

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI Fisetin NIOSOM DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS - SONIKASI**



Oleh :

**Kiki Permatasari
20144320A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI Fisetin NIOSOM DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS - SONIKASI**

SKRIPSI



*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Kiki Permatasari
20144320A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI Fisetin NIOSOM DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS - SONIKASI**

Oleh :
Kiki Permatasari

20144320A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 20 April 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Nur Aini Dewi P, M.Sc., Apt
Penguji :

1. Siti Aisyah, M. Sc., Apt
2. Hery Muhamad Ansory, S. Pd., M. Sc
3. Anita Nilawati, M. Farm., Apt
4. Muhammad Dzakwan, M. Si., Apt

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucap syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya hingga terselesaikan skripsi ini, kupersembahkan untuk :

- ❖ Allah SWT yang telah memberi anugrah di hidupku dan senantiasa mencurahkan nikmat serta hidayah-Nya.
- ❖ Rasulullah SAW semoga shalawat dan salam selalu tercurah kepada Beliau Nabi Muhammad SAW, keluarga serta sahabat.
- ❖ Bapak dan Ibu tercinta yang telah memberikan semuanya, doa, kasih sayang, cinta, pengorbanan, dukungan, dan kebahagiaan yang begitu indah dalam hidupku. Semoga Allah selalu melimpahkan berjuta kenikmatan yang tiada henti kepada Bapak dan Ibu.
- ❖ Kakak ku tercinta Mbak Tari, Mbak Wati dan Mbak Sari yang telah menjadi pendukungku selama ini.
- ❖ Dosen-dosen Universitas Setia Budi yang selalu memberi ilmu yang diajarkan kepada saya dengan ikhlas.
- ❖ Untuk Ade Al Faruq yang selalu ada mencurahkan motivasi semangat, menemani di saat senang atau susah serta mendukungku untuk menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu.
- ❖ Teman-teman seperjuanganku Leli, Dinda, Ratih, Sista, Via, Yuliani serta semua teman dekat yang selalu memberikan dukungan setiap saat yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
- ❖ Teman-teman FST-OA 2017. Dhenis, Diah, Hilda, Desi, Sekar, Ve, Hadi, Alka, Rifky dan semuanya yang selalu mendukung dan memberikan motivasi, kalian luar biasa.
- ❖ Teman-teman kos Bhineka Putri yang selalu menghiburku.
- ❖ Almamater Universitas Setia Budi tercinta.

MOTTO

“Memang sangat menyenangkan saat semua orang disekitar kita menyukai kita. Namun tidak perlu terlalu memikirkan mengenai orang lain yang tidak suka kepada kita. Karena pada hakikatnya kita tidak mungkin bisa membuat semua orang senang. Malah seringkali apabila kita berusaha membuat oranglain senang, kita tidak bisa menjadi diri kita sendiri”

“Manusia itu mungkin atau tidak mungkin mengatakan apa yang mereka maksudkan, tapi mereka selalu mengatakan sesuatu yang dirancang untuk mendapatkan apa yang mereka inginkan”

“Alam itu indah, tetapi ia tidak menceritakan kepada setiap orang yang memandangnya”

“Jangan terlalu sering memandang senja yang kemarin, karena senja hari ini dan esok jauh lebih penting”

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, 20 April 2018



Kiki Permatasari

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 NIOSOM DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS - SONIKASI”** 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 SWT 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. Nur Aini Dewi P, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. 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, 20 April 2018

Kiki Permatasari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Sistem Penghantaran Obat	5
B. Liposom	7
1. Bentuk-Bentuk Liposom	9
1.1 Vesikel Multilamellar (<i>Multilamellar Vesicle, MLV</i>)	9
1.2 Vesikel Unilamellar Kecil (<i>Small Unilamellar Vesicles, SUV</i>).....	10
1.3 Vesikel Unilamellar Besar (<i>Large Unilamellar Vesicles, LUV</i>).....	10
C. Niosom.....	10
1. Kelebihan Niosom	11
2. Rute Pemberian Niosom	12
3. Metode Pembuatan Niosom	13
3.1 Tehnik Penjerapan Pasif.....	13
3.2 Hidrasi Lapis Tipis.....	13

3.3	Injeksi Eter.....	13
3.4	Penguapan Fase Balik.	13
3.5	Ekstruksi Beberapa Membran.....	13
3.6	Mikrofluidisasi.....	14
3.7	Sonikasi.	14
3.8	Metode Gelembung.....	14
3.9	Teknik Penjerapan Aktif.	14
3.10	Gradien pH.	14
4.	Monografi bahan.....	15
4.1	Span 60.....	15
3.2	Kolesterol.....	17
3.3	Etanol.	18
3.4	Kloroform.....	18
3.5	<i>Phosphate Buffered Saline (PBS)</i>	18
D.	Fisetin.....	19
E.	Karakterisasi Niosom.....	20
1.	Ukuran Partikel.....	20
2.	Potensial Zeta.....	21
3.	Analisis Morfologi Nanopartikel.....	21
4.	Efisiensi Penjerapan.....	22
4.1	Dialisis.....	22
4.2	<i>Gel Filtration</i>	22
4.3	Sentrifugasi.....	22
F.	Landasan Teori.....	23
G.	Hipotesis.....	25
 BAB III METODE PENELITIAN.....		26
A.	Populasi dan Sampel.....	26
B.	Variabel Penelitian.....	26
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	26
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	26
3.	Definisi Operasional Variabel Utama.....	27
C.	Alat dan Bahan.....	27
1.	Alat.....	27
2.	Bahan.....	27
D.	Jalannya Penelitian.....	28
1.	Pembuatan Fisetin Niosom.....	28
2.	Karakterisasi Fisetin Niosom.....	28
2.1	Analisis Ukuran Partikel.....	28
2.2	Kurva kalibrasi.....	28
2.3	Efisiensi Penjerapan.....	29
2.5	Pengujian Morfologi Nanopartikel.....	30
2.6	Uji Stabilitas Fisetin Niosom Setelah Penyimpanan.....	30
E.	Analisis Hasil.....	31
F.	Skema Jalannya Penelitian.....	32

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A.	Pembuatan Fisetin Niosom	33
B.	Karakterisasi Fisetin Niosom	35
1.	Analisis Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel	35
2.	Pembuatan Kurva Kalibrasi	39
2.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	39
2.2	Penentuan <i>Operating Time</i>	39
2.3	Kurva Kalibrasi	40
3.	Efisiensi Penjerapan	42
4.	Morfologi Fisetin Niosom	44
5.	Uji Stabilitas Fisetin Niosom Setelah Penyimpanan	46
5.1	Pengamatan Secara Visual	46
5.2	Analisis Ukuran dan Distribusi Partikel Sebelum dan Setelah Penyimpanan	46
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	50
A.	Kesimpulan	50
B.	Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Liposom (Batist 2001)	7
Gambar 2. Struktur Niosom (Wagh 2010).....	11
Gambar 3. Struktur kimia Span 60 (Rowe <i>et al.</i> 2010)	15
Gambar 4. Struktur kimia kolesterol (Wagh 2010)	17
Gambar 5. Struktur kimia fisetin (Ragelle <i>et al.</i> 2012)	19
Gambar 6. Skema jalannya penelitian.	32
Gambar 7. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 1	36
Gambar 8. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 2	37
Gambar 9. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 3	37
Gambar 10. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 4	37
Gambar 11. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 5	38
Gambar 12. Grafik hubungan antara konsentrasi fisetin dengan absorbansi.....	40
Gambar 13. Efisiensi penjerapan fisetin niosom.....	44
Gambar 14. Morfologi fisetin niosom menggunakan TEM dengan perbesaran 40.000 kali.....	45
Gambar 15. Grafik ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.	47
Gambar 16. Mekanisme <i>oswald ripening</i> (Wu 2010)	48
Gambar 17. Grafik potensial zeta setelah penyimpanan	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan konsentrasi Surfaktan–Kolesterol pada pembuatan fisetin niosom	28
Tabel 2. Hasil pengukuran ukuran partikel.....	36
Tabel 3. Hasil penentuan kurva baku fisetin.....	40
Tabel 4. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin	41
Tabel 5. Efisiensi penjerapan fisetin niosom	42
Tabel 6. Stabilitas fisetin nanosuspensi pada suhu kamar	46
Tabel 7. Ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan	47
Tabel 8. Nilai potensial zeta setelah penyimpanan	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat Analisis Fisetin	60
Lampiran 2. Alat – Alat Yang Digunakan Dalam Praktikum	61
Lampiran 3. Fisetin Niosom Sebelum Di Sonikasi	63
Lampiran 4. Fisetin Niosom Setelah Di Sonikasi.....	64
Lampiran 5. Fisetin Niosom Setelah Uji Stabilitas	65
Lampiran 6. Fisetin Niosom Setelah Di Sentrifugasi	66
Lampiran 7. Ukuran Partikel	67
Lampiran 8. Pembuatan Kurva Kalibrasi Dan Validasi Metode	73
Lampiran 9. Efisiensi Penjerapan	77
Lampiran 10. Hasil Morfologi Fisetin Niosom	80
Lampiran 11. Ukuran Dan Distribusi Partikel Fisetin Niosom Setelah Penyimpanan.....	81
Lampiran 12. Potensial Zeta F5 Setelah Penyimpanan	83

INTISARI

PERMATASARI, K, 2018, FORMULASI DAN KARAKTERISASI Fisetin NIOSOM DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS - SONIKASI, 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 (*Biopharmaceutis Classification System*) kelas-II. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah fisetin dapat diformulasikan menjadi niosom, mengetahui pengaruh konsentrasi surfaktan non ionik span 60 dan kolesterol terhadap ukuran partikel dan penjerapan fisetin, melihat morfologi serta mengetahui apakah fisetin niosom stabil selama proses penyimpanan.

Penelitian ini menggunakan lima formula dengan kandungan fisetin, surfaktan span 60 dan kolesterol 150:100:200 ; 150:150:200 ; 150:200:200 ; 150:200:150 dan 150:200:100 mg. Fisetin niosom dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis yang di kombinasi dengan sonikasi. Formula yang terpilih dilakukan karakterisasi morfologi ukuran partikel, efisiensi penjerapan dan uji stabilitas.

Hasil penelitian bahwa fisetin dapat dibuat niosom dengan metode hidrasi lapis tipis yang dikombinasi dengan sonikasi. Karakterisasi fisetin niosom menghasilkan ukuran partikel rata-rata pada F1, F2, F3, F4 dan F5 berturut-turut sebesar yaitu 148,1; 169,6; 128,6; 187,1 dan 120,6 nm. Efisiensi penjerapan kelima formula niosom yang dihasilkan berturut-turut adalah 91,5604 %; 92,3937%; 93,8792 %; 96,0290 % dan 97,3695 %. Pada uji TEM dan uji stabilitas hanya dilakukan pada F5, terlihat niosom berbentuk iregular dan ukuran partikel setelah penyimpanan sebesar 177,8 nm serta zeta potensial sebesar -28,8 mV yang berarti fisetin niosom cukup stabil selama proses penyimpanan.

Kata kunci: Fisetin, Niosom, Hidrasi Lapis Tipis, Sonikasi, Span 60, Kolesterol, TEM

ABSTRACT

PERMATASARI, K., 2018, FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF NIOSOM FISETIN WITH THIN LAYER HYDRATION-SONICATION METHOD, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Fisetin known as Natural Brown is an important bioactive plant flavonoids as a potent therapeutic drug for antihyperlipidemic, antioxidant, antiinflammatory, and antidiabetic diseases. Fisetin is classified into BCS (Biopharmaceutics Classification System) class II. This study aims to determine whether fisetin can be formulated into niosomes, to determine the effect of non-ionic surfactant concentrations of span 60 and cholesterol on particle size and fisetine absorption, to see morphology and to determine whether fisetin niosom is stable during the storage process.

This study used five formulas with fisetin content, surfactant span 60 and cholesterol 150: 100: 200; 150: 150: 200; 150: 200: 200; 150: 200: 150 and 150: 200: 100 mg. Fisetin niosomes are prepared by a thin layer hydration method in combination with sonication. Selected formulas are characterized by particle size morphology, application efficiency and stability test.

The result showed that fisetin can be made niosome with thin layer hydration method combined with sonication. The characterization of the niosome fisetin resulted in average particle size in F1, F2, F3, F4 and F5 respectively of 148.1; 169.6; 128.6; 187.1 and 120.6 nm. The efficiency of adsorption of the five niosomes formulations produced is 91,5604 %; 92,3937%; 93,8792 %; 96,0290 % dan 97,3695 %. In the TEM test and the stability test is only performed on F5, the niosome is irregularly shaped and the particle size after storage is 177.8 nm and the zeta potential is -28.8 mV which means fisetin niosome is quite stable during the storage process.

Keywords: Fisetin, Niosom, Thin Layer Hydration, Sonication, Span 60, Cholesterol, TEM

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kesehatan merupakan masalah yang cukup serius di Indonesia, misalnya penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel. Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sehingga usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus menerus dalam tubuh, dan menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Jumlah radikal bebas yang melebihi kapasitas tubuh akan membentuk stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan dan organ (Vierkotter *et al.* 2009).

Salah satu alternatif antioksidan alami yang cukup potensial adalah fisetin. Fisetin terutama ditemukan pada buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan dan anggur (Arai *et al.* 2000; Kimira *et al.* 1998). Fisetin diketahui sebagai senyawa flavonoid dengan beragam aktifitas yaitu berguna sebagai antioksidan alami, antiinflamasi, antialergi, antikanker, kardioprotektif (Prozhazcova *et al.* 2011), sebagai antiaterosklerosis, antiaging dan menurunkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam plasma (Hu Jun *et al.* 2013). Beberapa penelitian telah menunjukkan sifat sitotoksik dan apoptosis *in vitro* dari fisetin (Jang *et al.* 2012; Lee *et al.* 2009; Suh *et al.* 2009; Syed *et al.* 2011; Yang *et al.* 2012; Ying *et al.* 2012). Aktivitas antiangiogenik fisetin juga telah didokumentasikan secara *in vitro* dan *in vivo* pada tikus (Bhat *et al.* 2012; Fotsis *et al.* 1997; Touil *et al.* 2011b).

Penggunaan fisetin sebagai senyawa aktif obat yang siap digunakan masih sangat sedikit karena masalah senyawa aktif dalam obat memiliki availabilitas

yang rendah, untuk itu diperlukan suatu sistem pembawa yang cocok. Salah satu pendekatan untuk masalah ini adalah menggunakan vesikel yang sudah populer yaitu liposom. Liposom multilamellar dapat digunakan untuk penghantar obat hidrofilik atau hidrofobik yang dapat memisah ke fase minyak dan vesikel unilamellar dapat digunakan untuk menjerap obat larut air pada ruang dalam molekul cairan (Jufri 2004). Ketersediaan farmasetik berhubungan dengan *Biopharmaceutics Classification System* (BCS). Obat 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 & Yu 2005).

Cara yang telah dilakukan untuk meningkatkan bioavailabilitas fisetin seperti pembuatan liposom (Mignet *et al.* 2012), nanokelat (Bothiraja *et al.* 2014), nanoemulsi (Ragelle *et al.* 2012) dan kompleks inklusi β -siklodektrin (Jufri 2004). Penggunaan *carrier* seperti cyclodextrin dan liposom untuk peningkatan kelarutan dan laju disolusi fisetin, namun penggunaan 2 *carrier* ini dapat meningkatkan resiko nefrotoksisitas dan ketidakstabilan selama penyimpanan (Frijlink *et al.* 1991; Mu & Zhong 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).

Sistem penghantaran obat terbaru atau *Novel Drug Delivery Sistem* (NDDS) memiliki perhatian yang luas tentang obat yang diformulasikan untuk beberapa penyakit. Penghantaran obat merupakan pembahasan yang lebih banyak membahas tentang pembawa, rute dan target obat. Penghantaran obat telah berkembang menjadi strategi penghantaran obat yang diformulasikan untuk meningkatkan efek terapeutik melalui pelepasan terkontrol dan juga dapat meningkatkan bioavailabilitas dan indeks terapeutik. Beberapa macam pendekatan pada sistem penghantaran obat yang digunakan untuk pelepasan obat berukuran nano hingga ukuran mikron yang tidak mampu dilihat secara kasat mata mencakup liposom, nanokapsul, nanopartikel, mikrokapsul dan niosom (Ravichandran 2009).

Modifikasi formulasi liposom telah dilakukan untuk mendapatkan vesikel yang memiliki stabilitas yang lebih tinggi serta toksisitas yang lebih rendah. Salah satu alternatif yang dianjurkan adalah dengan memformulasi niosom sebagai penghantar obat. Niosom adalah sistem vesikel yang mirip dengan liposom dan dapat digunakan sebagai pembawa obat ampifilik dan lipofilik. Vesikel jenis ini memiliki stabilitas kimia yang lebih baik, relatif membutuhkan biaya bahan yang lebih murah untuk menyiapkan niosom, sehingga menarik untuk diproduksi baik dalam bidang farmasi ataupun kosmetik. Niosom dapat mengalami biodegradasi dan tidak toksik sehingga merupakan pembawa yang baik untuk perantara pada target terapeutik dan menurunkan toksisitas sistemik. Niosom mempunyai struktur bilayer yang dapat menjebak senyawa hidrofilik, lipofilik, dan ampifilik (Carafa *et al.* 2004).

Struktur niosom cukup stabil, tidak memerlukan kondisi khusus seperti suhu rendah atau suasana *inert* untuk perlindungan atau penyimpanan, menurunkan efek samping, memperpanjang waktu sirkulasi, mempercepat pengambilan obat terjerap pada sisi target dan meningkatkan penetrasi dari senyawa yang terjerap melintasi kulit (Manusroi 2003) dan biaya bahan pembuatnya relatif rendah sehingga sesuai untuk pembuatan di industri (Biju *et al.* 2006). Bentuk vesikel niosom merupakan struktur bilayer baik unilamellar maupun multilamellar tersusun dari surfaktan non ionik yang stabil secara kimia misalnya sorbitan ester (span) dan kolesterol yang berfungsi sebagai bahan penstabil. Aplikasi sistem vesikular yang mengandung surfaktan non ionik dan lipid memiliki beberapa keuntungan pada aspek terapeutik. Surfaktan pada sistem vesikel dapat berperan sebagai *enhancer*, sehingga dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif untuk tujuan transdermal. Pada beberapa penelitian yang sudah dilakukan, dipilih surfaktan non ionik span 20 karena diketahui memberikan hasil niosom dengan efisiensi penjejakan yang cukup tinggi (Kapoor *et al.* 2011).

B. Rumusan Masalah

Permasalahan yang timbul dari uraian di atas adalah :

1. Apakah fisetin dapat diformulasi menjadi niosom dengan menggunakan metode kombinasi Hidrasi Lapis Tipis – Sonikasi ?

2. Bagaimana pengaruh konsentrasi surfaktan non ionik span 60 dan kolesterol terhadap ukuran dan penjerapan fisetin niosom ?
3. Bagaimana karakterisasi fisetin niosom ?
4. Apakah fisetin niosom stabil selama proses penyimpanan ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Memformulasi fisetin menjadi niosom dengan menggunakan metode kombinasi Hidrasi Lapis Tipis - Sonikasi.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi surfaktan non ionik span 60 dan kolesterol terhadap ukuran dan penjerapan fisetin niosom.
3. Mengetahui karakterisasi fisetin niosom.
4. Mengetahui stabilitas fisetin niosom selama proses penyimpanan.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi tambahan informasi, ilmu pengetahuan dan pengembangan niosom dengan metode hidrasi lapis tipis yang dikombinasi dengan sonikasi untuk mengembangkan niosom sebagai sistem penghantaran obat terbaru atau *Novel Drug Delivery Sistem* (NDDS) untuk fisetin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sistem Penghantaran Obat

Obat merupakan senyawa yang mengalami metabolisme dalam tubuh. Obat tidak dapat bereaksi secara efektif kecuali apabila sampai pada tempat kerja (reseptor) dengan waktu yang sesuai. Dosis obat menjadi penentu efektifitas dari suatu pengobatan tanpa memperhatikan secara klinik efektifitas obat dan pengawasan toksisitas dari dosis, sehingga dengan mudah meningkatkan dosis secara berangsur-angsur. Teknologi baru dengan sistem pelepasan obat dapat menjadi salah satu alternatif untuk memperbaiki efektifitas dari molekul obat (Ravichandran 2009).

Obat-obat yang berukuran nanopartikel dengan zat aktif yang didistribusikan ke reseptor setelah pemberian secara parenteral, peroral, atau dermal dapat lepas secara terkontrol dengan menggunakan pembawa obat. Pembawa obat dapat membantu mencapai pemanfaatan obat secara optimal dengan meminimalkan efek sampingnya. Beberapa macam pendekatan pada sistem penghantaran obat yang digunakan untuk pelepasan obat mencakup nanokapsul, nanopartikel, mikropartikel, mikroasosiat, liposom dan niosom (Voigh 1995; Uchegbu 2003).

Nanokapsul merupakan sistem miselar (polimerasi misel), emulsi mikro atau bahan padat koloidal (polimerisasi batas permukaan) menjadi partikel ultrahalus dengan suatu lapisan padat. Partikel yang terbentuk, ukurannya disekitar 30-300 nm, yang membentuk sistem koloidal jika dilarutkan. Prinsip pembuatannya yaitu larutan zat aktif dalam air didistribusikan di dalam cairan hidrofob dan dibantu dengan pengadukan secara intensif sehingga terbentuk tetesan sangat halus dalam skala ukuran nanometer. Penambahan monomer pembentuk film yang cocok, suatu katalisator serta bahan pembasah yang terakumulasi pada lapisan batas bahan pelarut air, akan terjadi suatu polimerasi. Nanokapsul dipisahkan dengan filtrasi ultra dan sentrifugasi dan diikuti dengan proses pencucian (Voigh 1995).

Nanopartikel dapat dibuat dari polimer atau campuran lipid dan surfaktan. Ukuran yang sangat kecil dari nanopartikel memungkinkan untuk penggunaan secara intravena. Pembuatan nanopartikel zat aktif diasosiasikan dengan makromolekul yang berasal dari alam misalnya gelatin atau albumin didalam larutan. Penambahan bahan hidrofil (elektrolit, alkohol), molekul bahan pelarut akan ditarik keluar dari sistem sol yang menyebabkan terjadinya desolvatasi yang mengakibatkan terbentuknya koaservasi halus yang menyebabkan obat akan terjerap di dalam nanopartikel yang terdapat sebagai kerutan serabut (Uchegbu 2003).

Mikropartikel dibentuk melalui cara polimerasi khusus (cara polimerasi emulsi, suspensi dan partikel. Partikel ini berupa penyangga sintesis berbentuk bola, yang ukurannya berkisar antara 0,1 –100 μm sampai 1 mm, tergantung dari prosedur pembuatannya. Mikroasosiasi terbentuk melalui ikatan kimia dan fisika bahan obat pada polimer organik ultrahalus (polivinilasetat, selulosa asetat serta ikatan eter dan ester pada pati) akan terbentuk asosiasi makromolekular dengan ukuran koloidal (Voigh 1995)

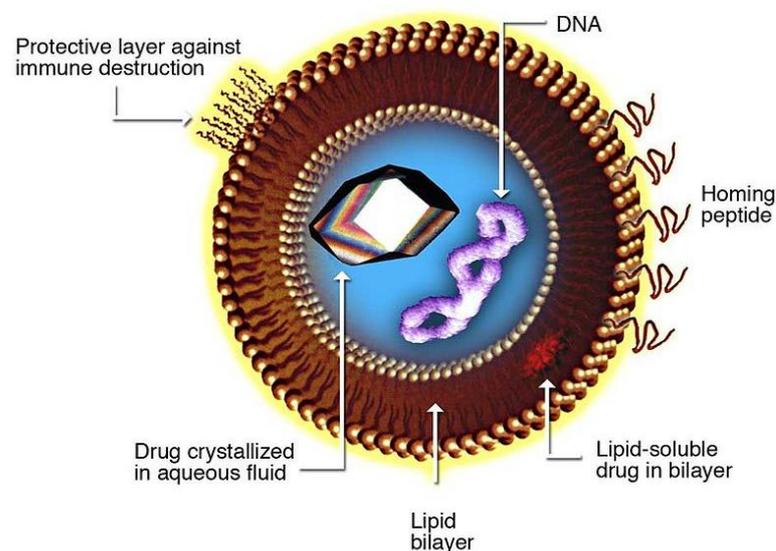
Senyawa aktif dalam obat memiliki availabilitas yang rendah, untuk itu diperlukan suatu sistem pembawa yang cocok. Salah satu pendekatan untuk masalah ini adalah menggunakan vesikel yang sudah populer yaitu liposom. Liposom multilamellar dapat digunakan untuk penghantar obat hidrofilik atau hidrofobik yang dapat memisah ke fase minyak dan vesikel unilamellar dapat digunakan untuk menjerap obat larut air pada ruang dalam molekul cairan (Jufri 2004).

Liposom sebagai pembawa atau *carrier* bekerja sesuai fungsi pelindung bagi bahan obat yang terjerap di dalamnya dari kerusakan enzimatis selama dalam perjalanan menuju sel target. Liposom dilaporkan telah dibuktikan secara klinik dapat menghantarkan berbagai jenis obat, akan tetapi liposom memiliki masalah, dimana molekul fosfolipidnya tidak stabil dan dapat mengalami degradasi sehingga perlu penanganan khusus selama penyiapan dan penyimpanan untuk mencegah oksidasi atau hidrolisis dari fosfolipid (Blazek 2001).

Berbagai formulasi liposom telah diperbaiki dibandingkan dengan dispersi liposom konvensional dalam hal stabilitas fisik saat pembuatan. Salah satu alternatif dari fosfolipid adalah campuran dari kolesterol dan surfaktan nonionik seperti alkil eter, alkil ester atau alkil amida yang merupakan surfaktan nonionik. Beberapa bentuk struktur dari surfaktan yaitu monolayer, misel, mikroemulsi, bilayer dan vesikel. Potensi dari pembawa obat yang lebih besar spesifikasinya dan waktu aksinya menjadi perhatian (Manosroi 2003).

Niosom telah diteliti sebagai pembawa obat berbagai rute seperti *intra muscular* (IM), *intra vena* (IV), *subcutan* (SC), okular dan transdermal. Beberapa obat telah mampu dibuat dalam bentuk niosom seperti pada sediaan topikal meliputi estradiol, tretinoin, ditranol dan enoksin dan beberapa penelitian telah meneliti niosom pada penggunaan sebagai antikanker, antituberkolosis, antiinflamasi, obat hormon dan vaksin (Jufri 2004; Manosroi 2003).

B. Liposom



Gambar 1. Struktur liposom (Batist 2001)

Liposom adalah vesikula buatan yang terdiri dari *amphiphile lipid*, biasanya fosfolipid, yang mengatur dirinya sendiri dalam air untuk membentuk inti berair yang dikelilingi oleh lapisan ganda lipid. Struktur ini memungkinkan liposom untuk mengangkut senyawa hidrofilik dan lipofilik, dan sediaan farmasi

ini sekarang digunakan dalam setting klinis sebagai pembawa obat dari beberapa kelas obat termasuk antibiotik, antijamur dan agen antikanker (Allen dan Cullis 2004; Langer 1998). Liposom telah terbukti meningkatkan akumulasi obat tumor dan antikanker (Gabizon 1992). Efek retensi tumor ini rupanya disebabkan oleh ekstravasasi obat liposomal melalui endothelium kapiler berpori tumor, yang dikaitkan dengan peningkatan *Permeability and Retention Effect* (PRE) akibat hipervaskularisasi, arsitektur vaskular yang cacat, penurunan drainase limfatik dan peningkatan produksi permeabilitas mediator dalam tumor (Maeda *et al.* 2000; Yuan *et al.* 1995). Beberapa bentuk liposomal dari jalur antraks saat ini digunakan di klinik dan formulasi ini telah berkontribusi untuk mengurangi toksisitas secara signifikan sambil mempertahankan aktivitas antikanker mereka di payudara (Batist *et al.* 2001; O'Brien *et al.* 2004) dan jaringan lunak karsinoma (Siehl *et al.* 2005).

Liposom merupakan suatu gelembung berair yang dikelilingi oleh membran lipid lapis ganda unilamellar atau multilamellar. Multilamellar dapat digunakan untuk penghantar obat hidrofobik atau hidrofilik yang dapat memisah ke fase minyak dan vesikel unilamellar dapat digunakan untuk menjerap obat larut air pada ruang dalam molekul cairan. Liposom sudah dapat dibuktikan secara klinis dapat menghantarkan berbagai jenis obat (Blazek 2001; Jufri 2004).

Fosfolipid merupakan komponen dasar dari liposom dimana fosfolipid adalah senyawa amfifilik yang mempunyai struktur dasar gliserol, terdiri dari bagian kepala polar (gugus fosfat) dan bagian hidrofobik (satu atau dua molekul asam lemak). Senyawa ini bermuatan netral sampai sedikit negatif. Bentuk konformasi fosfolipid dapat dibagi menjadi tiga bentuk:

- a. Misel, struktur bulat kecil dimana bagian kepalanya bersifat hidrofilik dan bagian ekornya bersifat lipofilik.
- b. Lipid bilayer memiliki lapisan 2 molekul fosfolipid yang tebal dimana bagian ekor hidrofobik berada ditengah.
- c. Liposom dengan lipid bilayer yang bulat (Vasant 2004).

Fosfatidil kolin adalah salah satu fosfolipid yang paling banyak digunakan dalam sistem liposom yang terbuat dari telur atau kedelai dan sekarang tersedia

dalam bentuk sintetiknya sehingga komposisi asam lemak dari fosfatidilkolin ini dapat diketahui dengan jelas. Fosfolipid yang memiliki struktur dibagian kepalanya yang bersifat polar dan pada bagian ekornya bersifat nonpolar mengalami konformasi dalam bentuk larutan sesuai dengan perlakuan yang diberikan pada fosfolipid (Blazek 2001; Gregoriadis 2007).

Lipid dengan bagian hidrofilik dan hidrofobik membentuk struktur didalam larutan air. Bentuknya ditentukan oleh ukuran dari bagian hidrofobik dan hidrofilik. Bagian kepala yang besar kepolarannya maka radius dari struktur lipid juga besar. Lipid dengan bagian kepala yang kecil dan ekor besar membentuk struktur yang terbalik. campuran lipid juga dapat membentuk gelembung. bilayer terbentuk ketika bagian hidrofilik dan lipofilik seimbang. bilayer bisa membentuk lipatan menjadi liposom dimana diameternya cukup besar dengan membentuk sedikit lipatan (Muller 2000).

Fosfolipid merupakan komponen dasar dari pembentukan liposom. Pembentukan liposom dibentuk dari pembengkakan fosfolipida (misalnya lesitin) yang didispersikan dalam air. Pembentukan struktur liposom hanya berlangsung pada konsentrasi fosfolipida yang rendah dan sangat bergantung sekali kepada bangun kimia fosfolipida dan juga dari harga pH, konsentrasi ion dan besaran berpengaruh lainnya. Kondisi gel yang terbentuk pada awalnya, yang disebabkan oleh pembentukan lapisan, pada suhu yang meninggi akan berubah menjadi kondisi cair (Voigh 1995).

1. Bentuk-Bentuk Liposom

Bentuk-bentuk dari liposom meliputi vesikel multi lamelar (*Multi Lamellar Vesicle, MLV*), vesikel unilamelar (*Single Unilamellar Vesicle, SUV*) dan vesikel unilamelar besar (*Large Unilamellar Vesicle, LUV*), juga ada bentuk vesikel raksasa (*Giant Vesikel*).

1.1 Vesikel Multilamelar (*Multilamellar Vesicle, MLV*). Multilamelar vesikel merupakan bentuk dari liposom yang terdiri dari beberapa lapis Liposom yang digunakan untuk obat hidrofilik dan hidrofobik yang dapat terpartisi kedalam lapisan lipid. Multilamelar vesikel dapat dikatakan sebagai bentuk awal liposom. Liposom mengandung beberapa (hingga 14) lapis lemak lapis ganda,

(tersusun seperti bawang merah), dipisahkan satu dengan lainnya oleh lapisan larut air.

Preparasi multilamellar vesikel dapat dibuat dengan cara yang sederhana dengan peralatan laboratorium yang biasa. Faktor yang paling penting dalam preparasinya yaitu waktu, proses hidrasi, ketebalan lipid lapis tipis, konsentrasi, komposisi lipid, dan volume dapar. Penyeragaman ukuran liposom dapat dilakukan dengan pengocokan dispersi nanopartikel liposom untuk membuat campuran larutan homogen, sonikasi atau ekstruksi (Kozubek 2000; Blazek 2001).

1.2 Vesikel Unilamellar Kecil (*Small Unilamellar Vesicles, SUV*).

Liposom yang berbentuk vesikel unilamellar kecil dikelilingi oleh lapisan lemak tunggal, diameternya berkisar 25 –50 nm (beberapa mengatakan hingga 100 nm). Liposom dengan lapisan tunggal (unilamellar vesikel) diperoleh dari proses sonikasi. Proses sonikasi harus dilakukan diatas temperatur transisi lipid yang digunakan, jika dipanaskan di bawah temperatur tersebut akan menyebabkan agregasi dan terjadi kerusakan pada lipid lapis gandanya. Liposom hasil sonikasi yang berukuran 22-50 nm sangat tergantung dari komposisi lipid, waktu sonikasi dan jumlah kolesterol pada campuran lipid yang digunakan (Kozubek 2000).

1.3 Vesikel Unilamellar Besar (*Large Unilamellar Vesicles, LUV*).

Vesikel unilamellar besar merupakan kelompok paling heterogen dari jenis gelembung, sama dengan SUV, dikelilingi oleh 1 lapis lemak lapis ganda diameternya berkisar 100 nm hingga beberapa mikron (*Giant Vesicles*). Vesikel ini dibentuk dari emulsi fosfolipid dalam dapar dengan kehadiran fase pelarut organik, diikuti dengan penguapan pelarut organik tersebut dibawah tekanan vakum seperti vakum pada saat rotari evaporator. Liposom LUV yang dihasilkan dengan cara ini disebut REV (*Reverse Evaporation Vesicle*) (Kozubek 2000; Verma 2010).

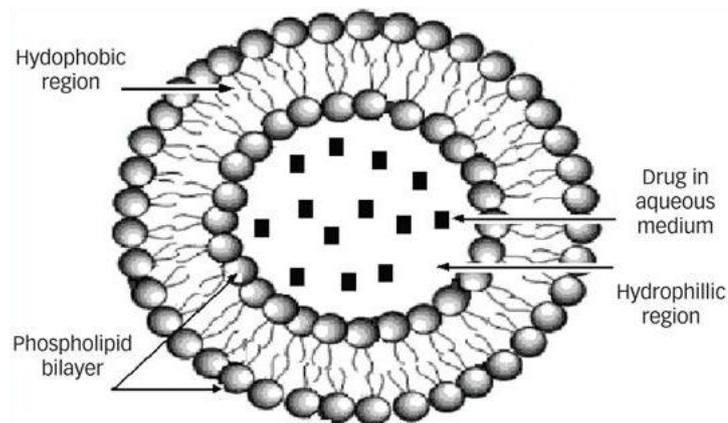
C. Niosom

Niosom adalah sistem vesikel yang mirip dengan liposom yang dapat digunakan sebagai pembawa obat ampifilik dan lipofilik. Niosom telah diteliti untuk pembawa obat berbagai rute pemberian obat yang paling umum seperti

intra muscular (IM), *intra vena* (IV), *subcutan* (SC), okular dan transdermal. Niosom memiliki struktur surfaktan multilamelar dan oleh karena itu paling sesuai untuk obat hidrofobik atau ampifilik (Jufri 2004).

Niosom atau gelembung surfaktan nonionik mikroskopis struktur pipih terbentuk pada campuran surfaktan nonionik dari alkil atau dialkyl kelas eter poligliserol dan kolesterol yang kemudian dihidrasi dengan air. Niosom dapat diubah atau dimodifikasi dengan penggabungan zat tambahan lain seperti kolesterol ke dalam membran dan dapat memiliki satu atau lebih *lipid bilayer* yang membungkus inti air. Berbagai macam bahan telah digunakan untuk membentuk niosom seperti surfaktan ester sukrosa dan polioksietilena surfaktan alkil eter (Shivanand 2010).

Niosom merupakan gelembung surfaktan nonionik dan seperti liposom memiliki struktur bilayer. Niosom memiliki biaya produksi yang rendah, stabilitas yang tinggi sehingga penyimpanannya mudah. Niosom secara kimia stabil, dapat menjerap obat yang hidrofilik dan hidrofobik kedua-duanya dalam lapisan air atau lapisan membran. Niosom juga memiliki toksisitas yang rendah karena sifat nonionik (Sankhyan 2012).



Gambar 2. Struktur niosom (Wagh 2010).

1. Kelebihan Niosom

Niosom yang memiliki sifat *biodegradable* atau terdegradasi baik didalam tubuh, biokompatibel dan nonimunogenik dapat menjerap obat sama dengan liposom. Kestabilan kimia dari niosom lebih stabil dan proses pembuatannya yang lebih murah dibandingkan dengan liposom. Niosom dapat dienkapsulasi diantara

struktur hidrofobik yang menjerap obat larut lipid dan struktur hidrofilik yang menjerap obat larut air dan menjaga obat dari kerusakan keasaman dan perusakan oleh enzim secara *in vivo* (Sharma 2009).

Niosom dapat meningkatkan efektifitas dari molekul obat karena pelepasan obat dapat dikontrol dan tidak memerlukan kondisi khusus dalam penanganan dan penyimpanannya. Sediaan topikal dengan penggunaan vesikel niosom mampu melintasi kulit karena proses adsorpsi dan fusi serta perusakan pada perintang stratum corneum dari struktur vesikel yang memiliki lapisan hidrofilik dan lipofilik seperti pada penetrasi secara enhancer (Sankhyan 2012; Manosroi 2012).

2. Rute Pemberian Niosom

Niosom memiliki struktur surfaktan multilamellar dan oleh karena itu paling sesuai untuk obat hidrofobik atau ampifilik. Niosom sebagai sistem pembawa obat yang merupakan perbaikan dari liposom telah banyak dilakukan penelitian dan sudah banyak sediaan yang telah diproduksi. Niosom telah diaplikasikan pada beberapa rute pemberian yaitu intramuskular, intravena, subkutan, okular dan transdermal (Jufri 2004).

Baru-baru ini niosom lebih populer pada penggunaan topikal dan transdermal karena memiliki struktur yang spesifik seperti pada peningkatan penetrasi obat. Tingkat penetrasi obat melewati kulit sangat lemah dari rute pemberian obat secara transdermal. Peningkatan penetrasi obat secara transdermal bisa ditingkatkan dengan menggunakan pembawa obat seperti niosom. Niosom yang berinteraksi dengan kulit manusia dalam bentuk sediaan niosom mampu memperbaiki masuknya obat khususnya pada sulitnya melewati lapisan stratum korneum, susahnya masuk obat yang larut dalam air melewati transepidermal dan meningkatkan kelembutan dengan adanya struktur lipofilik sehingga menyebabkan kerusakan lapisan lipid kulit tidak terjadi (Shahiwala 2002).

Niosom dapat menghasilkan *sustained release* dan bisa digunakan untuk obat hidrofilik dan lipofil. Niosom menjadi penghantar yang potensial pada penggunaan topikal karena dapat meningkatkan penetrasi obat, aksi lokal tersedia dalam bentuk depot *sustained release* dan memudahkan dalam pembawa matriks untuk obat hidrofilik dan hidrofobik (Sathali 2010).

3. Metode Pembuatan Niosom

3.1 Tehnik Penjerapan Pasif. Teknik ini merupakan teknik yang paling sering digunakan dalam pembuatan niosom dimana obat tergabung selama preparasi niosom yaitu selama pembentukan niosom.

3.2 Hidrasi Lapis Tipis. Semua komponen pembentuk vesikel yaitu surfaktan dan kolesterol dilarutkan dalam pelarut organik yang mudah menguap dalam labu alas bulat. Pelarut organik diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu kamar yang membentuk lapisan tipis dari komponen terlarut. Lapisan tipis yang terbentuk dihidrasi dengan fase air dengan agitasi lembut sehingga terbentuk niosom. Obat dapat dilarutkan dalam fase air jika bersifat hidrofilik dan dapat dilarutkan dalam pelarut organik dengan senyawa lain jika bersifat hidrofobik (Baillie *et al.* 1986; Palozza 2006).

3.3 Injeksi Eter. Surfaktan dan komponen lain dilarutkan dalam eter (dietil eter) dan kemudian secara perlahan-lahan diinjeksikan ke dalam larutan berair yang dipertahankan pada suhu 60°C melalui jarum. Penambahan tersebut akan menyebabkan penguapan eter dan membentuk vesikel lapis tunggal. Metode ini memiliki kelebihan dalam mengontrol ukuran, yang diperoleh dengan mengontrol ukuran jarum dan kondisi lainnya. Kelemahannya adalah kelarutan bahan dalam eter yang terbatas dan sulit dalam menghilangkan eter dari formulasi akhir (Yasin 2012; Guinedi 2005).

3.4 Penguapan Fase Balik. Bahan dilarutkan dalam campuran pelarut organik yang mudah menguap (eter dan kloroform) dan obat dilarutkan dalam fase air. Emulsi air dalam minyak terbentuk dari dua fase dalam *bath sonicator*. Prinsip dasar meliputi penguapan pelarut organik untuk membentuk niosom. Emulsi ini dikeringkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk membentuk gel semi solid dari vesikel besar. Sejumlah kecil buffer ditambahkan dan semi solid yang terbentuk disonikasi pada suhu 4-5°C untuk membentuk vesikel kecil unilamellar (Guinedi *et al.* 2005).

3.5 Ekstruksi Beberapa Membran. Prinsip dasar melibatkan ekstruksi yang memaksa bagian dari campuran suspensi atau emulsi dari komponen melalui membran polikarbonat berulang kali untuk memperoleh niosom dengan ukuran

yang diinginkan. Fase organik dikeringkan dalam *rotary evaporator* dan dihidrasi dengan fase air, hasilnya diekstruksi melalui membran (Khandare *et al.* 1994).

3.6 Mikrofluidisasi. Kedua fase saling berinteraksi pada kecepatan yang sangat tinggi dalam saluran mikro di dalam *interaction chamber*. Energi dan tumbukan kecepatan tinggi menyebabkan pembentukan niosom yang kecil dan seragam. Metode ini memiliki tingkat reproduktibilitas yang tinggi (Khandare *et al.* 1994).

3.7 Sonikasi. Campuran obat dalam *buffer*, surfaktan dan kolesterol disonikasi dengan sonikator pemeriksaan titanium pada suhu 60°C selama 10 menit untuk menghasilkan niosom. Metode ini juga digunakan untuk memproduksi vesikel unilamellar kecil dari vesikel multilamellar besar yang dipreparasi dengan teknik lainnya (Yoshioka *et al.* 1992).

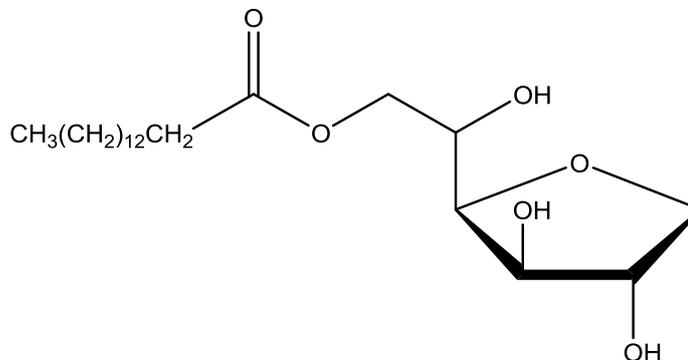
3.8 Metode Gelembung. Metode pembuatan niosom ini dengan satu tahap tanpa menggunakan pelarut organik. Semua komponen didispersikan dalam *buffer* dan ditempatkan dalam labu alas bulat di atas penangas air dengan suhu yang dikontrol. Labu tersebut memiliki tiga leher yang dihubungkan pada refluks pendingin air, termometer, dan penyedia nitrogen. Dispersi dicampurkan dengan *homogenizer* selama 15 detik dan kemudian dibuat gelembung dengan nitrogen untuk membentuk niosom (Chauhan & Lourence 1989).

3.9 Teknik Penjerapan Aktif. Meliputi pemuatan obat setelah pembentukan niosom. Niosom dipreparasi dan kemudian obat dimasukkan dengan mempertahankan gradien pH atau gradien ion untuk memfasilitasi pengambilan obat ke dalam niosom. Cara ini dapat memberikan keuntungan penjerapan 100%, menghindari kebocoran, biaya yang efektif dan cocok untuk obat-obat yang tidak stabil (Udupa 2004).

3.10 Gradien pH. Fase organik dan komponen terlarut diuapkan untuk membentuk lapisan dan dihidrasi dengan asam sitrat, vesikel multilamellar dibentuk dengan pembekuan yang dicairkan 3 kali dan disonikasi. Suspensi niosom ditambahkan fase air dan obat, divorteks dan pH dinaikkan hingga 7,0-7,2 dengan 1 M disodium fosfat. Campuran tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 60°C selama 10 menit untuk memasukkan obat ke dalam niosom (Biju 2006).

4. Monografi bahan

4.1 Span 60



Gambar 3. Struktur kimia span 60 (Rowe *et al.* 2010)

Surfaktan mempunyai gugus hidrofil dan lipofil yang seimbang sehingga mampu menjadi jembatan penghubung antara polar dan nonpolar yang dapat menyebabkan terjadinya interaksi antara kedua fase tersebut dengan baik. Surfaktan yang dilarutkan ke dalam air maka gugus hidrofil akan berikatan dengan molekul air tetapi gugus nonpolar ditolak oleh air dan didesak ke permukaan kemudian diadsorpsi pada antarmuka sehingga menurunkan tegangan permukaan sampai semua permukaan itu penuh ditutupi oleh surfaktan.

Surfaktan apabila dengan konsentrasi rendah berada dalam cairan maka surfaktan akan teradsorpsi pada permukaan dengan ukuran subkoloid, tetapi pada kadar yang lebih tinggi surfaktan akan mengumpul membentuk agregat yang disebut misel. Kadar dimulai terbentuk misel disebut *Critical Micelle Concentration* (CMC), sehingga perlu diperhatikan konsentrasi penaikan surfaktan yang cocok untuk meningkatkan kelarutan obat (Martin 1983).

Surfaktan nonionik merupakan komponen dasar dari penyusun niosom. Surfaktan nonionik memiliki gugus hidrofilik pada bagian kepala dan gugus lipofilik pada bagian ekornya. Struktur hidrofilik dan lipofiliknya ini menyebabkan mampu membentuk lapisan bilayer apabila ditambahkan fase air dengan volume yang sesuai dan mampu menjerap obat.

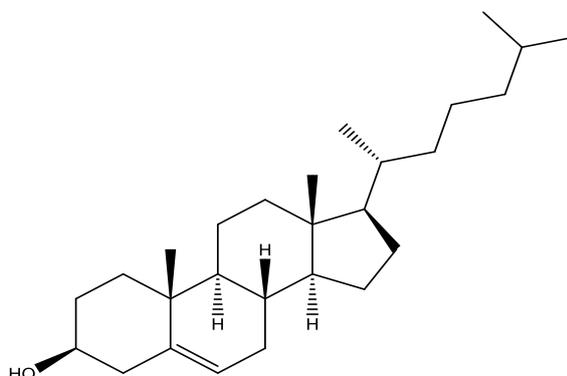
Surfaktan nonionik dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran kesetimbangan *Hidrophilic-Lipophilic Balance* (HLB). Semakin tinggi nilai HBL suatu zat, maka zat tersebut semakin hidrofilik. Surfaktan yang mempunyai HBL

rendah kurang dari 10 biasanya digunakan sebagai zat antibusa untuk menghilangkan busa, zat pengemulsi air dalam minyak dan sebagai zat pembasah untuk menurunkan sudut kontak antar permukaan dan cairan pembasah. Berbagai surfaktan nonionik dan kombinasinya telah dilaporkan memiliki potensi besar untuk menampung banyak obat dalam niosom (Giddi *et al.* 2007). Jenis surfaktan nonionik yang paling umum adalah nilon termasuk alkil eter, alkil ester, alkil amida, ester asam lemak sorbitan, dan lain-lain (Uchegbu & Vyas 1998; Sankhyan & Pawar 2012). Surfaktan ini telah diulas dalam literatur (Mahale *et al.* 2012; Kumarn & Rajeshwarrow 2011). Surfaktan nonionik ini digunakan dalam berbagai formulasi niosom dan menunjukkan efek yang berbeda pada sifat niosom.

Span 60 atau sorbitan monostearat merupakan surfaktan nonionik yang berbentuk padatan pada suhu ruang karena rantai hidrokarbon jenuhnya yang relatif panjang dan titik leburnya 54°C. Span 60 memiliki rumus molekul dan berat molekul masing-masing adalah $C_{24}H_{46}O_6$ dan 431. Span 60 dapat berfungsi sebagai agen pengemulsi (emulgator), surfaktan nonionik lipofilik, agen pelarut, dan agen penghidrasi. Span 60 praktis tidak larut dalam air, dapat bercampur dengan alkohol, larut dalam parafin cair, mudah larut dalam eter, tidak larut dalam aseton dan propilenglikol. Nilai HBL span 60 adalah 4,7 (Rowe *et al.* 2009).

Keseimbangan hidrofilik lipofilik merupakan indikator yang penting dalam kemampuan pembentukan gelembung terhadap beberapa surfaktan. Nilai HLB antara 4 sampai 8 didapatkan lebih sesuai untuk membentuk gelembung. Kemampuan surfaktan membentuk lapisan bilayer dari vesikel yang merupakan bagian dari misel tergantung pada nilai HLB, Struktur kimia dari senyawa dan parameter *critical packing*. Hubungan antara struktur surfaktan meliputi ukuran hidrofilik yang terdapat pada bagian polar.

3.2 Kolesterol.



Gambar 4. Struktur kimia kolesterol (Wagh 2010)

Kolesterol memiliki rumus empiris $C_{27}H_{46}OH$ dan berat molekul 386,67 serta memiliki titik lebur $147-150^{\circ}C$. Kolesterol digunakan pada konsentrasi 0,3-5,0 % b/b sebagai zat pengemulsi pada kosmetik dan formula topikal. Kolesterol mampu menyerap air pada sediaan salep dan memiliki aktivitas sebagai emolien. Senyawa ini dapat berwarna putih atau kekuningan (samar), hampir tidak berbau, berbentuk mutiara, jarum, bubuk atau butiran. Kolesterol dapat berubah warna menjadi kuning pada paparan cahaya dan udara yang berkepanjangan. Kolesterol larut dalam aseton, larut 1 : 4,5 dalam kloroform, larut dalam minyak nabati dan praktis tidak larut dalam air. Senyawa ini stabil dan harus disimpan dalam wadah tertutup, terlindung dari cahaya (Rowe, Sheskey, & Owen 2009). Kolesterol sering ditambahkan ke dalam komposisi niosom, terakomodasi diantara molekul surfaktan nonionik pada membran lipid lapis ganda niosom dengan perbandingan 2:1. Pengaruh kolesterol terhadap stabilitas niosom adalah untuk pengepakan barisan molekul fosfolipid pada lipid lapis ganda niosom sehingga molekul protein tidak mudah berpenetrasi ke permukaan liposom (Leekumjron 2004).

Kolesterol merupakan steroid yang menyebabkan perubahan fluiditas dan permeabilitas dari *bilayer* niosom. Kolesterol merupakan metabolit steroid lilin yang dicampurkan dengan surfaktan nonionik untuk memberikan kekuatan dan keteraturan pada niosom. Kolesterol merupakan molekul ampifilik, dimana gugus OH-nya akan mengarah pada fase air, dan rantai alifatiknya akan mengarah pada rantai hidrokarbon dari surfaktan. Kekuatan yang terjadi pada niosom disebabkan karena adanya kerangka steroid yang kaku yang berinteraksi dengan molekul

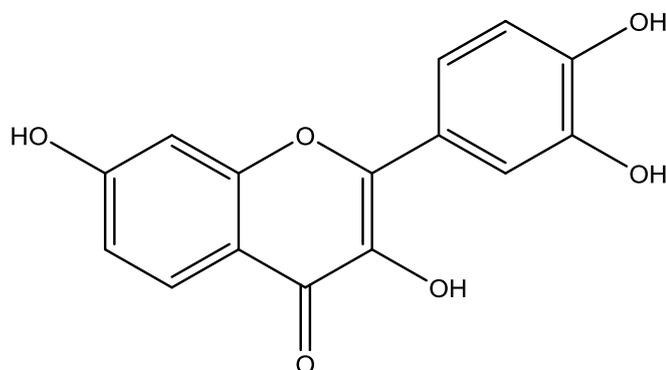
surfaktan sehingga membatasi pergerakan karbon dari rantai hidrokarbon surfaktan. Kolesterol juga dapat mencegah terjadinya kebocoran pada molekul surfaktan yang telah menjerap zat aktif (Ravichandran 2009).

3.3 Etanol. Etanol adalah alkohol yang biasa digunakan sebagai pelarut berbagai bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kebutuhan industri. Rumus kimia dari etanol adalah C_2H_5OH dan dikenal dengan nama lain yaitu etil alkohol, alkohol murni, atau alkohol absolut. Etanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari (Makeshwar *et al.* 2013). Etanol larut dalam air, aseton, benzena, kloroform, dietil eter, piridina dan toluena (Mills *et al.* 1987).

3.4 Kloroform. Kloroform dikenal sebagai triklorometana, metana triklorida, trikloroform, metil triklorida, dan formil triklorida. Kloroform memiliki rumus molekul dan massa molekul relatif masing-masing adalah $CHCl_3$ dan 119,4. Kloroform jernih, tidak berwarna, cairan mudah menguap dengan bau khas eterik pada suhu ruang (WHO 2004). Kloroform sedikit larut dalam air, mudah larut dalam karbon disulfida, dan dapat bercampur dengan alkohol, eter, benzena, karbon tetraklorida, dan minyak yang mudah menguap. Kloroform stabil di bawah suhu dan tekanan normal dalam wadah tertutup (Akron 2002).

3.5 Phosphate Buffered Saline (PBS). PBS adalah larutan isotonis yang digunakan dalam penelitian biologis. Larutan ini mengandung natrium klorida, natrium fosfat, kalium klorida, dan kalium fosfat. PBS banyak digunakan karena isotonis dengan cairan tubuh manusia dan tidak bersifat toksik (Medicago 2010). PBS memiliki pH yang berkisar 7,3 – 7,5 dan osmolaritasnya berkisar 280 – 315 Mosm/kg (Maureen 2002).

D. Fisetin



Gambar 5. Struktur kimia fisetin (Ragelle *et al.* 2012)

Fisetin-tetrahydroxyflavone (3,7,3',4'), dikenal sebagai *Natural Brown* adalah flavonoid tanaman bioaktif penting besar sebagai obat terapi berpotensi yang berguna untuk berbagai radikal bebas yang dimediasi serta penyakit lainnya (Sengupta *et al.* 2005). Fisetin praktis tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, methanol, aseton dan dimetilformamida (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).

Fisetin merupakan salah satu alternatif antioksidan alami yang cukup potensial. Fisetin terutama ditemukan pada 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 (Arai *et al.* 2000) dan menampilkan berbagai efek biologis termasuk antioksidan dan anti-inflamasi (Park *et al.* 2007; Mignet *et al.* 2012). Aktivitas antiangiogenik fisetin juga telah didokumentasikan secara *in vitro* dan *in vivo* pada tikus (Bhat *et al.* 2012; Fotsis *et al.* 1997; Touil *et al.* 2011b). Fisetin pada dosis 10mg/kg BB tikus dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes (Prasath & Subramanian 2011). Hal ini juga ditambahkan ke suplemen gizi pada konsentrasi yang sangat tinggi dan memiliki berbagai efek farmakologis termasuk antioksidan dan anti-inflamasi 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. Fisetin dan beberapa flavonoid tanaman lain sering digunakan sebagai suplemen nutrisi pada konsentrasi tinggi (Olaharski 2005).

E. Karakterisasi Niosom

1. Ukuran Partikel

Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas nanopartikel (Singh *et al.* 2009). Partikel yang berukuran kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar, dimana akan mengakibatkan pelepasan zat aktif yang lebih cepat. Partikel yang lebih besar memiliki inti yang lebih besar yang dapat mengurangi kecepatan obat untuk berdifusi keluar. Partikel yang berukuran kecil memiliki resiko yang lebih besar untuk terjadinya agregasi selama penyimpanan (Rafeeq *et al.* 2010).

Pengukuran partikel niosom dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Persyaratan parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al.* 2000). Metode yang digunakan dalam pengukuran partikel melibatkan suatu proses yang dikenal dengan *Dynamic Light Scattering* (DLS). *Dynamic Light Scattering* juga dikenal dengan PCS (*Photon Correlation Spectroscopy*) mengukur gerak *Brown* dan menghubungkan dengan ukuran partikel. Proses tersebut dilakukan dengan cara menyinari partikel dengan laser dan menganalisis intensitas fluktuasi cahaya yang tersebar. Partikel kecil ketika disinari oleh sumber cahaya seperti laser, partikel tersebut akan menyebar ke segala arah.

Partikel yang terdispersi dalam cairan tidak pernah dalam keadaan diam. Partikel akan terus bergerak karena gerak *Brown*. Gerak *Brown* adalah gerakan partikel karena tumbukan acak dengan molekul cairan yang mengelilingi partikel.

Sifat penting dari gerak *Brown* untuk DLS adalah bahwa partikel kecil bergerak lebih cepat dan partikel yang lebih besar bergerak lebih lambat. Suhu harus diketahui secara akurat karena diperlukan untuk mengetahui viskositasnya. Kestabilan suhu diperlukan jika arus konveksi dalam sampel akan menyebabkan pergerakan yang tidak acak yang akan merusak akurasi interpretasi ukuran. Suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan gerak *Brown* semakin cepat. Kecepatan dari gerak *Brown* didefinisikan sebagai koefisien difusi translasi (D).

Ukuran partikel yang diukur dengan instrumen DLS adalah diameter partikel yang berdifusi pada kecepatan yang sama. Sistem tersebut menentukan ukuran dengan terlebih dahulu mengukur gerak *Brown* dari partikel-partikel dalam sampel menggunakan DLS dan kemudian menerjemahkan ukuran menggunakan teori-teori yang sudah ditetapkan. Partikel dalam cairan bergerak secara acak dan kecepatan dari pergerakan tersebut digunakan untuk menentukan ukuran dari partikel (Malvern 2012).

2. Potensial Zeta

Potensial zeta diukur dengan menggunakan *zetalyzer*. 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).

3. Analisis Morfologi Nanopartikel

TEM adalah sebuah mikroskop elektron yang cara kerjanya mirip dengan cara kerja proyektor *slide*, di mana elektron ditembuskan ke dalam obyek pengamatan dan pengamat mengamati hasil tembusannya pada layar. Sampel yang disiapkan pada TEM sangat tipis sehingga elektron dapat menembusnya kemudian hasil dari tembusan elektron tersebut yang diolah menjadi gambar. sinar elektron mengiluminasi spesimen dan menghasilkan sebuah

gambar diatas layar pospor. Gambar dilihat sebagai sebuah proyeksi dari spesimen (Karlík & Miroslav 2001).

Morfologi fisetin niosom dapat diamati dengan TEM. TEM digunakan untuk menganalisis mikrostruktur, identifikasi defek, analisis interfasa, struktur kristal, tatanan atom pada kristal, serta analisis elemen skala nanometer (Respati 2008). TEM mampu menghasilkan resolusi hingga 0,1 nm atau 1 angstrom yang sama dengan perbesaran sampai satu juta kali (Karlík & Miroslav 2001).

4. Efisiensi Penjerapan

Pengujian efisiensi penjerapan fisetin dilakukan untuk mengetahui persentase fisetin yang mampu terjerap dalam vesikel niosom yang dihasilkan dan mengetahui efisiensi dari metode yang digunakan (Rahman *et al.* 2011). Suatu sistem penghantaran obat harus memiliki kapasitas pemuatan obat yang tinggi dan bertahan lama. Kapasitas pemuatan obat (efisiensi penjerapan) pada umumnya dinyatakan dalam persen obat yang terjerap dalam fase lemak terhadap obat yang ditambahkan (Gregoriadis 2007).

Obat yang tidak terjerap dapat dihilangkan atau dipisahkan dengan berbagai teknik, diantaranya :

4.1 Dialisis. Dispersi cairan niosom didialisis dalam tabung dialisis dengan menggunakan buffer fosfat atau normal salin atau larutan glukosa.

4.2 Gel Filtration. Obat yang tidak terjerap dihilangkan dari niosom menggunakan filtrasi gel melalui kolom sephadex-G-50 dan di elusi dengan buffer garam fosfat atau normal salin.

4.3 Sentrifugasi. Dispersi nanopartikel niosom disentrifugasi dan supernatannya dipisahkan. Pelet yang diperoleh dicuci kemudian didispersikan kembali untuk mendapatkan niosom yang bebas dari obat yang tidak terjerap. Efisiensi penjerapan vesikel ditentukan dengan memisahkan obat bebas dari vesikel penjerap obat dengan menggunakan teknik sentrifugasi. Dispersi nanopartikel niosom disentrifugasi selama 50 menit pada 3.000 rpm dan suhu kamar dengan tujuan untuk memisahkan obat yang tidak terjerap. Jumlah obat bebas (FD) ditentukan pada supernatan. Supernatan hasil sentrifugasi ditetapkan kadarnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Pham *et al.* 2012).

Efisiensi penjerapan (%) fisetin dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ efisiensi penjerapan} = \{ (T - C) / T \} \times 100\%$$

Keterangan : T = total jumlah zat aktif yang ditambahkan dalam formula

C= jumlah zat aktif yang terdeteksi pada supernatan (tidak terjerap)

F. 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 & Yu 2005). Fisetin terutama ditemukan pada buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan dan anggur (Arai *et al.* 2000; Kimira *et al.* 1998) dan menampilkan berbagai efek biologis termasuk antioksidan dan anti-inflamasi (Park *et al.* 2007; Woodman dan Chan 2004). Beberapa cara telah dilakukan untuk meningkatkan bioavailabilitas fisetin seperti pembuatan liposom (Mignet *et al.* 2012), nanokelat (Bothiraja *et al.* 2014), nanoemulsi (Ragelle *et al.* 2012) dan kompleks inklusi β -siklodektrin (Jufri 2004). Hal tersebut belum mampu meningkatkan kelarutan fisetin secara signifikan karena terbatasnya pemahaman tentang sifat fisika kimia dan sifat biologi fisetin (Yao *et al.* 2013).

Teknologi formulasi niosom memberikan kelebihan tersendiri seperti meningkatkan stabilitas obat yang terjerap, bioavailabilitas bahan yang sulit diserap dapat ditingkatkan dan dapat meningkatkan penetrasi kulit (Kapoor *et al.* 2011). Metode yang telah banyak digunakan dalam pembuatan niosom adalah hidrasi lapis tipis. Keuntungan dari metode hidrasi lapis tipis adalah cepat dan mudah karena menggunakan peralatan yang sederhana (Gupta & Kompella 2006).

Niosom terdiri dari dua komponen utama yang digunakan untuk preparasi niosom yaitu surfaktan nonionik dan kolesterol. Surfaktan memberikan peranan yang penting dalam pembuatan niosom sedangkan kolesterol digunakan untuk memberikan kekakuan, memberikan bentuk yang tepat, dan konformasi dalam preparasi niosom. Surfaktan nonionik memiliki bagian kepala yang bersifat

hidrofilik dan bagian ekor yang bersifat lipofilik (Chandu *et al.* 2012). Telah dilakukan penelitian mengenai pembuatan dan karakterisasi niosom dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan surfaktan nonionik span 20 yang memberikan hasil niosom dengan efisiensi penjebakan yang cukup tinggi (Purwanti *et al.* 2013).

Menurut penelitian Rahimpour (2012) kekuatan yang terjadi pada niosom disebabkan karena adanya kerangka steroid yang kaku dari kolesterol yang berinteraksi dengan molekul surfaktan sehingga membatasi pergerakan karbon dari rantai hidrokarbon surfaktan. Perpaduan kolesterol dan surfaktan non ionik span 60 memberikan pengaruh pada stabilitas dan permeabilitas gelembung. Kolesterol akan mengepak barisan molekul lipid dari surfaktan non ionik span 60 pada struktur lapis ganda pada niosom. Pengepakan ini berujuan untuk menghindari kebocoran dari lapisan niosom sehingga obat yang terjerap didalam niosom tidak mudah keluar. Penggunaan kolesterol yang terlalu banyak dapat membuat niosom menjadi kaku sehingga menyebabkan proses absorpsi, distribusi dan pelepasan obat dari niosom lebih sukar (Kumar 2011).

Metode pembuatan niosom dengan metode hidrasi lapis tipis dapat dibuat dengan cara yang sederhana dengan peralatan laboratorium yang biasa meliputi pengeringan campuran bahan dari vesikel yaitu span 60 dan kolesterol yang dilarutkan dalam pelarut organik di dalam labu alas bulat. Larutan yang terbentuk dalam labu alas bulat dirotavapor agar lipid terdeposit dari pelarut organik dalam bentuk lapis tipis pada permukaan dinding labu. Larutan dapat ditambahkan dan lipid akan terhidrasi pada temperatur diatas temperatur transisi lipidnya. Vesikel multilamellar yang dihasilkan dapat diproses lebih lanjut melalui sonifikasi untuk mengoptimalkan penjerapan obat (Purwanti *et al.* 2013).

Pengukuran partikel niosom yang terbentuk dilakukan dengan 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*. (Rahmawati 2007).

Niosom secara kimia stabil, dapat menyerap obat yang hidrofilik dan hidrofobik kedua-duanya dalam lapisan air atau lapisan membran. Niosom juga memiliki toksisitas yang rendah karena sifat nonionik (Sankhyan 2012).

G. Hipotesis

1. Fisetin niosom dapat dibuat menggunakan metode hidrasi lapis tipis-sonikasi.
2. Konsentrasi surfaktan non ionik span 60 dan kolesterol memiliki pengaruh terhadap ukuran dan penyerapan fisetin niosom.
3. Karakterisasi fisetin menjadi lebih baik setelah dibuat niosom.
4. Fisetin niosom dapat stabil selama proses penyimpanan.

BAB III

METODE 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 niosom yang dibuat dengan span 60 dan kolesterol.

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 niosom yang dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi span 60 dan kolesterol.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat. Variabel dalam penelitian ini adalah formula dari fisetin niosom yang dibuat dengan konsentrasi span 60 dan kolesterol yang berbeda dan karakteristik niosom dengan berbagai macam pengujian.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini diklasifikasikan dalam berbagai variabel, antara lain variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat.

Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat yaitu konsentrasi surfaktan span 60 dan kolesterol yang berbeda.

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian ini yaitu karakteristik fisetin niosom yaitu ukuran partikel dan zeta potensial, analisa morfologi dan efisiensi penjerapan.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralkan atau ditetapkan kualitasnya agar hasil

yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat yaitu proses pembuatan niosom dengan metode hidrasi lapis tipis - sonikasi.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Zat aktif fisetin yang dibuat menjadi niosom dengan konsentrasi surfaktan non ionik span 60 dan kolesterol yang berbeda.

Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas dari nanopartikel. Zeta potensial merupakan prediktor yang baik dari fenomena glasi 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 TEM.

Proses pembuatan fisetin niosom dengan kombinasi metode hidrasi lapis tipis dengan sonikasi.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Particle size analyzer (Malvern Panalytical, USA), *Transmission Electron Microscopy* (FEI Tecnai G2 20 S-Twin, Jepang), sonikator tipe *bath* (Krisbow), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 2450), *rotary evaporator* (Heidolph), *ultrasentrifuge* (Himac CP 100WX, Hitachi, Jepang), timbangan analitik (Ohaus), labu alas bulat (Schott Duran), mikropipet (Rainin, USA), pH meter (Horiba F-52, Jepang), kertas saring, batang pengaduk, kaca arloji, sendok spatula, pipet tetes, *beaker glass* dan labu ukur (Pyrex, Jepang).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Fisetin Pharmaceutical Grade (Shaanxi Dideu Medichem, China), Surfaktan non ionik Span 60 (Merk), Kertas whatman nomor 1, Kolesterol (Sigma-Aldrich, USA), Etanol (PT. Bratachem, Indonesia), Kloroform (Merck, Jerman), KH_2PO_4 (Merck, Jerman), Na_2HPO_4 (Merck, Jerman), Aquadest Pro Injeksi (PT. Bratachem, Indonesia).

D. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Fisetin Niosom

Fisetin dilarutkan dengan etanol, span 60 dan kolesterol dilarutkan dengan kloroform dalam labu alas bulat. Bahan dicampur dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 65 *rpm* sampai terbentuk lapisan tipis pada dinding labu. Lapisan tipis yang terbentuk pada dinding labu dihidrasi dengan larutan *Phospat Buffer Saline* (PBS) pH 7,3 sampai homogen untuk membentuk niosom. Dispersi koloid yang dihasilkan disonikasi dengan sonikator tipe *probe* pada suhu kamar selama 10 menit dengan amplitudo 50 %.

Tabel 1. Perbandingan konsentrasi span 60 - kolesterol pada pembuatan fisetin niosom

Formula	PBS pH 7,3 (ml)	Span 60 (mg)	Kolesterol (mg)	Fisetin (mg)
1	25	100	200	150
2	25	150	200	150
3	25	200	200	150
4	25	200	150	150
5	25	200	100	150

2. Karakterisasi Fisetin Niosom

2.1 Analisis Ukuran Partikel. Dispersi nanopartikel niosom yang telah terbentuk dapat dianalisis ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel dengan menggunakan alat PSA (Dahiya *et al.* 2011). Dispersi nanopartikel niosom diteteskan pada tempat sampel alat PSA (Malvern) dan dilakukan *measuring* hingga didapatkan hasil ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel dari masing-masing formula niosom.

2.2 Kurva kalibrasi

2.2.1 Pembuatan larutan induk. Larutan induk fisetin dengan konsentrasi 100 ppm (mg/L) dapat dibuat dengan cara 10 mg fisetin dilarutkan dalam 2 ml etanol p.a, lalu ditambahkan PBS pH 7,3 didalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas (Ruckmani *et al.* 2010).

2.2.2 Penetapan panjang gelombang maksimum. Larutan induk fisetin dalam PBS pH 7,3 dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan nilai serapan yang paling tinggi (Ruckmani *et al.* 2010).

2.2.3 Penetapan *operating time*. Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui kestabilan reaksi suatu senyawa. Pengujian dilakukan dengan membaca larutan induk fisetin pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai serapan yang stabil.

2.2.4 Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi. Seri konsentrasi kurva baku pada 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm; 12 ppm dan 14 ppm, yang dibuat dengan cara memipet larutan induk fisetin 100 ppm sebanyak 0,6 ml; 0,8 ml; 1 ml; 1,2 ml dan 1,4 ml lalu dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian masing-masing diencerkan sampai tanda batas dengan PBS pH 7,3. Seri larutan tersebut diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi dan absorbansi fisetin sehingga diperoleh persamaan regresi linear yang selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar dan efisiensi penjerapan fisetin dalam niosom.

2.2.5 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 :

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

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

2.3 Efisiensi Penjerapan. Efisiensi penjerapan vesikel ditentukan dengan memisahkan obat bebas dari vesikel penjerap obat dengan menggunakan teknik sentrifugasi. Dispersi nanopartikel niosom disentrifugasi selama 50 menit pada 3.000 *rpm* pada suhu kamar dengan tujuan memisahkan obat yang tidak terjerap. Jumlah obat bebas ditentukan pada supernatan. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 1 ml kemudian diencerkan dengan PBS pH 7,3 sampai 10 ml dalam labu ukur dan dikocok hingga homogen. Supernatan yang sudah diencerkan kemudian ditetapkan kadarnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya (Pharm *et al.* 2012).

Efisiensi penjerapan (%) fisetin dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ efisiensi penjerapan} = \{ (T - C) / T \} \times 100\%$$

Keterangan : T = total jumlah zat aktif yang ditambahkan dalam formula

C= jumlah zat aktif yang terdeteksi pada supernatan (tidak terjerap)

2.5 Pengujian Morfologi Nanopartikel. Morfologi fisetin niosom dapat diamati dengan TEM. TEM digunakan untuk melihat morfologi mikrostruktur, identifikasi defek, analisis interfasa, struktur kristal, tatanan atom pada kristal, serta analisis elemen skala nanometer. TEM mampu menghasilkan resolusi hingga 0,1 nm atau 1 angstrom yang sama dengan perbesaran sampai satu juta kali. Formula fisetin niosom yang akan diuji morfologinya adalah formula yang terpilih yaitu ukuran partikelnya paling kecil dengan distribusi ukuran yang homogen.

TEM adalah sebuah mikroskop elektron yang cara kerjanya mirip dengan cara kerja proyektor slide, di mana elektron ditembuskan ke dalam obyek pengamatan dan pengamat mengamati hasil tembusannya pada layar. Sampel yang disiapkan pada TEM sangat tipis sehingga elektron dapat menembusnya kemudian hasil dari tembusan elektron tersebut yang diolah menjadi gambar. sinar elektron mengiluminasi spesimen dan menghasilkan sebuah gambar diatas layar pospor. Gambar dilihat sebagai sebuah proyeksi dari spesimen (Karlik 2001).

2.6 Uji Stabilitas Fisetin Niosom Setelah Penyimpanan. Formula fisetin niosom yang sudah diketahui menghasilkan ukuran partikel terkecil di uji stabilitasnya dengan cara disimpan pada suhu kamar selama 4 minggu dan diamati setiap minggu.

2.6.1 Pengamatan Secara Visual. Pemeriksaan organoleptis fisetin niosom dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan konsistensi.

2.6.2 Analisis Ukuran Partikel. Untuk mengetahui ukuran sediaan fisetin niosom setelah penyimpanan dilakukan pengukuran ukuran dan distribusi

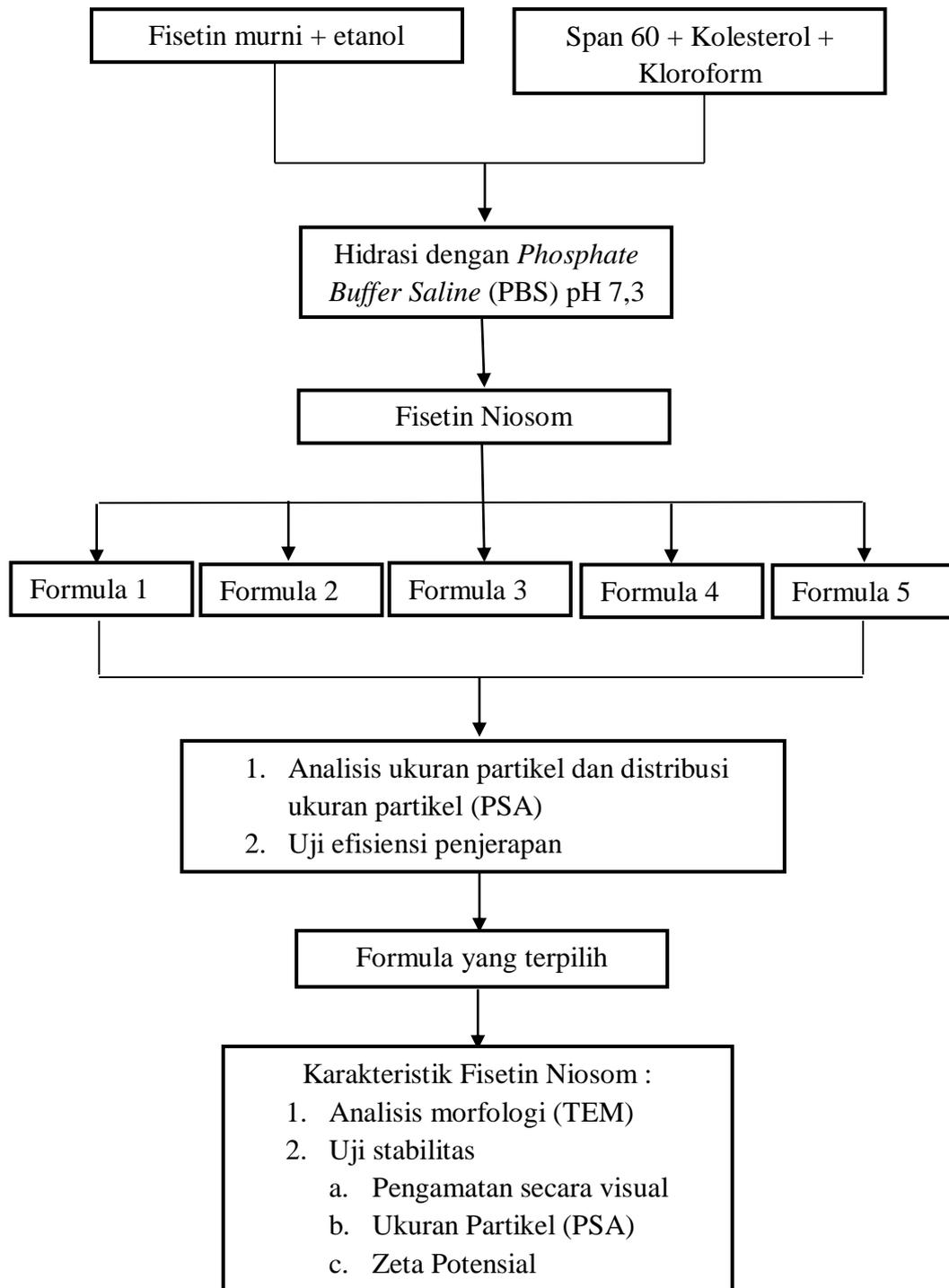
nanopartikel menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA) merk Malvern yang dapat mendeteksi ukuran 0,3 nm hingga 10 μm .

2.6.3 Pengukuran Potensial Zeta. Untuk mengetahui nilai potensial zeta setelah penyimpanan 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 Walls* antar-partikel (Ronson 2012).

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 niosom, 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 6. Skema jalannya penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Fisetin Niosom

Fisetin niosom telah berhasil diformulasikan dengan menggunakan kombinasi metode hidrasi lapis tipis dan sonikasi, didapat sediaan niosom yang mempunyai ukuran partikel yang kecil. Pemilihan metode hidrasi lapis tipis dikarenakan pada proses pembuatannya metode ini lebih cepat, mudah dan sederhana. Metode sonikasi sangat berperan dalam pembentukan niosom, penggunaan gelombang ultrasonik (sonikasi) dalam pembentukan materi berukuran nano sangatlah efektif karena gelombang ultrasonik dapat menimbulkan efek kavitasi. Efek kavitasi dapat memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*).

Komposisi niosom yaitu surfaktan non ionik dan kolesterol. Kolesterol berguna untuk membentuk suatu bentuk yang kaku dan juga dapat mencegah terjadinya kebocoran pada molekul surfaktan yang telah menjerap zat aktif. Surfaktan non ionik yang digunakan pada penelitian ini yaitu span 60. Span 60 merupakan surfaktan non ionik yang memiliki struktur hidrofilik di bagian kepalanya dan gugus hidrofobik di bagian ekornya yang secara spontan akan membentuk vesikel (gelembung) dengan struktur yang mirip dengan membran sel saat dihidrasi. Surfaktan non ionik lebih stabil dibandingkan fosfolipid dalam pembentukan vesikel. Fosfolipid sebagai sumber lipid pada pembuatan liposom mudah teroksidasi sehingga memerlukan penanganan khusus pada pembuatan (*gas inert*). Span 60 berperan dalam pembentukan niosom. Niosom dengan surfaktan sebagai pembentuk struktur lipid gandanya dapat dibuat dalam kondisi laboratorium dengan keberadaan oksigen karena gugus lipid ini tidak mudah teroksidasi.

Menurut penelitian Rahimpour (2012) kekuatan yang terjadi pada niosom disebabkan karena adanya kerangka steroid yang kaku dari kolesterol yang berinteraksi dengan molekul surfaktan sehingga membatasi pergerakan karbon dari rantai hidrokarbon surfaktan. Perpaduan kolesterol dan surfaktan non ionik

span 60 memberikan pengaruh pada stabilitas dan permeabilitas gelembung. Kolesterol akan mengepak barisan molekul lipid dari surfaktan non ionik span 60 pada struktur lapis ganda pada niosom. Pengepakan ini bertujuan untuk menghindari kebocoran dari lapisan niosom sehingga obat yang terperap didalam niosom tidak mudah keluar. Penggunaan kolesterol yang terlalu banyak dapat membuat niosom menjadi kaku sehingga menyebabkan proses absorpsi, distribusi dan pelepasan obat dari niosom lebih sukar (Kumar 2011).

Fisetin niosom dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis, fisetin dilarutkan dalam etanol sebanyak 30 ml, kemudian kolesterol dan span 60 dilarutkan dalam kloroform sebanyak 8 ml. Pelarut yang digunakan untuk larutan surfaktan adalah kloroform p.a karena dapat melarutkan sorbitan monostearat dan kolesterol (Mahale 2012). Menurut penelitian Pooja *et al* (2015) jumlah penggunaan pelarut organik akan mempengaruhi ukuran partikel yang dihasilkan, semakin minimum penggunaan pelarut organik maka akan semakin kecil ukuran partikel yang didapatkan. Sehingga penggunaan pelarut seminimal mungkin untuk mengurangi resiko terbentuknya partikel yang terlalu besar. Hal tersebut terjadi karena semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin besar pula kolesterol dan span 60 yang terikat, sehingga ukuran partikel yang dihasilkan semakin besar. Fase etanol dan kloroform di campurkan selanjutnya di rotari evaporasi sampai fase etanol dan kloroform menguap. Pada penelitian ini, penguapan dilakukan pada suhu 50°C dan dengan kecepatan 65 *rpm* dimana span 60 dan kolesterol mengalami transisi pada suhu ini dari fase padat ke cair setelah pelarut menguap dan mulai membentuk lapisan tipis pada dinding labu. Pemanasan diatas temperatur transisinya menyebabkan span 60 akan melewati fase kristal cair dan selanjutnya berubah menjadi fase cair sehingga meningkatkan pergerakan molekulnya. Proses transisi ini terjadi karena adanya interaksi intra molekuler pada span 60 dan antar molekuler span 60 pada lipid lapis ganda.

Pembentukan niosom terjadi saat lapisan tipis pada dinding tabung dihidrasi dengan *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7.3 ditandai dengan terbentuknya dispersi koloid. Hidrasi dilakukan dengan menggunakan PBS karena Hidrasi adalah proses masuknya air ke dalam vesikel, hidrasi dilakukan dengan

menggunakan fase air. Hidrasi dilakukan untuk mengembangkan vesikel dan mengoptimalkan penyerapan zat aktif. Zat aktif yang terjerap dalam niosom dapat berasal dari obat dengan berat molekul rendah maupun tinggi. Zat aktif terjerap karena terjadi interaksi antara zat aktif dengan bagian hidrofilik atau campuran keduanya. Dispersi koloid yang terbentuk disonikasi selama 10 menit dengan amplitudo sebesar 50% untuk memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*). Fisetin niosom yang terbentuk berupa dispersi partikel bewarna kuning kecoklatan dengan bau khas fisetin. Hal ini disebabkan oleh tercampurnya fase kolesterol dan fase air yang dicampurkan pada titik gelasinya dengan ukuran yang kecil. Perbedaan konsentrasi surfaktan span 60 dan kolesterol juga mempengaruhi warna fisetin niosom yang dihasilkan. Semakin besar jumlah konsentrasi surfaktan span 60 dibandingkan dengan penggunaan jumlah konsentrasi dari kolesterol maka dapat menghasilkan niosom dengan warna yang lebih terang dan konsistensi yang lebih kental (Sahin 2007).

B. Karakterisasi Fisetin Niosom

1. Analisis Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel

Ukuran partikel merupakan karakteristik yang paling penting di dalam suatu sistem nanopartikel. Ukuran partikel fisetin niosom diukur dengan menggunakan PSA. Penggunaan surfaktan berpengaruh terhadap ukuran partikel dan kestabilan dispersi nanopartikel fisetin niosom yang dihasilkan. Surfaktan berfungsi dalam menstabilkan dispersi nanopartikel dengan cara membuat batas fisik di sekeliling partikel yang akan berkoalesensi. Surfaktan juga mengurangi tegangan antar permukaan antar fase (Depkes 1995). Penggunaan surfaktan sebagai zat penstabil menghasilkan penurunan tegangan antarmuka dari kedua cairan, mengurangi gaya tolak antara cairan-cairan tersebut dan mengurangi gaya tarik-menarik antar molekul dari masing-masing cairan (Ansel 2008). Permukaan cairan yang telah jenuh dengan molekul-molekul surfaktan maka molekul-molekul yang berada di dalam cairan akan membentuk agregat. Surfaktan menurunkan tegangan antar muka antara obat dan medium sekaligus membentuk

vesikel sehingga molekul obat akan terbawa oleh vesikel larut ke dalam medium (Myers 2006).

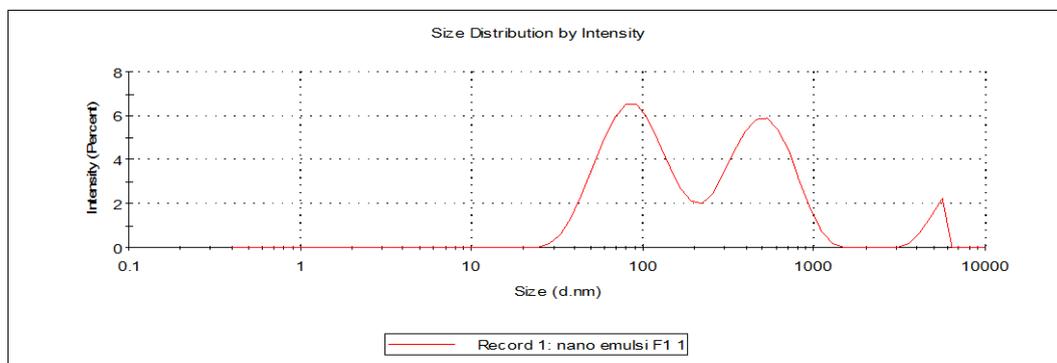
Keseragaman ukuran partikel dapat diketahui dari nilai indeks polidispersitas, indeks polidispersitas merupakan ukuran lebarnya distribusi ukuran partikel. Tabel 4 terlihat nilai indeks polidispersitas yang dihasilkan, ini menunjukkan bahwa dispersi koloid fisetin niosom yang terbentuk merupakan dispersi yang heterogen karena nilai indeks polidispersitas $> 0,3$ dan muncul beberapa *peak* pada grafik. Fisetin niosom yang dihasilkan kurang homogen kemungkinan dikarenakan oleh kurangnya waktu sonikasi yang dilakukan, sehingga proses pengecilan ukuran kurang optimal.

Tabel 2. Hasil pengukuran ukuran partikel

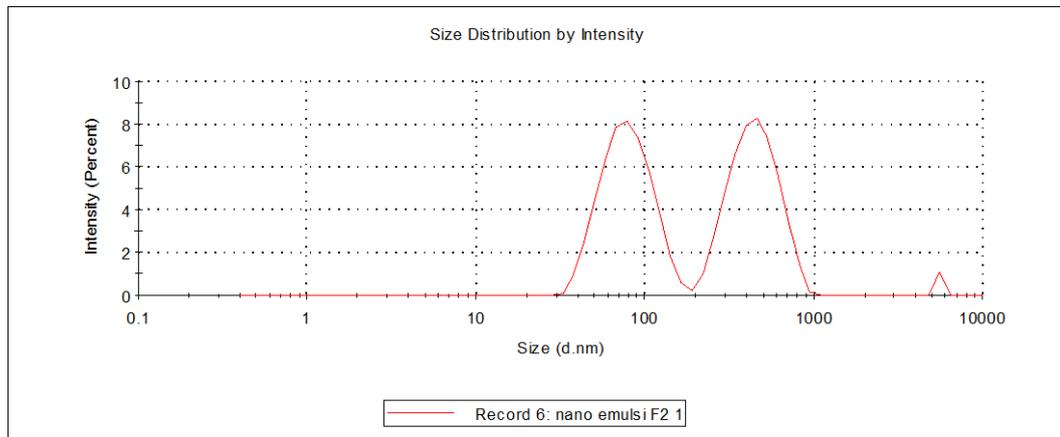
Sampel	Ukuran Partikel (nm) \pm SD	PI \pm SD
F1	148,1 \pm 3,9379	0,670 \pm 0,0934
F2	169,6 \pm 10,1064	0,553 \pm 0,0841
F3	128,6 \pm 2,1948	0,628 \pm 0,0225
F4	187,1 \pm 4,1186	0,701 \pm 0,0403
F5	120,6 \pm 8,0566	0,389 \pm 0,0745

Keterangan : F1 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 100 mg : 200 mg); F2 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 150 mg : 200 mg); F3 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 200 mg); F4 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 150 mg); F5 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 100 mg).

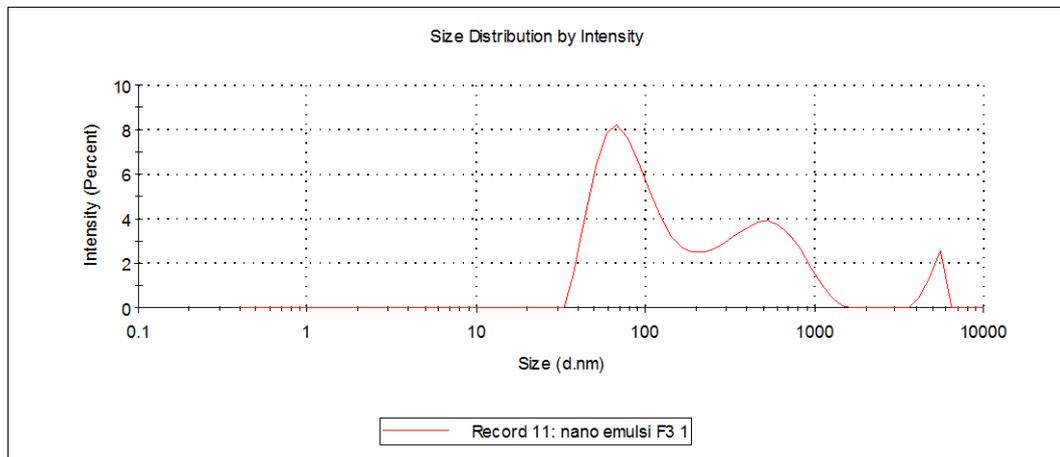
Hasil pengukuran ukuran partikel rata-rata pada F1, F2, F3, F4 dan F5 berturut-turut sebesar 148,1; 169,6; 128,6; 187,1 dan 120,6 nm. Fisetin niosom yang terbentuk masuk dalam ukuran niosom yang berukuran nanometer, dimana pada pustaka disebutkan niosom memiliki ukuran dengan rentang mulai dari 20 nm hingga 50 μ m (Abhinav *et al.* 2011). Grafik dari pengukuran partikel berturut-turut dari formula 1 sampai 5 dengan menggunakan PSA dapat dilihat pada grafik 1.



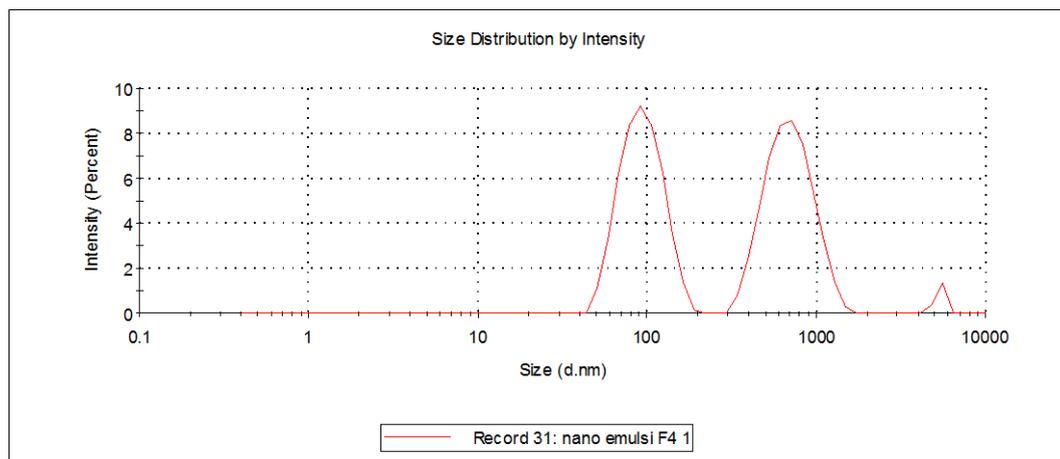
Gambar 7. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 1



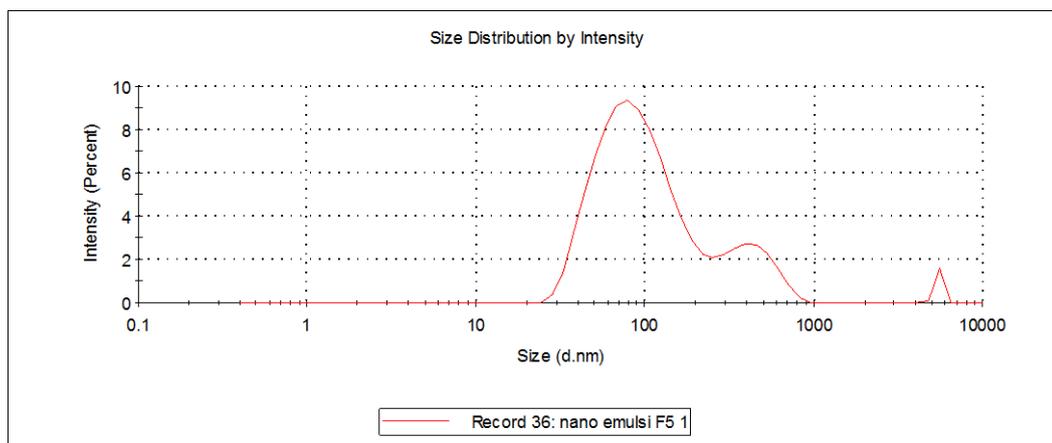
Gambar 8. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 2



Gambar 9. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 3



Gambar 10. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 4



Gambar 11. Grafik hasil pengukuran ukuran partikel pada formula 5

Berdasarkan dari data pengukuran diketahui bahwa semakin banyak kolesterol yang dipakai dapat membentuk fisetin niosom yang kaku, kuat dan tebal sehingga mengakibatkan ukuran niosom pada tiap formula semakin meningkat. Formula fisetin niosom dengan jumlah kolesterol 100 mg memiliki ukuran diameter terkecil dan formula fisetin niosom dengan jumlah kolesterol 150 mg memiliki ukuran paling besar. Formula 4 dengan perbandingan penggunaan surfaktan span 60 sebanyak 200 mg dan kolesterol sebanyak 150 mg didapat ukuran partikel yang paling besar diantara formula yang lain yaitu 187,1 nm. Ukuran diameter vesikel dipengaruhi oleh jumlah perbandingan span 60 dan kolesterol yang digunakan. Penggunaan kolesterol yang terlalu banyak maka surfaktan yang akan diikat semakin banyak dan bentuk vesikel semakin rigid, sehingga ukuran semakin besar dan kaku. Jenis surfaktan pembentuk vesikel juga mempengaruhi ukuran vesikel. Surfaktan dengan nilai HLB tinggi seperti span 60 ($HLB = 4,7$) akan menurunkan energi bebas permukaan sehingga akan membentuk vesikel dengan ukuran yang lebih kecil (Chavan 2012). Titik penggunaan jumlah perbandingan antara kolesterol dan surfaktan span 60 dalam pembuatan niosom dapat menghasilkan vesikel niosom yang besar dan kuat, sehingga pada saat pengecilan ukuran partikel menggunakan sonikator tipe *probe* kemungkinan membutuhkan waktu yang relatif lama dengan aplitudo yang berbeda juga dibanding dengan formula yang lain. Pelarut etanol 96% yang digunakan dalam penelitian ini juga memberikan pengaruh terhadap ukuran

niosom yaitu dapat membentuk ukuran vesikel paling besar (etanol > propanol > butanol > isopropanol) karena etanol lebih bersifat hidrofil dibandingkan pelarut alkohol lain dan memiliki kelarutan yang tinggi dalam air (Chavan 2012).

Nilai *polydispersity index* (PI) dari distribusi ukuran partikel niosom pada F1, F2, F3, F4 dan F5 berturut-turut yaitu sebesar 0,670; 0,553; 0,628; 0,701 dan 0,389. Nilai PI merupakan suatu tolok ukur yang memperlihatkan homogenitas dari ukuran partikel, dan nilai PI memiliki rentang antara 0-1. Nilai PI yang mendekati 0 menunjukkan ukuran partikel yang homogen, sedangkan PI > 0,3 menunjukkan ukuran partikel yang heterogen (Malvern 2012). Berdasarkan nilai PI tersebut, seluruh formula niosom memiliki distribusi ukuran partikel yang heterogen karena memiliki nilai PI > 0,3. Fisetin niosom yang dihasilkan memiliki ukuran yang heterogen kemungkinan karena tiap formula memiliki konsentrasi komposisi span 60 dan kolesterol yang berbeda-beda serta waktu sonikasi yang kurang optimal sehingga menghasilkan beberapa variasi ukuran partikel yang menyebabkan ukurannya tidak sejenis dan tidak homogen.

2. Pembuatan Kurva Kalibrasi

2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum. Panjang gelombang maksimum dari serbuk fisetin dilakukan dengan *scanning* larutan fisetin dengan konsentrasi 5 ppm dengan larutan blanko PBS pH 7,3. Penggunaan larutan PBS pH 7,3 sebagai blanko disebabkan karena PBS pH 7,3 merupakan fase air yang digunakan pada saat proses hidrasi niosom. Kurva baku kemudian dibaca pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran menunjukkan puncak serapan pada panjang gelombang 367 nm dengan serapan sebesar 0,324. Menurut Bothiraja (2014), panjang gelombang maksimum fisetin sebesar 361 nm. Perbedaan hasil panjang gelombang yang didapatkan dengan literatur dapat dipengaruhi oleh proses preparasi dan kondisi lingkungan. Hasil tersebut tidak berbeda secara signifikan sehingga panjang gelombang tersebut selanjutnya dapat digunakan untuk menentukan kurva kalibrasi dan efisiensi penjerapan fisetin dalam niosom.

2.2 Penentuan *Operating Time*. Penentuan *operating time* bertujuan untuk melihat kestabilan reaksi suatu senyawa yang dianalisis. Pengujian

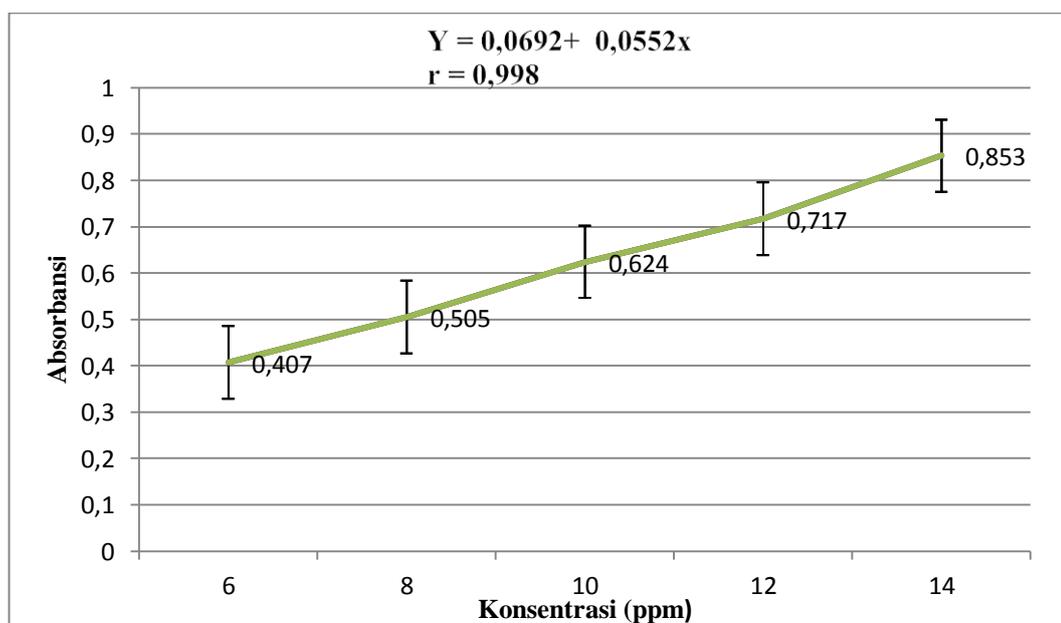
dilakukan dengan membaca larutan induk fisetin pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai serapan yang stabil pada 18-19 menit.

2.3 Kurva Kalibrasi. Kurva kalibrasi fisetin dibuat dengan konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 14 ppm. Seri konsentrasi larutan tersebut diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum fisetin dengan pembacaan triplo. Hasil persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y = 0,0692 + 0,0552 x$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,998. Hasil penentuan kurva baku dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penentuan kurva baku fisetin

Konsentrasi Fisetin (ppm)	Absorbansi
6	0,407
8	0,505
10	0,624
12	0,717
14	0,853

Hubungan antara konsentrasi (ppm) dengan absorbansi fisetin dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Grafik hubungan antara konsentrasi fisetin dengan absorbansi

2.4 Verifikasi Metode Analisis. Verifikasi metode analisis yang dilakukan yaitu penentuan linieritas, penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi (LOD) didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil yang dapat dideteksi namun tidak perlu secara kuantitatif, sedangkan definisi LOQ dikatakan sebagai konsentrasi terkecil analit yang dapat diukur secara kuantitatif. Statistik perhitungan LOD dan LOQ diperoleh melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ) menunjukkan kesensitifan dari suatu metode, semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif metode yang digunakan (Harvey 2000).

Penentuan LOD dihitung berdasarkan standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*, S) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus, standar deviasi dapat ditentukan berdasarkan intersep-y pada garis regresi (Gandjar & Rohman 2012). Hasil verifikasi metode analisis ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin

Parameter	Hasil
R ² (koefisien determinasi)	0,998
Batas deteksi (LOD)	0,7054 ppm
Batas kuantifikasi (LOQ)	2,1376 ppm

Hasil verifikasi metode analisis menunjukkan serapan dipengaruhi oleh fisetin sebesar 99,8%. LOD dan LOQ dilakukan dengan metode perhitungan yaitu berdasarkan standar deviasi respon dan kemiringan (*slope*) kurva baku. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko 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). Pada penentuan batas deteksi menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi yaitu dengan konsentrasi 0,7054 ppm dan apabila dimasukkan dalam persamaan regresi linear $y = 0,0692 + 0,0552 x$ diperoleh nilai serapan 0,1082. Sedangkan pada penentuan batas deteksi menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat diukur secara kuantitatif

yaitu dengan konsentrasi 2,1377 ppm dan apabila dimasukkan dalam persamaan regresi linear $y = 0,0692 + 0,0552 x$ diperoleh nilai serapan 0,1872.

3. Efisiensi Penjerapan

Pengujian efisiensi penjerapan fisetin dilakukan untuk mengetahui persentase fisetin yang mampu terjerap dalam vesikel niosom yang dihasilkan dan mengetahui efisiensi dari metode yang digunakan (Rahman *et al.* 2011). Suatu sistem penghantaran obat harus memiliki kapasitas pemuatan obat yang tinggi dan bertahan lama. Kapasitas pemuatan obat (efisiensi penjerapan) pada umumnya dinyatakan dalam persen obat yang terjerap dalam fase lemak terhadap obat yang ditambahkan (Gregoriadis 2007).

Pengujian efisiensi penjerapan fisetin dilakukan sebanyak tiga kali dengan cara memisahkan zat aktif bebas dari vesikel penjerapan zat aktif dengan menggunakan teknik sentrifugasi. Fisetin niosom di disentrifugasi selama 50 menit pada 3.000 rpm pada suhu kamar agar zat aktif yang tidak terjerap dapat terpisah. Jumlah obat bebas (FD) ditentukan pada supernatan. Supernatan diambil sebanyak 1 ml kemudian diencerkan dengan PBS pH 7,3 sampai 10 ml dalam labu ukur dan dikocok hingga homogen. Analisis supernatan hasil sentrifugasi ditetapkan kadarnya dengan menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum fisetin yang sudah ditentukan sebelumnya. Struktur kimia fisetin terdapat gugus kromofor, yaitu gugus C=O dan benzene sehingga fisetin dapat terdeteksi pada panjang gelombang maksimum 367 nm. Hasil efisiensi penjerapan disajikan dalam tabel 5.

Tabel 5. Efisiensi penjerapan fisetin niosom

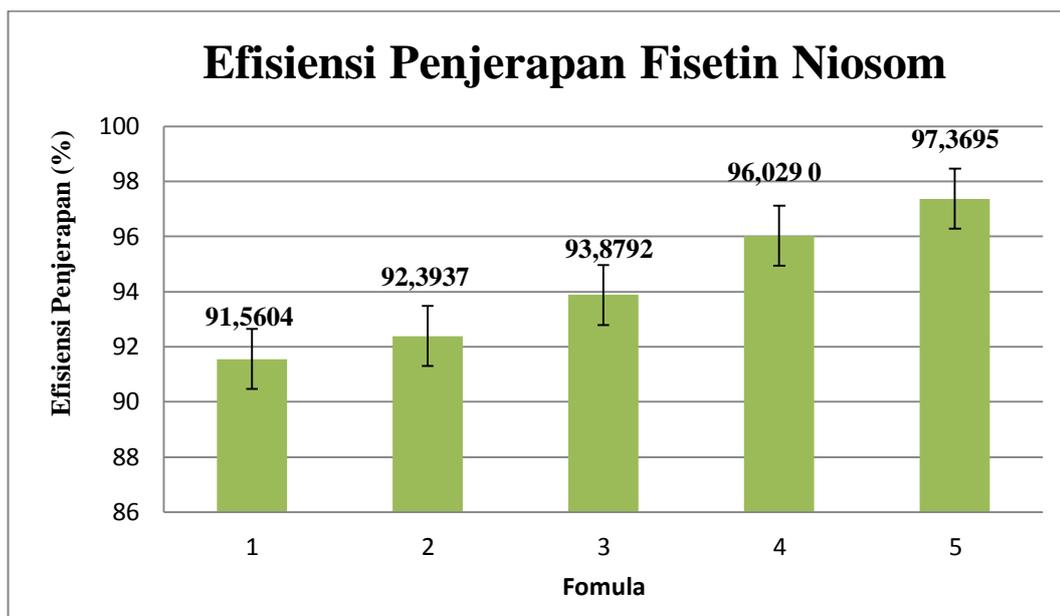
Formula	Absorbansi	Efisiensi penjerapan (%) \pm SD	Jumlah yang terjerap (mg)
F 1	0,768	91,5604 \pm 0,002	137,3406
F 2	0,699	92,3937 \pm 0,002	138,5906
F 3	0,576	93,8792 \pm 0,002	140,8188
F 4	0,398	96,0290 \pm 0,002	144,0435
F 5	0,287	97,3695 \pm 0,002	146,0542

Keterangan : F1 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 100 mg : 200 mg); F2 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 150 mg : 200 mg); F3 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 200 mg); F4 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 150 mg); F5 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 100 mg).

Dispersi nanopartikel diketahui dapat menjerap obat dengan jumlah yang relatif besar. Hasil pengukuran efisiensi penjerapan pada niosom yang mengandung fisetin untuk F1, F2, F3, F4 dan F5 dapat dilihat pada tabel 5. Adapun efisiensi penjerapan kelima formula niosom yang dihasilkan berturut-turut adalah 91,5604 %; 92,3937%; 93,8792 %; 96,0290 % dan 97,3695 %. Efisiensi penjerapan fisetin niosom dipengaruhi oleh konsentrasi kolesterol dan span 60 yang digunakan. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan persentase efisiensi penjerapan fisetin niosom berbanding lurus dengan jumlah span 60 yang ditambahkan kedalam formula. Semakin banyak jumlah span 60 yang ditambahkan kedalam formula maka akan semakin meningkatkan efisiensi penjerapan niosom. Formula fisetin niosom yang memiliki efisiensi penjerapan paling tinggi adalah F5 yang memiliki konsentrasi span 60 sebanyak 200 mg dan kolesterol sebanyak 100 mg memiliki ukuran 120,6 nm dapat menjerap fisetin cukup besar yaitu 97,3695 %. Sedangkan formula fisetin niosom yang memiliki efisiensi penjerapan paling rendah adalah F1 yang memiliki konsentrasi span 60 sebanyak 100 mg dan kolesterol sebanyak 200 mg memiliki ukuran 148,1 nm dapat menjerap fisetin cukup besar pula yaitu 91,5604 %. Peningkatan konsentrasi span 60 akan menghasilkan niosom dengan kemampuan menjerap fisetin yang lebih besar dengan ukuran niosom akan semakin kecil, sedangkan peningkatan konsentrasi kolesterol akan menghasilkan niosom dengan kemampuan menjerap fisetin yang lebih kecil dengan ukuran niosom akan semakin besar.

Untuk suatu sistem penghantaran seperti niosom kemampuan menjerap obat yang tinggi dengan konsentrasi lipid penyusun yang rendah adalah lebih baik, karena akan membentuk vesikel dengan ukuran yang lebih kecil sehingga memungkinkan absorpsi lintas membran yang lebih baik. Hal ini tergantung dari berapa obat yang bisa masuk ke dalam vesikel yang terbentuk sesuai dengan ukuran vesikel niosom tersebut. Ukuran niosom ditentukan oleh besarnya konsentrasi bahan pembentuk yang digunakan. Tingkat optimal obat yang terjerap didalam niosom ditentukan oleh seberapa kecil ukuran niosom yang terbentuk dan besarnya obat yang terjerap. Semakin besar kadar obat bebas, maka akan semakin

menurunkan efisiensi penjerapan niosom yang dihasilkan. Span 60 mempunyai fase transisi suhu yang tinggi, sehingga dapat membentuk vesikel bilayer yang lebih baik. Span 60 memiliki rantai alkil yang paling panjang dibandingkan jenis surfaktan non ionik lainnya. Diagram kelima formula fisetin niosom dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar 13. Efisiensi penjerapan fisetin niosom

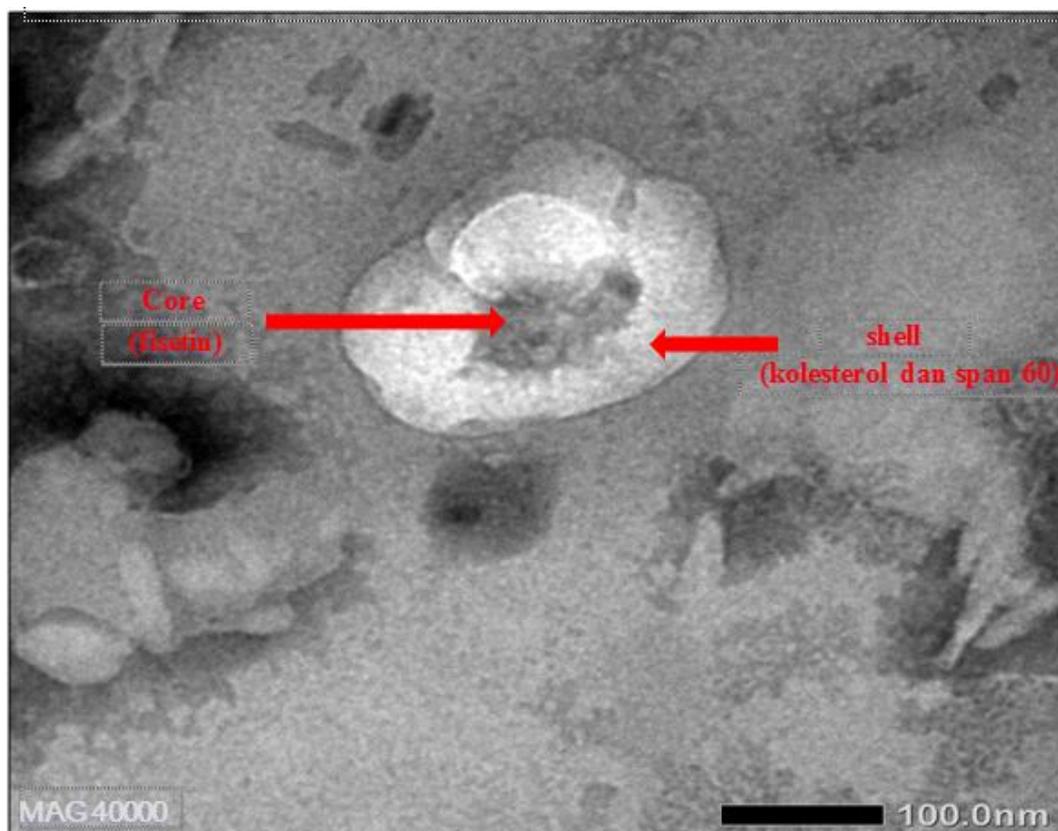
Setelah melihat hasil analisis ukuran tiap formula dan hasil efisiensi penjerapannya, maka ditentukan F5 yang akan dilihat morfologinya dan akan dilakukan uji stabilitas. Pemilihan F5 berdasarkan ukuran partikel yang paling kecil dan dari hasil efisiensi penjerapannya yang paling tinggi.

4. Morfologi Fisetin Niosom

Pengamatan morfologi fisetin niosom yang dihasilkan yaitu menggunakan TEM yang merupakan teknik yang dapat digunakan untuk menentukan bentuk dan morfologi dari dispersi nanopartikel. Morfologi dari fisetin niosom yang dihasilkan dilihat morfologinya dengan menggunakan TEM FEI Tecnai G2 20 S-Twin bertegangan 200 kV kelas akselerasi TEM dengan sub angstrom beresolusi 0,24 nm (titik) dan 0,188 nm (garis) yang dilengkapi dengan fasilitas kamera CCD

dan EDS (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy). Morfologi dari fisetin niosom dapat dilihat pada gambar 14.

Terlihat pada gambar 14 bahwa partikel fisetin niosom berbentuk iregular. Dari analisis TEM, fisetin niosom yang dihasilkan termasuk jenis LUV (Large Unilamellar Vesicles) yang dikelilingi satu lapis lemak ganda. Vesikel ini terbentuk dari emulsi kolesterol dan span 60 dalam dapar salin dengan kehadiran fase pelarut organik, diikuti dengan penguapan pelarut organik tersebut dibawah tekanan vakum pada rotari evaporator. Niosom LUV yang dihasilkan dengan cara ini disebut REV (*Reverse Evaporation Vesicles*). (Kozubek 2000; Verma 2010).



Gambar 14. Morfologi fisetin niosom menggunakan TEM dengan perbesaran 40.000 kali

Vesikel niosom yang memiliki bentuk bulat akan lebih mudah teradsorpsi pada pori-pori kulit dan mudah melebur dengan reseptor ligan pada vesikel membran, sehingga zat aktif dalam niosom dapat terpenetrasi ke lapisan kulit yang lebih dalam (Akhiles *et al.* 2012 ; Anwar *et al.* 2004). Salah satu penyebab terjadinya penggabungan partikel dan bentuk partikel yang tidak sferis adalah

karena partikel akan yang cenderung membentuk suatu sistem dan terjadi pengendapan dibandingkan membentuk satu partikel saja.

5. Uji Stabilitas Fisetin Niosom Setelah Penyimpanan

5.1 Pengamatan Secara Visual. Fisetin niosom (Formula 5) disimpan pada suhu ruang selama 4 minggu. Warna fisetin niosom formula 5 minggu ke-0 hingga minggu ke-4 diperoleh warna kuning kecoklatan yang berasal dari fisetin. Formula 5 memiliki bau khas, yaitu bau khas fisetin. Setelah 4 minggu pengamatan, pada formula 5 mengalami perubahan warna dari kuning kecoklatan homogen berubah menjadi lebih bening pada bagian atasnya karena terjadi pengendapan. Endapan yang terbentuk tidak terlalu banyak karena konsentrasi surfaktan yang digunakan lebih banyak dari pada penggunaan jumlah kolesterol, sehingga surfaktan yang berperan sebagai emulgator yang dapat menahan terjadinya pengendapan. Selain itu, hal tersebut juga dipengaruhi oleh suhu kamar yang tidak stabil dan berubah-ubah sehingga akan meningkatkan energi kinetis dari tetesan-tetesan. Hal tersebut memudahkan penggabungan antar partikel (beraglomerasi) karena suhu penyimpanan yang tidak dijaga 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. Dengan adanya gerak brown ini maka partikel koloid terhindar dari pengendapan karena terus-menerus bergerak (Wu 2010). Endapan yang terjadi bersifat reversibel karena dapat terdispersi kembali setelah dilakukan pengocokan.

Tabel 6. Stabilitas fisetin nanosuspensi pada suhu kamar

Formula	Minggu	Endapan
F5	I	-
F5	II	-
F5	III	Ada
F5	IV	Ada

Keterangan: formula 5 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 100 mg)

5.2 Analisis Ukuran dan Distribusi Partikel Sebelum dan Setelah Penyimpanan. Uji stabilitas setelah penyimpanan dilakukan pada suhu ruang selama 4 minggu. Uji stabilitas meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta. Hasil uji stabilitas dapat dilihat pada Tabel 7. Berdasarkan

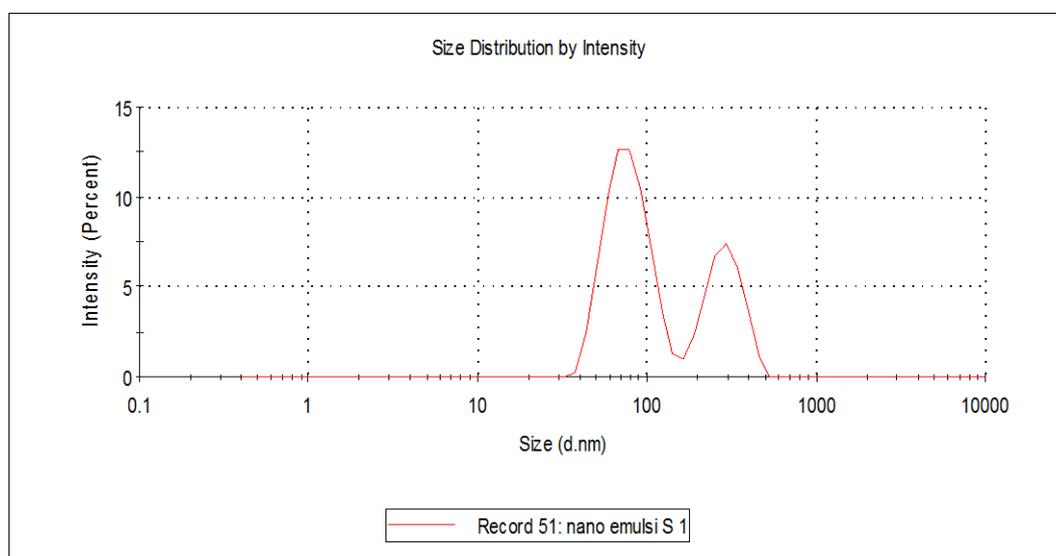
Tabel 7 dapat dilihat bahwa setelah proses penyimpanan terjadi kenaikan ukuran partikel pada formula 5 yaitu dari 120,6 nm menjadi 177,8 nm. Ukuran partikel selama penyimpanan masih dalam range ukuran niosom yaitu 20 nm hingga 50 μ m. Kenaikan ukuran partikel fisetin niosom ini dapat disebabkan oleh terjadinya ketidakstabilan fisika pada dispersi nanopartikel dan menyebabkan terjadinya peningkatan ukuran partikel selama penyimpanan. Ketidakteraturan ukuran partikel dapat dilihat berdasarkan pengukuran nilai indeks polidispersitasnya. Formula 5 terjadi penurunan indeks polidispersitas setelah penyimpanan, kemungkinan selama penyimpanan partikel yang berukuran kecil saling menempel dan beraglomerasi menjadi partikel yang lebih besar sehingga ukuran dari dispersi tersebut menjadi lebih seragam dengan yg berukuran besar.

Tabel 7. Ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan

Formula	Ukuran Partikel (nm)		Indeks Polidispersitas	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
F5	120,6	177,8	0,389	0,301

Keterangan: formula 5 = fisetin : span 60 : kolesterol (150 mg : 200 mg : 100 mg)

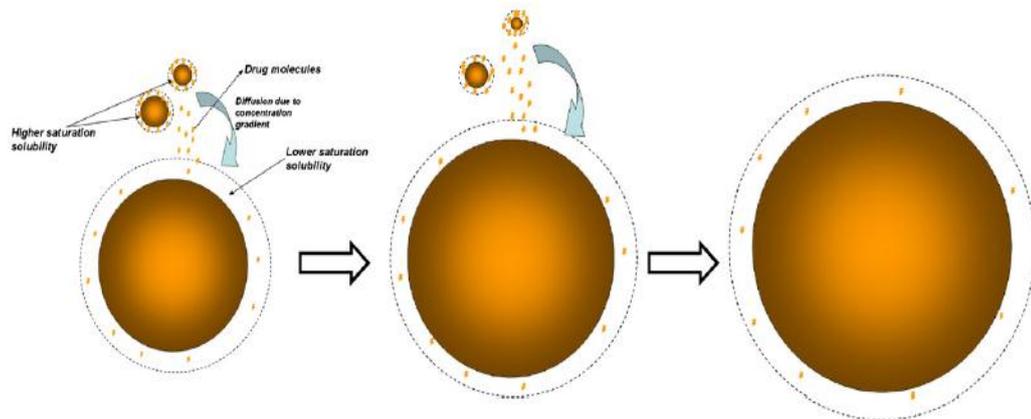
Grafik dari distribusi ukuran partikel sesudah penyimpanan dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Grafik ukuran partikel sebelum dan setelah penyimpanan.

Peningkatan ukuran partikel setelah penyimpanan dapat dijelaskan melalui mekanisme *Ostwald ripening*. Ukuran partikel kecil (nm) memiliki kelarutan yang lebih tinggi daripada ukuran partikel yang besar (μ m), 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 *Oswald ripening* dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Mekanisme *oswald ripening* (Wu 2010)

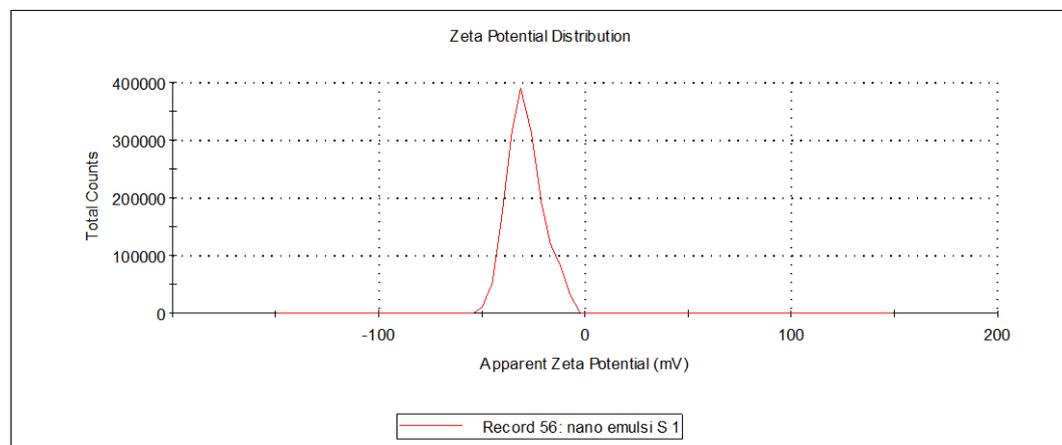
Oswald ripening tidak hanya mengakibatkan perbesaran ukuran partikel namun juga ketidakseragaman distribusi ukuran partikel sehingga ukuran partikel menjadi bervariasi.

Hasil pengukuran potensial zeta selama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 8

Tabel 8. Nilai potensial zeta setelah penyimpanan

Formula	Potensial Zeta (mV) \pm SD
F5	$-28,8 \pm 1,906048$

Grafik dari potensial zeta sesudah penyimpanan dapat dilihat pada gambar 17.



Gambar 17. Grafik potensial zeta setelah penyimpanan

Potensial zeta mengindikasikan muatan dari partikel dalam medium spesifik. Potensial zeta mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan (Sinko 2012). Nilai potensial zeta yang tinggi (negatif atau positif) mencegah terjadinya agregasi dari partikel karena adanya gaya tolak-menolak dan adanya stabilitas secara elektrik dari dispersi nanopartikel. Nilai potensial zeta dari suatu partikel yang terlalu kecil, akan terjadi gaya tarik-menarik yang lebih besar dibandingkan gaya tolak-menolak sehingga menyebabkan terjadinya koagulasi dan flokulasi. Asumsi ini tidak dapat diaplikasikan untuk dispersi koloid, terutama pada dispersi yang mengandung penstabil sterik. 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). Hasil pengujian potensial zeta dari fisetin niosom setelah penyimpanan adalah -28,8 mV. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari pengukuran nilai potensial zeta menunjukkan nilai potensial yang relatif stabil sehingga dapat dikatakan gaya tolak-menolak partikel yang terdapat pada sediaan cenderung lebih besar dibandingkan gaya tarik-menarik partikel. Sehingga resiko partikel beraglomerasi cenderung berkurang. Hasil ini menunjukkan fisetin niosom yang dihasilkan cukup stabil.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

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

Pertama, fisetin niosom dapat dibuat menggunakan kombinasi metode hidrasi lapis tipis dan sonikasi.

Kedua, penggunaan kombinasi konsentrasi anantara surfaktan span 60 dan kolesterol memberikan hasil ukuran partikel yang masuk *range* niosom yang berukuran nanometer.

Ketiga, karakterisasi fisetin niosom menghasilkan ukuran partikel rata-rata pada F1, F2, F3, F4 dan F5 berturut-turut sebesar yaitu 148,1; 169,6; 128,6; 187,1 dan 120,6 nm. Efisiensi penjerapan sebesar efisiensi penjerapan kelima formula niosom yang dihasilkan berturut-turut adalah 91,5604 %; 92,3937%; 93,8792 %; 96,0290 % dan 97,3695 %. Pada uji TEM dan uji stabilitas hanya dilakukan pada F5, terlihat niosom berbentuk iregular dan ukuran partikel setelah penyimpanan sebesar 177,8 nm serta zeta potensial sebesar -28,8 mV.

Keempat, fisetin niosom mengalami perubahan ukuran partikel tetapi dilihat dari hasil potensial zetanya maka fisetin niosom ini cukup stabil dalam proses penyimpanan.

B. Saran

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

Pertama, perlu dilakukan analisis modifikasi jenis surfaktan menggunakan DSC untuk mengetahui modifikasi lipid yang berpengaruh pada penjerapan obat dan pelepasan obat.

Kedua, perlu dilakukan uji kelarutan kinetik dan uji disolusi untuk mengetahui kelarutan fisetin niosom.

Ketiga, perlu dilakukan variasi kombinasi surfakan non ionik untuk menelusuri stabilitas terbaik pada fisetin niosom.

DAFTAR PUSTAKA

- Abhinav, K., Lal, P.J., Amit, J., & Vishwabhan, S. 2011. Review on Niosomes as Novel Drug Delivery System. *International Research Journal of Pharmacy*, vol. 2, p. 6165.
- Akhiles D., Bini KB., Kamath JV. 2012. Review on Span 60 Based Non-Ionic Surfactant vesicles (Niosomes) as Novel Drug Delivery. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* ISSN India. Hal: 9-10.
- Akron, O. 2006. Resistance Band & Tubing Instruction Manual. *German: The Hygenic Corporation*, 4: 3-39.
- Allen, T.M., Cullis, P.R. 2004. Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science* 303, 1818–1822.
- Ansel HC. 2008. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta : UI Press.
- Ansel, HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar, Iis Aisyah, Edisi keempat, Jakarta, UI Press.
- Anwar, Efiionora, Henry dan Mahdi Jufri. 2004. Studi kemampuan niosom yang menggunakan maltodekstrin pati garut (*Maranta arundinaceae* Linn.) sebagai pembawa klorfeniramin maleat. *Makara, Sains*, Vol. 8, No. 2, Agustus 59-64.
- Arai, Y., Watanabe, S., Kimira, M., Shimoi, K., Mochizuki, R., Kinai, N. 2000. Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J. Nutr.* 130, 2243–2250.
- Batist, G., Ramakrishnan, G., Rao, C.S., Chandrasekharan, A., Gutheil, J., Guthrie, T., Shah, P., Khojasteh, A., Nair, M.K., Hoelzer, K., Tkaczuk, K., Park, Y.C., Lee, L.W. 2001. Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 19, 1444–1454.
- Bhat, B.A., Shafi, S., Purnima, B., Banday, A.H., Kumar, H.M.S. 2012. Ferrier rearrangement for the synthesis of PEG-bound 2,3-unsaturated glycopyranosyl-amino acids. *Tetrahedr. Lett.* 48, 1041-1454.
- Bhat, T.A., Nambiar, D., Pal, A., Agarwal, R., Singh, R.P. 2012. Fisetin inhibits various attributes of angiogenesis in vitro and in vivo – implications for

- angioprevention. *Carcinogenesis* 33, 385–393.
- Biju, S.S., Talegaonkar, S., Mishra P.R., & Khar R.K. 2006. Vesicular Systems: An Overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 68, p. 141-153.
- Blazek-Welsh, A.I dan D.G. Rhodes. 2001. *Maltodextrin-based Proniosome*, AAP Pharmaceutical Sciences.
- Bothiraja Chellampillai. 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
- Carafa, M., Santucci, E., Alhaique, F., Coviello, T., Murtas, E., Ricciari, F.M., Lucania, G., & Torrasi, M.R. 2013. Preparation and Properties of New Unilamellar Non-ionic/Ionic Surfactant Vesicles. In: *Pelepasan dan Penetrasi PharmaScientia*, Vol.2.
- Chandu, V. Pola. 2012. International Journal Of Novel Trends In Pharmaceutical Sciences. Niosomes : A Novel Drug Delivery System. *IJNTPS*. 2, 25-31
- Chavan,P., Jain,B.,Jain,P. 2012. Proniosomal Gel : A Novel Approach for Transdermal Drug Delivery – A Review. *IJPRD.*, Vol.4 No.3, p.158-170.
- 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.
- Depkes. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fotsis, T., Pepper, M.S., Aktas, E., Breit, S., Rasku, S., Adlercreutz, H., Wahala, K., Montesano, R., Schweigerer, L. 1997. Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis. *Cancer Res*. 57. 2916-2921.
- Gabizon, A.A. 1992. Selective tumor localization and improved therapeutic index of anthracyclines encapsulated in long-circulating liposomes. *Cancer Res*. 52, 891–896.
- Gandjar IG. & Rohman A. 2012. *Analisis Obat secara Spektroskopi dan Kromatografi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Giddi, H., M. Arunagirinathan and J. Bellare. 2007. Self-assembled surfactant nano-structures important in drug delivery: a review. *Indian J. Exp. Biol.*, 45(2): 133-159.

- Gregoriadis, Gregory. 2007. Liposome Technology: Liposome Preparation and Related Techniques. Third Edition. Vol I. *Informa Healthcare USA*. Inc. 21-32.
- Harvey, David. 2000. Modern Analytical Chemistry. The McGraw-Hill Companies. USA.
- Hielscher T. 2005. Ultrasonic Production of Nano-size Dispersions and Emulsions. <http://www.Hielscher.com> [2 Feb 2018].
- Hu-Jun, X., Wang-Shu, M., Fu-Rong, L., Jie-Hui, X., LEI Qun-Fang, L., Wen-Jun, F. 2013. Radical Scavenging Activity of Myricetin, *Acta Phys. Chim. Sin.*, **29** (7), 1421-1432.
- Jang, K.Y., Jeong, S.J., Kim, S.H., Jung, J.H., Kim, J.H., Koh, W., Chen, C.Y., Kim, S.H. 2012. *Activation of reactive oxygen species/AMP activated protein kinase signaling*
- Jufri, Mahdi. 2004. Arah dan Perkembangan Liposom Drugs Delivery System, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol I(2).
- Kapoor, A., Gahoi, R., & Kumar, D. 2011. In-vitro Drug Release Profile of Acyclovir from Niosomes Formed with Different Sorbitan Esters. *Asian Journal of Pharmacy & Life Science*, vol. 1, p. 64-70.
- Karlik, Miroslav. 2001. *Lattice Imaging In Transmission Electron Microscopy, Department of Materials*. Faculty of Nuclear Sciences and Physical Engineering. Czech Technical University in Prague. Trojanova 13. 120 00 Prague 2. Czech Republic.
- Kozubek, Arkadiusz. 2000. Liposomal Drug Delivery, a novel approach: PLARomes. *Acta Biochimica Polonica*, Vol 47(3) 639-649.
- Kumar, K., Rai, A.K., 2011. Development and Evaluation of Proniosomes as A Promising Drg Carrier to Improve Transdermal Drug Delivery *JRJP.*, Vol.2 No.11, p.71-74.
- Kumarn, G. and P. Rajeshwarrao, 2011. Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery—an overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 1(4): 208-219.
- Lee, S., Kim, Y.J., Kwon, S., Lee, Y., Choi, S.Y., Park, J., Kwon, H.J. 2009. Inhibitory effects of flavonoids on TNF-alpha-induced IL-8 gene expression in HEK 293 cells. *BMC Rep.* 42, 265–270.
- Leekumjorn, Sukit 2004. Synthesis and Characterization of Potential Drug Delivery Systems using Nonionic Surfact Nanoparticle vesicular system: A versatile tool for drug delivery. *J. Chem. Res.* Vol 2 (2): 496-509.

- Maeda, H., Wu, J., Sawa, T., Matsumura, Y., Hori, K. 2000. *Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. J. Control. Release* 65, 271–284.
- Mahale, N.B., P.D. Thakkar, R.G. Mali, D.R. Walunj and S.R. Chaudhari. 2012. Niosomes: Novel Sustained Release Nonionic Stable Vesicular Systems-an overview. *Advances in Colloid and Interface Science*, 183-184: 46-54.
- Makeshawar, Kshitij B, Wasankar, Suraj R. 2013. Niosome: A Novel Drug Delivery System. *Asian Parmapres* 3(1), 16-20.
- Malvern Instruments Limited. 2012. Dynamic Light Scattering Common Terms Defined. <http://www.malvern.com>. diakses pada 14 Desember 2017.
- Manosroi, Aranya. 2012. Anti-Aging Efficacy of Topical Formulation Containing Niosomes Entrapped with Rice Bioactive Compounds. *Natural Products Research and Development Center (NPRDC)*, 50(2): 208-224.
- Manosroi, Aranya. 2003. Characterization of vesicles prepared with various non-ionic surfactan mixed with cholesterol, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 30(2003).
- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A. 1983. *Physical Pharmacy* 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger
- Maureen, Maguire. 2002. The mouse GalR2 galanin receptor: genomic organization, cDNA cloning, and functional characterization. *Journal of Neurochemistry*. 71(6).
- Medicago, AB. 2010. *Phosphate Buffered Saline Specification Sheet*.
- Mignet Nathalie. 2012. Development of a Liposomal Formulation of the Natural Flavonoid Fisetin. *International Journal of Pharmaceutics*.
- Mills, G.A. Ecklund, E.E. "Mills GA, Ecklund EE. 1987. *Alcohols as Components of Transportation Fuels. Annual Review of Energy* 12: 47–80.
- Muller, R. H., Mader, K., & Gohla, S. 2000. Solid lipid nanoparticles (NIOSOM) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 161-177.
- Myers D. 2006. *Surfactant Science and Technology*. Edisi III. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc
- Park, H.H., Lee, S., Oh, J.M., Lee, M.S., Yoon, K.H., Park, B.H., Kim, J.W., Song, H., Kim, S.H., 2007. Anti-inflammatory activity of fisetin in human mast cells (HMC-1). *Pharmacol. Res.* 55, 31–37.

- Park, J.S., Shin, K.H, park, J.B., Lee, S. dan Hwang, S.J. 2007. Disintegrating Behaviour of A Rapidly Disintegrating Famotidine Tablet Formulation. *J. Kor. Pharm. Sci.* 37(5): 275-280.
- Pham, Thi Thuy. 2012. Colloids and Surface B: Biointerface. Liposome and Niosome Preparation Using A Membrane Contactor for Scale-Up. *France.* 94, 15 – 21.
- Pooja D,Tunki L, Kulhari H, Reddy B.B, Sistla R. 2015. Optimization of Solid Lipid Nanoparticles Preparedby a Single Emulsification-Solvent Evaporation Method. *Elsevier Ins* 6 : 15-19
- Purwanti, Tutiek, Tristiana Erawati, Noorma Rosita, Abdulloh Suyuti, dan Uci Chilmi Nasrudah. 2013. *Pelepasan dan Penetrasi Natrium Diklofenak Siistem Niosom Span 60 dalam Basis Gel HPMC 400*. Surabaya: Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.
- Rafeeq M. P. E., Junise V., Saraswathi R., Krishnan P. N., Dilip C. 2010, *Development and characterization of chitosan nanoparticles loaded with isoniazid for the treatment of Tuberculosis*, RJPBCS, 1(4): 383
- Ragelle Heloise. 2012. Nanoemulsion Formulation of Fisetin Improves Bioavailability and Antitumour Activity in Mice. *International Journal of Pharmaceutics. Paris Descartes University. Faculty of Pharmacy.*
- Rahimpour, Yahya, Hamed Hamishehkar. 2012. Recent Advances in Novel Drug Carrier System : Niosomes as Carrier in Dermal Drug Delivery. *Iran : Tabriz University of Medical Sciences.*
- Rahman, Latifah, Isriany Ismail, Elly Wahyudin. 2011. Kapasitas Jerap Niosom Terhadap Ketoprofen dan Prediksi Penggunaan Transdermal. Makasar : Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin dan Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negri. Alauddin. *MFI.* 22 (2). 85-91.
- Rahman, Latifah. Ismail, Isriany. Wahyudin, Elly. 2011. Japasitas Jerap Niosom Terhadap ketoprofen dan prediksi penggunaan transdermal. *Majalah Farmasi Indonesia.* 22(2). 85-91.
- Rahmawati, Anita. 2009. *Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia)*. Depok : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ravichandran R. 2009. Nanoparticles in drug delivery: Potensial green nanobiomedicine applications. *Int. J. Green Nanotech. Biomed.*, 1: B108-B130
- 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., 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.
- Ruckmani, Kandasamy & Sankar, Veinramuthu. 2010. Formulation And Optimization of Zidovudine Niosomes. *American Association of Pharmaceutical Scientists*. 03 (03) : 1119-1127.
- Sahin. 2007. Niosome as nanocarrier systems. Dalam: Mozari MR, editor. *Nanomaterials and nanosystems for biomedical applications*. New York: Springer; 2007. 67-81.
- Sankhyan, A. and P. Pawar. 2012. Recent Trends in Niosome as Vesicular Drug Delivery System. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02(06): 20-32.
- Sathali, A. Abdul Hasan, G. Rajalakshmi. 2010. *Evaluation of Transdermal Targeted*
- Sengupta B., Banerjee A., & Sengupta P.K. 2005. Antioxidant and Prooxidant Properties of Flavonoids. *J. Photochem. Photobiol.* 80, 79-86.
- Shahiwala, Aliasgar dan Misra, Ambikanandan. 2002. Studies in topical application of niosomally entrapped Nimesulide. *J Pharm Pharmaceutical Sciences*, 5(3) 220-225.
- Shargel L, Yu ABC. 2005. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan. Diterjemahkan oleh Fasich*, Surabaya : Airlangga University Press, hal. 86-87.
- Sharma, S. kumar, M. Chauhan and N. Anilkumar. 2009. Span 60 Niosomal Oral Suspension of fluconazole: formulation and in vitro evaluation. *JPRHC Vol 1(2)*: 142-156.
- Shivanand, Pandey.2010. Development and Characterization of Cefpodoxime proxetil Niosom. *IJPWR Vol 1(3)*
- Siehl, J.M., Thiel, E., Schmittel, A., Hutter, G., Deckert, P.M., Szelenyi, H., Keilholz, U. 2005. Ifosfamide/liposomal daunorubicin is a well tolerated and active first-line chemotherapy regimen in advanced soft tissue sarcoma: results of a phase II study. *Cancer* 104, 611–617.
- 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's Physician Pharmacy and Pharmaceutical Science*. *Lippincot Williams & Wilkins*, **6**, 646-666.
- Suh, Y., Afaq, F., Johnson, J.J., Mukhtar, H. 2009. A plant flavonoid fisetin induces apoptosis in colon cancer cells by inhibition of COX2 and Wnt/EGFR/NF-kappa B-signaling pathways. *Carcinogenesis* 30, 300–307.
- Syed, D.N., Afaq, F., Maddodi, N., Johnson, J.J., Sarfaraz, S., Ahmad, A., Setaluri, V., Mukhtar, H. 2011. Inhibition of human melanoma cell growth by the dietary flavonoid fisetin is associated with disruption of Wnt/beta-catenin signaling and decreased Mitf levels. *J. Invest. Dermatol.* 131, 1291–1299.
- Touil, Y.S., Auzeil, N., Boulinguez, F., Saighi, H., Regazzetti, A., Scherman, D., Chabot, G.G. 2011. Fisetin disposition and metabolism in mice: identification of geraldol as an active metabolite. *Biochem. Pharmacol.* 82, 1731–1739.
- Uchegbu, I.F. and S.P. Vyas. 1998. Non-ionic Surfactant Based Vesicles (niosomes) in Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 172: 33-70.
- Uchegbu, Ijeoma F., Schatzlein, Andreas. 2003. Generics Manufacturers Should Exploit Drug Delivery Technologies for Improved Therapeutics. URL : www.bbriefings.com/pdf/17/pt031_p_uchegbu.pdf [Stand:11.12.2017].
- Verma, Surender, S.K. Singh, Navneet S., P. Mathur, V. Valecha . 2010. mediates fisetin-induced apoptosis in multiple myeloma U266 cells. *Cancer Lett.* 319, 197–202.
- Vierkotter, U. Ranft, U. Kramer. 2009. The SCINEXA: a novel, validation score to simultaneously assess and differentiate between intrinsic and extrinsic skin ageing. *J Dermatol Sci*, pp. 207-211.
- Voigh, Rudolf. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmaasi*. (Terj), Gadjadara University Press. Malang.
- Wagh, D. Vijay and onkar J.D. 2010. Niosomes as ophthalmic drug delivery system. *Journal of pharmacy research* 3(7).
- Woodman, O.L., Chan, E.C. 2004. Vascular and anti-oxidant actions of flavonols and flavones. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 31, 786–790.
- World Health Organization (WHO). 2014. *Commission on Ending Childhood Obesity*. Geneva, World Health Organization, Department of Noncommunicable disease surveillance.

- Yang, P.M., Tseng, H.H., Peng, C.W., Chen, W.S., Chiu, S.J. 2012. Dietary flavonoid fisetin targets caspase-3-deficient human breast cancer MCF-7 cells by induction of caspase-7-associated apoptosis and inhibition of autophagy. *Int. J. Oncol.* 40, 469–478.
- 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
- Ying, T.H., Yang, S.F., Tsai, S.J., Hsieh, S.C., Huang, Y.C., Bau, D.T., Hsieh, Y.H. 2012. Fisetin induces apoptosis in human cervical cancer HeLa cells through ERK1/2-mediated activation of caspase-8-/caspase-3-dependent pathway. *Arch. Toxicol.* 86, 263–273.

L

A

M

P

7

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
CI-75620, NSC 407010, NSC 656275

Synonyms:

MF: $C_{15}H_{10}O_4$

FW: 286.2

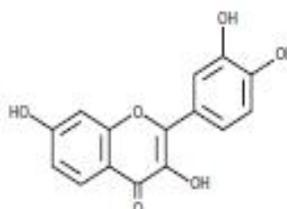
Purity: $\geq 90\%$

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 sirtuin 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 Morrice, 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. Szczechkiewicz, B.G. and Ng, P.Y. *Curr. Top. Med. Chem.* 8(17), 1533-1544 (2008).
5. Singh, R., Masuda, E.S., and Payan, 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 via email 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 03/23/2014

CAYMAN CHEMICAL

1180 EAST ELLSWORTH RD

ANN ARBOR, MI 48108 - USA

PHONE: (800) 364-9897

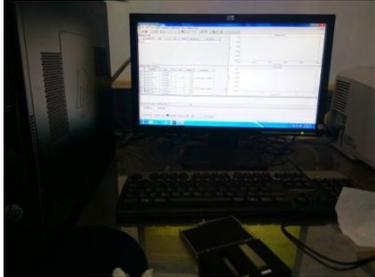
[734] 971-3335

FAX: [734] 971-3640

CLUSTSER@CAYMANCHEM.COM

WWW.CAYMANCHEM.COM

Lampiran 2. Alat – Alat Yang Digunakan Dalam Praktikum

Alat	Nama alat	Kegunaan
	Neraca analitik	Menimbang bahan, baik bahan baku maupun <i>eksipien</i>
 	<i>Spectrophotometer</i> UV-Vis	Pembacaan absorbansi dari bahan aktif yaitu Fisetin
	Sentrifugasi	<i>Centrifuge</i> sampel

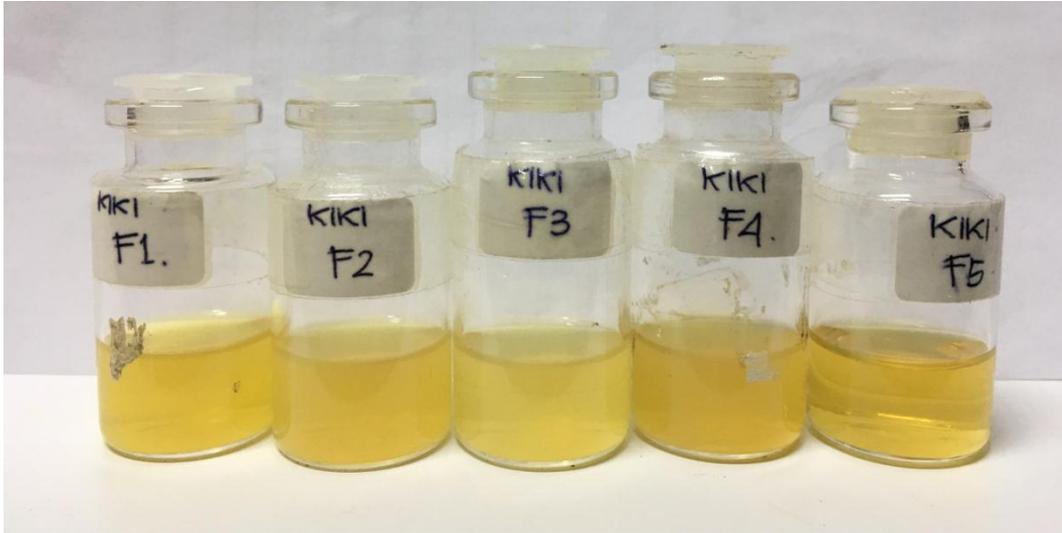


Particle size analyzer (PSA) Mengukur ukuran partikel.

Lampiran 3. Fisetin Niosom Sebelum di Sonikasi

Lampiran 4. Fisetin Niosom Setelah di Sonikasi

Lampiran 5. Fisetin Niosom Setelah Uji Stabilitas

Lampiran 6. Fisetin Niosom Setelah di Sentrifugasi

Lampiran 7. Ukuran Partikel

Sampel	Ukuran Partikel (nm) \pm SD	<i>Polydispers Index</i> \pm SD
F1	148,1 \pm 3,9379	0,670 \pm 0,0934
F2	169,6 \pm 10,1064	0,553 \pm 0,0841
F3	128,6 \pm 2,1948	0,628 \pm 0,0225
F4	187,1 \pm 4,1186	0,701 \pm 0,0403
F5	120,6 \pm 8,0566	0,389 \pm 0,0745

Hasil Ukuran Partikel F1

Size Distribution Report by Intensity v2.2



Sample Details

Sample Name: nano emulsi F1 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rifa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 1	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,55	Viscosity (cP): 1,0031
Material Absorbtion: 0,100	Measurement Date and Time: Kamis, 22 Februari 2018 13...

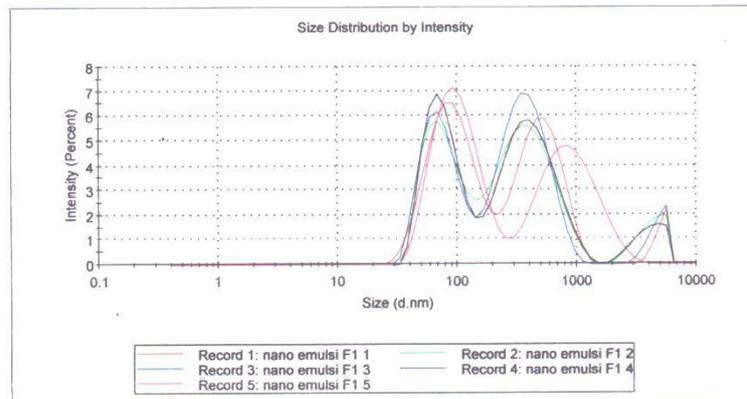
System

Temperature (°C): 20,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 274,4	Measurement Position (mm): 1,25
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 148,1	Peak 1: 97,94	52,0	45,10
Pdl: 0,670	Peak 2: 517,6	43,5	208,5
Intercept: 0,943	Peak 3: 5029	4,4	594,3

Result quality **Good**



Hasil Ukuran Partikel F2

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: nano emulsi F2 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rifa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 6	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,55	Viscosity (cP): 1,0031
Material Absorbion: 0,100	Measurement Date and Time: Kamis, 22 Februari 2018 13...

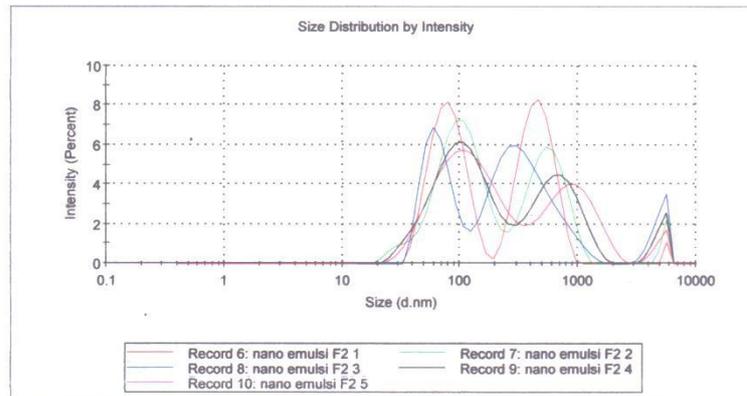
System

Temperature (°C): 20,0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 252,0	Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 169,6	Peak 1: 81,35	50,0	27,67
Pdl: 0,553	Peak 2: 458,6	49,0	145,4
Intercept: 0,954	Peak 3: 5560	1,1	6,104e-5

Result quality **Refer to quality report**



Hasil Ukuran Partikel F3

Size Distribution Report by Intensity v2.2



Sample Details

Sample Name: nano emulsi F3 1
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Rifa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 11	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,55	Viscosity (cP): 1,0031
Material Absorbtion: 0,100	Measurement Date and Time: Kamis, 22 Februari 2018 13...

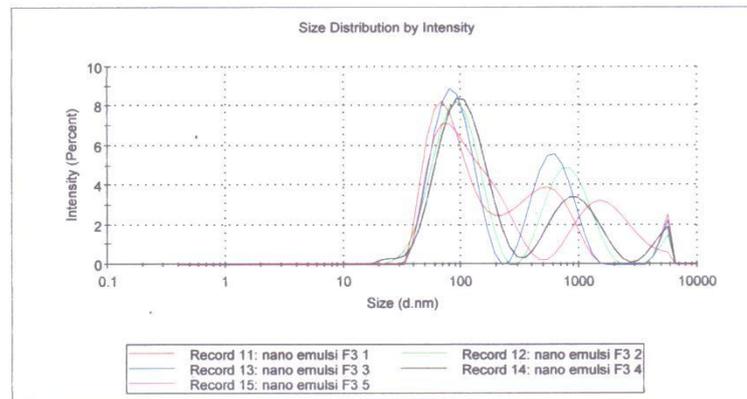
System

Temperature (°C): 20,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 273,9	Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 128,6	Peak 1: 86,87	58,5	38,46
Pdl: 0,628	Peak 2: 506,4	37,3	251,6
Intercept: 0,949	Peak 3: 5193	4,2	479,3

Result quality **Good**



Hasil Ukuran Partikel F4

Size Distribution Report by Intensity v2.2



Sample Details

Sample Name: nano emulsi F4 1
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Rifa 2018.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 31 Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,55 Viscosity (cP): 1,0031
Material Absorbtion: 0,100 Measurement Date and Time: Kamis, 22 Februari 2018 14...

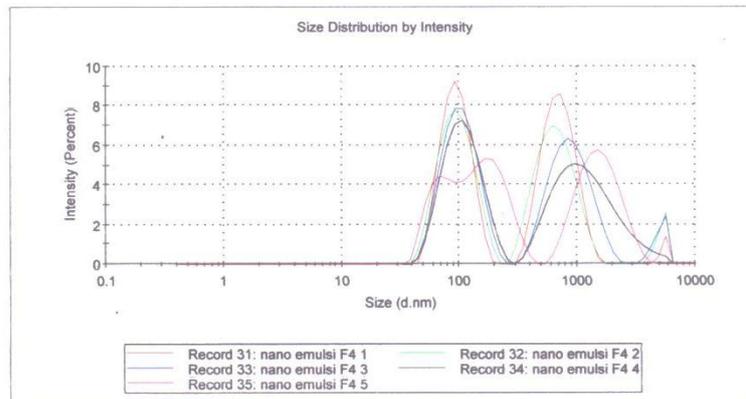
System

Temperature (°C): 20,0 Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 316,4 Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 187,1	Peak 1: 716,5	50,3	225,4
Pdl: 0,701	Peak 2: 95,51	48,0	26,92
Intercept: 0,942	Peak 3: 5416	1,7	297,2

Result quality **Refer to quality report**



Hasil Ukuran Partikel F5

Size Distribution Report by Intensity v2.2



Sample Details

Sample Name: nano emulsi F5 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rifa 2018.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 36	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,55	Viscosity (cP): 1,0031
Material Absorbtion: 0,100	Measurement Date and Time: Kamis, 22 Februari 2018 15...

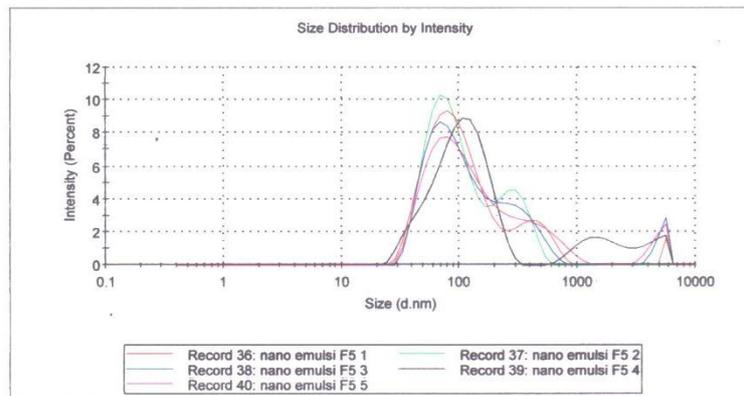
System

Temperature (°C): 20,0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 333,3	Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 8

Results

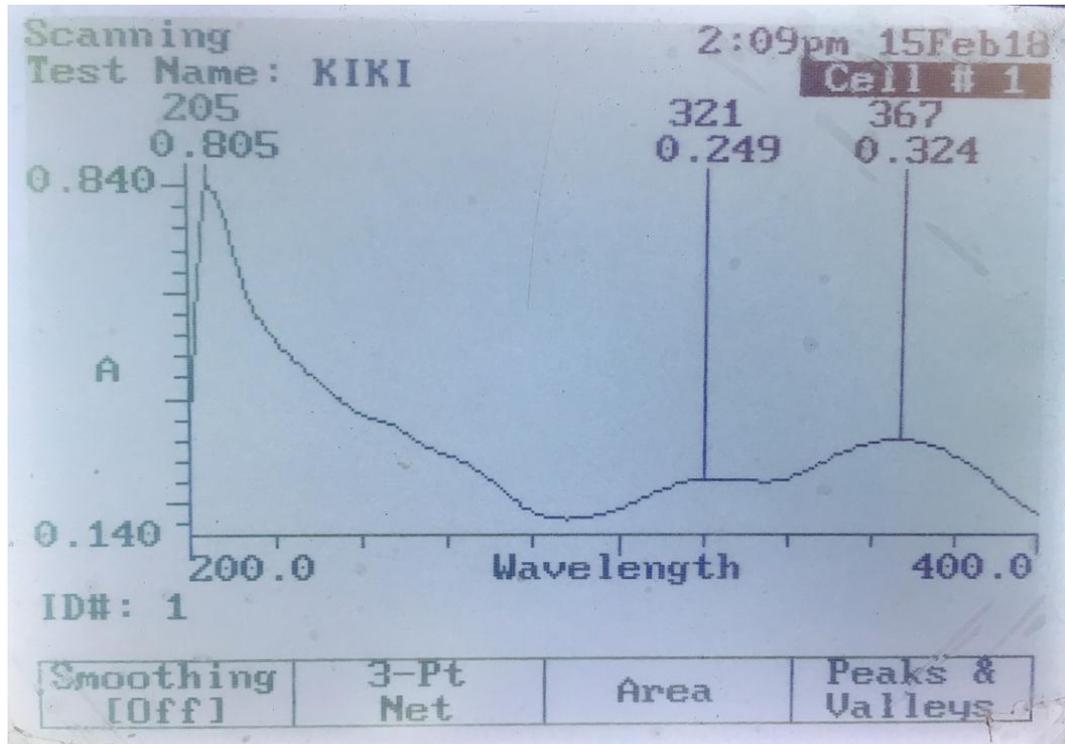
	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 120,6	Peak 1: 96,16	81,7	50,58
Pdl: 0,389	Peak 2: 426,7	16,7	133,6
Intercept: 0,947	Peak 3: 5517	1,6	174,5

Result quality **Refer to quality report**



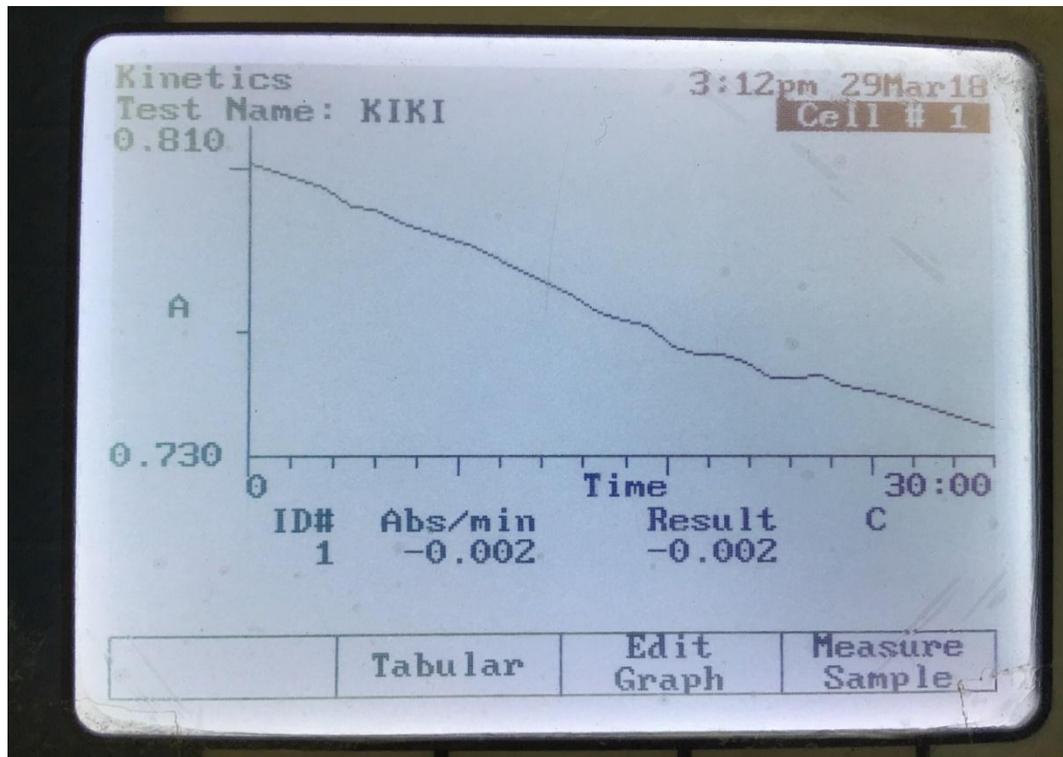
Lampiran 8. Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Validasi Metode

1. Penentuan panjang gelombang dengan medium *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,3



Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari scanning fisetin dengan medium *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,3 diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 367 nm dengan serapan 0,324.

2. Penentuan Operatyng Time (OT)



Kinetics
Test Name: KIKI
3:14pm 29Mar18
Cell # 1

HH:MM:SS	Abs	Delta	Lin
16:00	0.762	-0.001	L
17:00	0.757	-0.005	L
18:00	0.755	-0.002	L
19:00	0.755	0.000	L
20:00	0.753	-0.002	L
21:00	0.749	-0.004	L
22:00	0.749	0.000	L
23:00	0.750	0.001	L

ID#	Abs/min	Result	C
1	-0.002	-0.002	

Press ↑ or ↓ for more data...

Graph Edit Data Measure Sample

Pembacaan Operatyng Time (OT) didapat nilai serapan yang stabil pada menit ke 18-19.

3. Tabel kurva baku

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
6	0,407
8	0,505
10	0,624
12	0,717
14	0,853

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

$$a = 0,0692$$

$$b = 0,0552$$

$$r = 0,998$$

$$y = 0,0692 + 0,0552 x$$

keterangan:

x = konsentrasi (ppm)

y = serapan

4. Penentuan LOD dan LOQ

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	y'	y-y'	y-y' ²
6	0,407	0,4004	0,0066	0,00004
8	0,505	0,5108	-0,0058	0,00003
10	0,624	0,6212	0,0028	0,00001
12	0,717	0,7316	-0,0146	0,00021
14	0,853	0,8420	0,0110	0,00012
jumlah total ($\sum y - \hat{y} ^2$)				0,00042

Nilai \hat{y} diperoleh dari substitusi konsentrasi dalam persamaan $y = 0,0692 + 0,0552x$ dengan x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah serapan (\hat{y}).

1. $y = 0,0692 + 0,0552x$
 $y = 0,0692 + 0,0552 \times 6$
 $= 0,4004$
2. $y = 0,0692 + 0,0552x$
 $y = 0,0692 + 0,0552 \times 8$
 $= 0,5108$

$$3. \quad y = 0,0692 + 0,0552x$$

$$y = 0,0692 + 0,0552 \times 10$$

$$= 0,6212$$

$$4. \quad y = 0,0692 + 0,0552x$$

$$y = 0,0692 + 0,0552 \times 12$$

$$= 0,7316$$

$$5. \quad y = 0,0692 + 0,0552x$$

$$y = 0,0692 + 0,0552 \times 14$$

$$= 0,8420$$

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

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

N = jumlah data

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

$$S_{x/y} = \sqrt{\frac{0,00042}{5-2}} = 0,0118$$

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

$$LOD = 3,3 \times \frac{0,0118}{0,0552}$$

$$LOD = 0,7054 \text{ ppm}$$

$$y = 0,0692 + 0,0552 (0,7054)$$

$$= 0,0692 + 0,0390$$

$$\text{Serapan LOD} = 0,1082$$

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

$$LOQ = 10 \times \frac{0,0118}{0,0552}$$

$$LOQ = 2,1376 \text{ ppm}$$

$$y = 0,0692 + 0,0552 (2,1376)$$

$$= 0,0692 + 0,1180$$

$$\text{Serapan LOQ} = 0,1872$$

Lampiran 9. Efisiensi Penjerapan

$$y = 0,0692 + 0,0552x$$

Formula	Absorbansi	Efisiensi penjerapan (%) \pm SD	Jumlah yang terjerap (mg)
F 1	0,768	91,5604 \pm 0,002	137,3406
F 2	0,699	92,3937 \pm 0,002	138,5906
F 3	0,576	93,8792 \pm 0,002	140,8188
F 4	0,398	96,0290 \pm 0,002	144,0435
F 5	0,287	97,3695 \pm 0,002	146,0542

FORMULA 1

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier yang menggunakan pelarut PBS:

$$y = a + bx$$

$$0,768 = 0,0692 + 0,0552x$$

$$0,0552x = 0,6988$$

$$x = 12,6594 \text{ ppm}$$

- Jumlah fisetin tidak terjerap = $\frac{12,6594 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mg} \times 10 = 12,6594 \text{ mg}$
- % Efisiensi penjerapan = $\frac{T-C}{T} \times 100 \%$
 $= \frac{150 - 12,6594}{150} \times 100\% = 91,5604 \%$

FORMULA 2

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier yang menggunakan pelarut PBS:

$$y = a + bx$$

$$0,699 = 0,0692 + 0,0552x$$

$$0,0552x = 0,6298$$

$$x = 11,4094 \text{ ppm}$$

- Jumlah fisetin tidak terjerap = $\frac{11,4094 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mg} \times 10 = 11,4094 \text{ mg}$
- % Efisiensi penjerapan = $\frac{T-C}{T} \times 100 \%$

$$= \frac{150 - 11,4094}{150} \times 100\% = 92,3937 \%$$

FORMULA 3

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier yang menggunakan pelarut PBS:

$$y = a + bx$$

$$0,576 = 0,0692 + 0,0552x$$

$$0,0552x = 0,5068$$

$$x = 9,1812 \text{ ppm}$$

- Jumlah fisetin tidak terjerap = $\frac{9,1812 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mg} \times 10 = 9,1812 \text{ mg}$
- % Efisiensi penyerapan = $\frac{T-C}{T} \times 100 \%$
 $= \frac{150 - 9,1812}{150} \times 100\% = 93,8792 \%$

FORMULA 4

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier yang menggunakan pelarut PBS:

$$y = a + bx$$

$$0,398 = 0,0692 + 0,0552x$$

$$0,0552x = 0,3288$$

$$x = 5,9565 \text{ ppm}$$

- Jumlah fisetin tidak terjerap = $\frac{5,9565 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mg} \times 10 = 5,9565 \text{ mg}$
- % Efisiensi penyerapan = $\frac{T-C}{T} \times 100 \%$
 $= \frac{150 - 5,9565}{150} \times 100\% = 96,0290 \%$

FORMULA 5

- Perhitungan kadar fisetin terjerap menggunakan persamaan regresi linier yang menggunakan pelarut PBS:

$$y = a + bx$$

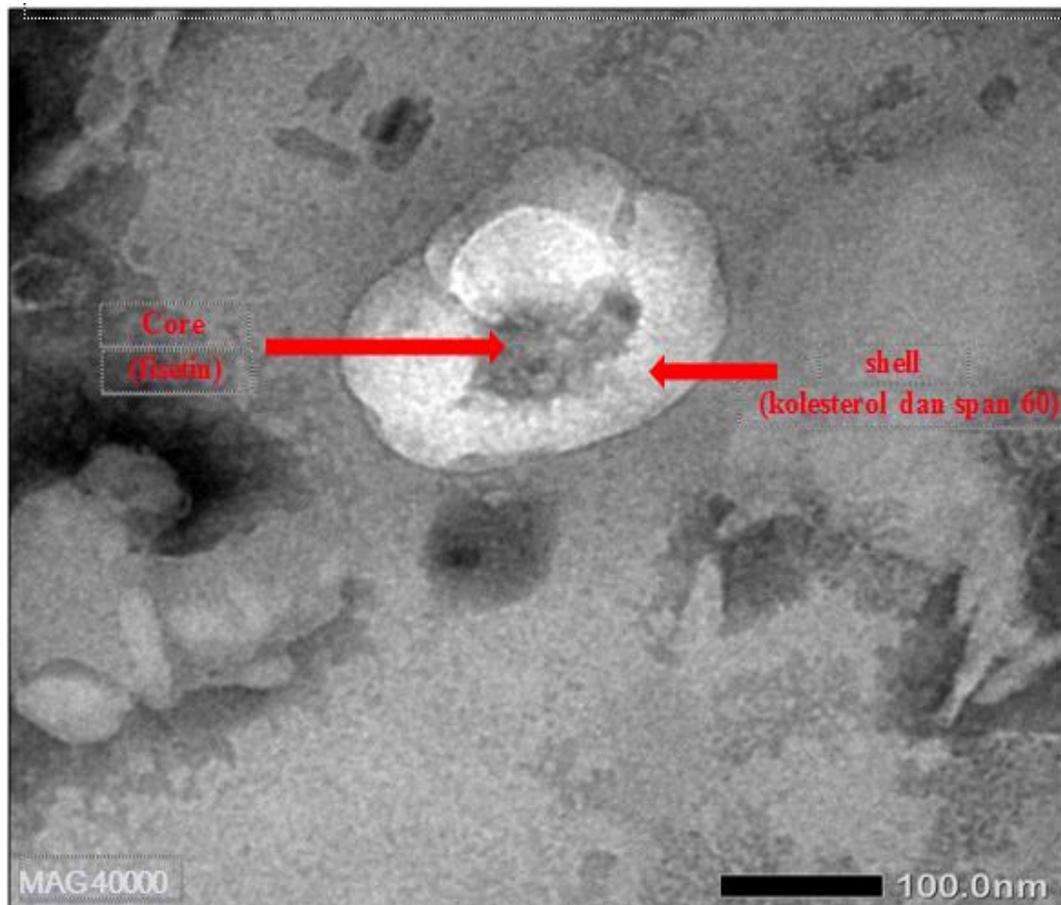
$$0,287 = 0,0692 + 0,0552x$$

$$0,0552x = 0,2178$$

$$x = 3,9457 \text{ ppm}$$

- Jumlah fisetin tidak terjerap = $\frac{3,9457 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mg} \times 10 = 3,9457 \text{ mg}$
- % Efisiensi penjerapan = $\frac{T-C}{T} \times 100 \%$
= $\frac{150 - 3,9457}{150} \times 100\% = 97,3695 \%$

Lampiran 10. Hasil Morfologi Fisetin Niosom



Keterangan : Morfologi fisetin niosom menggunakan TEM dengan perbesaran 40.000 kali

Lampiran 11. Ukuran dan Distribusi Partikel Fisetin Niosom Setelah Penyimpanan

Formula	Ukuran Partikel (nm)		Indeks Polidispersitas	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
F5	120,6	177,8	0,389	0,301

Hasil Ukuran Partikel F5 Setelah Penyimpanan

Size Distribution Report by Intensity v2.2



Sample Details

Sample Name: nano emulsi S 1
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Kiki 2018.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 51 Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,55 Viscosity (cP): 1,0031
Material Absorbtion: 0,100 Measurement Date and Time: Jum'at, 23 Maret 2018 16...

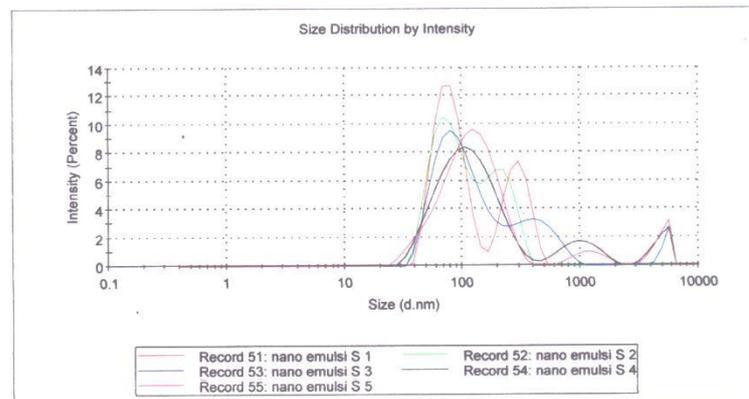
System

Temperature (°C): 20,0 Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 337,0 Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 8

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 177,8	Peak 1: 79,23	67,3	24,15
Pdl: 0,301	Peak 2: 290,3	32,7	69,49
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 12. Potensial Zeta F5 Setelah Penyimpanan

Formula	Potensial Zeta (mV) \pm SD
F5	-28,8 \pm 1,906048

