.....	36
Tabel 3. Stabilitas fisetin nanosuspensi pada suhu kamar	38
Tabel 4. Ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.....	39
Tabel 5. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat analisis fisetin	55
Lampiran 2. Ukuran partikel pada <i>screening stabilizer</i>	56
Lampiran 3. Zeta Potensial Fisetin + PVA 0,5%	57
Lampiran 4. Nanosuspensi sebelum di liofilisasi.....	58
Lampiran 5. Nanosuspensi setelah di liofilisasi.....	59
Lampiran 6. Nanosuspensi pada saat penyimpanan.....	60
Lampiran 7. Ukuran dan distribusi partikel nanosuspensi setelah penyimpanan ...	61
Lampiran 8. Hasil Scanning Electron Microscopy (SEM)	62
Lampiran 9. X-ray Diffraction (XRD).....	63
Lampiran 10. Pembuatan kurva kalibrasi dan validasi metode.....	64
Lampiran 11. Kesetaraan Konsentrasi	69
Lampiran 12. Uji hasil kelarutan fisetin nanokristal dengan fisetin murni.....	70
Lampiran 13. Uji disolusi	71
Lampiran 14. Contoh perhitungan uji disolusi	72

INTISARI

FARUQ ADE, A., 2018, FORMULASI DAN KARAKTERISASI Fisetin NANOKRISTAL DENGAN METODE *BOTTOM UP* (PRESIPITASI), SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Fisetin dikenal sebagai *Natural Brown* adalah flavonoid tanaman bioaktif penting sebagai obat terapi berpotensi untuk penyakit antihiperlipidemik, antioksidan, antiradang, dan antidiabetes. Fisetin diklasifikasikan kedalam BCS (*Biopharmaceutics Classification System*) kelas-II. Fisetin memiliki kelarutan rendah dan laju disolusi rendah, sehingga dapat dibuat sediaan Nanokristal untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas. Penelitian bertujuan mengetahui fisetin dapat dibuat sediaan nanokristal, jenis dan konsentrasi *stabilizer* mempengaruhi ukuran partikel, dan karakterisasi fisetin nanokristal yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan *stabilizer* (Tween 80, SLS, poloxamer 188, PVP, PVA, dan HPMC) dengan konsentrasi yang berbeda menggunakan metode *bottom up* (presipitasi). Formula yang terpilih dilakukan *freeze dryer* untuk mendapat serbuk nanokristal. Nanokristal dilakukan karakterisasi morfologi ukuran partikel, kristalinitas, kelarutan, dan disolusi.

Hasil penelitian bahwa fisetin dapat dibuat nanokristal dengan metode *bottom up* (presipitasi), *stabilizer* PVA dan HPMC menunjukkan partikel terkecil yaitu 410 nm (F11), 406 nm (F12), 846 nm (F16), 782 nm (F17). Karakterisasi fisetin nanokristal menunjukkan ukuran nanometer pada uji SEM dan bentuk kristal pada uji XRD. Fisetin nanokristal mengalami peningkatan pada uji kelarutan serta disolusi hingga 24%.

Kata kunci: Fisetin, Nanokristal, *Bottom up*, Tween, SLS, Poloxamer, PVP, PVA, HPMC, SEM, XRD.

ABSTRACT

FARUQ ADE, A., 2018, FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF NANOCRYSTAL FISETIN WITH BOTTOM UP (PRECIPITATION) METHOD. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Fisetin known as Natural Brown is an important bioactive of flavonoid plant as a potential therapeutic drug for antihyperlipidemic, antioxidant, antiinflammatory, and antidiabetic diseases. Fisetin is classified into BCS (Biopharmaceutics Classification System) class-II. Fisetin has a low solubility and low dissolution rate, so it can be made nanocrystal to increase solubility and bioavailability. Purpose of research to know fisetin can be made nanocrystal preparations, type and concentration of the stabilizer affect the particle size, and characterization of nanocrystal fisetin produced.

This research uses a stabilizer (Tween 80, SLS, poloxamer 188, PVP, PVA, and HPMC) with different concentrations using bottom up method (precipitation). Selected formula is freeze dryer to get a nanocrystal powder. Nanocrystal is characterized by particle size morphology, crystallinity, solubility, and dissolution.

The result of research that fisetin can be made nanocrystal by bottom up method (precipitation), PVA and HPMC stabilizer shows the smallest particle is 410 nm (F11), 406 nm (F12), 846 nm (F16), 782 nm (F17). Characterization of nanocrystal fisetin showed nanometer size in SEM and crystal form in XRD. Nanocrystal fisetin has increased in the solubility test and dissolution by 24%.

Keywords: Fisetin, Nanocrystal, Bottom up, Tween, SLS, Poloxamer, PVP, PVA, HPMC, SEM, XRD.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Flavonol merupakan salah satu kelompok dalam flavonoid yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Substituen, terutama hidroksil dan metoksil, dapat terikat pada cincin benzena dan heterosiklik flavonol, menghasilkan beragam jenis flavonol, salah satunya adalah fisetin (7,3,4'-tetrahidroksiflavonol). Antioksidan telah banyak dikembangkan, baik dari antioksidan alami maupun antioksidan sintetik. Antioksidan alami umumnya berupa senyawa-senyawa fenolik yang terdapat dalam berbagai tanaman (Khalil *et al* 2007). Salah satu antioksidan golongan flavonoid utama yang secara luas dapat ditemukan dalam buah-buahan adalah fisetin. Senyawa ini lazim ditemukan dalam buah-buahan seperti stroberi (160,0 µg/g), apel (26,9 µg/g), kesemek (10,5 µg/g), anggur (3,9 µg/g), kiwi (2,0 µg/g), dan persik (0,6 µg/g). Fisetin terdapat pada sayuran seperti akar teratai (5,8 µg/g), bawang (4,8 µg/g), tomat (0,1 µg/g), dan mentimun (0,1 µg/g) (Arai *et al* 2000).

Fisetin memiliki potensi sebagai antihiperlipidemik, antioksidan, antiradang, dan antidiabetes (Raygude *et al* 2012). Akaishi *et al* (2008) juga menyatakan bahwa fisetin memiliki bioaktivitas neurotropik, artinya mampu mengobati penyakit pada sistem saraf pusat, sehingga potensial sebagai obat alzheimer, parkinson, serta sebagai peningkat daya ingat.

Penggunaan fisetin sebagai senyawa aktif obat yang siap digunakan masih sangat sedikit karena masalah kelarutan dan laju disolusi senyawa ini di dalam air. Kelarutan merupakan faktor yang mempengaruhi ketersediaan hayati obat. Kelarutan yang kecil dan permeabilitas akan membatasi proses absorpsi pada obat yang sukar larut dalam air, sehingga mempengaruhi ketersediaan farmasetiknya. Ketersediaan farmasetik berhubungan dengan *Biopharmaceutics Classification System* (BCS). Fisetin termasuk kedalam BCS kelas II yaitu memiliki permeabilitas tinggi namun kelarutannya rendah (Sinko 2006). 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).

Banyak peneliti yang menggunakan *carrier* seperti siklodekstrin dan liposom untuk peningkatan kelarutan dan laju disolusi fisetin, namun penggunaan 2 jenis ini dapat meningkatkan resiko nefrotoksisitas dan ketidakstabilan selama penyimpanan (Frijlink *et al* 1991; Mu dan Zhong 2006). Beberapa cara telah dilakukan untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas fisetin seperti pembuatan liposom (Mignet *et al* 2012), nanokelat (Bothiraja *et al* 2014), nanoemulsi (Ragelle *et al* 2012) dan kompleks inklusi β -siklodekstrin (Guzzo *et al* 2006). Hal tersebut belum mampu meningkatkan kelarutan fisetin secara signifikan karena terbatasnya pemahaman tentang sifat fisika kimia dan sifat biologi fisetin (Yao *et al* 2013).

Beberapa tahun belakangan telah berkembang teknologi mempercepat daya larut dan laju disolusi obat yang lebih efektif dalam mengatasi masalah laju disolusi dan ketersediaan hayati suatu senyawa. Salah satu metode tersebut teknologi formulasi nanokristal. Teknologi formulasi nanokristal memberikan kelebihan tersendiri seperti peningkatan *saturation solubility*, laju disolusi, dan *adhesiveness to membran cell* (Junyaprasert dan Morakul 2015). Kelebihan-kelebihan ini tentunya akan meningkatkan ketersediaan hayati suatu senyawa. Peningkatan ketersediaan hayati senyawa melalui rute oral, formulasi nanokristal ini juga bisa digunakan untuk peningkatan ketersediaan hayati melalui rute administrasi yang lainnya. Rute okular, dermal, parenteral dan inhalasi (Möschwitzer dan Müller 2007).

Nanokristal juga dapat meningkatkan efisiensi penghantaran obat dengan mempercepat daya larut dalam obat yang sukar larut dalam air sehingga meningkatkan laju disolusi dan absorpsi serta bioavailabilitas (Junghans dan Müller 2008; Zaheer *et al* 2011). Peningkatan daya larut kinetik nanokristal sesuai dengan persamaan Ostwald-Freundlich. Nanokristal dapat mempercepat daya larut jenuh dan luas permukaan sehingga dapat meningkatkan kecepatan disolusi, hal ini sesuai dengan persamaan Noyes-Whitney (Keck dan Müller 2006).

Pembuatan nanokristal dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, salah satunya *bottom up* (presipitasi). Keuntungan dari metode presipitasi adalah menggunakan peralatan yang sederhana, murah dan mudah. Kekurangan metode presipitasi yaitu obat harus dapat larut setidaknya dalam satu pelarut dimana pelarut tersebut harus dapat bercampur dengan *non*-pelarut (Gupta dan Kompella 2006). Metode ini telah digunakan pada pembuatan bexarotene nanokristal (Chen *et al* 2014), ricardin nanokristal (Liu *et al* 2012) dan asam ursolic (Song *et al* 2013).

Penelitian mengenai pembuatan dan karakterisasi nanokristal dengan metode *bottom up* menggunakan bahan penstabil F68, HPMC, dan PVP K30 diperoleh hasil kristal dengan ukuran nanometer dan dapat melepaskan *zat aktif lebih dari 90% dalam waktu 1 menit* (Liu *et al* 2011). Fisetin dilakukan formulasi untuk meningkatkan kelarutan dalam air, maka diperoleh gagasan untuk mengembangkan lebih lanjut fisetin dalam bentuk nanokristal dengan menggunakan metode *bottom up* yaitu presipitasi menggunakan berbagai variasi bahan penstabil. Karakterisasi fisetin nanokristal meliputi ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, potensial zeta, morfologi partikel, kelarutan kinetik dan sifat kristalinitasnya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah fisetin dapat dibuat sediaan nanokristal dengan menggunakan metode *bottom up* (presipitasi)?
2. Bagaimana pengaruh jenis dan konsentrasi *stabilizer* terhadap fisetin nanokristal?
3. Apakah fisetin nanosuspensi stabil selama proses penyimpanan?
4. Bagaimanakah kelarutan dan disolusi fisetin setelah dibuat sediaan nanokristal?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui sediaan fisetin nanokristal yang dibuat dengan menggunakan metode *bottom up* (presipitasi).
2. Mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi *stabilizer* terhadap fisetin nanokristal.
3. Mengetahui stabilitas fisetin nanosuspensi selama proses penyimpanan.
4. Mengetahui kelarutan dan disolusi fisetin setelah dibuat sediaan nanokristal.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi tambahan informasi, ilmu pengetahuan dan pengembangan metode *bottom up* untuk mengatasi masalah obat-obat yang memiliki bioavailabilitas dan kelarutan yang rendah dalam air.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel koloid atau padatan dengan diameter berkisar dari 10-1000 nm. Nanopartikel dengan menggunakan polimer dapat dimanfaatkan untuk sistem penghantaran tertarget, meningkatkan bioavailabilitas, pelepasan obat terkendali, atau melarutkan obat untuk penghantaran sistemik. Sistem ini dapat digunakan untuk melindungi agen terapeutik akibat adanya degradasi enzim (nuklease dan protease) (Rauhatun dan Iis 2013).

Menurut Tiyaboonchai (2003), secara sederhana nanopartikel yang terbuat dari suatu polimer dapat dibedakan menjadi dua tipe yaitu *nanosphere* dan nanokapsul. *Nanosphere* merupakan nanopartikel dengan sistem matriks dimana obat terdispersi seluruhnya di dalam matriks tersebut, sedangkan nanokapsul merupakan nanopartikel dengan sistem *reservoir* yang terbuat dari membran polimer yang mengelilingi intinya. Nanopartikel awalnya dibuat menggunakan polimer *non-biodegradable*, namun jenis polimer ini segera tergantikan oleh polimer yang *biodegradable*. Nanopartikel yang terbuat dari polimer *biodegradable* banyak dikembangkan sebagai sistem penghantaran obat.

Nanopartikel terbukti mampu membawa obat (antibiotik, sitostatik, peptida, dan protein) ke target jaringan yang spesifik. Nanopartikel juga diyakini mampu melindungi obat agar tidak mengalami degradasi baik secara kimia maupun enzimatis. Nanopartikel juga mampu mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan dari beberapa zat aktif. Menurut Rawat *et al* (2006), nanopartikel yang digunakan sebagai sistem penghantaran obat memiliki banyak keuntungan. Salah satu keuntungannya yaitu, ukuran partikel dan sifat permukaannya dapat diatur dengan mudah. Nanopartikel dapat mengontrol pelepasan zat aktif selama perjalanannya menuju lokasi obat tersebut bekerja, sehingga dapat meningkatkan efek terapi obat dan mengurangi efek sampingnya. Sistem pelepasan obat dalam bentuk nanopartikel dapat diatur dengan jalan

memilih matriks yang tepat sehingga nantinya dapat dihasilkan sistem pelepasan obat yang berbeda-beda. Nanopartikel dapat digunakan untuk banyak rute pemberian obat, seperti oral, nasal, parental, intra-okular, dan lainnya.

B. Nanokristal

Nanokristal adalah penggabungan dari ratusan atau ribuan molekul yang membentuk kristal, terdiri dari senyawa obat murni dengan penyalutan tipis dengan menggunakan surfaktan. Pembuatan nanokristal disebut nanonisasi, tidak seperti *nanocarrier*, nanokristal hanya memerlukan sedikit surfaktan untuk stabilisasi permukaan karena gaya elektrostatik sehingga mengurangi kemungkinan keracunan karena bahan tambahan untuk pembawa (Rawat *et al* 2006).

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 2007).

Kelebihan nanokristal yaitu dapat menghantarkan obat dengan lebih baik ke unit yang kecil di dalam tubuh, mengatasi resistensi yang disebabkan oleh *barrier* fisiologi dalam tubuh yang disebabkan sistem penghantaran obat yang langsung dipengaruhi oleh ukuran partikel (Gupta dan Kompella 2006). Nanokristal juga dapat meningkatkan efisiensi penghantaran obat dengan mempercepat daya larut dalam obat yang sukar larut dalam air sehingga meningkatkan kecepatan laju disolusi dan absorpsi serta bioavailabilitas (Junghans dan Müller 2008; Zaheer *et al* 2011).

C. Metode Pembuatan Nanokristal

Pembuatan nanopartikel dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu teknologi *bottom up* (pembuatan partikel dari larutannya atau presipitasi), dan teknologi *top down* (penurunan ukuran partikel yang pada umumnya dengan gaya mekanik) (Keck dan Müller 2006).

1. Teknologi *Bottom Up*

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

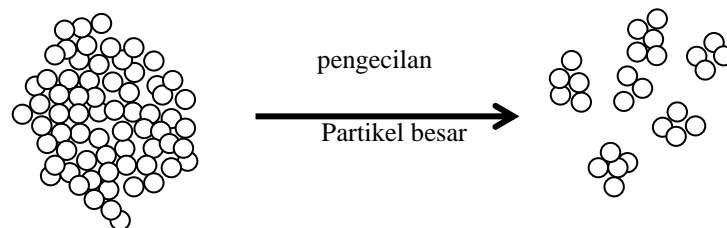


Gambar 1. Skema umum mekanisme teknologi *bottom-up*
(Gupta dan Kompella 2006)

2. Teknologi *top down*

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, kekerasan, sifat *abrasive*,

bentuk dan ukuran partikel, serta sensitivitasnya terhadap suhu (Gupta dan Kompella 2006; Van Eerdenbrugh *et al* 2008).



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

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

2.1 *Pearl Milling (Ball Milling)*. Alat yang digunakan dalam *pearl milling*

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

2.2 *High Pressure Homogenizer (homogenisasi tekanan tinggi)*. Metode

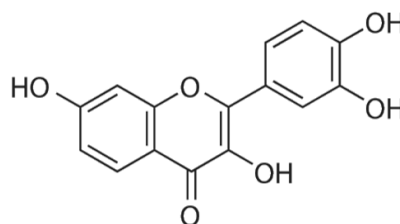
homogenisasi tekanan tinggi dibagi menjadi 2 macam, yaitu *piston gap homogenization* dan *jet stream arrangement*. Metode *piston gap homogenization* menghancurkan suspensi kasar dengan mendorong partikel kasar masuk ke dalam suatu celah (*gap*). Proses pengecilan ukuran partikel dipengaruhi oleh daya dorong, kavitasi dan tumbukan antar partikel. Contoh alat homogenisasi tekanan tinggi adalah Micron Lab[®] 40. Keuntungan metode ini adalah efektif dalam proses pengurangan ukuran partikel, proses produksi dapat divalidasi, terhindar dari kontaminasi, proses relatif sederhana dan biaya relatif rendah. Teknologi yang sudah dikembangkan menggunakan metode ini adalah Dissocubes[®]. Dissocubes[®] menggunakan media dispersi air dan melalui kavitasi dengan

memberikan tekanan yang tinggi pada media dispersi (Müller *et al* 2006; Shegokar dan Müller 2010).

3. Teknologi *Smart Crystal*

Teknologi ini menggabungkan beberapa metode *bottom up* dengan *top down*. Metode H₉₆ adalah salah satu teknologi *smart crystal*, yaitu metode liofilisasi dengan homogenisasi dalam media dispersi air (Shegokar dan Müller 2010; Junyaprasert *et al* 2015). Metode H₉₆ dimulai dengan mikrosuspensi dalam air dengan surfaktan atau polimer. Air dihilangkan dari suspensi untuk memperoleh serbuk nanopartikel dengan *freeze drying* kemudian dilanjutkan dengan homogenisasi bertekanan tinggi (Müller *et al* 2006; Shegokar dan Müller 2010).

D. Fisetin



Gambar 3. Struktur kimia fisetin (Wikipedia.org)

Fisetin-tetrahydroxyflavone (3,7,3',4'1), dikenal sebagai *Natural Brown* adalah flavonoid tanaman bioaktif sangat penting sebagai obat terapi dan berpotensi untuk berbagai radikal bebas yang dimediasi serta penyakit lainnya (Sengupta *et al* 2005). Hal ini umumnya ditemukan dalam buah-buahan, kacang-kacangan, anggur dan sayuran seperti bawang, mentimun, apel, kesemek dan stroberi pada konsentrasi 2-160 mg / g dengan perkiraan asupan harian rata-rata 0,4 mg.

Fisetin pada dosis 10mg/kg BB tikus dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes (Prasath dan Subramanian 2011). Hal ini juga ditambahkan ke suplemen gizi pada konsentrasi yang sangat tinggi dan memiliki berbagai efek farmakologis termasuk antioksidan dan anti-inflamasi.

Hal ini juga bertindak sebagai inhibitor *kinase cyclin dependent* dan menginduksi penangkapan siklus sel kanker.

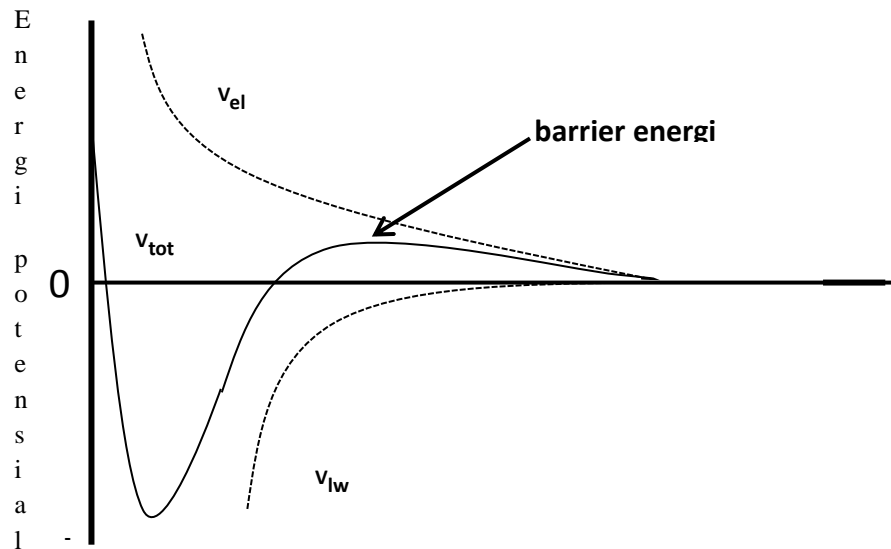
Kegiatan aktivitas antioksidan yang dapat dikaitkan dengan fitur struktural serta kemampuannya untuk memodulasi jalur sinyal seluler tertentu, terutama protein kinase dan jalur lipid kinase (Inkielewicz *et al* 2010).

Fisetin juga dilaporkan menurun risiko kardiovaskular oleh ameliorating hati steatosis dan dengan menurunkan sirkulasi konsentrasi glukosa (Chung 2013). Efek karsinogenik dan anti cardio dari fisetin pada dosis diet yang dikaitkan dengan sifat antioksidan dan kemampuannya untuk mencegah proliferasi sel dan angiogenesis *vitro*. Fisetin dan beberapa flavonoid tanaman lain sering digunakan sebagai suplemen nutrisi pada konsentrasi tinggi (Olaharski 2005).

Fisetin praktis tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, methanol, aseton dan DMF. Fisetin termasuk obat golongan BCS kelas II dengan kelarutan 0,002 mg/ml dengan absorpsi dan bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10% (Dang *et al* 2014; Yao *et al* 2013).

E. Bahan Penstabil

Penurunan ukuran partikel menyebabkan peningkatan luas permukaan partikel. Luas permukaan partikel yang besar menyebabkan energi bebas permukaan menjadi lebih tinggi. Hal ini menyebabkan terjadi interaksi antar partikel yang cukup besar, dapat mempengaruhi makroskopik partikel seperti dapat terjadi agregasi, pembentukan kristal (Peukert 2005). Interaksi antar partikel dapat berupa gaya tarik menarik atau tolak menolak dan interaksi partikel dengan medianya (Peukert 2005). Interaksi antar partikel dapat dijelaskan dengan teori DLVO (Derjaquin, Landau, Verwey, Overbeek). Teori ini menjelaskan terjadinya interaksi partikel bermuatan dengan medianya. Perbedaan potensial muatan partikel dengan elektronetral medianya disebut sebagai potensial zeta (Sinko 2006; Che 2012).



Gambar 4. Ilustrasi sederhana interaksi DLVO

Dimana, V_{tot} adalah energi potensial interaksi total antar dua partikel, V_{el} adalah energi elektrostatis, V_{lw} adalah energi Van der Waals. Nanopartikel sangat mudah untuk saling berinteraksi antar partikelnya, sehingga perlu dilakukan stabilisasi partikel untuk mencegah agregasi atau aglomerasi. Stabilisasi partikel terdapat dua mekanisme, yaitu halangan elektrostatis dan halangan sterik (Libo *et al* 2011). Kombinasi bahan penstabil dalam beberapa kasus diperlukan (Ghosh 2011).

1. Penstabil Jenis Elektrostatis

Penstabil jenis surfaktan bekerja dengan mekanisme halangan elektrostatis. Bahan penstabil yang mengandung gugus-gugus terion dalam pendispersi nanopartikel akan teradsorpsi pada permukaan partikel. Elektronetralitas dijaga dengan sejumlah ion dengan muatan berlawanan (counter ion) akan mengelilingi partikel sebanding dengan muatan pada permukaan partikel tersebut dan membentuk lapisan rangkap listrik. Lapisan rangkap listrik akan menstabilkan partikel tersebut sehingga nanopartikel tidak saling beraglomerasi (Shi 2002 dan Libo *et al* 2011).

Partikel memiliki muatan permukaan yang disebut potensial Nerst dalam media elektrolit, ion yang berasal dari media dispersi akan teradsorpsi ke dalam permukaan partikel. Lapisan pertama yang teradsorpsi merupakan muatan negatif disebut lapisan dalam Helmholtz dan lapisan kedua yang diadsorpsi merupakan muatan positif yang disebut lapisan luar Helmholtz. Gabungan dari kedua lapisan Helmholtz merupakan lapisan Stern. Muatan negatif yang tidak termasuk dalam lapisan Stern merupakan ion yang bebas berdifusi sehingga disebut dengan lapisan difusi (Müller 1996). Konsentrasi elektrolit meningkat akan menyebabkan lapisan rangkap listrik pada permukaan akan berada pada jarak terendah sehingga lapisan difusi menjadi tipis. Penurunan potensial zeta yang diakibatkan oleh peningkatan konsentrasi elektrolit maka menyebabkan stabilitas fisik suspensi akan menurun. Bahan penstabil yang digunakan dapat berupa surfaktan atau polimer bermuatan (Ghosh 2011). Bahan penstabil yang dapat digunakan adalah polisorbitat (Tween® 80), natrium dokusat (DOSS) atau natrium lauril sulfat (SLS).

2. Penstabil Jenis Sterik

Penstabil jenis polimer bekerja melalui mekanisme halangan sterik. Bahan penstabil halangan sterik adalah polimer yang mengandung gugus fungsi seperti karboksilat, hidroksil, amin dan ester. Mekanisme stabilisasi sterik yaitu dengan menyelimuti permukaan partikel sehingga interaksi antar partikel menjadi minimal. Polimer akan diadsorpsi menyelimuti permukaan partikel membentuk lapisan-lapisan (Shi 2002). Keuntungan stabilisasi halangan sterik dibandingkan dengan stabilisasi halangan elektrostatik adalah relatif stabil terhadap keberadaan elektrolit, memiliki efektivitas yang sama dalam media air dan non air, memiliki efektivitas yang sama dalam konsentrasi padatan rendah dan tinggi dan terbentuk flokulasi yang reversibel (Shi 2002).

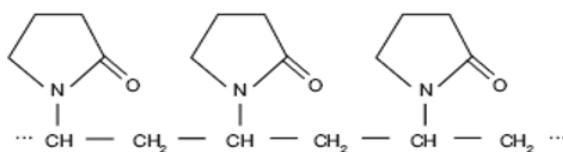
Bahan penstabil yang dapat digunakan adalah hidroksipropil selulosa (HPC), hidroksipropil metil selulosa (HPMC), polivinil pirolidon (PVP), polivinil alkohol (PVA) dan poloksamer (pluronic F68). Bobot molekul bahan penstabil semakin besar, maka semakin lambat kecepatan adsorpsinya.

Konsentrasi polimer rantai panjang semakin besar maka makin lambat laju disolusinya (Ghosh 2011).

F. Studi Preformulasi

1. PVP

Polivinilpirolidon (PVP) merupakan suatu polimer sintetik yang terdiri atas kelompok linier *1-vinyl-2-pyrrolidinone*. Nama lain dari PVP adalah *kollidon*, *plasdone*, *poly[1-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)ethylene]*, *polyvidone*, *povidone*, *PVP*, *1-vinyl-2-pyrrolidinone polymer*. Nama kimia adalah *1-ethenyl-2-pyrrolidinone homopolymer*. PVP diperoleh dari polimerisasi radikal bebas vinilpirolidon di dalam air atau 2-propanolol. PVP memiliki rumus molekulnya $(C_6H_9NO)_n$, bobot molekul berkisar antara 2.500-3.000.000, dan rumus strukturnya dapat dilihat pada gambar 5 (Rowe 2006).



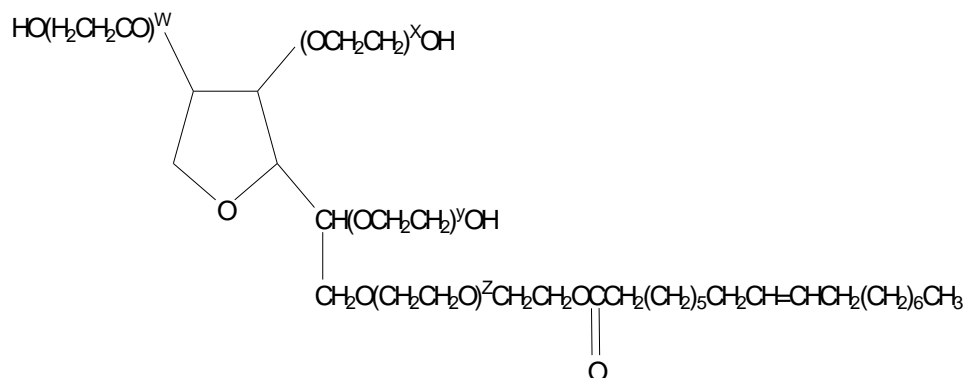
Gambar 5. Struktur kimia PVP (Volker 2005)

PVP memiliki pemerian berupa serbuk halus berwarna putih hingga cream, tidak berbau, tidak berasa, inert, non toksik dan higroskopis. PVP mudah larut dalam air, larut dalam pelarut organik seperti etanol, metanol, alkohol, polihidrat, asam ester, keton, metilen klorida, kloroform, etilen diklorida, butilamin, dan piridin. Praktis tidak larut dalam eter, hidrokarbon dan minyak mineral (Rowe 2006)

PVP telah banyak digunakan dalam bidang farmasi dan kesehatan, antara lain sebagai pengikat, suspending agent, penstabil atau peningkat viskositas. Formulasi sediaan farmasetika PVP digunakan sebagai bahan pengikat atau penyalut (*coating*) 0,5%, *suspending agent* dan pendispersi hingga 5%, dan pembawa obat 10-25%. PVP dapat membentuk kompleks larut dalam air dengan zat aktif yang sukar larut. Komplek yang terbentuk dapat digunakan dalam teknologi farmasetik untuk memperbaiki kelarutan

obat yang sukar larut (Rowe 2006; Volker 2005). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa PVP dapat membantu mempercepat daya larut obat yang sukar larut dalam air (Ruan *et al* 2005; Alanzi *et al* 2007; Ahire *et al* 2007)

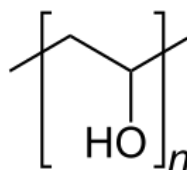
2. Tween 80 (*Polysorbate 80*)



Gambar 6. Struktur tween 80 (Salager 2002)

Tween 80 atau *Polysorbate 80* adalah ester oleat dari sorbitol dan anhidridanya berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol. Tween 80 memiliki rumus kimia $C_{64}H_{124}O_{26}$. Tween 80 merupakan cairan seperti minyak, jernih, bewarna kuning muda hingga coklat muda, bau khas lemah, rasa pahit, dan hangat (Anonim 2014). Tween 80 larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral (Rowe *et al* 2009). Tween 80 memiliki harga HLB sejumlah 15 (Voigt 1995). Tween 80 merupakan surfaktan nonionik hidrofilik yang digunakan sebagai eksipien untuk menstabilkan suspensi dan emulsi. Tween 80 juga digunakan sebagai agen pelarut dan *wetting agent* pada krim, salep, dan *lotion* (Rowe *et al* 2009).

3. PVA (polivinil alkohol)



Gambar 7. Struktur kimia PVA (Wikipedia.org)

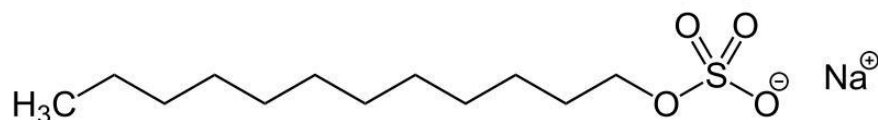
Polyvinyl Alcohol (PVA) merupakan salah satu polimer yang larut dalam air dan memiliki kemampuan membentuk serat yang baik, biokompatibel, memiliki ketahanan kimia, dan biodegradabel. PVA memiliki struktur kimia yang sederhana dengan gugus hidroksil yang tidak beraturan. Monomernya, yaitu vinil alkohol tidak berada dalam bentuk stabil, tetapi berada dalam keadaan tautomer dengan asetaldehida (Perwitasari 2012)

PVA memiliki sifat hidrofilik sehingga selektif terhadap air. Sifat hidrofilik ini disebabkan adanya gugus $-OH$ yang berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen. PVA ini mempunyai sifat mudah mengembang (*swelling*) bila terdapat air dari umpan yang akan dipisahkan. PVA dapat larut dalam air dengan bantuan panas yaitu pada temperatur diatas $90^{\circ}C$. PVA pada suhu kamar berwujud padat, lunak dalam pemanasan, kemudian elastis seperti karet. PVA memiliki berat molekul 85.000-146.000, mempunyai temperatur transisi gelas (T_g) sebesar $228-256^{\circ}C$. PVA komersial mengandung pengotor berupa gugus keton yang terisolasi yang mungkin membentuk ikatan asetal dengan gugus hidroksil dari rantai lain sehingga molekul cabangnya membentuk crosslink. Gugus hidroksil yang terdapat pada rantai polimer menyebabkan membran PVA bersifat polar. Sifat hidrofilik dan kepolaran membran akan menentukan selektivitas dan fluks membrane pada proses pervaporasi campuran organik-air (Jie *et al* 2003).

Polivinil alkohol memiliki film yang sangat baik membentuk, pengemulsi dan sifat perekat, tahan terhadap minyak, lemak dan pelarut, tidak berbau dan tidak beracun, memiliki kekuatan tarik yang tinggi dan fleksibilitas, serta oksigen yang tinggi dan sifat aromanya penghalang. Namun sifat ini tergantung pada kelembaban. Air, yang bertindak sebagai perekat, maka akan mengurangi kekuatan tarik, tetapi meningkatkan elongasi dan kekuatan sobek. PVA sepenuhnya degradabel dan cepat larut (Shalumon 2010).

4. Sodium Dodesil Sulfat

Sodium dodesil sulfat (SDS atau NaDS) atau *Sodium lauryl sulfate* ($C_{12}H_{25}SO_4Na$) adalah surfaktan anionik berupa serbuk putih yang digunakan dalam produk industri seperti produk pembersih lantai, sabun pencuci mobil, dan beberapa kebutuhan rumah tangga seperti sabun, pasta gigi, sampo, dan lain-lain. SDS memiliki berat molekul $288,38 \text{ g mol}^{-1}$, massa jenis $1,01 \text{ g/cm}^3$, titik leleh $204\text{-}207^\circ\text{C}$, kelarutan dalam air 150 (g/l) dan pH $9\text{-}10$ ($1\% \text{ Aq.Sol}$) (Salager 2002). Molekul ini mempunyai bagian hidrofobik yang mengandung 12 atom karbon dan yang mengikat gugus sulfat yang menjadikannya sebagai senyawa ampifilik. Struktur senyawa ini adalah:



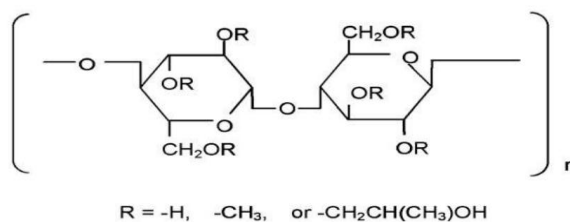
Gambar 8. Struktur kimia sodium dodesil sulfat (Salager 2002)

Sodium lauryl sulfat adalah nama pasaran dari sodium dodesil sulfat yang merupakan surfaktan anionik. Semua jenis surfaktan untuk deterjen (termasuk sabun), Sodium lauryl sulfat dapat menghilangkan lemak dari kulit, tetapi dapat menyebabkan iritasi pada mata.

Sodium dodesil sulfat (SDS), yang diperoleh dari proses sulfasi *lauryl* alkohol dan reaksi netralisasi dengan natrium karbonat, adalah surfaktan yang bersifat ampifilik karena memiliki rantai C_{12} (lipofilik) dan gugus sulfat (hidrofilik).

5. Hidroksi Propil Metil Selulosa

Hidroksi propilmetil selulosa (HPMC) merupakan polimer semi sintetik turunan selulosa yang bersifat hidrofilik. Nama lain HPMC adalah *benecel*, *MHPC E464*, *hydroxypropyl methylcellulose*, *metochel*, *methylcellulose propylene glycol ether*, *methyl hydroxypropylcellulose*, *metholose*, *pharmacoat*, *thylopur*. Nama kimianya *cellulose 2-hydroxypropyl methyl ether* (Rowe 2006). Struktur kimia HPMC ditunjukkan pada Gambar 9.

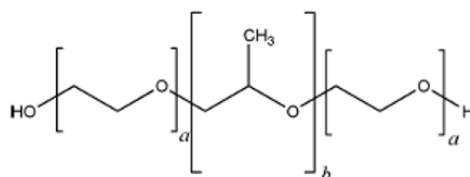


Gambar 9. Struktur kimia HPMC (Obara dan kokuba 2008)

HPMC merupakan campuran eter selulosa yang terdiri dari 16,5–30% gugus hidroksipropil, tergantung dari tipe substitusinya masing-masing. Tipe substitusi tersebut akan berpengaruh pada kecepatan hidrasi dari partikel-partikel HPMC serta kekuatan gelnya yang akhirnya akan mempengaruhi profil disolusinya (Leuner dan Jennifer 2000).

HPMC memiliki pemerian berupa serbuk granul berwarna putih, praktis tidak berbau dan tidak berasa. HPMC mempunyai berat molekul dengan rentang 10.000-1.500.000. HPMC larut dalam air, praktis tidak larut dalam kloroform, etanol, dan eter tetapi larut dalam campuran etanol dengan diklormetan, dan campuran metanol dengan diklormetan. HPMC telah banyak digunakan sebagai sistem pembawa untuk memperbaiki laju pelepasan dan bioavailabilitas obat yang sukar larut dalam air. HPMC dapat digunakan untuk menghambat rekristalisasi obat (Rowe 2006; Leuner dan Jennifer 2000). Penelitian Alanzi (2007) menunjukkan HPMC dapat membantu mempercepat daya larut obat yang sukar larut dalam air.

6. Poloksamer 188



Gambar 10. Struktur poloxamer (Rowe 2006)

Poloksamer 188 merupakan kopolimer polioksietilen-polioksipropilen nonionik yang dengan rantai polioksietilen bersifat hidrofilik, sementara rantai polioksipropilen bersifat hidrofobik (Chen *et al* 2004). Poloxamer 188 (Gambar 10) yang biasa disebut dengan pluronic F68 atau lutrol F68 merupakan surfaktan nonionik yang banyak diaplikasikan dalam bidang

farmasi sebagai *emulsifier*, *solubilizer* dan penstabil suspensi dalam bentuk dosis *liquid oral*, *topical* dan *parenteral*. Penggunaan dalam bentuk padat berperan sebagai *wetting agent*, *plasticizer*, dan dapat meningkatkan kelarutan serta bioavailabilitas pada obat yang memiliki tingkat kelarutan yang rendah dalam air (Yen *et al* 2008). Peranan penting poloxamer 188 atau pluronic F68 dalam sistem nanopartikel yaitu sebagai penstabil, menurunkan diameter partikel dan indeks polidispersitas (Memisoglu-Bilensoy *et al* 2006).

G. Karakterisasi Nanokristal

1. Ukuran Partikel dan Potensial Zeta

Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas nanopartikel (Singh *et al* 2009). Pengukuran partikel dilakukan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA). Persyaratan parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al* 2000). Potensial zeta diukur dengan menggunakan zetasizer. Potensial zeta mempunyai aplikasi praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi, karena potensial ini mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan (Sinko 2012). Besarnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai Potensial Zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena atraksi Van Der Waals antar-partikel (Ronson 2012).

2. *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

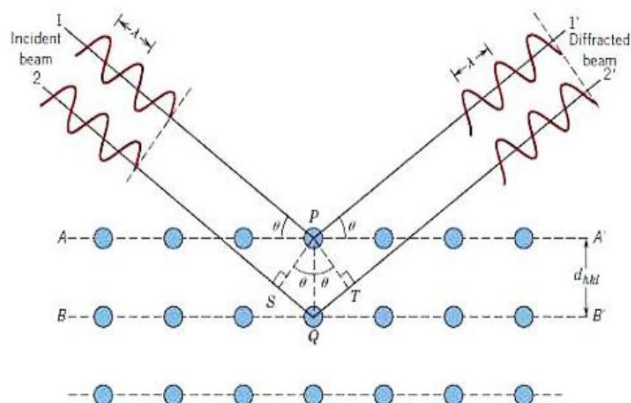
Struktur koloid dari nanokristal dapat diamati dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). *Scanning Electron Microscopy* (SEM) digunakan untuk mengamati morfologi permukaan, yang bertindak menetapkan secara kualitatif suatu pengamatan fisika yang berhubungan dengan luas permukaan (Respati 2008).

Prinsip kerja SEM ini adalah dengan menggambarkan permukaan benda atau material dengan berkas elektron yang dipantulkan dengan energi

tinggi. Permukaan material yang di sinari atau terkena berkas elektron akan memantulkan kembali berkas elektron atau dinamakan berkas elektron sekunder ke segala arah. Semua berkas elektron yang dipantulkan terdapat satu berkas elektron yang dipantulkan dengan intensitas tinggi. Detektor yang terdapat di dalam SEM akan mendeteksi berkas elektron berintensitas tertinggi yang dipantulkan oleh benda atau material yang dianalisis. Pemanfaatan berkas pantulan dari benda tersebut maka informasi dapat diketahui dengan menggunakan program pengolahan citra yang terdapat pada komputer.

3. *X-Ray Diffraction (XRD)*

Difraksi sinar-X merupakan teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi adanya fasa kristalin di dalam material-material benda dan serbuk, untuk menganalisis sifat-sifat struktur seperti stress, ukuran butir, cacat kristal, dan fasa komposisi orientasi kristal dari tiap fasa. Metode ini menggunakan suatu berkas sinar-X yang terdifraksi seperti sinar yang direfleksikan dari setiap bidang, berturut-turut dibentuk oleh atom-atom kristal dari material sampel. Metode ini diidentifikasi dengan membandingkan pada database Internasional (Zakaria 2003) yang dikenal sebagai data JCPDS (*Joint Commite on Powder Diffraction Standars*). Sinar-X ditembakkan pada bahan terjadi interaksi dengan elektron dalam atom. Foton sinar-X bertumbukan dengan elektron, beberapa foton hasil tumbukan akan mengalami pembelokan dari arah awal datang. Panjang gelombang hamburan sinar-X tidak berubah, maka dinamakan hamburan elastik. Sinar-X ini yang membawa informasi distribusi atom dalam suatu bahan. Syarat terjadinya difraksi ialah harus memenuhi hukum Bragg, yaitu $2 d \sin \theta = n\lambda$.



Gambar 11. Difraksi sinar X (Bird 1987)

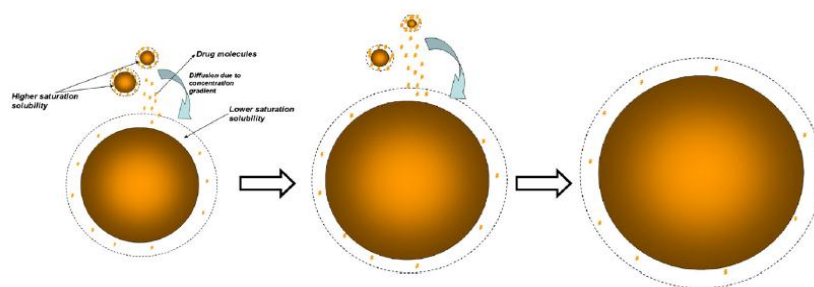
Prinsip difraksi untuk sampel berbentuk serbuk adalah cahaya monokromatik sinar X dikenakan pada kristal, satu pantulan atau difraksi dari variasi sudut sinar X akan menunjukkan sinar mula-mula, jika seberkas sinar X menumbuk partikel berukuran atom maka sinar tersebut akan dipantulkan oleh partikel atomik yang ditumbuknya (Bird 1987). Sinar X yang terdifraksi oleh bidang permukaan sampel memiliki sudut refleksi yang sama dengan sudut sinar datang (West 1984).

4. Differential Scanning Calorimetry (DSC).

Perubahan energi panas yang terjadi pada sampel, yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan temperatur antara sampel dengan bahan yang bersifat inert secara termal, ketika keduanya dipanaskan secara bertahap dengan kecepatan tertentu. Derajat kristalinitas dapat diukur dengan alat ini. Parameter ini sangat berhubungan dengan laju pelepasan obat. DSC merupakan alat yang digunakan untuk mengukur panas yang hilang atau peningkatan panas karena perubahan-perubahan fisika kimia dalam suatu sampel karena pengaruh temperatur. Pengukuran dapat kualitatif maupun kuantitatif tentang perubahan fisika dan kimia yang melibatkan proses endotermis dan eksotermis atau perubahan dalam kapasitas panas. Contoh proses endotermis adalah peleburan, pendidihan, sublimasi, penguapan, dan penguraian kimia. Proses eksotermis adalah kristalisasi dan degradasi. DSC dapat mengukur titik lebur, waktu rekristalisasi dan temperatur, presentasi kristalinitas, stabilitas termal, dan kemurnian (Patel 2012).

5. Stabilitas Ukuran Nanopartikel

Peningkatan ukuran partikel setelah penyimpanan dapat dijelaskan melalui mekanisme *Ostwald ripening*. Ukuran partikel kecil (nm) memiliki kelarutan yang lebih besar daripada ukuran partikel yang lebih besar (μm), sehingga zat aktif akan berdifusi ke ukuran partikel yang lebih besar sehingga ukuran partikel yang lebih besar akan semakin besar dan ukuran partikel yang berukuran kecil akan semakin kecil (Wu 2010). Mekanisme *Ostwald ripening* dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Mekanisme Ostwald ripening (Wu 2010)

Ostwald ripening tidak hanya mengakibatkan perbesaran ukuran partikel namun juga ketidakseragaman distribusi ukuran partikel sehingga ukuran partikel yang terbentuk tidak seragam.

6. Liofilisasi/ Freeze Drying

Liofilisasi atau *freeze drying* merupakan metode pengeringan yang banyak digunakan dalam farmasi untuk meningkatkan kestabilan dan memperpanjang waktu penyimpanan, salah satunya adalah untuk meningkatkan kestabilan nanokristal (Patel 2012). *Freeze drying* merupakan proses pengeringan dengan menggunakan temperatur yang rendah, metode ini menguntungkan bagi bahan yang tidak tahan panas. Prinsipnya pengeringan beku terdiri dari dua proses, yaitu pembekuan yang dilanjutkan dengan pengeringan. Proses pengeringan berlangsung pada saat bahan dalam keadaan beku sehingga proses perubahan fase yang terjadi adalah sublimasi (Nireesha 2013).

Proses pengeringan beku diperlukan suatu krioprotektan untuk melindungi sistem nanokristal dari agregasi dan penggabungan ukuran

partikel. Krioprotektan yang biasa digunakan adalah manitol, sorbitol, *trehalose*, glukosa dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP). Konsentrasi krioprotektan yang digunakan biasanya adalah 10-15% (Patel 2012).

7. Potensial zeta

Potensial zeta diukur dengan menggunakan zetasizer. Potensial zeta mempunyai aplikasi praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi, karena potensial ini mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan (Sinko 2012). Besarnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai Potensi Zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena atraksi Van Der Waals antar-partikel (Ronson 2012).

8. Uji Disolusi

Disolusi adalah proses suatu zat solid memasuki pelarut untuk menghasilkan suatu larutan. Saat obat mengalami disolusi, molekul obat pada permukaan awalnya akan membentuk suatu lapisan jenuh obat yang membungkus permukaan partikel padat. Larutan ini dikenal sebagai lapisan difusi. Molekul-molekul obat keluar dari lapisan difusi dan melewati membran biologis untuk dapat diabsorpsi. Proses disolusi bergantung pada kemampuan partikel untuk dapat melalui membran. Laju disolusi dapat mempengaruhi onset, intensitas dan lama respon serta kontrol bioavailabilitas obat tersebut keseluruhan dari bentuk sediaannya (Ansel 1989).

Disolusi merupakan salah satu kontrol kualitas yang dapat digunakan untuk memprediksi bioavailabilitas, dan dalam beberapa kasus dapat sebagai pengganti uji klinik untuk menilai bioekivalen (Sulaiman 2007). Disolusi mengacu pada proses ketika fase padat (misalnya tablet atau serbuk) masuk ke dalam fase larutan, seperti air. Obat saat melarut, partikel-partikel padat memisah dan molekul demi molekul bercampur dengan cairan dan tampak menjadi bagian dari cairan tersebut. Disolusi obat adalah proses ketika

molekul obat dibebaskan dari fase padat dan masuk ke dalam fase larutan (Sinko 2012).

Laju suatu padatan melarut di dalam suatu pelarut telah diajukan dalam batasan-batasan kuantitatif oleh Noyes Whitney pada tahun 1987 dan telah dikerjakan dengan teliti oleh peneliti-peneliti lain. Persamaan tersebut bisa dituliskan sebagai :

$$\frac{dM}{dxt} = \frac{DS}{h} (C_s - C)$$

Dimana $\frac{dM}{dxt}$: laju disolusi dari massa zat terlarut yang dilarutkan pada waktu t (massa/waktu), D : koefisien difusi dari zat terlarut dalam larutan, S: luas permukaan zat padat yang menyentuh larutan, h : ketebalan lapisan difusi, Cs: konsentrasi jenuh dari senyawa tersebut dari suhu percobaan, C: konsentrasi zat terlarut pada waktu t (Martin *et al* 1983).

H. Landasan Teori

Fisetin termasuk kedalam BCS kelas II yaitu memiliki permeabilitas tinggi namun kelarutannya rendah (Sinko 2006). 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 nanokristal memberikan kelebihan tersendiri seperti peningkatan saturation solubility, laju disolusi, dan *adhesiveness tomembran cell* (Junyaprasert dan Morakul 2015). Strategi nanoizing dibagi menjadi dua yaitu “*bottom up*” dan “*top down*”. Metode yang telah banyak digunakan adalah presipitasi atau metode hidrosol. Parameter yang harus diperhatikan dalam metode ini adalah kecepatan pengadukan, suhu, perbandingan antara pelarut dengan non pelarut, konsentrasi obat, viskositas, jenis pelarut, dan bahan penstabil yang digunakan. Keuntungan dari metode presipitasi adalah menggunakan peralatan yang sederhana. Kekurangan metode presipitasi yaitu obat harus dapat larut setidaknya dalam satu pelarut dimana pelarut tersebut harus dapat bercampur dengan non-pelarut (Gupta dan Kompella 2006).

Stabilisator seperti poloksamer 188 (F68), polivinil alkohol (PVA), polivinil pirolidon (PVP), Tween 80, hidroksi propil metil selulosa (HPMC), dan sodium lauril sulfat (SLS) dilarutkan dalam antipelarut. Stabilisator digunakan untuk menghambat pertumbuhan kristal kelebihan atau agregasi partikel (Chen et al 2008). Telah dilakukan penelitian mengenai pembuatan dan karakterisasi nanokristal dengan metode *bottom up* menggunakan bahan penstabil F68, HPMC, PVP K30 dan diperoleh kristal dengan ukuran nanometer dan dapat melepaskan zat aktif lebih dari 90% dalam waktu 1 menit (Liu et al 2011).

Pengukuran partikel dilakukan dengan Particle Size Analyzer (PSA). Persyaratan parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller et al 2000). Potensial zeta diukur dengan menggunakan zetasizer. Potensial zeta mempunyai aplikasi praktis dalam stabilitas sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi, karena potensial ini mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan (Sinko 2012). Besarnya potensi zeta dapat memprediksi stabilitas koloid. Nanopartikel dengan nilai Potensial Zeta lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV biasanya memiliki derajat stabilitas tinggi. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena atraksi Van Der Waals antar-partikel (Ronson 2012).

Ukuran partikel yang kurang dari 100 nanometer, sifat partikel tersebut akan berubah. Berkurangnya ukuran partikel akan meningkatkan kelarutan obat sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas obat dalam tubuh. 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 2007).

Disolusi merupakan salah satu kontrol kualitas yang dapat digunakan untuk memprediksi bioavailabilitas, dan dalam beberapa kasus dapat sebagai pengganti uji klinik untuk menilai bioekivalen (Sulaiman 2007). Disolusi mengacu pada proses ketika fase padat (misalnya tablet atau serbuk) masuk ke dalam fase larutan, seperti air. Obat saat melarut, partikel-partikel padat memisah dan molekul demi molekul bercampur dengan cairan dan tampak menjadi bagian dari cairan tersebut. Disolusi obat adalah proses ketika molekul obat dibebaskan dari fase padat dan masuk ke dalam fase larutan (Sinko 2012).

I. Hipotesis

1. Fisetin nanokristal dapat dibuat menggunakan metode *bottom up* yaitu presipitasi.
2. Jenis dan konsentrasi *stabilizer* memiliki pengaruh terhadap fisetin nanokristal.
3. Fisetin nanosuspensi dapat stabil selama proses penyimpanan.
4. Fisetin nanokristal dapat mempercepat daya larut serta disolusi dibanding dengan serbuk murni fisetin.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi dalam penelitian ini adalah fisetin yang dibuat dengan *stabilizer*.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang ingin diteliti, yang ciri-ciri dan keberadaannya diharapkan mampu mewakili atau menggambarkan ciri-ciri dan keberadaan populasi yang sebenarnya. Sampel dalam penelitian ini adalah sejumlah fisetin nanokristal yang dibuat dengan berbagai proporsi surfaktan (tween 80, SLS, poloxamer 188) dan polimer (PVP, PVA, HPMC).

B. Variabel Penelitian

3. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel dalam penelitian ini adalah formula dari fisetin nanokristal yang dibuat dengan *stabilizer* surfaktan dan polimer yang berbeda, konsentrasi surfaktan dan polimer yang berbeda, dan karakterisasi nanokristal dengan berbagai macam pengujian.

4. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini diklasifikasikan dalam berbagai variabel, antara lain variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung yaitu *stabilizer* surfaktan dan polimer yang berbeda tween 80, SLS, poloxamer 188, PVP, PVA, dan konsentrasi HPMC yang berbeda.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian ini yaitu karakterisasi fisetin nanokristal yaitu

ukuran partikel dan zeta potensial, analisa morfologi, viskositas, kristalinitas, uji kelarutan dan uji disolusi.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat yaitu proses pembuatan nanokristal dengan metode *bottom up*.

5. Definisi Operasional Variabel Utama

Zat aktif fisetin dengan proposi *stabilizer* surfaktan (tween 80, SLS, poloxamer 188) dan polimer (PVP, PVA, HPMC).

Ukuran partikel pada nanokristal adalah kurang dari 100 nm. Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas dari nanopartikel. Zeta potensial merupakan prediktor yang baik dari fenomena aglasi karena potensial zeta mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel yang terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan.

Analisa morfologi merupakan analisa yang digunakan untuk membandingkan bentuk dan morfologi fisetin standar dengan nanopartikel lipid padat yang mengandung fisetin. Analisa morfologi dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) digunakan untuk menentukan sifat termal dan menentukan derajat kristalinitas fisetin nanokristal.

Uji kelarutan untuk mengetahui ukuran suatu zat dapat melarut dalam suatu medium. Uji disolusi untuk mengetahui waktu pelepasan obat dari bentuk sediaan nanokristal menjadi bentuk terlarut. Proses pembuatan fisetin nanokristal dengan kombinasi metode *bottom up*.

C. Bahan dan alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah fisetin *Pharmaceutical Grade* (Shaanxi Dideu Medichem Co. Ltd, Cina), polisorbat 80, sodium lauril sulfat (PT. Bratachem, Indonesia), poloxamer 188, PVP, PVA, HPMC (BASF, Jerman), aseton, etanol dan aquadest (PT. Bratachem, Indonesia), serta bahan-bahan lain yang digunakan untuk uji disolusi.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat uji ukuran partikel dan zeta potensial (Beckman Coulter Delsa[®] Nano C, USA), *homogenizer, magnetic stirrer, hotplate stirrer* (Thermo Scientific, China), *sentrifuge* (SPLC Series, Gemmy 8 Hole, Taiwan), pH meter (Eutech Instruments, Ecoscan hand-held series, Singapura), *Scanning Electron Microscopy* (JEOL, JSM-6360 LA), *Powder X-Ray Diffraction* (Philips, PW 17170, Belanda), *dissolution tester* (Electrolab TDT-08L, India), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10s, Thermo scientific), timbangan analitik (Ohaus), alat-alat gelas alat (Pyrex, Jepang) dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

D. Jalannya Penelitian

1. Percobaan Pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan kondisi percobaan terbaik dan komposisi bahan yang sesuai untuk menghasilkan sediaan dispersi nanokristal yang stabil dan homogen. Pembuatan nanokristal ini menggunakan metode *bottom up*. Percobaan pendahuluan yang dilakukan adalah memakai *stabilizer* surfaktan (tween 80, SLS, poloxamer 188) dan polimer (PVP, PVA, HPMC) dengan konsentrasi yang bervariasi.

2. Screening stabilizer fisetin nanokristal dengan Metode *Bottom Up*

Tabel 1. Screening stabilizer fisetin nanokristal.

		Konsentrasi (mg)								
FORMULA		1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Fisetin	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
Surfaktan	Tween 80	1%	3%	5%	-	-	-	-	-	-
	SLS	-	-	-	0,25%	0,50%	0,75%	-	-	-
	F68	-	-	-	-	-	-	1%	3%	5%
Aquadest		ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml

		Konsentrasi (mg)								
FORMULA		10	11	12	13	14	15	16	17	18
	Fisetin	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
Polimer	PVA	0,15%	0,25%	0,50%	-	-	-	-	-	-
	PVP	-	-	-	0,50%	0,75%	1%	-	-	-
	HPMC	-	-	-	-	-	-	0,25%	0,50%	0,75%
Aquadest		ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml	ad 10 ml

Pembuatan fisetin nanokristal diawali dengan melarutkan fisetin dengan etanol 96%. Kemudian surfaktan (tween 80, SLS, poloxamer 188) dan polimer (PVP, PVA, HPMC) dilarutkan dalam air. Kemudian larutan fisetin diteteskan kedalam larutan yang mengandung stabilizer dengan pengadukan 6000 rpm selama 2 jam pada temperatur ruangan. Hasil nanosuspensi fisetin selanjutnya dikarakterisasi ukuran dan distribusi ukuran.

3. Pembuatan Fisetin Nanokristal

Formula nanosuspensi yang terpilih pada *screening* selanjutnya digunakan untuk membuat fisetin nanokristal dengan jumlah yang lebih besar. Fisetin nanosuspensi ditambah manitol 0,5% sebagai krioprotektan, selanjutnya diliofilisasi kembali menggunakan *deep freezer* pada suhu -75°C selama 24 jam. Padatan yang telah membeku selanjutnya di keringkan atau *freez dry* dengan menggunakan *lyophilizer* pada kondisi vakum 200 pascal selama 36 jam sehingga menghasilkan serbuk kering fisetin. Hasil serbuk

kering nanokristal disimpan dalam wadah tertutup terlindung dari cahaya pada suhu ruang dan selanjutnya dikarakterisasi.

4. Karakterisasi Fisetin Nanosuspensi

4.1. Penetapan Distribusi & Ukuran Partikel. Pengukuran dan distribusi nanopartikel menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA).

4.2. Uji stabilitas fisetin nanokristal setelah penyimpanan

4.2.1. Pengamatan secara visual. Formula fisetin nanokristal yang sudah diketahui menghasilkan ukuran partikel terkecil di uji stabilitasnya pada suhu kamar selama 1 bulan dan diamati setiap minggu.

4.2.2. Pengukuran ukuran partikel dan potensial zeta. Untuk mengetahui ukuran sediaan nanopartikel setelah penyimpanan dilakukan pengukuran ukuran dan distribusi nanopartikel menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA), dan untuk mengetahui nilai potensial zeta setelah penyimpanan diukur menggunakan zeta potensial analyzer.

5. Verifikasi Metode Analisis

5.1. Linearitas (*Linearity*). Penentuan linearitas dilakukan dengan mengukur absorbansi suatu seri konsentrasi larutan induk fisetin dalam pelarut aquadest, dapar fosfat pH 7,4, dan etanol yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm pada panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan membuat persamaan garis regresi linier dan ditentukan koefisien korelasi (nilai r). Hasil ini selanjutnya digunakan untuk menentukan linearitas yaitu dengan membandingkan nilai r hitung dengan nilai r tabel pada taraf kepercayaan 95%. Nilai linearitas dikatakan baik dan dapat digunakan untuk menghitung akurasi serta presisi bila r hitung $>$ r tabel.

5.2. Penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi dan batas kuantifikasi penetapan kadar obat fisetin ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan membuat lima seri konsentrasi dibawah konsentrasi terkecil pada uji linearitas. Nilai pengukuran dapat juga diperoleh dari nilai b (*slope*) pada persamaan

regresi linear $y = a + bx$, sedangkan simpangan blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x). Batas deteksi dan kuantifikasi dapat ditentukan dengan persamaan :

$$LOD = \frac{3 Sy/x}{b} \dots\dots\dots(1)$$

$$LOQ = \frac{10 Sy/x}{b} \dots\dots\dots(2)$$

6. Karakterisasi Fisetin Nanokristal

6.1. Pengujian Morfologi Nanopartikel. Penentuan bentuk partikel nanosuspensi dilakukan menggunakan mikroskop Nikon E50iPol, dipindai menggunakan Nikon DS-Fil dan ditampilkan dengan digital sight DS-U2. Pengujian morfologi SEM dengan cara sampel diberi lapisan tipis emas-paladium (Au (80%) dan Pd (20%)) menggunakan arus pada posisi 6-7,5 mA, tegangan 1,2 kV, kevakuman pada nilai 0,2 Torr selama 4 menit sehingga diperoleh lapisan 400 amstrong.

6.2. Pengujian Sifat Kristalinitas. Sifat kristalinitas fisetin mikrokristal dan nanokristal dianalisis dengan menggunakan analisis *X-Ray Diffraction* (XRD). XRD dengan difraktometer menggunakan Cu sebagai anoda dan grafit monokromatik, instrumen dioperasikan pada voltase 40kV dan arus 30mA.

6.3. Uji Penyetaraan Konsentrasi. Uji dilakukan untuk mengetahui jumlah fisetin yang terjerap dalam sediaan nanokristal. Sebanyak 10 mg fisetin nanokristal ditambahkan kedalam 10 ml etanol di sentrifugasi kemudian disaring, supernatan diukur kadarnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

6.4. Uji Kelarutan Kinetik Fisetin nanokristal. Uji dilakukan terhadap fisetin standar dan serbuk fisetin nanokristal. Menimbang sejumlah tertentu fisetin standar dan serbuk fisetin nanokristal kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala 100 ml yang telah berisi 100 ml air suling, kemudian dilarutkan dalam *shaking thermostatic water bath* pada suhu $37 \pm 0,5$ °C selama 4 hari dengan kecepatan 70 rpm. Larutan kemudian disaring dan filtrat yang dihasilkan diencerkan dan dianalisis

secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum (Mauludin *et al* 2009).

7. Pengujian Disolusi.

7.1. Pembuatan Larutan Induk. Pembuatan larutan induk fisetin dibuat dengan menimbang seksama sejumlah 10 mg serbuk fisetin murni, dilarutkan dalam 10 ml etanol 96%, di masukan dalam labu takar 100 ml, dan ditambahkan dapar pH 7,4 sampai tanda batas (El-Gawad *et al* 2014).

7.2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum. Larutan induk fisetin dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan nilai serapan yang paling tinggi (El-Gawad *et al* 2014).

7.3. Pembuatan Larutan Seri Kurva Kalibrasi. Seri konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm, kemudian masing-masing diencerkan sampai batas tanda dengan larutan dapar. Seri larutan tersebut diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi fisetin sehingga diperoleh persamaan regresi linear yang selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar fisetin dalam uji disolusi (El-Gawad *et al* 2014).

8. Uji Disolusi Fisetin Nanokristal

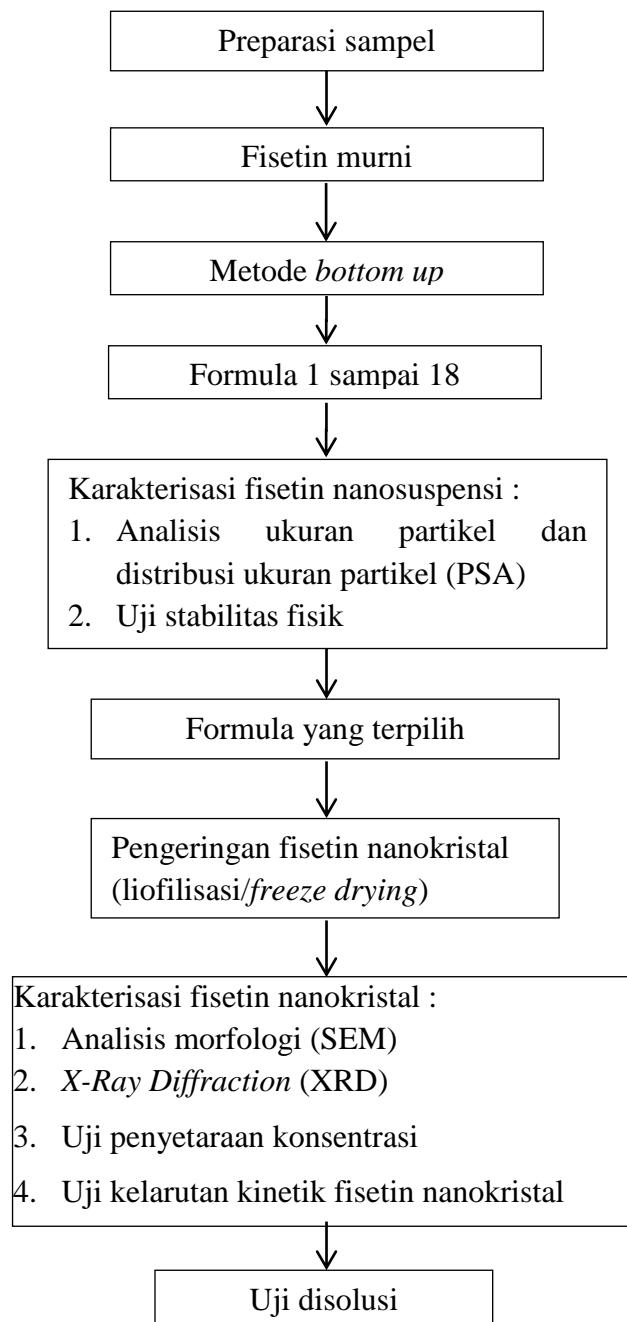
Uji disolusi dilakukan untuk mengetahui perbandingan laju disolusi antara serbuk fisetin murni dengan serbuk nanokristal yang mengandung fisetin, menggunakan alat disolusi tipe II (dayung) dengan kecepatan 100 rpm (Huda 2012). Timbang 10 mg serbuk fisetin standar dan serbuk fisetin nanokristal setara 10 mg. Kemudian serbuk masukkan ke dalam medium disolusi. Medium disolusi yang digunakan adalah 500 ml pH 7,4 dengan temperatur $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sampel diambil masing-masing sejumlah 5 mL pada menit ke 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 dan disaring melalui membran filter (0,45 μm). Setiap pengambilan sampel, medium diganti dengan medium baru dengan volume dan suhu yang sama. Filtrat dianalisis dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditetapkan

sebelumnya. Hasil absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan kurva baku dan kadar pelepasan obatnya dapat diketahui.

E. Analisis Hasil

Analisis hasil dilakukan untuk mengetahui suatu data terhadap terjadinya kesalahan dalam penelitian, penyimpangan dari aturan baku yang sudah ditentukan. Analisis hasil suatu pengujian yang mengacu pada parameter dapat dilakukan dengan cara, data yang diperoleh dari penelitian dilakukan analisis dan dilihat kesesuaian dengan persyaratan baku yang telah menjadi ketentuan dari sediaan fisetin nanokristal, misalnya pengacuan data hasil pengujian dengan referensi secara teori yang ada, dengan demikian hasil penelitian dengan referensi teori tersebut dibandingkan satu sama lainnya. Pengacuan terhadap referensi teori dilakukan untuk menghindari adanya kesalahan dalam penelitian.

F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 13. Skema jalannya penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Percobaan Pendahuluan

Pembuatan nanokristal fisetin dilakukan menggunakan metode bottom up (presipitasi) sehingga didapat sediaan nanokristal yang homogen dan mempunyai ukuran partikel yang kecil. Penelitian awalnya terlebih dahulu dilakukan percobaan pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui kondisi percobaan terbaik untuk menghasilkan sediaan nanokristal yang stabil dan homogen. Kondisi percobaan yang perlu diperhatikan adalah kecepatan pada magnetik dan konsentrasi pada setiap *stabilizer* yang digunakan. Sediaan fisetin yang dibentuk akan menghasilkan sediaan berupa nanosuspensi. Proses pembuatannya bahan *stabilizer* dilarutkan pada aquadest serta pada fisetin dilarutkan pada etanol.

Percobaan yang dilakukan menggunakan beberapa *stabilizer* yaitu golongan elektrostatis dan sterik. 18 formula percobaan pendahuluan dilakukan uji ukuran partikel dan *screening stabilizer*, didapat 4 formula yang memenuhi syarat ukuran nanopartikel. Keempat formula tersebut menggunakan *stabilizer* jenis sterik yaitu PVA 0,25% (F11), PVA 0,5% (F12), HPMC 0,25% (F16), HPMC 0,5% (F17). Halangan sterik lebih stabil dibandingkan dengan stabilisasi halangan elektrostatis karena halangan sterik relatif stabil terhadap keberadaan elektrolit dan terbentuk flokulasi yang reversibel (Shi 2002). Bahan penstabil ini mengandung gugus-gugus terion dalam pendispersi nanopartikel akan akan teradsorpsi pada permukaan partikel. Elektronetralitas dijaga berdasarkan sejumlah ion dengan muatan berlawanan (counter ion) akan mengelilingi partikel sebanding dengan muatan pada permukaan partikel tersebut dan membentuk lapisan rangkap listrik. Lapisan rangkap listrik akan menstabilkan partikel tersebut sehingga nanopartikel tidak saling beraglomerasi (Shi 2002 & Libo *et al* 2011). Penstabil jenis sterik bekerja melalui mekanisme halangan sterik. Mekanisme stabilisasi sterik yaitu dengan menyelimuti permukaan partikel sehingga interaksi antar partikel menjadi minimal. Polimer akan diadsorpsi menyelimuti permukaan partikel membentuk lapisan-lapisan (Shi 2002).

B. Pembuatan Fisetin Nanokristal

Fisetin nanokristal telah berhasil dibuat dengan metode *bottom up*. Metode ini fisetin dilarutkan dalam pelarut etanol sedangkan *stabilizer* dilarutkan dalam aquadest. Fisetin yang terlarut dalam etanol diteteskan sedikit demi sedikit pada *stabilizer* yang sudah dilarutkan dalam aquadest. Presipitasi dilakukan menggunakan magnetik stirer dengan kecepatan 6000rpm selama 2 jam pada setiap formula. Fisetin yang diteteskan dalam aquadest akan membentuk inti kristal dan dalam keadaan jenuh akan terbentuk kristal fisetin yang ditandai dengan terbentuknya kabut. *Stabilizer* yang terdapat dalam campuran akan menstabilkan kristal yang terbentuk sehingga tidak terjadi aglomerasi menjadi ukuran yang lebih besar.

Nanosuspensi yang terbentuk kemudian dilakukan liofilisasi menggunakan metode *freeze drying* dengan krioprotektan manitol. Proses pengeringan berlangsung pada saat bahan dalam keadaan beku sehingga proses perubahan fase yang terjadi adalah sublimasi (Nireesha 2013). Penggunaan manitol sebagai krioprotektan untuk melindungi sistem nanokristal dari agregasi dan penggabungan ukuran partikel. Hasil dari proses *freeze drying* didapat serbuk menggumpal dan berubah warna dari kuning gelap menjadi kuning pucat.

C. Karakterisasi Fisetin Nanokristal

1. Penetapan Distribusi & Ukuran Partikel.

Tabel 2. Hasil penetapan distribusi & ukuran partikel.

Formula	ukuran partikel (nm)	indeks polidispersitas (PI)
Formula 11	410	0,204
Formula 12	406	0,220
Formula 16	846	0,201
Formula 17	782	0,294

Keterangan: *= formula 11 PVA 0,25%, formula 12 PVA 0,5%, formula 16 HPMC 0,25%, formula 17 HPMC 0,5%.

Ukuran partikel sangat penting dalam sistem nanopartikel. Ukuran partikel fisetin nanosuspensi diukur menggunakan alat PSA (*Particle Size Analyzer*). Penggunaan polimer berpengaruh terhadap ukuran partikel dan

kestabilan nanosuspensi yang dihasilkan. Polimer berfungsi dalam menstabilkan suspensi dengan cara menempati permukaan antara tetesan dan fase eksternal dengan membuat batas fisik disekeliling partikel yang akan beraglomerasi.

Hasil pengukuran ukuran partikel fisetin nanosuspensi terlihat pada range ukuran nanopartikel yaitu 50-1000 nm. Penggunaan PVA pada konsentrasi 0,5% menghasilkan ukuran partikel yang paling kecil dibanding konsentrasi 0,25% sedangkan penggunaan HPMC pada konsentrasi 0,5% juga menghasilkan ukuran partikel yang paling kecil dibanding konsentrasi 0,25%. Hal ini terjadi karena jumlah polimer yang lebih banyak dapat mencegah terjadinya aglomerasi antar partikel-partikel yang pecah setelah pengadukan. Keseragaman ukuran partikel dapat diketahui dengan indeks polidispersitas. Pada Tabel 2 terlihat nilai indeks polidispersitas yang dihasilkan mendekati nilai 0, ini menunjukkan bahwa fisetin nanosuspensi merupakan dispersi yang cukup homogen.

2. Stabilitas Fisetin Nanosuspensi dalam Penyimpanan

2.1. Pengamatan secara visual

Fisetin nanosuspensi (Formula 11, 12, 16, dan 17) disimpan pada suhu ruang selama 4 minggu. Pada minggu ke-1 nanosuspensi yang disimpan dalam suhu kamar timbul endapan dalam jumlah sedikit sedangkan pada minggu ke-2 sampai 4 endapan terbentuk dalam jumlah lebih banyak dan konstan. Hal ini karena kenaikan suhu akan meningkatkan energi kinetis dari tetesan-tetesan, sehingga memudahkan penggabungan antar partikel (beraglomerasi) suhu penyimpanan yang tidak sesuai menyebabkan rusaknya gerak brown. Gerak brown adalah gerak tidak beraturan atau gerak acak atau zig-zag partikel koloid. Hal ini terjadi karena adanya benturan tidak teratur dari partikel koloid dengan medium pendispersi. Adanya gerak brown ini maka partikel koloid terhindar dari pengendapan karena terus-menerus bergerak (Wanibesak 2011). Endapan yang terjadi bersifat reversibel karena dapat terdispersi kembali setelah dilakukan pengocokan.

Tabel 3. Stabilitas fisetin nanosuspensi pada suhu kamar

	Pembentukan endapan			
	minggu 1	minggu 2	minggu 3	minggu 4
F11	Ada	ada	ada	ada
F12	Ada	ada	ada	ada
F16	Ada	ada	ada	ada
F17	Ada	ada	ada	ada

Keterangan: *= formula 11 PVA 0,25%, formula 12 PVA 0,5%, formula 16 HPMC 0,25%, formula 17 HPMC 0,5%.

2.2. Pengukuran ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.

Uji stabilitas setelah penyimpanan dilakukan pada suhu ruang selama 4 minggu. Uji stabilitas meliputi ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Hasil uji stabilitas dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa setelah proses penyimpanan terjadi kenaikan ukuran partikel pada formula 11, 12 dan 16 dan penurunan ukuran partikel pada formula 17. Indeks polidispersitas pada semua formula mengalami kenaikan. Ukuran partikel selama penyimpanan masih dalam range ukuran nanosuspensi untuk formula 12, 16, dan 17 sedangkan formula 11 ukuran partikel melebihi batas ukuran nanopartikel. Formula 17 mengalami penurunan ukuran dapat dikarenakan pada kesalahan proses penyimpanan formula, preparasi sebelum dilakukan pengukuran, serta kesalahan alat dalam proses pembacaan. Ketidakseragaman ukuran partikel pada semua formula dapat dilihat berdasarkan pengukuran nilai indeks polidispersitas pada Tabel 4. Seluruh formula terjadi kenaikan indeks polidispersitas setelah penyimpanan yang dapat menggambarkan bahwa ukuran partikel yang dihasilkan semakin tidak seragam.

Formula 11 dan 12 yaitu PVA 0,25% dan 0,5% memberikan ukuran partikel besar menunjukkan bahwa PVA konsentrasi 0,25% dan 0,5% tidak dapat menyelimuti keseluruhan partikel sehingga terjadi aglomerasi begitu pula dengan formula 16 yaitu HPMC 0,25%. Formula terpilih yaitu formula 12 dengan zeta potensial -12mV dapat dilihat pada lampiran 3.

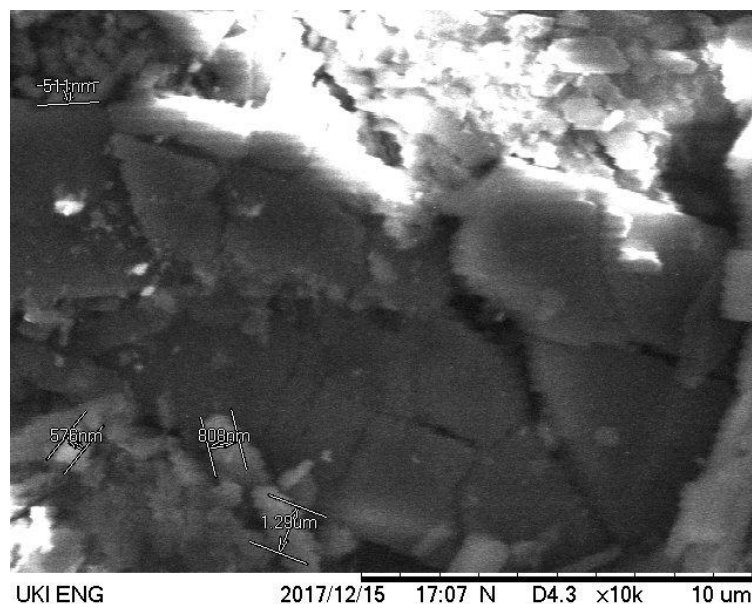
Tabel 4. Ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.

Formula	ukuran partikel (nm) (sebelum)	ukuran partikel (nm) (setelah)	indeks polidispersitas (sebelum)	indeks polidispersitas (setelah)
Formula 11	410	2373	0,204	0,935
Formula 12	406	791	0,220	1,63
Formula 16	846	875	0,201	5,366
Formula 17	782	97	0,294	4,15

Keterangan: *= formula 11 PVA 0,25%, formula 12 PVA 0,5%, formula 16 HPMC 0,25%, formula 17 HPMC 0,5%.

3. Pengujian Morfologi Nanopartikel

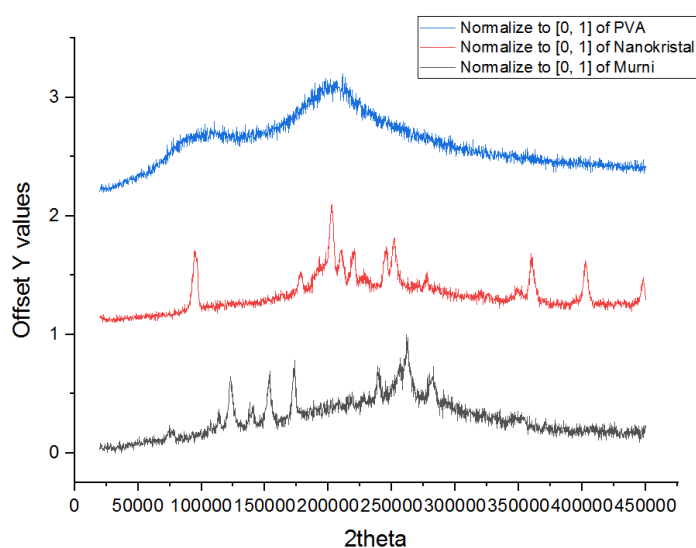
Penentuan bentuk partikel nanosuspensi dilakukan menggunakan mikroskop optik. Pengujian morfologi SEM dengan cara sampel diberi lapisan tipis emas-paladium (Au (80%) dan Pd (20%)) menggunakan arus pada posisi 6-7,5 mA, tegangan 1,2 kV, kevakuman pada nilai 0,2 Torr selama 4 menit sehingga diperoleh lapisan 400 amstrong.



Gambar 14. Morfologi fisetin nanokristal menggunakan SEM

Mikroskop optik menunjukkan filamen panjang atau struktur tubular tidak beraturan, bagian dalam kristal tidak ada ruang berair. Ketidakteraturan ukuran kristal dibuktikan adanya beberapa struktur bergulung merupakan bagian dari struktur tubular yang memanjang dengan ukuran 575 nm, 808 nm, 129 nm yang memenuhi range persyaratan ukuran nanokristal.

4. Pengujian Sifat Kristalinitas



Gambar 15. Sifat kristalinitas menggunakan XRD

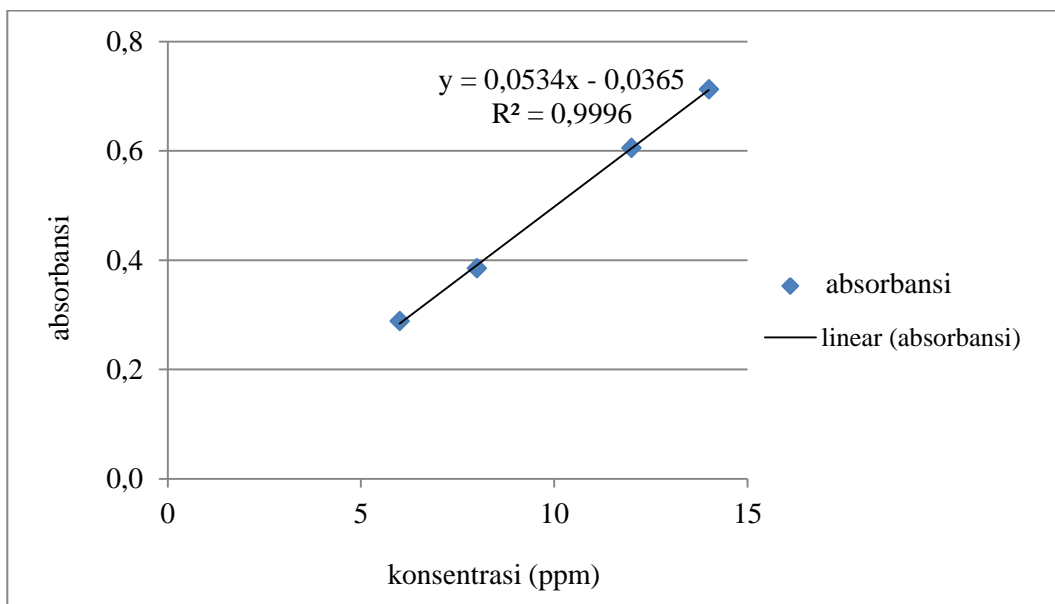
Fisetin adalah senyawa yang berbentuk kristal. Karakterisasi XRD ini ditujukan untuk melihat adanya perbedaan sifat kristalinitas pada fisetin yang telah dibuat menjadi ukuran nanometer menggunakan metode *bottom up*. Senyawa berbentuk kristal dapat dibuktikan dengan adanya *peak* pada difraktogram yang lancip keatas dengan meningkatnya intensitas secara cepat, sedangkan senyawa yang tidak terdapat kenaikan intensitas secara cepat memiliki bentuk amorf. Penstabil berupa PVA dapat menurunkan kristalinitas dari fisetin murni dapat dilihat dari pergeseran nilai 2 theta menjadi lebih kecil serta sebagian menghilangkan *peak* yang dihasilkan sebelum dilakukan proses nanosiasi, tetapi fisetin masih dalam bentuk kristal.

D. Kurva kalibrasi dan verifikasi metode analisis.

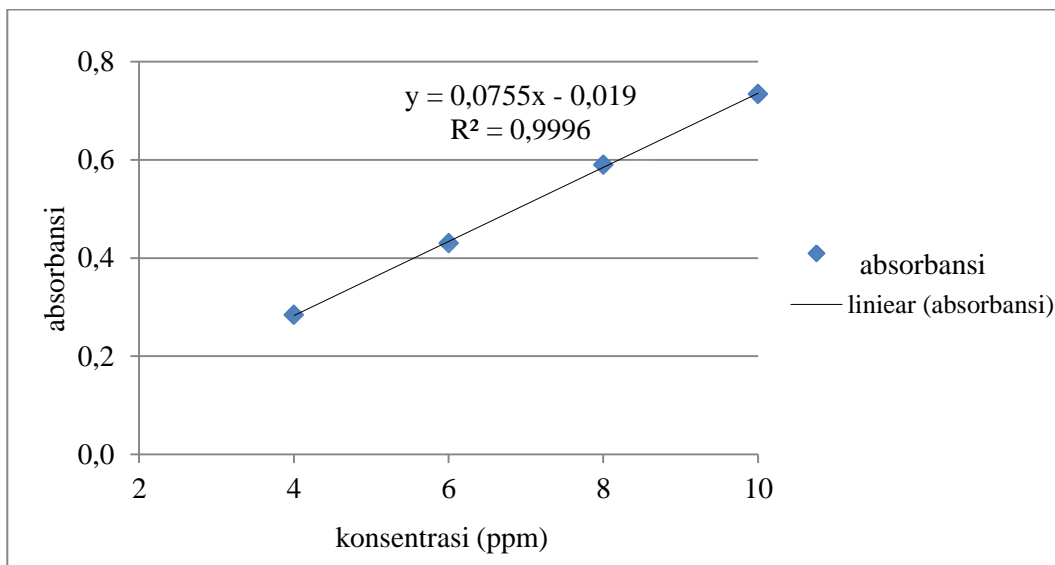
1. Pembuatan kurva kalibrasi

1.1 Penentuan panjang gelombang maksimum. Penetapan λ_{maks} dan pembuatan kurva baku fisetin dalam aquadest, dapar phospat pH 7,4, dan etanol. Hasilnya dapat dilihat pada lampiran 10.1 pada pembacaan panjang gelombang 200 – 400 nm didapatkan serapan tertinggi yaitu 358 nm 369 nm, dan 366 nm

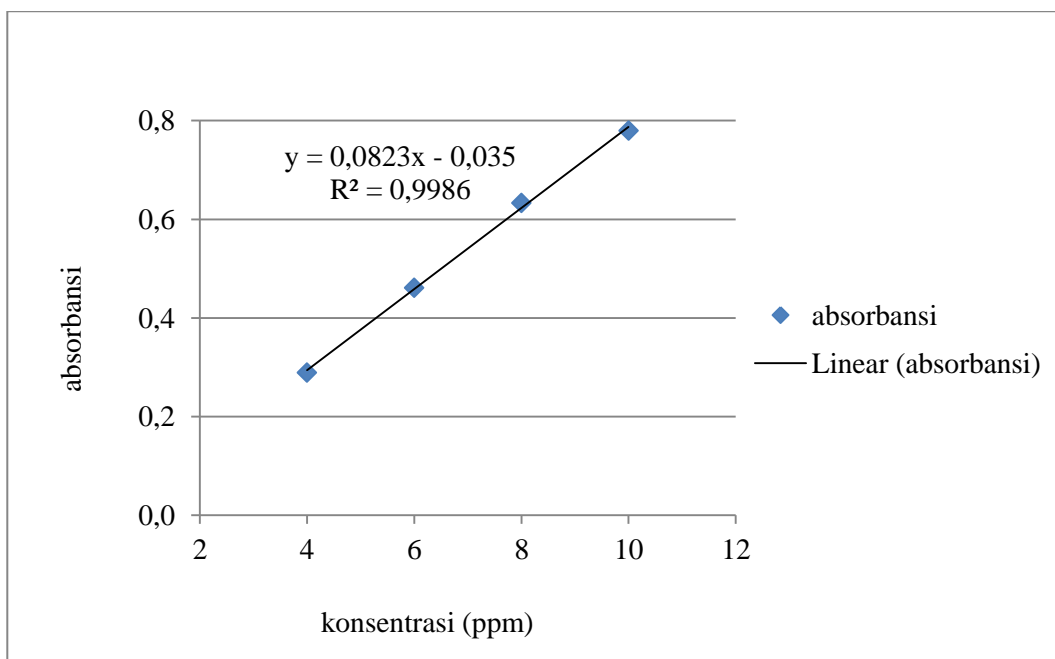
1.2 Kurva kalibrasi. Hasil pembuatan kurva baku fisetin dalam medium aquadest, dapar phospat pH 7,4, dan etanol dapat dilihat pada gambar 16 dan lampiran 10.2



(a)



(b)



(c)

Gambar 16. Kurva kalibrasi fisetin dalam (a) aquadest (b) dapar phospat pH 7.4 (c) etanol

Hasil persamaan regresi linier dengan pelarut aquadest yang diperoleh yaitu $y = 0,0534x - 0,0365$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9996. Hasil persamaan regresi linier dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4 yang diperoleh yaitu $y = 0,0755x - 0,019$ dengan koefisien korelasi sebesar

0,9997. Hasil persamaan regresi linier dengan pelarut etanol yang diperoleh yaitu $y = 0,0823x - 0,035$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9986.

1.3 Verifikasi metode analisis. Verifikasi metode analisis yang dilakukan yaitu penentuan linieritas, penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil verifikasi metode analisis ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin.

Parameter	Hasil
R2 (koefisien determinasi) aquadest	0,999
R2 (koefisien determinasi) dapar fosfat pH 7,4	0,999
R2 (koefisien determinasi) etanol	0,998
Batas deteksi (LOD) medium aquadest	0,220 ppm
Batas deteksi (LOD) medium dapar fosfat pH 7,4	0,148 ppm
Batas deteksi (LOD) medium etanol	0,275 ppm
Batas kuantifikasi (LOQ) medium aquadest	0,666 ppm
Batas kuantifikasi (LOQ) medium dapar fosfat pH 7,4	0,449 ppm
Batas kuantifikasi (LOQ) medium etanol	0,835 ppm

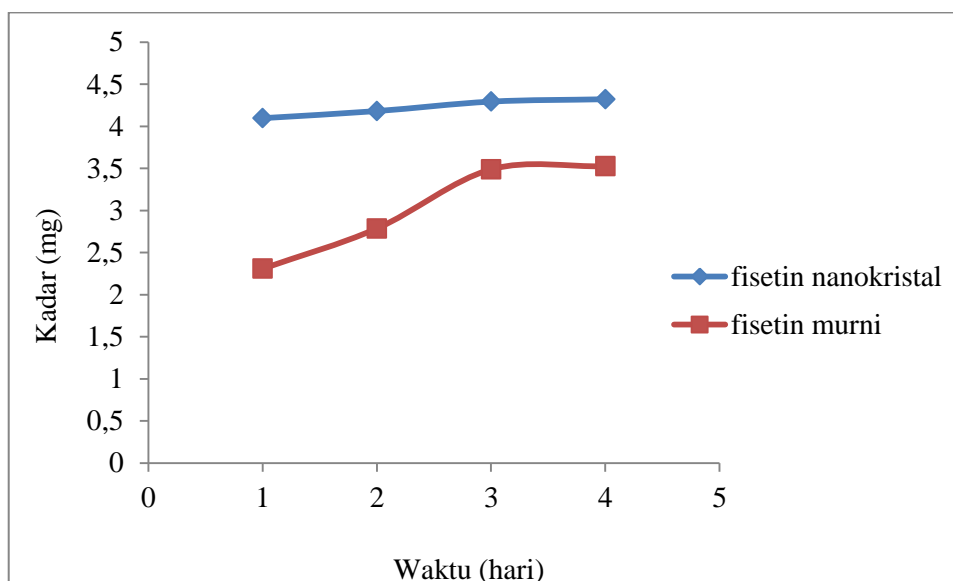
Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dilakukan dengan metode perhitungan yaitu berdasarkan standar deviasi respon dan kemiringan (*slope*) kurva baku. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blangko pada standar deviasi residual garis regresi linier atau standar deviasi intersep-y pada garis regresi. Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi (Gandjar & Rahman 2012). Penentuan batas deteksi menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi yaitu dengan konsentrasi 1,042 ppm dengan perhitungan yang tertera pada lampiran 11.

E. Penyetaraan Konsentrasi antara Fisetin Murni dan Nanokristal

Penyetaraan konsentrasi dilakukan dengan mencampur 10 mg fisetin nanokristal pada formula 12 ad 10 ml dibaca dengan spektrofometri UV didapatkan kadar setara 0,298 mg fisetin murni. Hasil yang terlalu sedikit disebabkan kadar polimer yang digunakan tidak terlalu cukup untuk menyerap fisetin. Fisetin nanokristal yang dibutuhkan supaya didapat setara fisetin murni 10 mg sebanyak 335,6 mg, dibutuhkan bobot yang lebih banyak memenuhi syarat konsentrasi.

F. Uji Kelarutan Kinetik

Kelarutan fisetin nanokristal merupakan perbandingan karakteristik kelarutan fisetin murni dengan fisetin dalam polimer PVA. Medium yang digunakan untuk menguji kelarutan dengan menggunakan aquadest perlakuan dilakukan selama 4 hari pada suhu kamar. Hasil grafik perbandingan kelarutan fisetin nanokristal selama 4 hari dapat dilihat pada gambar 17.



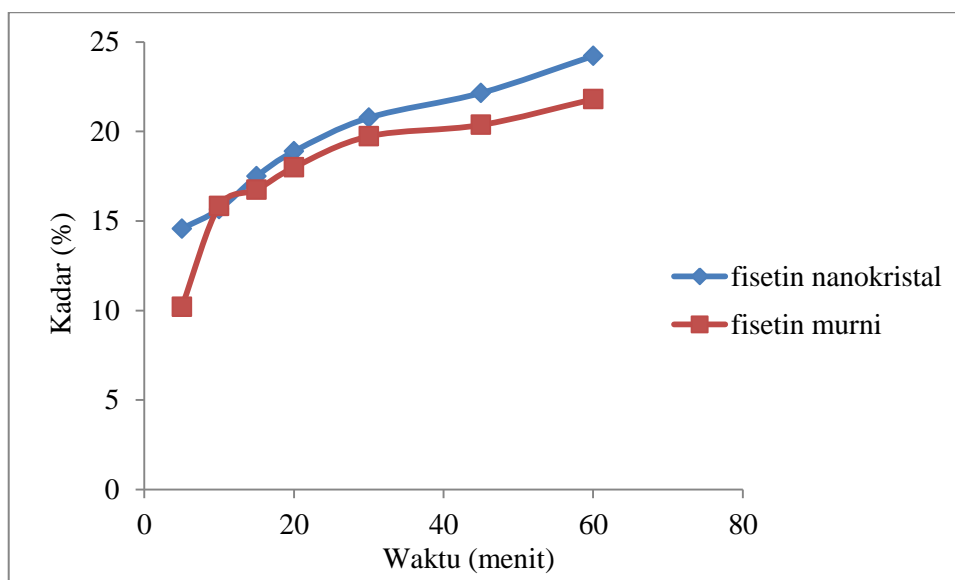
Gambar 17. Kelarutan fisetin murni dan nanokristal

Peningkatan kelarutan fisetin nanokristal menggunakan metode *bottom up* dapat meningkatkan kelarutan cukup signifikan dibanding fisetin murni. Fisetin nanokristal selama 4 hari terjadi peningkatan cukup konstan dan stabil dibandingkan dengan peningkatan fisetin murni yang semakin lama semakin meningkat dibawah kadar fisetin murni. Fisetin merupakan senyawa yang sukar

larut dalam air, sedangkan PVA pada fisetin nanokristal adalah senyawa memiliki sifat hidrofilik sehingga selektif terhadap air. Sifat hidrofilik ini disebabkan adanya gugus $-OH$ yang berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen, akibatnya membran PVA ini mempunyai sifat mudah mengembang (*swelling*) bila terdapat air dari umpan yang akan dipisahkan. Pembentukan nanokristal terjadi karena penggabungan dari ratusan atau ribuan molekul yang membentuk kristal, terdiri dari senyawa fisetin murni dengan penyalutan tipis dengan menggunakan polimer PVA.

G. Uji Disolusi

Pengukuran uji disolusi bertujuan untuk membandingkan kadar pelepasan dari fisetin murni dengan fisetin nanokristal. Hasil disolusi dapat dilihat pada peningkatan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang berbanding lurus dengan waktu. Disolusi fisetin nanokristal pada formula 12 dengan PVA 0,5% menunjukkan hasil yang lebih tinggi konsentrasinya di menit yang sama dengan fisetin murni. Hal tersebut menunjukkan bahwa menurunnya ukuran partikel dapat meningkatkan kadar pelepasan obat didalam tubuh. PVA mempunyai mekanisme *swelling* karena mudah membentuk serat, bila terdapat air akan memudahkan pengembangan, penghancuran obat dan pelepasan obat.



Gambar 18. Disolusi fisetin murni dan nanokristal

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan bahwa:

Pertama, fisetin nanokristal dapat dibuat menggunakan metode *bottom up* (presipitasi).

Kedua, penggunaan *stabilizer* HPMC dan PVA memberikan hasil ukuran partikel yang masuk *range* nanometer daripada menggunakan *stabilizer* lainnya.

Ketiga, fisetin nanosuspensi tidak stabil dalam proses penyimpanan.

Keempat, fisetin nanokristal mengalami perubahan ukuran partikel sehingga dapat mempercepat daya larut serta disolusi pelepasan obat didalam tubuh.

B. Saran

Penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan analisis dengan metode kombinasi untuk pembentukan nanokristal yang lebih kecil ukuran partikelnya.

Kedua, perlu dilakukan variasi kombinasi *stabilizer* untuk menelusuri stabilitas terbaik pada fisetin nanokristal.

Ketiga, perlu dilakukan penyimpanan bentuk nanokristal untuk mengetahui stabilitas dari nanokristal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahire, B. R., Rane B. R., Bakliwal S. R., Pawar S. P. (2007). Solubility Enhancement of Poorly Water Soluble Drug by Solid Dispersion Techniques. *International Journal of PharmThech Research*, 2, 3, 2007-2015
- Akaishi T., Maher P., and Abe K. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 103, 16568-16573.
- Alanazi F.K., El-Badry M., Ahmed M.O., Alsarra I.A. 2007. *Improvement of Albendazole Disolution by Preparing Microparticle Using Spray-drying Tehnique*. *Scientia Pharmaceutica (Sci.Pharm.)*. 75, 63-79.
- Anonim. 2014. *Farmakope Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ansel, HC., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oelh Farida Ibrahim, Asmanizar, Iis Aisyah, Edisi keempat, Jakarta, UI Press.
- Arai Y, Watanabe S, Kimira M, Shimoi K, Mochizuki R, Kinase N. 2000. *Dietary mitakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration*. *J Nutr*. 130(9):2243-2251
- Bird, T. (1987). *Kimia Fisikia Untuk Universitas*. Jakarta : PT Gramedia.
- Bothiraja C., Yojana B. D., Pawar A. P., Shaikh K. S., Thorat U. H. 2014. Fisetin-Loaded Nanocochleates: Formulation, Characterisation, In Vitro Anticancer Testing, Bioavailability and Biodistribution Study. *Original Research*. Bharati Vidyapeeth University Poone College of Pharmacy. Pane, Maharashtra. India
- Chen L., Wang Y., Zhang J., Hao L., Guo H., Lou H., Zhang D. 2014. Bexarotene nanocrystal Oral and parenteral formulation development, characterization and pharmacokinetic evaluation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*.
- Chen Y, Zhang GG, Neilly J, Marsh K, Mawhinney D, Sanzgiri YD, 2004. Enhancing the bioavailability of ABT-963 using solid dispersion containing Pluronic F-68. *International Journal of Pharmaceutics* 286: 69–80.
- Chen, H., Khemtong, C., Yang, X., Chang, X., Gao, J., 2011. *Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs*. *Drug Discov. Today* 16, 354-

360

- Dang, Y., Xie, Y., Duan, J.Z., Ma, P., Li, G.W., Ji, G., (2014) : *Quantitative Determination of Myricetin in Rat Plasma by Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry and its Absolute Bioavailability*. *Drug Res*, 64, 516–522.
- El-Gawad AH, Soliman OA, Shams MEE, Maria DN. 2014. *Formulation and In Vitro Evaluation of Loratadine Gels for Ophthalmic Use*. *RGUHS J Pharm Sci* 4.
- Frijlink, H. W., Eissens, A. C., Hefting, N. R., Poelstra, K., Lerk, C. F., & Meijer, D. K. (1991). *The Effect of Parenterally Administered CycBKextrins on Cholesterol Levels in The Rat*. *Pharm Res*, 8(1), 9–16.
- Gandjar Ig. & Rohman A. 2012. Analisis Obat secara Spektroskopi dan Kromatografi. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Ghosh, I., Bose, S., Vippagunta,RR., dan Harmon, F., (2011) : Nanosuspension for Improving the Bioavaibility of a Poorly Soluble Drug and Screening of Stabilizing Agent to Inhibit Crystall Growth, *Intenational Journal of Pharmeceutics*, **409**, 260-268.
- Gupta, R. B., U. B. Kompella (Eds.), 2006, *Nanoparticles Technology for Drug Delivery*, Taylor & Francis Group, New York, 1-130.
- Harmita. (2006). Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi. Jakarta: UI-Press. Hal 144-152.
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Fisetin#/media/File:Fisetin.svg>. diakses tanggal 05 Juli 2017 jam 20.30.
- https://en.wikipedia.org/wiki/Polyvinyl_alcohol diakses tanggal 05 Juli 2017 jam 21.00.
- Huda M. 2012. *Pembuatan Nanopartikel Lipid Padat untuk Meningkatkan Laju Disolusi Kurkumin* [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Inkielewicz-Stepniac I. and Czarnowski W. (2010) *Food Chem. Toxicol.*48, 1607-1611.
- Jie, L., dkk. 2003. *Polyvinyl Alcohol / Polyvinyl Pyrrolidone Interpenetrating polymer Network: Synthesis and Pervaporation Properties*, *Journal of Applied Polymer Science*. Vol.89, 2808-2814.
- Junghanns, A.H., dan Müller, R.H., (2008) : Nanocrystal Technology, Drug Delivery and Clinical Applications, *International Journal of Nanomedicines*, 3 (3), 295-309.

- Junyaprasert, V. B., & Morakul, B. (2015). Nanocrystals for Enhancement of Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 13-23.
- Keck, C.M., Muller, R.H, (2006) *Drug Nanocrystal of Poorly Soluble Drugs Produced by High Pressure Homogenization*. *Eur J Pharm Biopharm*, 62 (1) 3-16.
- Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., & Naguib, N.Y., 2007, Growth, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Some Medical Plants Grown under Organic Farming Condition, *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4): 451-457
- Leuner, C. & Jennifer, D. (2000). Review Article. Improving Drug Solubility for Oral Delivery Using Solid Dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 47-60
- Libo Wu, Zhang, J., dan Watanabe, W., (2011) : Physical and Chemical Stability of Drug Nanoparticles, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **63**, .456-469.
- Liu G., Zhang D., Jiao Y., Zheng D., Liu Y., Duan C., Jia L., Zhang Q., Lou H. 2012. Comparison of different methods for preparation of a stable riccardin D formulation via nano-technology. *International Journal of Pharmaceutics*.
- Liu, P., Rong, X., Laru, J., Veen, B. v., Kiesvaara, J., Hirvonen, J., . . .Peltonen, L. (2011). Nanosuspensions of poorly soluble drugs: Preparation and development by wet milling. *International Journal of Pharmaceutics*, 411 (1–2), 215–222.
- Mariana R. Guzzo., Miriam Uemi., Paulo M., Donate., Sofia Nikolaou., Antonio Eduardo H. Machado., and Laura T. Okano. 2006. Study of the complexation of fisetin with cyclodextrins. *Articles*.
- Martin, A., Bustamante, P., & Chun, A.H.C., 1993, *Physical Pharmacy*, 4th Ed., 324-361, Lea and Febiger, Philadelphia, London.
- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A. (1983). *Physical Pharmacy* 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger
- Mauludin, R., Muller, R.H., dan Keck, C.M., (2009) : Kinetic Solubility and Dissolution Velocity of Rutin Nanocrystal, *European Journal of Pharmaceutical Science*, 36, 502-510.
- Memisoglu -Bilensoy E, Dogan AL, Hincal AA, 2006.Cytotoxic evaluation of injectable cyclodextrin nanoparticles. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 58: 585–589.
- Mignet N., Seguin J., Ramos Romano M., Brulle L., Touil Y. S., Scerhman D.,

- Bessodes M., Chabot G. G. 2012. Development of a Liposomal Formulation of the Natural Flavonoid Fisetin, *International Journal of Pharmaceutics*.
- ML, Bai SW, Chen RH. 2008. Cavitation effects versus stretch effects resulted in different size and polydispersity of ionotropic gelation chitosan– sodium tripolyphosphate nanoparticle. *Carbohydrate Polymers* 71: 448– 457.
- Möschwitzer, J., & Müller, R. H. (2007). Drug Nanocrystals. The Universal Formulation Approach for Poorly Soluble Drugs. Dalam D. Thassu, M. Deleers, & Y. Pathak (Penyunt.), *Nanoparticulate Drug Delivery Systems*(hal. 74-76). London: InformaHealthcare.
- Mu, X., & Zhong, Z. (2006). Preparation and Properties of Poly(vinylalcohol)-Stabilized Liposomes. *Int J Pharm*, 318 (1–2), 55–61.
- Muller, R. H., Mader, K., & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 161-177.
- Müller, R.H., Moschwitzer, J., dan Bushrab, F.N., (2006) : *Manufacturing Nanoparticles by Milling and Homogenization Techniques*. Nanoparticles Technology for Drug Delivery, Taylor and Francis, New York, 21-46.
- Nireesha GR. Divya L, Sowmya C, Venkateshan N, Babu MN, Lavakuma V. Lyophilization/Freeze Drying An Review. *International Journal of novel Trends In Pharmaceutical Sciences*. 2013;3(4):2277-2782.
- Obara, S & Kokuba, H. (2008). *Application of HPMC and HPMCAS to Aqueous Film Coating of Pharmaceutical Dosages From* dalam McGinity, J.W dan Felton, L.A (ed). *Aqueous Polymeric Coating for Pharmaceutical Dosages Forms* (76). USA: Informa Healthcare USA, Inc. 281-285
- Olaharski A. J., Mondrala S. T., and Eastmond D. A. (2005) *Mutat. Res.*582, 79-86.
- Patel, Y., 2012, *Fast Dissolving Drug Delivery System: An Update*.
- Perwitasari F. L. R., Aminatun., S. Sumarsih. 2012. *Jurnal Karakterisasi Invitro dan Invivo komposit Alginat-Polivinil Alkohol-ZnO Nano sebagai Wound Dressing Antibakteri*: Universitas Airlangga.
- Peukert, W., Schwarzer, H.C., dan Stenger, W., (2005) : Control Aggregation in Production and Handling Nanoparticle, *Chem.Eng Process*, **44**, 245 – 252.
- Prasath Sriram G., Subramanian S. 2011. Fisetin, A. Bioflavonoid Ameliorates Hyperglycemia Ins Stz-Induced Experimental Diabetes In Rats, *Research*

Article, Department of Biochemistry, University of Madras, GUindy Campus, Chennai 600 025, India.

- Ragelle Heloise., Sylvie C. M., Johanne S., Denis B., Scherman D., Arnaud P., Chabot G. 2012. Nanoemulsion Formulation of Fisetin Improves Bioavailability and Antitumour Activity in Mice, *International Journal of Pharmaceutics*. Paris Descartes University. Faculty of Pharmacy.
- Rauhatun Napsah dan Iis Wahyuningsih. (2013). Preparasi Nanopartikel Kritosan TPP/ Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleriamacrocarpa* (scheff) Boerl) dengan Metode Gelasi Ionik. Yogyakarta: *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, Vol. 11No. 1, Mei 2014, hlm. 7-12. ISSN : 1693-5683.
- Rawat, M., D. Singh, S. Saraf, 2006, *Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs*, Biol. Pharm. Bull. 29(9) 1790-1798.
- Raygude KS, Kandhare AD, Ghosh P, Bodhankar SL. 2012. Anticonvulsant effect of fisetin by modulation of endogenous biomarkers. *Biomed & Prevent Nutr*. 2(3): 115-222.
- Respati SMB. 2008. Macam-Macam Mikroskop dan Cara Penggunaan. *Momentum* 4: 42-44.
- Ronson. 2012. *Zeta Potensial Analysis of Nanoparticles*. San Diego: Nano Composix
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., and Weller, P. J., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Six Edition, 48, 364-369, 679, London, Pharmaceutical Press.
- Rowe, R.C., Shesky, P.L, dan Owen, S.C. (ed). 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. (5th.ed). London : The Pharmaceutical Press and The American Pharmacists Association. 611-616.
- Ruan, L.P., Yu B.Y., Fu G.M., Zhu D.N. (2005). Improving the Solubility of Ampelopsin by Solid Dispersion and Inclusion Complex. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38, 457-464
- Salager, J.L. 2002, *Surfactants Type and Uses*, Universidad De Los Andes: Venezuela.
- Sengupta B., Banerjee A., & Sengupta P.K. (2005) *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*80, 79-86.
- Shalumon, K. T., Anulekha K. H., Nair S. V., Chennazhi. K. P., Jayakumar R. 2010. *Sodium Alginate / Poly(Vinyl Alcohol) / Nano ZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings*. Elsevier: *International Journal of Biological Macromolecules* 49 (2011) 247–254.

- Shargel L, Yu ABC, 2005. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan. Diterjemahkan oleh Fasich*, Surabaya : Airlangga University Press, hal. 86-87.
- Shegokar R, Muller RH. *Nanocrystal : industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives*. Int J Pharm. 2010, 399:222-235. 129-139
- Shi, J., (2002) : Steric Stabilization, Center for Industrial Sensor and Measurement Departement Materials Science and Engineering Group Inorganic, *Materials Science*, 1-13.
- Singh, R., & Lillard, J.W. (2009). *Experimental and Molecular Pathology*.(Vol. 86). Issue 3, 215-223.
- Sinko PJ. 2012. *Martin Farmasi Fisik dan Ilmu Farmasetika*. Jakarta: EGC. Hal 424 dan 586.
- Sinko, P. J. (2006). *Martin Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika* (Ed. 5) (Joshita & Amalia, Penerjemah.). Jakarta: EGC, 585-587
- Song Ju., Wang Y., Song Y., Chan H., Bi C., Yang X., Yan R., Wang Yi., Zheng Y. 2014. Development and Characterisation of Ursolic Acid Nanocrystals Without Stabiliser Having Improved Dissolution Rate and In Vitro Anticancer Activity. *Research Article*.
- Sulaiman TNS. 2007. *Teknologi dan Formulasi Sediaan Tablet*. Yogyakarta: Mitra Communications Indonesia.
- Tiyaboonchai W., 2003, Chitosan Nanoparticles: A Promising System for Drug Delivery, *Naresuan Univ. J.*, 11(3), 51-66.
- Van Eerdenbrugh, B., Van den Mooter, G., dan Augustijns, P., (2008) : *Top-down Production of Drug Nanocrystal : Nanosuspension Stabilization, Miniaturization and Transformation into Solid Product*, International Journal of Pharmaceutics, 364, 64-75.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Terjemahan Soendani Noerono. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. Hal 407 dan 423
- Volker, B. (2005). *Polyvinylpyrrolidone Excipients for pharmaceuticals Povidone, Crospovidone and Copovidone*. Berlin Heidelberg German: Springer-Verlag. 5-124
- Wanibesak E. 2011. Sistem Koloid. <http://wanibesak.wordpress.com/2011/05/30/system-koloid/> [2 Desember 2017].

- West, A. R. (1984). *Solid State Chemistry and Its Applications*. Singapore : John Wiley and Sons.
- Yao, Y., Lin, G., Xie, Y., Ma, P., Li, G., Meng, Q., Wu, T., (2013) : Preformulation Studies of Myricetin: a Natural Antioxidant Flavonoid, *Pharmazie* 69. 19-26
- Yen FL, Wu TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC. 2008. *Nanoparticles Formulation of Cuscuta Chinensis Prevents Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Rats*. *Food and Chemical Toxicology* 46:1771-1777.
- Zaheer. A., Naveen, M., Santosh, M.K., dan Imran, K.,(2011) : Solubility Enhancement of Poorly Water Soluble Drug : A Review, *International Journal of Pharmacy & Technology*, 3 (1), 807-823.
- Zakaria. (2003). Analisis Kandungan Mineral Magnetik pada Batuan Beku dari Daerah Istimewa Yogyakarta dengan Metode X-Ray Diffraction. *Skripsi*. Fakultas Keguruan Ilmu Pendidikan Universitas Haluoleo : Kendari.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Sertifikat analisis fisetin

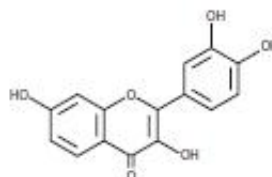
PRODUCT INFORMATION



Fisetin

Item No. 15246

CAS Registry No.: 528-48-3
 Formal Name: 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one
 Synonyms: CI-75620, NSC 407010, NSC 656275
 MF: $C_{15}H_{10}O_6$
 FW: 286.2
 Purity: $\geq 90\%$
 UV/Vis: λ_{max} : 207, 250, 320, 364 nm
 Supplied as: A crystalline solid
 Storage: -20°C
 Stability: As supplied, 2 years from the QC date provided on the Certificate of Analysis, when stored properly



Laboratory Procedures

Fisetin is supplied as a crystalline solid. A stock solution may be made by dissolving the fisetin in the solvent of choice. Fisetin is soluble in organic solvents such as ethanol, DMSO, and dimethyl formamide (DMF), which should be purged with an inert gas. The solubility of fisetin in ethanol is approximately 5 mg/ml and approximately 30 mg/ml in DMSO and DMF.

Fisetin is sparingly soluble in aqueous buffers. For maximum solubility in aqueous buffers, fisetin should first be dissolved in DMSO and then diluted with the aqueous buffer of choice. Fisetin has a solubility of approximately 0.5 mg/ml in a 1:1 solution of DMSO:PBS (pH 7.2) using this method. We do not recommend storing the aqueous solution for more than one day.

Description

Fisetin is a natural flavonol that is structurally and functionally related to kaempferol (Item No. 11852), myricetin (Item No. 10012600), and quercetin (Item No. 10005169). All are potent antioxidants and have anti-inflammatory actions with possible relevance to cancer.¹⁻³ Fisetin and other flavonols act as activators of sirutin 1, inhibitors of the spleen tyrosine kinase SYK, and suppressors of CD36 gene expression.⁴⁻⁶

References

1. van Acker, F.A.A., Schouten, O., Haenen, G.R.M.M., et al. *FEBS Lett.* 473, 145-148 (2000).
2. Duthie, G. and Morrison, P. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2012, 1-7 (2012).
3. Gupta, S.C., Kim, J.H., Prasad, S., et al. *Cancer Metastasis Rev.* 29(3), 405-434 (2010).
4. Szczepankiewicz, B.G. and Ng, P.Y. *Curr. Top. Med. Chem.* 8(17), 1533-1544 (2008).
5. Singh, R., Masuda, E.S., and Poyan, D.G. *J. Med. Chem.* 55(8), 3614-3643 (2012).
6. Lian, T.-W., Wang, L., Lo, Y.-H., et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1781, 601-609 (2008).

WARNING

THIS PRODUCT IS FOR RESEARCH ONLY - NOT FOR HUMAN OR VETERINARY DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE.

SAFETY DATA

This material should be considered hazardous until further information becomes available. Do not ingest, inhale, get in eyes, on skin, or on clothing. Wash thoroughly after handling. Before use, the user [must](#) review the [appropriate](#) Safety Data Sheet, which has been sent e-mail to your institution.

WARRANTY AND LIMITATION OF REMEDY

Buyer agrees to purchase this material subject to Cayman's Terms and Conditions. Complete Terms and Conditions including Warranty and Limitation of Liability information can be found on our website.

Copyright Cayman Chemical Company 03/22/2014

CAYMAN CHEMICAL

1180 EAST ELLSWORTH RD.
ANN ARBOR, MI 48108 - USA

PHONE: (800) 364-9897

[734] 971-3335

FAX: [734] 971-3640

CUSTOMER@CAYMANCHEM.COM

WWW.CAYMANCHEM.COM

Lampiran 2. Ukuran partikel pada *screening stabilizer*

Formula	ukuran partikel (nm)	indeks polidispersitas (PI)
Formula 11	410	0,204
Formula 12	406	0,22
Formula 16	846	0,201
Formula 17	782	0,294

Lampiran 3. Zeta Potensial Fisetin + PVA 0,5%

2017.12.14 10:48:05

HORIBA
Scientific
SZ-100

HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.20

Measurement Results

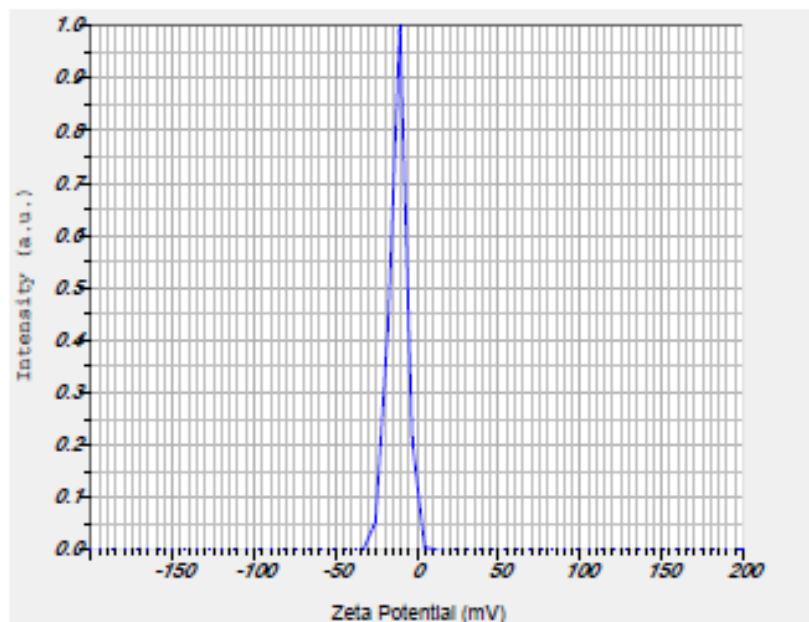
Measurement Results

Date : 14 Desember 2017 10:44:26
 Measurement Type : Zeta Potential
 Sample Name : Fisetin+PVA
 Temperature of the Holder : 25.0 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.894 mPa·s
 Conductivity : 0.358 mS/cm
 Electrode Voltage : 3.3 V

Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	-12.0 mV	-0.000093 cm ² /Vs
2	-- mV	-- cm ² /Vs
3	-- mV	-- cm ² /Vs

Zeta Potential (Mean) : -12.0 mV
 Electrophoretic Mobility Mean : -0.000093 cm²/Vs



Exploit the Future

Automation, Int. Systems, Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific

HORIBA

Lampiran 4. Nanosuspensi sebelum di liofilisasi

Lampiran 5. Nanosuspensi setelah di liofilisasi

Keterangan :

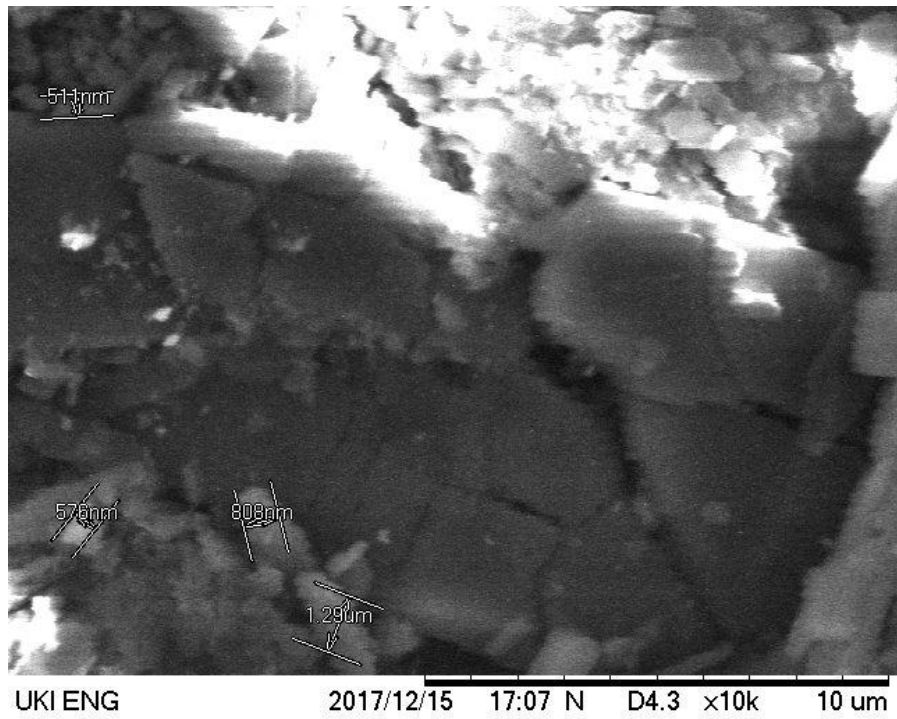
A : Nanokristal Formula 16 (HPMC 0,25%)

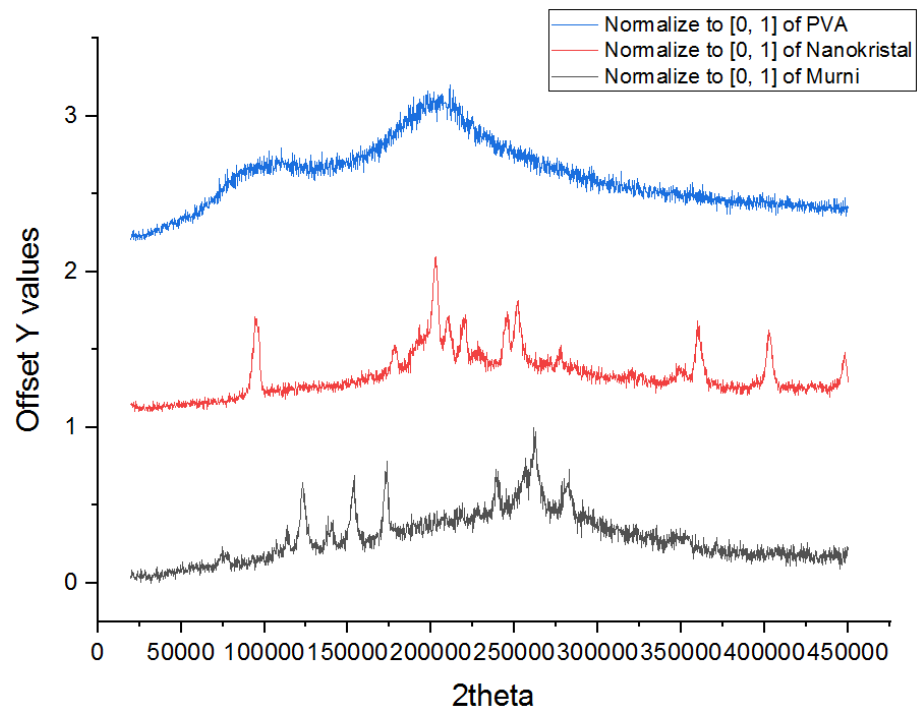
B : Nanokristal Formula 12 (PVA 0,5%)

Lampiran 6. Nanosuspensi pada saat penyimpanan

Lampiran 7. Ukuran dan distribusi partikel nanosuspensi setelah penyimpanan

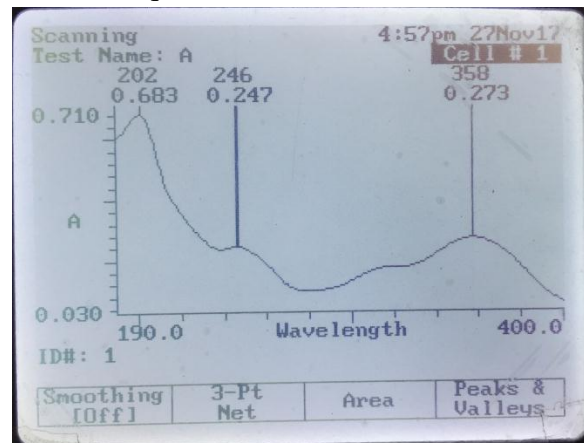
No	Sampel	Ukuran partikel (nm)	Indeks polidispersitas
1	FISETIN + PVA 0,5%	791,7	1,63
2	FISETIN + PVA 0,25%	2373,1	0,935
3	FISETIN + PHARMACOAT 0,5%	97,8	4,15
4	FISETIN + PHARMACOAT 0,25%	875,8	5,366

Lampiran 8. Hasil *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

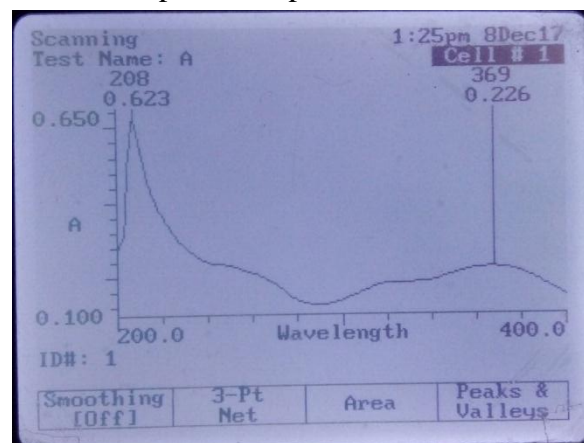
Lampiran 9. X-ray Diffraction (XRD)

Lampiran 10. Pembuatan kurva kalibrasi dan validasi metode

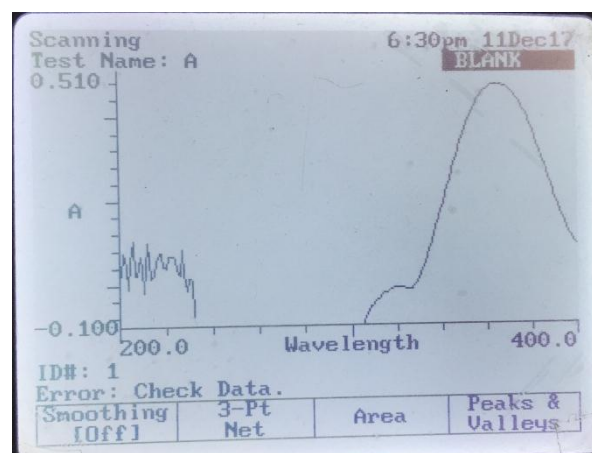
1. Penentuan panjang gelombang
 - a. Medium aquadest



- b. Medium dapar fosfat pH 7,4



- c. Medium etanol



Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari scanning fisetin dengan medium aquadest, dapar fosfat 7,4, dan etanol diperoleh panjang

gelombang maksimum sebesar 358 nm, 369 nm, dan 366 nm dengan serapan 0,273, 0,369, dan 0,482.

2. Tabel kurva baku
a. Medium aquadest

Kadar (ppm)	arborbansi
14	0,712
12	0,605
8	0,385
4	0,288

Persamaan regresi linier antara konsentrasi (ppm) dan serapan diperoleh:

$$a = 0,086102$$

$$b = 0,043305$$

$$r = 0,9996$$

$$y = 0,043305x + 0,086102$$

- b. Medium dapar fosfat pH 7,4

Kadar (ppm)	arborbansi
10	0,734
8	0,590
6	0,430
4	0,284

Persamaan regresi linier antara konsentrasi (ppm) dan serapan diperoleh:

$$a = -0,0190$$

$$b = 0,0755$$

$$r = 0,9998$$

$$y = 0,0755x - 0,0190$$

- c. Medium etanol

Kadar (ppm)	absorbansi
10	0,780
8	0,633
6	0,461
4	0,289

Persamaan regresi linier antara konsentrasi (ppm) dan serapan diperoleh:

$$a = -0,035$$

$$b = 0,0823$$

$$r = 0,9986$$

$$y = 0,0823x - 0,035$$

keterangan:

x = konsentrasi (ppm)

y = serapan

3. Penentuan LOD dan LOQ

a. Medium aquadest

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	Y'	y-y'	y-y' ²
14,00	0,7120	0,6924	0,0196	0,0003
12,00	0,6050	0,6058	-0,0008	0,0000
8,00	0,3850	0,4325	-0,0475	0,0023
4,00	0,2880	0,2593	0,0287	0,0008
jumlah total ($\sum y - \hat{y} ^2$)				0,0034

Nilai \hat{y} diperoleh dari substitusi konsentrasi dalam persamaan $y = 0,0433x - 0,0861$ dengan x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah serapan (\hat{y})

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{\sum|y - \hat{y}|^2}{N-2}}$$

$S_{x/y}$ = simpangan baku residual,

N = jumlah data

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

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{0,00347}{4-2}} = 0,041653$$

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

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

$$\text{LOD} = 3,3 \times \frac{0,041653}{0,043305} = 3,1741115 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{0,041653}{0,043305}$$

$$\text{LOD} = 3,173448 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 9,61852 \text{ ppm}$$

$$y = (3,173448 \times 0,043305) + 0,086102$$

$$y = (9,61852 \times 0,043305) + 0,086102$$

$$\text{Serapan LOD} = 0,223528$$

$$\text{Serapan LOQ} = 0,502632$$

b. Medium dapar fosfat pH7,4

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	Y'	y-y'	y-y' ²
10	0,734	0,736	-0,00200	0,00000
8	0,590	0,585	0,00500	0,00003
6	0,430	0,434	-0,00400	0,00002
4	0,284	0,283	0,00100	0,00000
jumlah total ($\sum y- \hat{y} ^2$)				0,00005

Nilai \hat{y} diperoleh dari substitusi konsentrasi dalam persamaan $y = 0,0755x - 0,019$

dengan x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah serapan (\hat{y})

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{\sum|y- \hat{y}|^2}{N-2}}$$

$S_{x/y}$ = simpangan baku residual,

N = jumlah data

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

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{0,00005}{4-2}} = 0,005$$

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

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

$$\text{LOD} = 3,3 \times \frac{0,005}{0,0755} = 0,218543 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{0,005}{0,0755}$$

$$\text{LOD} = 0,218543 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 0,66225 \text{ ppm}$$

$$y = (0,218543 \times 0,0755) - 0,019$$

$$y = (0,5547 \times 0,0755) - 0,019$$

$$\text{Serapan LOD} = -0,00250$$

$$\text{Serapan LOQ} = 0,02287985$$

Medium etanol

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	Y'	y-y'	y-y' ²
10,00	0,78000	0,7875	-0,00750	0,00006
8,00	0,63300	0,623	0,01000	0,00010
6,00	0,46100	0,4585	0,00250	0,00001
4,00	0,28900	0,294	-0,00500	0,00003
jumlah total ($\sum y- \hat{y} ^2$)				0,00019

Nilai \hat{y} diperoleh dari substitusi konsentrasi dalam persamaan $y = 0,08225x - 0,035$

dengan x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah serapan (\hat{y})

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{\sum|y- \hat{y}|^2}{N-2}}$$

$S_{x/y}$ = simpangan baku residual,

N = jumlah data

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

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{0,00019}{4-2}} = 0,00974679$$

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

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

$$\text{LOD} = 3,3 \times \frac{0,00974679}{0,08225} = 0,39105662 \text{ ppm} \quad \text{LOQ} = 10 \times \frac{0,00974679}{0,08225} = 1,185020$$

$$\text{LOD} = 0,39105662 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = 1,185020 \text{ ppm}$$

$$y = (1,820557 \times 0,08225) - 0,035$$

$$y = (1,185020 \times 0,08225) - 0,035$$

$$\text{Serapan LOD} = 0,11474$$

$$\text{Serapan LOQ} = 0,06246789$$

Lampiran 11. Kesetaraan Konsentrasi

$$Y = 0,0755x - 0,019$$

Konsentrasi	Absorbansi	Faktor Pengenceran	Volume	Kadar (mg)
200 ppm	0,456	5	10 ml	0,298

Keterangan :

Perhitungan kadar fisetin nanokristal $[(y + 0,035)/0,08225/1000] \times fp (5) \times$
Volume pembuatan (10ml)

Perhitungan : $[(0,456 + 0,035)/0,08225/1000] \times 5 \times 10 \text{ ml} = 0,298 \text{ mg}$

10 mg fisetin nanokristal setara dengan 0,298 mg fisetin murni

335,57 mg fisetin nanokristal setara dengan 10 mg fisetin murni

Lampiran 12. Uji hasil kelarutan fisetin nanokristal dengan fisetin murni

PERHITUNGAN KELARUTAN OBAT

Murni

hari ke-	absorbansi	fp	volume pembuatan	kadar (ppm)	kadar (mg)
1	0,21	5	100	23,0805	2,3080
2	0,261	5	100	27,8558	2,7856
3	0,336	5	100	34,8783	3,4878
4	0,340	5	100	35,2528	3,5253

Formula 17

hari ke-	absorbansi	fp	volume pembuatan	kadar (ppm)	kadar (mg)
1	0,401	5	100	40,9644	4,0964
2	0,41	5	100	41,8071	4,1807
3	0,422	5	100	42,9307	4,2931
4	0,425	5	100	43,2116	4,3212

*Keterangan:

Perhitungan kadar fisetin nanokristal = $\frac{\text{Perhitungan kadar fisetin nanokristal} - (x - 0,0861)}{0,043305/1000} \times \text{faktor pengenceran (5)} \times \text{volume pembuatan (100ml)}$

Lampiran 13. Uji disolusi

a. Fisetin murni

waktu (menit)	serapan	fp	kadar sampel (ppm)	jumlah (mg)	koreksi (mg)	total koreksi (mg)	terdisolusi (mg)	disolusi (%)
5	0,135	1	2,0397	1,0199	0,0000	0,0000	1,0199	10,1987
10	0,217	1	3,1258	1,5629	0,0204	0,0204	1,5833	15,8331
15	0,226	1	3,2450	1,6225	0,0313	0,0517	1,6742	16,7417
20	0,240	1	3,4305	1,7152	0,0325	0,0841	1,7993	17,9934
30	0,261	1	3,7086	1,8543	0,0343	0,1184	1,9727	19,7272
45	0,265	1	3,7616	1,8808	0,0371	0,1555	2,0363	20,3629
60	0,281	1	3,9735	1,9868	0,0376	0,1931	2,1799	21,7987

b. Fisetin nanokristal

waktu (menit)	serapan	fp	kadar sampel (ppm)	jumlah (mg)	koreksi (mg)	total koreksi (mg)	terdisolusi (mg)	disolusi (%)
5	0,201	1	2,9139	1,4570	0,0000	0,0000	1,4570	14,5695
10	0,213	1	3,0728	1,5364	0,0291	0,0291	1,5656	15,6556
15	0,236	1	3,3775	1,6887	0,0307	0,0599	1,7486	17,4861
20	0,252	1	3,5894	1,7947	0,0338	0,0936	1,8883	18,8834
30	0,275	1	3,8940	1,9470	0,0359	0,1295	2,0766	20,7656
45	0,290	1	4,0927	2,0464	0,0389	0,1685	2,2148	22,1483
60	0,315	1	4,4238	2,2119	0,0409	0,2094	2,4213	24,2132

Keterangan :

- fp = faktor pengenceran sampel
- kadar sampel = kadarketoprofen dalam sampel ($\mu\text{g/ml}$)
- kadar = kadar ketoprofen dalam larutan disolusi ($\mu\text{g/ml}$)
- jumlah = banyaknya ketoprofen dalam medium disolusi (900 ml)
- koreksi = jumlah ketoprofen dalam cuplikan sampel (mg)
- total koreksi = jumlah kumulatif koreksi (mg)
- terdisolusi = jumlah obat yang terlarut (mg)
- % disolusi = persentase jumlah obat yang terlarut (%)

Lampiran 14. Contoh perhitungan uji disolusi

Keterangan :

X	= Kadar ketoprofen ($\mu\text{g/ml}$)
A	= Serapan sampel
Fp	= Faktor pengenceran
W	= Jumlah obat yang terdisolusi (mg)
Medium disolusi	= 500 ml dapar fosfat pH 7,4
Volume sampling	= 5 ml
K	= Koreksi (mg)
W_{n-1}	= jumlah obat terdisolusi pada pengambilan sampling sebelumnya (mg)
TKW	= Total koreksi (mg)
TKW_{n-1}	= total koreksi pada sampling sebelumnya (mg)
Wtot	= jumlah obat yang terdisolusi total (mg)
% W	= persen disolusi (%)

Kandungan fisetin 10 mg

Waktu (menit)	Serapan	Faktor pengenceran
5	0,135	1
10	0,217	1
15	0,226	1
20	0,240	1
30	0,261	1
45	0,265	1
60	0,281	1

Kadar fisetin dapat dihitung dengan menggunakan persamaan kurva baku fisetin dalam medium dapar fosfat pH 7,4 sebagai berikut :

$$X = \frac{(A+0,019)}{0,0755} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$W = X \times \text{Volume medium disolusi}$$

$$K = \frac{\text{Volume sampling}}{\text{volume medium disolusi}} \times W_{n-1}$$

$$TKW = TKW_{n-1} + K$$

$$W_{tot} = TKW + W$$

$$\% W = \frac{W_{tot}}{\text{Kandungan fisetin}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan :

$$X_5 = \frac{(0,135+0,019)}{0,0755} \times 1 = 2,0397 \text{ ppm}$$

$$W_5 = 2,0397 \times 500 \text{ ml}$$

$$K_5 = 0$$

$$Q = 1,02 \text{ mg} + 0 = 1,02 \text{ mg}$$

$$TKW = 0$$

$$\% W = \frac{1,02 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 100\% = 10,20\%$$