

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN TRANSFERSOM
DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS**



Oleh:

Risna Permata Sari

20144307A

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2018

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN TRANSFERSOM
DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

derajat Sarjana Farmasi (S.F)

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi



Oleh:

Risna Permata Sari

20144307A

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2018

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul
FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN TRANSFERSOM
DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS

Oleh:
Risna Permata Sari
20144307A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 3 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



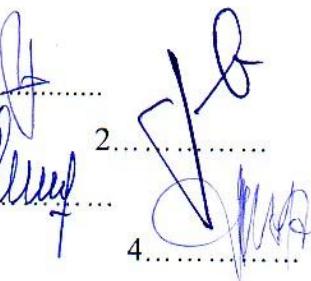
Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt
Pembimbing pendamping

Nur Aini Dewi Purnamasari, M.Sc., Apt

Penguji

1. Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt
2. Ilham Kuncahyo, M.Sc., Apt
3. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si
4. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt

1.
2.
3.
4.



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 yang 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, Juni 2018



Risna Permata Sari

PERSEMBAHAN

“Walanshurannallaahu may yanshuruuhu”

Dan sesungguhnya Allah pasti menolong orang-orang yang menolong (agama-Nya). (Q.S. Al-Hajj: 40)

“Ridho rabbi fi rido walidi”

Ridho Allah itu bergantung Ridho orang tua. (hadist At-Tirmidzi : 1899)

“Inna ma’al ‘usri yusra”

Sesungguhnya sesudahkesulitan itu ada kemudahan. (QS. Al-Insyiroh : 6)

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Kedua orang tua yang telah memberikan kasih sayangnya sepenuh jiwa, membimbing, mendukung dan mendo’akan tanpa kenal lelah.
2. Adik, keluarga besar yang telah mendo’akan dan mendukung saya dengan sepenuh hati.
3. Kerabat, teman yang selalu mendukung saya dan semua pihak serta membantu selama menempuh Sarjana S-1 Farmasi

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan dan menyusun skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai derajat sarjana S-1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang berjudul **FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN TRANSFERSOM DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS**. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan memberikan pengetahuan di bidang farmasi khususnya dalam teknologi formulasi.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, bimbingan serta do'a dari berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
3. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan selama penyusunan skripsi ini.
4. Nur Aini Dewi Purnamasari, M. Sc., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan selama penyusunan skripsi ini.
5. Segenap dosen, staff, laboran dan asisten laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian berlangsung.
6. Kedua orang tua, adik, dan keluarga besar yang selalu memberikan dukungan moril maupun materiil serta do'a, sehingga penulis dapat segera menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat-sahabat yang selalu memberikan bantuan, dukungan, serta mendo'akan.
8. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak memberikan bantuan kepada penulis sampai selesaiya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya, aamiin.

Surakarta, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
PERSEMBERAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	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. Fisetin	5
B. Liposom	6
1. Macam-Macam Liposom	7
2. Pembuatan Liposom	8
C. Transfersom	10
1. Keuntungan Transfersom	11
2. Keterbatasan Transfersom	11
3. Mekanisme Kerja Transfersom	12
4. Komponen Transfersom	12
a. Fosfolipid	12
b. Span 80	13
D. Metode Pembuatan Transfersom	14
E. Sonikasi	15
F. Karakterisasi	17
1. Particle Size Analyzer	17
2. Zeta Potensial	18
3. Scanning Elektron Microscopy (SEM)	20
4. Liofilisasi/Freeze Drying	20

5. Efektifitas Penjerapan	21
G. Landasan Teori	22
H. Hipotesis	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	25
A. Populasi dan Sampel	25
B. Variabel Penelitian	25
1. Identifikasi Variable Utama	25
2. Klasifikasi Variable Utama	25
3. Definisi Operasional Variable Utama	26
C. Bahan dan Alat	26
1. Bahan	26
2. Alat	27
D. Jalannya Penelitian	27
1. Percobaan Pendahuluan	27
2. Pembuatan Fisetin Transfersom	28
3. Karakterisasi Fisetin Transfersom	28
3.1 Penetapan Distribusi Ukuran Partikel dan Potensial Zeta	28
3.2 Pengujian Morfologi Nanopartikel	28
3.3 Uji Efisiensi Penjerapan	29
3.3.1. Pembuatan Larutan Induk	29
3.3.2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	29
3.3.3. Penetapan Operating Time	29
3.3.4. Pembuatan Larutan Seri Kurva Kalibrasi	29
3.3.5. Verifikasi Metode Spektrofotometri Uv-Vis	30
E. Analisis Hasil	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
A. Kurva Kalibrasi dan Verifikasi Metode	31
1. Pembuatan Kurva Kalibrasi	31
1.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	31
1.2 Penentuan <i>Operating Time</i>	31
1.3 Kurva Kalibrasi	31
2. Verifikasi Metode	32
2.1 Linearitas	32
2.2 Penentuan LOD dan LOQ	32
B. Pembuatan Fisetin Transfersom	33
C. Karakterisasi Fisetin Transfersom	34
1. Penetapan Distribusi dan Ukuran Partikel	34
2. Stabilitas Fisetin Transfersom Selama Penyimpanan	35
2.1 Pengamatan Secara Visual	35
2.2 Pengukuran Ukuran Partikel Sebelum dan Sesudah Penyimpanan	36
3. Pengukuran Morfologi Fisetin Transfersom	37
4. Efisiensi Penjerapan Fisetin Transfersom	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
A. KESIMPULAN	40

B. SARAN	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Formula transfersom	27
Tabel 2. Formula rujukan transfersom nistatin	28
Tabel 3. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin	33
Tabel 4. Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel	35
Tabel 5. Stabilitas fisetin transfersom pada suhu kamar	36
Tabel 6. Ukuran partikel sebelum dan sesudah penyimpanan	36
Tabel 7. Persen efisiensi penjerapan	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Fisetin	4
Gambar 2. Struktur Liposom	7
Gambar 3. Struktur Transfersom	11
Gambar 4. Mekanisme penetrasi transfersom	12
Gambar 5. Struktur Kimia span 80	13
Gambar 6. Ilustrasi partikel yang bermuatan negatif dalam media air	19
Gambar 7. Kurva Baku	32
Gambar 8. Uji SEM formula 5	38

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

LAMPIRAN 1 Alat dan Bahan	47
LAMPIRAN 2 PSA dan Zeta Potensial	59
LAMPIRAN 3 SEM	70
LAMPIRAN 4 Data verifikasi spektrofotometer Uv-Vis	72
LAMPIRAN 5 Efisiensi penjerapan	80
LAMPIRAN 6 Psa dan Zeta Potensial setelah penyimpanan	85

DAFTAR SINGKATAN

BCS	<i>Biopharmaceutical Classification System</i>
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
EP	Efisiensi penjerapan
LAS	<i>Light Diffraction</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>
PdI	Polidispers indeks
PSA	<i>Particle Size Analyzer</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscope</i>
TEM	<i>Transmission Electron Microscope</i>
UV-Vis	<i>Ultra Violet-Visible</i>
cm	centimeter
et al.	et alii
g	gram
mg	milligram
ml	milliliter
mV	mini volt
nm	nanometer
ppm	<i>part per million</i>
rpm	rotasi per menit
μm	mikrometer
μg	mikrogram

INTISARI

SARI, RP. 2018. FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISETIN TRANSFERSOM DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS.

Fisetin termasuk BCS kelas II yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi. Fisetin memiliki bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10%, hal ini karena kelarutan dalam air yang kecil (0,002 mg/ml) dan absorpsi yang rendah sehingga pemberian fisetin dalam bentuk sediaan oral dan dermal menjadi terbatas. Kelarutan fisetin dapat ditingkatkan dengan sistem penghantaran obat seperti transfersom. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah fisetin dapat dibuat transfersom dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis, pengaruh perbedaan konsentrasi surfaktan terhadap efisiensi penjerapan transfersom, karakterisasi transfersom dan stabilitas dari fisetin transfersom.

Transfersom dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis karena preparasi yang sederhana, menghasilkan vesikel nano yang elastis dan fleksibel. Pada penelitian ini dilakukan perbedaan variasi konsentrasi fosfatidilkolin : span 80 yaitu 475mg : 25mg pada formula 1; 462,5mg : 37,5mg pada formula 2; 450mg : 50mg pada formula 3; 425mg : 75mg pada formula 4; 400mg : 100mg pada formula 5. Setiap formula menggunakan fisetin 10mg sebagai zat aktif. Fisetin dibuat transfersom dengan ukuran nanometer dengan metode hidrasi lapis tipis. Vesikel yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi. Karakterisasi fisetin transfersom meliputi ukuran partikel, morfologi partikel dan efisiensi penjerapan.

Fisetin dapat dibuat transfersom dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis, perbedaan konsentrasi surfaktan menghasilkan perbedaan efisiensi penjerapan transfersom. Karakterisasi fisetin transfersom menghasilkan ukuran partikel pada F1, F2, F3, F4 dan F5 berturut-turut sebesar 332,43; 593,53; 620,9; 671,43; 412,8nm. Efisiensi penjerapan kelima formula berturut-turut sebesar 73,01%, 82,75%, 86,64%, 90,34%, 92,43%. Pada uji SEM dan uji stabilitas yang dilakukan pada formula 5, terlihat transfersom dengan bentuk tidak beraturan dan ukuran partikel 562,46nm serta zeta potensial 0,19mV. Transfersom fisetin pada formula 5 mengalami sedikit peningkatan ukuran partikel tetapi cukup stabil.

Kata kunci : fisetin, transfersom, metode hidrasi lapis tipis, fosfatidilkolin, span 80

ABSTRACT

SARI, RP. 2018. FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF FISETIN TRANSFERSOME USING THIN FILM HYDRATION METHOD.

Fisetin belongs to BCS class II with low solubility and high permeability. Fisetin has very low bioavailability of 10%, due to its small water-solubility (0.002 mg/ml) and low absorption so that the administration of fisetin in oral and dermal preparation is limited. Fisetin solubility can be improved using drug delivering system such as transfersome. This research aimed to find out whether or not fisetin can be made transfersome using thin film hydration method, the effect of surfactant concentration on the entrapment efficiency of transfersome, the characterization of transfersome and the stability of fisetin transfersome.

Transfersome was prepared using thin film hydration method because simple preparation results in elastic and flexible nano vesicle. In this research, varying concentration ratios of phosphatidylcholine: span 80 were given: 475mg:25mg in formula 1; 462.5mg:37.5mg in formula 2; 450mg:50mg in formula 3; 425mg:75mg in formula 4; 400mg:100mg in formula 5. Each formula used fisetin 10 mg as active substance. Fisetin was made transfersome in nanometer size using thin film hydration method. Vesicle produced was then characterized. The characterization of fisetin transfersome included particle size, particle morphology, and entrapment efficiency.

Fisetin could be made transfersome using thin film hydration method; the different concentration of surfactant resulted in different efficiency of transfersome absorption. The characterization of fisetin transfersome resulted in particle sizes of 332.43; 593.53; 620.9; 671.43; 412.8nm in F1, F2, F3, F4 and F5, respectively. The entrapment efficiency in the five formulas was 73.01%, 82.75%, 86.64%, 90.34%, and 92.43%, respectively. From SEM and stability tests conducted on formula 5, it could found transfersome with irregular shape and particle size of 562.46 nm and potential zeta of 0.19 mV. Fisetin transfersome in formula 5 experienced a slight increase in its particle size but it was stable enough.

Keywords: fisetin, transfersome, thin film hydration method, phosphatidylcholine, span 80.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Senyawa antioksidan telah banyak dikembangkan, baik antioksidan alami maupun sintetik. Antioksidan alami umumnya berupa senyawa-senyawa fenolik yang terdapat dalam berbagai tanaman (Khalil *et al.* 2007). Fisetin merupakan senyawa antioksidan golongan flavonol yang secara luas dapat ditemukan dalam buah-buahan. Senyawa ini lazim ditemukan dalam buah-buahan seperti strawberry (160,0 $\mu\text{g/g}$), apel(26,9 $\mu\text{g/g}$), kesemek (10,5 $\mu\text{g/g}$), anggur (3,9 $\mu\text{g/g}$), kiwi (2,0 $\mu\text{g/g}$), dan persik (0,6 $\mu\text{g/g}$). Fisetin juga dapat ditemukan dalam sayuran seperti akar teratai (5,8 $\mu\text{g/g}$), bawang (4,8 $\mu\text{g/g}$), tomat(0,1 $\mu\text{g/g}$), dan mentimun(0,1 $\mu\text{g/g}$) (Arai *et al.* 2000). Fisetin adalah senyawa flavonoid dengan beragam aktifitas yaitu sebagai antioksidan alami, antiinflamasi, antialergi, antikanker, kardioprotektif (Prozhazcova *et al.* 2011). Fisetin juga berfungsi sebagai antiaterosklerosis, antiaging dan menurunkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam plasma (Hu Jun *et al.* 2013). Fisetin pada dosis 10mg/kg BB tikus dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes (Prasath & Subramanian 2010).

Fisetin memiliki bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10%, hal ini karena kelarutan dalam air yang kecil (0,002 mg/ml) dan absorpsi yang rendah sehingga pemberian fisetin dalam bentuk sediaan oral dan dermal menjadi terbatas (Al Shal *et al.* 2011; Hong *et al.* 2014). Bioavailabilitas sediaan oral senyawa flavonoid sangat rendah disebabkan karena rendahnya kelarutan dalam air dan absorpsi yang terbatas (Odeh *et al.* 2011).

Kecepatan absorpsi obat topikal dipengaruhi oleh konsentrasi obat didalam vehikulum, kemampuan pelepasan obat dari vehikulum (koefisien partisi) dan kemampuan difusi obat melewati lapisan kulit (koefisien difusi). Stratum korneum tersusun atas komponen hidrofobik dan hidrofilik, sehingga obat topikal dengan kelarutan lemak dan air yang baik akan mudah berdifusi. Obat dengan berat molekul kecil (600 Da) dan koefisien partisi tinggi juga akan menyebabkan absorpsi perkutan yang lebih baik (Burkhart *et al.* 2010). Peningkatan penetrasi

obat pada kulit dapat dilakukan dengan metode-metode peningkat penetrasi dan gelembung (*vesicles*) seperti liposom, nioson, transfersom, dan ethosom (Cristina *et al.* 2010).

Transfersom (*deformable vesicle* atau *elastic liposom*) merupakan vesikel nano yang bersifat *deformable* sehingga mampu berpenetrasi sampai ke lapisan kulit yang lebih dalam. Transfersom mempunyai kemampuan berubah bentuk, elastis dan fleksibel. Berbeda dengan liposom, transfersom menggunakan fosfatidilkolin dan surfaktan sebagai dua komponen utama pembentuk vesikelnya. Perbedaan bahan pembentuk vesikel ini menyebabkan perbedaan sifat deformabilitas transfersom dan liposom, yang berkaitan dengan mekanisme penetrasi kedua vesikel. Kandungan surfaktan meningkatkan elastisitasnya sehingga memungkinkan transfersom berubah bentuk saat melewati celah antar sel kulit dan mampu memberikan perbaikan penetrasi obat sampai ke lapisan yang lebih dalam hingga sistemik. Daya penetrasi transfersom lebih efektif masuk ke dalam kulit dibandingkan dengan liposom konvensional. Xiao *et al.* menyatakan bahwa penetrasi zat aktif capsaicin yang dimasukkan ke dalam transfersom memberikan kumulatif penetrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan krim (Xiao *et al.* 2006).

Penelitian menggunakan metode transfersom telah dilakukan untuk memperoleh beberapa sediaan obat antara lain insulin (antidiabetik), itraconazole (antijamur), carvedilol (β -bloker), piroxicam (inhibitor COX-2), diklofenak (AINS), terbinafine HCl (antijamur), repaglinide (antidiabetik) (Pawar *et al.* 2016). Berdasarkan hal tersebut saya akan membuat transfersom dari fisetin dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan berbagai variasi kosentrasi surfaktan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap mutu transfersom.

Berdasarkan penelitian Patel (2009), dilakukan pembuatan transfersom sebagai sistem penghantaran obat dengan zat aktif kurkumin sebagai antiinflamasi. Kurkumin yang memiliki bioavailabilitas yang buruk, hampir 25-85% kurkumin yang diberikan secara peroral tidak diserap oleh tubuh dan memiliki permeabilitas yang rendah, untuk mengatasi masalah tersebut dilakukan pengembangan sistem penghantaran obat menggunakan sistem transfersom

dengan metode *hand shaking* - hidrasi lapis tipis. Transfersom dibuat dengan menggunakan fosfatidilkolin dan surfaktan (tween 80&span 80) dengan berbagai variasi konsentrasi. Transfersom yang dibuat dengan perbandingan fosfatidilkolin: span80 (85:15) dapat meningkatkan permeabilitas dari kurkumin (Patel *et al.* 2009).

Metode hidrasi lapis tipis dilakukan dengan melarutkan semua komponen pembentuk vesikel (fosfolipid dan surfaktan) dengan pelarut organik (kloroform atau metanol) dalam alas bulat. Pelarut organik diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga terbentuk lapisan tipis pada dinding labu. Lapisan yang terbentuk dihidrasi dengan buffer kemudian disonikasi untuk memperoleh vesikel dengan ukuran yang kecil dan mengoptimalkan penjerapan obat (Arora 2007).

Ultrasonik merupakan vibrasi suara dengan frekuensi melebihi batas pendengaran manusia yaitu di atas 20 KHz (Tipler 1998). Ultrasonik merupakan salah satu teknik paling efektif dalam pencampuran, proses reaksi, dan pemecahan bahan dengan bantuan energi tinggi (Pirrung 2007). Batas atas rentang ultrasonik mencapai 5 MHz untuk gas dan 500 MHz untuk cairan dan padatan (Mason & Lorimer 2002). Karakterisasi fisetin transfersom meliputi ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, potensial zeta, morfologi partikel, dan efisiensi penjerapan.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah fisetin dapat dibuat transfersom dengan metode hidrasi lapis tipis?
2. Apakah variasi konsentrasi surfaktan berpengaruh terhadap transfersom fisetin?
3. Bagaimana profil karakterisasi fisetin transfersom?
4. Apakah transfersom fisetin stabil selama proses penyimpanan?

C. Tujuan Penelitian

1. Memperoleh transfersom fisetin dengan metode hidrasi lapis tipis.
2. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi surfaktan terhadap transfersom fisetin.
3. Mengetahui profil karakterisasi fisetin setelah dibuat sediaan transfersom.

4. Mengetahui stabilitas transfersom fisetin selama penyimpanan.

D. Manfaat Penelitian

- 1) Bagi peneliti

Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh pihak peneliti dan lainnya yang berminat di bidang penelitian yang sama sebagai dasar untuk melakukan penelitian lajutan tentang transfersom yang mengandung fisetin yang memiliki banyak aktivitas.

- 2) Bagi masyarakat

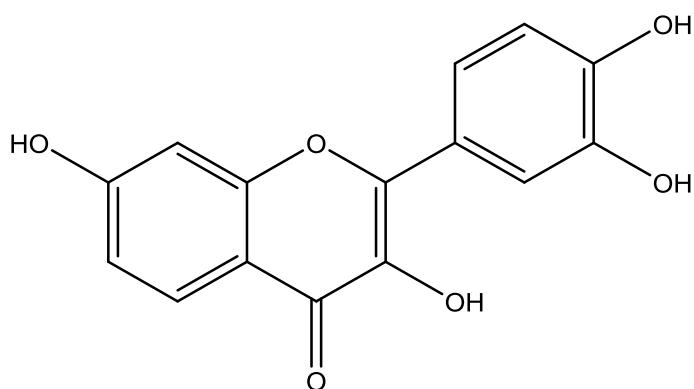
Hasil penelitian dapat dimanfaatkan oleh masyarakat dan industri dalam pengembangan obat, serta dapat digunakan sebagai pilihan alternatif dalam pengobatan untuk mendapatkan efek terapi yang cepat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Fisetin

Fisetin merupakan flavonoid turunan flavonol dengan 4 gugus hidroksil yang banyak terdapat pada buah, sayuran dan tanaman herbal. Dengan rumus molekul $C_{15}H_{10}O_6$, massa molar 286,2363 g/mol, dan titik lebur 330°C (Hu-Jun *et al.* 2013). Fisetin memiliki aktivitas sebagai antioksidan sebesar 79% (Burda & Oleszek 2001)



Gambar 1. Struktur fisetin

Fisetin (3,7,3',4'1-tetrahydroxyflavone), fisetin praktis tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, methanol, aseton dan DMF. Fisetin termasuk obat golongan BCS kelas II dengan kelarutan 0,002 mg/ml dengan absorbsi dan bioavaabilitas yang sangat rendah sekitar 10-44,1% (Yao *et al.* 2013; Dang *et al.* 2014). Fisetin memiliki lipofilisitas yang tinggi ditunjukkan dengan nilai log P sebesar 3,2 (Bothiraja 2014). Fisetin memiliki aktifitas farmakologi sebagai antioksidan dan antiradikal bebas, antikarsinogenik, antiinflamasi, antisklerosis dan antithrombosis (Adhami 2012).

Fisetin dikenal sebagai *Natural Brown* adalah flavonoid tanaman bioaktif penting sebagai obat terapi berpotensi berguna untuk berbagai radikal bebas yang dimediasi serta penyakit lainnya (Arbiser *et al.* 2011). Fisetin umumnya ditemukan dalam buah-buahan, kacang-kacangan, anggur dan sayuran seperti bawang, mentimun, apel, kesemek dan strawberry pada konsentrasi 2-160 mg/g dengan perkiraan asupan harian rata-rata 0,4 mg. Fisetin juga ditambahkan ke suplemen gizi pada konsentrasi yang sangat tinggi dan memiliki berbagai efek

farmakologis termasuk antioksidan dan antiinflamasi, aktivitas bertindak terutama sebagai pengikat radikal bebas. Fisetin juga bertindak sebagai inhibitor *kinase cyclin-dependent* (CDKs) dan menginduksi penangkapan siklus sel kanker. Kegiatan antioksidan yang dapat dikaitkan dengan fitur struktural serta kemampuannya untuk memodulasi jalur sinyal seluler tertentu, terutama protein kinase dan jalur lipid kinase (Chen *et al.* 2010).

Berdasarkan hal tersebut fisetin telah ditunjukkan untuk mengerahkan berbagai aktivitas biologis yang penting. Peningkatan kadar trigliserida, bersama dengan konten trigliserida dan glukosa konsentrasi hati ditemukan secara signifikan berkurang dengan suplementasi fisetin dalam kelompok diet tinggi lemak. Fisetin juga dilaporkan menurun risiko kardiovaskular oleh ameliorating hati steatosis dan dengan menurunkan sirkulasi konsentrasi glukosa (Chien *et al.* 2010).

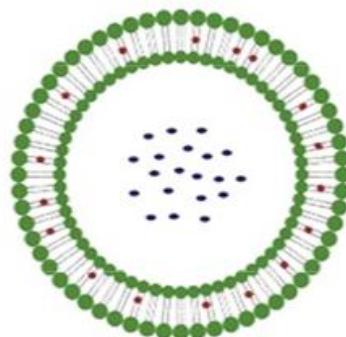
Efek antikarsinogenik dan *anticardio* dari fisetin pada dosis diet yang dikaitkan dengan sifat antioksidan dan kemampuannya untuk mencegah proliferasi sel dan angiogenesis *in vitro*. Aktivitas yang menguntungkan, fisetin dan beberapa flavonoid tanaman lain sering digunakan sebagai suplemen nutrisi pada konsentrasi tinggi (Chen *et al.* 2002).

B. Liposom

Liposom merupakan partikel berbentuk vesikel yang dindingnya tersusun atas molekul lipid (konstituen utamanya adalah fosfolipid) lapis ganda yang membungkus kompartemen cairan didalamnya (Hamada *et al.* 2002; Jufri 2004) . Liposom dibuat dari bahan alami yang berupa turunan alami fosfolipid yang dicampur dengan rantai lemak (misalnya fosfatidilkolin) dengan cara didispersikan. Liposom yang terbuat dari bahan alami menghasilkan membran yang menyerupai lipid membran sel dan bersifat biokompatibel/biodegradasi, nontoksik, tidak memicu respon imun (Sjahbanar 2000).

Komponen penyusun liposom adalah fosfolipid dan kolesterol. Jenis fosfolipid yang biasanya digunakan dalam pembentukan liposom antara lain adalah dari golongan lipid bermuatan negatif, fofolipid asam seperti dipalmitoil

fosfatidilglicerol (DPPG), dipalmitoil fosfatidilkolin (DPPC); golongan lipid bermuatan netral seperti fosfatidiletanolamin (Mayes 2003). Kolesterol dalam liposom berfungsi untuk meningkatkan stabilitas, menurunkan porositas, mencegah agregasi dan fusi dari liposom.



● = Fosfatidikolin

★ = Obat yang bersifat hidofilik

● = Obat yang bersifat hidofobik

Gambar 2. Struktur Liposom (Rudra 2017)

Liposom dapat diproduksi dalam bentuk vesikel unilamelar maupun multilamelar (Kronberg 1990; Polozova *et al.* 2005). Vesikel multilamelar merupakan liposom multikompartemen dengan ukuran vesikel antara 100-1000 nm dan setiap vesikel biasanya terdiri dari lima atau lebih lamela konsentris.

1. Macam-macam Liposom (Kronberg 1990; Polozova *et al.* 2005) :

a. *Small Unilamellar Vesicles (SUV)*

Liposom ini memiliki variasi ukuran terkecil. Ukuran SUV didasarkan pada kekuatan ionisasi medium cair dan komposisi lemak pada membran. Ukuran vesikel ± 15 nm untuk liposom yang berasal dari lecitin telur murni pada normal salin dan ± 25 nm untuk liposom DPPC.

b. *Large Lamellar Vesicles (LUV)*

Liposom ini memiliki ukuran vesikel lebih besar dari SUV yaitu antara 500-1000 nm. LUV dapat dibuat dengan metode injeksi eter dan fusi liposom jenis SUV dengan diinduksi kalsium.

c. *Intermediated-size Unilamellar Vesicles (IUV)*

Liposom ini berukuran 100-200 nm dan dibuat dengan ekstruksi tekanan tinggi/dialisis detergen. Vesikel ini dapat bertahan lebih lama dalam sirkulasi dan memiliki stabilitas yang baik sehingga bermanfaat sebagai sistem penghantaran obat.

2. Pembuatan Liposom

Pembuatan liposom dapat dilakukan dengan beberapa teknik antara lain teknik dehidrasi-rehidrasi dan *reverse phase* sintetik. Lapisan tipis yang terbentuk, dihidrasi. Ketika agitasi, liposom yang terbentuk adalah IUV, saat direhidrasi membentuk LUV atau SUV. Pada pembentukan liposom terdapat dua mekanisme yang terjadi yaitu enkapsulasi (pembentukan liposom secara pasif menjerap obat yang larut dalam air pada bagian interlamelar) sedangkan bagian lain (pembentukan liposom secara pasif menjerap obat yang larut dalam pelarut organik terdapat pada bagian intralamelar).

Metode pembuatan yang dipilih harus sesuai dengan penggunaan liposom, metode pembuatan berpengaruh pada jumlah bilayer, ukuran, kapasitas distribusi dan efisiensi penjerapan pada fase air dan permeabilitas membran dari vesikel (Leekumjron 2004).

Beberapa metode pembuatan liposom antara lain (Blazek 2001; Verma 2010; Tarekegn 2010; Arora 2007) :

a. *Lipid film hidration* (hidrasi lapis tipis)

Metode pembuatan liposom dengan cara hidrasi lapis tipis dapat dibuat dengan cara yang sederhana dengan peralatan laboratorium yang biasa meliputi pengeringan campuran bahan tambahan dari vesikel yaitu surfaktan dan kolesterol yang dilarutkan dalam pelarut organik (dieter ether, kloroform atau metanol) 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. Sejumlah larutan dapat ditambahkan dan lipid akan terhidrasi pada temperatur diatas temperatur transisi lipidnya. Vesikel multilamellar yang dihasilkan dapat diproses lebih lanjut melalui sonifikasi, ekstrusi atau penanganan lain untuk mengoptimalkan penjerapan obat.

b. Ether Injection (Injeksi Eter)

Campuran surfaktan-kolesterol dilarutkan dalam dietil eter dan diinjeksikan perlahan melintasi jarum ke dalam fase air. Terbentuk LUV selama penguapan eter. Kelemahan dalam metode ini adalah sejumlah kecil eter sering tertinggal dalam suspensi vesikel dan sangat sulit untuk dikeluarkan.

c. *Hand shaking* (pengocokan)

Campuran surfaktan, kolesterol dilarutkan dalam dietil eter pada labu alas bulat, dan pelarut organik dikeluarkan pada temperatur kamar dibawah tekanan. Surfaktan kering dihidrasi dengan suatu fase air pada 50-60°C dengan putaran yang lembut. Akan terbentuk LMV.

d. Sonikasi

Suatu fase air ditambahkan ke dalam campuran surfaktan-kolesterol pada gelas vial. Kemudian campuran disonifikasi selama beberapa waktu, dihasilkan vesikel kecil, uniform dan unilamellar. Vesikel yang dihasilkan ini umumnya ukurannya sangat besar dibandingkan liposom, diameternya tidak lebih kecil daripada 100 nm.

e. Metode yang digambarkan oleh Handjani-Vila

Sejumlah yang sama lipid (campuran lipid) dan larutan air dari senyawa aktif dicampur dan digoyang untuk mendapatkan fase lamellar yang homogen. Campuran yang dihasilkan, dihomogenkan pada temperatur yang terkontrol dengan diputar atau ultrasentrifugasi.

f. *Reverse Phase Evaporation* (Penguapan fase balik)

Lipid-lipid dilarutkan dalam kloroform dan $\frac{1}{4}$ volume *Phosphat Buffer Saline* (PBS). Campuran disonifikasi dan diuapkan dibawah tekanan. Lipid yang terbentuk kemudian dihidrasi. Penguapan dilanjutkan hingga hidrasi sempurna.

g. Metode Alternatif

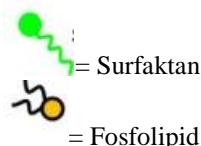
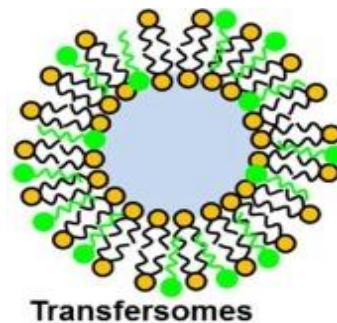
Ukuran dan jumlah bilayer dari vesikel yang terdiri dari polioksietilen alkil eter dan kolesterol dapat diubah pada cara alternatif ini. Temperatur diatas 60°C menghasilkan SUV hingga LMV ($> 1\text{um}$), Ketika pengocokan yang hebat pada temperatur kamar, menghasilkan efek yang berlawanan melalui perubahan vesikel multilamellar menjadi vesikel unilamellar. Perubahan dari vesikel multilamellar

menjadi unilamellar pada temperatur lebih tinggi merupakan karakteristik dari surfaktan polioksietilen alkil eter.

C. Transfersom

Istilah transferom dan konsep dasarnya diperkenalkan pada tahun 1991 oleh Gregor Cevc. Transfersom adalah sebuah nama yang terdaftar sebagai merek dagang oleh perusahaan Jerman IDEA AG dan menggunakannya untuk merujuk pada teknologi pengiriman obat eksklusifnya. Transfersom berasal dari bahasa Latin “*transferred*” yang berarti “membawa”, dan bahasa Yunani “*soma*”, yang berarti “tubuh”. Transfersom adalah vesikel buatan yang dirancang menjadi seperti sel vesikel atau sel yang terlibat dalam eksositosis, transfersom dapat digunakan untuk pelepasan obat yang dikendalikan, potensial target dan penghantaran obat. Transferom sangat mudah beradaptasi dan responsif terhadap stres, agregat kompleks yang memiliki inti berair dikelilingi oleh kompleks lipid bilayer (Prajapati *et al.* 2011; Modi *et al.* 2012)

Transfersom (*deformable vesicle* atau *elastic liposom*) merupakan vesikel nano yang bersifat deformabel sehingga mampu berpenetrasi sampai ke lapisan kulit yang lebih dalam. Transfersom mempunyai kemampuan berubah bentuk, elastis dan fleksibel. Berbeda dengan liposom, transfersome terdiri dari bahan amphipathic seperti *phosphatidylcholine*, dan komponen komponen pelunakan bilayer seperti surfaktan. Perbedaan bahan pembentuk vesikel ini menyebabkan perbedaan sifat deformabilitas transfersom dan liposom, yang berkaitan dengan mekanisme penetrasi kedua vesikel. Kandungan surfaktan meningkatkan elastisitasnya sehingga memungkinkan transfersom berubah bentuk saat melewati celah antar sel kulit dan mampu memberikan perbaikan penetrasi obat sampai ke lapisan yang lebih dalam hingga sistemik. Daya penetrasi transfersom lebih efektif masuk ke dalam kulit dibandingkan dengan liposom konvensional.



Gambar 3. Struktur Transfersom (Sala 2017)

Transfersom memiliki beberapa kelebihan potensial seperti kemampuan untuk berubah bentuk dan melewati pori-pori yang sempit, digunakan sebagai pembawa untuk obat yang memiliki kelarutan dan permeabilitas rendah serta obat-obatan molekul tinggi. Mekanisme di balik penetrasi transferome ke dalam kulit adalah perkembangan gradien osmotik karena penguapan air permukaan akibat panas tubuh.

1. Keuntungan dari transfersom (Prajapati *et al.* 2011; Walve *et al.* 2011 & Kombath *et al.* 2012)

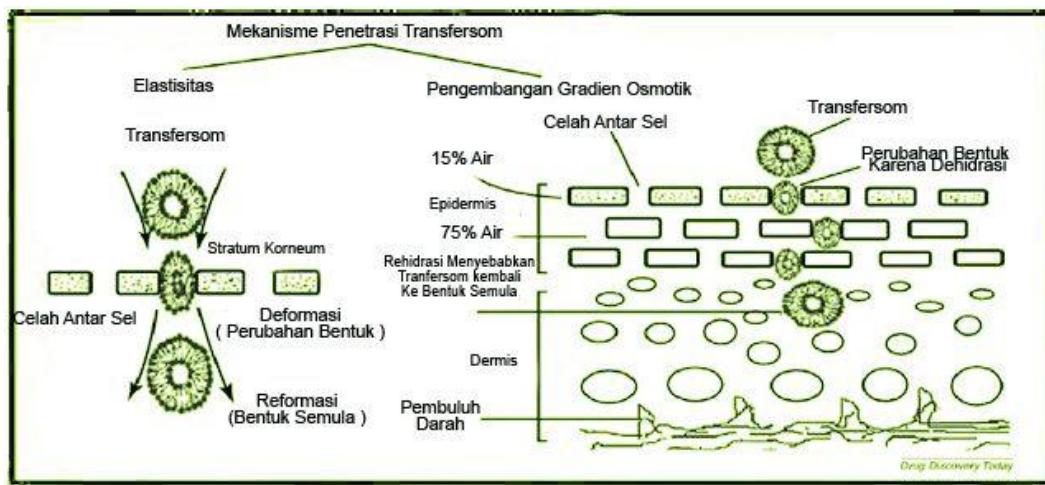
Transfersom memiliki kemampuan untuk mengalami deformasi dan melewati pori-pori sempit, memberikan penetrasi yang lebih baik pada vesikula utuh, memiliki efisiensi penyerapan yang tinggi sekitar 90% pada obat lipofilik, berfungsi sebagai pembawa obat-obat dengan berat molekul besar atau kecil, misalnya hormon seks, insulin, analgesik, anestesi, kortikosteroid, antikanker, *gap junction* protein, dan albumin.

2. Keterbatasan transfersom (Walve *et al.* 2011; Kombath *et al.* 2012 & Modi *et al.* 2012)

Transfersom secara kimiawi tidak stabil karena degradasi oksidatif yang menyebabkan predisposisi, kemurnian fosfolipid alami adalah kriteria lain untuk mencapai penggunaan transfersom sebagai sistem pengiriman obat, biaya pembuatan transfersome mahal.

3. Mekanisme kerja transfersom

Mekanisme balik penetrasi transfersom adalah pengembangan gradien osmotik karena penggunaan suspensi lipid pada permukaan kulit dimana terdapat air permukaan yang menguap. Transfersom memiliki deformabilitas bilayer yang kuat dan dapat meningkatkan afinitas untuk mengikat dan mempertahankan air. Dehidrasi tidak terjadi dalam kasus *ultradeformable* dan vesikel sangat hidrofilik; hal ini tidak identik dengan pengiriman osmosis tapi mungkin terlibat dalam proses transportasi yang terkait dengan pengiriman osmosis. Transfersom yang telah diaplikasikan pada permukaan kulit (tidak tersumbat), akan menembus penghalang kulit dan mencapai strata lebih dalam (bagian kaya air), dimana transfersom terhidrasi. Transfersom menjangkau lapisan epidermis yang lebih dalam melalui dehidrasi lipid vesikel dalam stratum korneum oleh aktivitas trans-epidermal alami. Serapan transferom adalah fungsi dari gradien hidrasi yang ada di seluruh epidermis, strata korneum, dan atmosfir sekitarnya.



Gambar 4. Mekanisme penetrasi perkutan transfersom (Kumar *et al.* 2012)

4. Komponen transfersom

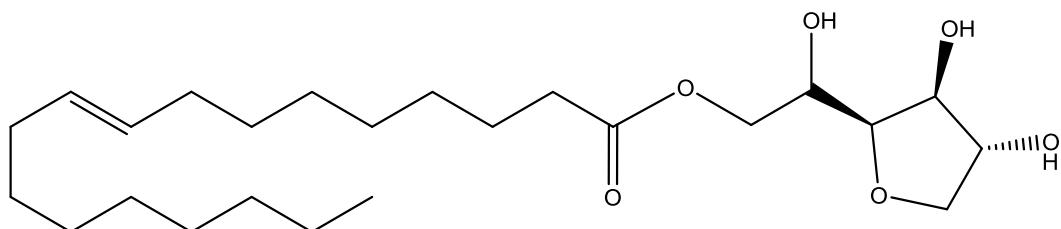
a. Fosfolipid

Fosfolipid merupakan bahan pembentuk vesikel dari sistem transfersom. Fosfolipid yang dapat digunakan untuk membuat transfersom cukup beragam, misalnya fosfatidilkolin (PC), PC terhidrogenasi ataupun fosfatidiletanolamin (PE) dengan rentang konsentrasi 0,5-10%. Fosfolipid dapat berasal dari telur, kacang kedelai, semi sintetik atau sintetik (Nandure *et al.* 2013).

Fosfatidilkolin adalah senyawa bifungsional, bagian fosfatidil menjadi lipofilik dan bagian kolin bersifat hidrofilik. Khususnya kepala kolin dari molekul fosfatidilkolin mengikat senyawa ini sementara bagian fosfatidil terlarut lipid yang terdiri dari tubuh dan ekor yang kemudian menyelubungi bahan terikat choline. *Phytoconstituents* yang menghasilkan kompleks molekul lipid yang kompatibel dengan fosfolipid, disebut juga sebagai kompleks *phyto-phospholipid*. Molekul ditambahkan melalui ikatan kimia ke kepala kolin polar dari fosfolipid, seperti yang dapat ditunjukkan dengan teknik spektroskopi spesifik (Bombardelli 1991).

Struktur molekul fosfolipid mencakup kepala yang larut dalam air dan dua ekor yang dapat larut dalam lemak. Berdasarkan struktur molekulnya, fosfolipid bertindak sebagai pengemulsi yang efektif. Penggabungan aksi pengemulsi fosfolipid dengan ekstrak botani standar, bentuk fitosom memberikan bioavailabilitas yang meningkat signifikan untuk obat terlarut lipid yang dijelaskan oleh penyerapan yang lebih cepat dan lebih baik pada saluran usus (Bombardelli *et al.* 1989).

b. Span 80



Gambar 5. Struktur span 80

Sorbitan monooleat merupakan jenis senyawa ester dan memiliki rumus kimia C₂₄H₄₄O₆. Sorbitan monooleat berupa cairan dengan warna kuning terang pada temperatur ruang. Sorbitan monooleat dikenal pula dengan nama Polysorbates 80, Span 80. Sorbitan monooleat adalah surfaktan nonionik dan pengemulsi yang merupakan turunan dari polietoksilat sorbitan dan asam oleat, dan sering digunakan pada makanan. Gugus hidrofilik dalam senyawa ini adalah polieter yang dikenal juga sebagai gugus polioxietilen yang merupakan polimer

dari etilen oksida. Angka yang ditunjukkan pada polisorbat menunjukkan gugus lipofilik, dalam hal ini adalah asam oleat.

Sebagai bahan kimia surfaktan, kegunaan sorbitan monooleat yang paling utama adalah sebagai emulsifier air dalam minyak, karena sorbitan monooleat memiliki nilai HLB 4,3 (Myers 2006). Selain itu, sorbitan monooleat juga digunakan sebagai bahan tambahan untuk makanan. Sorbitan monooleat ini bersifat tidak larut dalam air dan larut dalam minyak, dan juga stabil pada suhu tinggi serta tidak beracun (Stockburger 1981).

D. Metode pembuatan transfersom

Preparasi transfersom dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain: metode dispersi film, metode penguapan fase balik, metode *hand shaking*, dan metode dispersi ultrasonik.

1. **Metode hidrasi film tipis**/dispersi film digunakan untuk persiapan dari transfersom yang terdiri tiga langkah (Pandey *et al.* 2009; Prajapati *et al.* 2011; Walve *et al.* 2011) :
 - a. Sebuah film tipis dibuat dari campuran bahan yang membentuk vesikula yaitu fosfolipid dan surfaktan dengan melarutkan dalam pelarut organik yang mudah menguap (kloroform-metanol). Pelarut organik saat itu menguap di atas suhu transisi lipid (*room temp* untuk vesikula PC murni, atau 50°C untuk dipalmitoylphosphatidylcholine) menggunakan *rotary evaporator*. Proses selesai bila pelarut telah dilepaskan di bawah vakum untuk semalam.
 - b. Lapisan tipis yang disiapkan dihidrasi dengan buffer (pH 6.5) dengan putaran pada 60 rpm selama 1 jam pada suhu yang sesuai. Vesikel yang dihasilkan membengkak 2 jam pada suhu kamar.
 - c. Vesikula yang dihasilkan disonikasi pada suhu kamar atau 50°C selama 30 menit menggunakan bath sonicator atau probe sonicator. Vesikula hasil sonikasi dihomogenisasi dengan ekstrusi manual 10 kali melalui lapisan membran polikarbonat 200 dan 100 nm.

2. **Metode hand shaking** yang dimodifikasi hidrasi film lipid. Teknik ini juga digunakan untuk persiapan transfersom yang terdiri mengikuti langkah-langkah (Jain *et al.* 2003; Sheo *et al.* 2010):

- a. Obat, fosfatidilkolin, dan surfaktan dilarutkan dalam campuran etanol: kloroform (1: 1). Pelarut organik dihilangkan dengan cara penguapan *handshaking* di atas suhu transisi lipid (43°C). Film tipis lipid terbentuk di dalam labu dinding dengan rotasi film tipis itu disimpan dalam semalam untuk penguapan lengkap pelarut.
- b. Film ini kemudian terhidrasi dengan bufeer fosfat (pH 7,4) dengan getaran lembut selama 15 menit pada suhu yang sesuai. Transferom suspensi lebih lanjut terhidrasi sampai 1 jam pada 2-8°C.

3. Metode penguapan fase balik

Fosfatidilkolin dilarutkan dalam kloroform dan ¼ volume buffer fosfat salin. Campuran disonikasi dan diuapkan dibawah tekanan lipid yang terbentuk kemudian dihidrasi. Penguapan dilanjutkan hingga hidrasi sempurna.

4. Metode dispersi ultrasonik

Campuran larutan obat dalam buffer, surfaktan, disonikasi dengan sonikator pada suhu 60°C selama 3 menit. Metode ini juga digunakan untuk memproduksi vesikel unilamelar kecil dari vesikel multilamelar besar yang dipreparasi dengan teknik lainnya (Yoshioka *et al.* 1992).

E. Sonikasi

Ultrasonik merupakan vibrasi suara dengan frekuensi melebihi batas pendengaran manusia yaitu di atas 20 KHz (Tipler 1998). Ultrasonik merupakan salah satu teknik paling efektif dalam pencampuran, proses reaksi, dan pemecahan bahan dengan bantuan energi tinggi (Pirrung 2007). Batas atas rentang ultrasonik mencapai 5 MHz untuk gas dan 500 MHz untuk cairan dan padatan (Mason & Lorimer 2002).

Penggunaan ultrasonik berdasarkan rentangnya yang luas ini dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama adalah suara beramplitudo rendah (frekuensi lebih tinggi). Gelombang beramplitudo rendah ini secara umum digunakan untuk

analisis pengukuran kecepatan dan koefisien penyerapan gelombang pada rentang 2 hingga 10 MHz. Bagian kedua adalah gelombang berenergi tinggi dan terletak pada frekuensi 20 hingga 100 KHz. Gelombang ini dapat digunakan untuk pembersihan, pembentukan plastik, dan modifikasi bahan-bahan organik maupun anorganik (Mason & Lorimer 2002).

Ultrasonikasi dengan intensitas tinggi dapat menginduksi secara fisik dan kimia. Efek fisik dari ultrasonikasi intensitas tinggi salah satunya adalah emulsifikasi. Beberapa aplikasi ultrasonikasi ini adalah dispersi bahan pengisi dalam polimer dasar, emulsifikasi partikel anorganik pada polimer dasar, serta pembentukan dan pemotongan plastik (Suslick & Price 1999).

Efek kimia pada ultrasonikasi ini menyebabkan molekul-molekul berinteraksi sehingga terjadi perubahan kimia. Interaksi tersebut disebabkan panjang gelombang ultrasonik lebih tinggi dibandingkan panjang gelombang molekul-molekul. Interaksi gelombang ultrasonik dengan molekul-molekul terjadi melalui media cairan. Gelombang yang dihasilkan oleh tenaga listrik diteruskan oleh media cair ke medan yang dituju melalui fenomena kavitasasi akustik yang menyebabkan kenaikan suhu dan tekanan lokal dalam cairan (Wardiyati *et al.* 2004). Ultrasonikasi pada cairan memiliki berbagai parameter seperti frekuensi, tekanan, suhu, viskositas, dan konsentrasi suatu sampel. Aplikasi ultrasonikasi pada polimer berpengaruh terhadap degradasi polimer tersebut (Wardiyati *et al.* 2004).

Beberapa keunggulan pada penggunaan teknologi ultrasonik dalam aplikasinya pada berbagai macam pati dan polisakarida adalah (Lida 2002):

1) proses ultrasonik tidak membutuhkan penambahan bahan kimia dan bahan tambahan lain, 2) Prosesnya cepat dan mudah, yang berarti prosesnya tidak memerlukan biaya tinggi, 3) Prosesnya tidak mengakibatkan perubahan yang signifikan pada struktur kimia, partikel, dan senyawa-senyawa bahan yang digunakan. Hal-hal yang mempengaruhi kemampuan ultrasonik untuk menimbulkan efek kavitasasi yang diaplikasikan pada produk pangan antara lain karakteristik ultrasonik seperti frekuensi, intensitas, amplitudo, daya, karakteristik

produk (seperti viskositas, tegangan permukaan) dan kondisi sekitar seperti suhu dan tekanan (Williams 1983).

F. Karakterisasi

1. PSA (*Particle Size Analyzer*)

Perkembangan ilmu pengetahuan yang mengarah ke era nanoteknologi, para peneliti mulai menggunakan *Laser Diffraction* (LAS). Metode ini dinilai lebih akurat untuk analisis bila dibandingkan dengan metode analisis gambar maupun metode ayakan (*sieve analyses*), terutama untuk sample-sampel dalam orde nanometer maupun submikron. Contoh alat yang menggunakan metode LAS adalah *Particle Size Analyzer* (PSA). Alat ini menggunakan prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS). Metode ini juga dikenal sebagai *Quasi-Elastic Light Scattering* (QELS). Alat ini berbasis *Photon Correlation Spectroscopy* (PCS). Ukuran partikel yang diukur dengan instrumen DLS didasarkan pada pengukuran gerak brown dari partikel-partikel dalam sampel, dimana partikel yang kecil bergerak lebih cepat daripada partikel yang lebih besar.

Metode LAS bisa dibagi dalam dua metode:

- a. metode basah : metode ini menggunakan media pendispersi untuk mendispersikan material uji.
- b. metode kering : metode ini memanfaatkan udara atau aliran udara untuk melarutkan partikel dan membawanya ke *sensing zone*. Metode ini baik digunakan untuk ukuran yang kasar, dimana hubungan antarpartikel lemah dan kemungkinan untuk beraglomerasi kecil.

Pengukuran partikel dengan menggunakan PSA biasanya menggunakan metode basah. Metode ini dinilai lebih akurat jika dibandingkan dengan metode kering ataupun pengukuran partikel dengan metode ayakan dan analisis gambar. Terutama untuk sampel-sampel dalam orde nanometer dan submicron yang biasanya memiliki kecenderungan aglomerasi yang tinggi. Pada metode basah partikel didispersikan ke dalam media sehingga partikel tidak saling beraglomerasi (menggumpal). Dengan demikian ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari *single particle*, hasil pengukuran dalam bentuk distribusi,

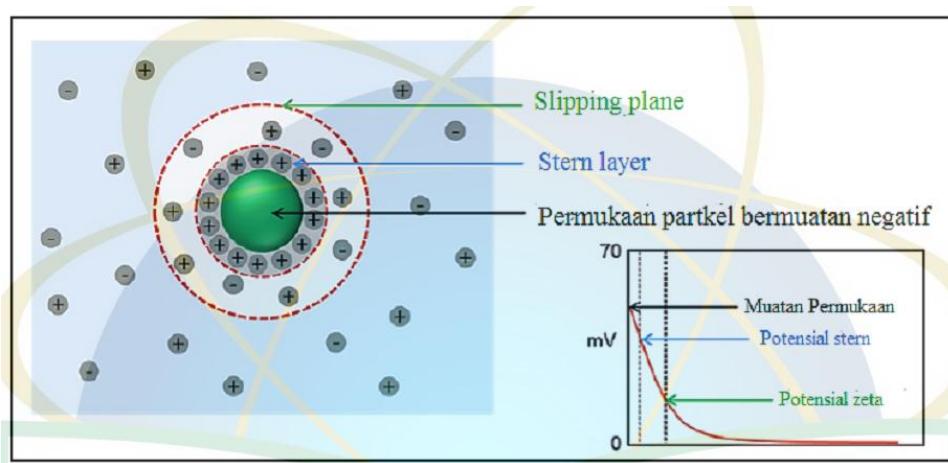
sehingga hasil pengukuran dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel (Lalatendu *et al.* 2004).

Keunggulan penggunaan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel adalah :

- a. Lebih akurat dan mudah digunakan, pengukuran partikel dengan menggunakan PSA lebih akurat jika dibandingkan dengan pengukuran partikel dengan alat lain seperti TEM ataupun SEM. Hal ini dikarenakan partikel dari sampel yang akan diuji didispersikan ke dalam sebuah media sehingga ukuran partikel yang terukur merupakan ukuran partikel tunggal.
- b. Hasil pengukuran dalam bentuk distribusi, sehingga dapat menggambarkan keseluruhan kondisi sampel, dalam artian penyebaran ukuran rata-rata partikel dalam suatu sampel.
- c. Rentang pengukuran dari 0,6 nanometer hingga 7 mikrometer (Rusli, 2011).

2. Zeta Potensial

Potensial zeta adalah ukuran umum dari besarnya muatan elektrostatik partikel dalam dispersi, dan sangat sesuai dalam studi stabilitas suspensi nanopartikel. Umumnya, potensial zeta di atas nilai absolut dari 30 mV dianggap perlu untuk menjamin stabilitas koloid yang baik. Partikel bermuatan dalam dispersi cair dikelilingi oleh ion dalam lapisan ganda listrik. Lapisan ganda cair ini terdiri dari bagian dalam (*stern layer*) dengan ion berlawanan (dari permukaan partikel) yang terikat relatif kuat, dan wilayah luar dengan ion yang terikat kurang kuat. Potensial zeta adalah potensial listrik di bidang terluar (*slipping plane*), yaitu pada permukaan lapisan cair ganda stationer (Jonassen 2014).



Gambar 6. Skema ilustrasi partikel bermuatan negatif pada media air

(Sumber: Jonassen 2014)

Zeta potensial berperan dalam stabilitas fisik, mempengaruhi efektivitasnya sebagai sistem penghantaran obat. Partikel bermuatan negatif dapat dengan cepat dibersihkan oleh makrofag. Selain itu sistem retikuloendootelial, terutama di hati dan limpa, menjadi kendala utama untuk pentargetan aktif karena kemampuannya untuk mengenali sistem ini, menghilangkan partikel tersebut dari sirkulasi sistemik, dan mengakibatkan penurunan efektifitas pengiriman obat nano ke organ lain (Honary & Zahir 2013).

Perlekatan antara nanopartikel dengan membran sel juga terpengaruh oleh muatan permukaan partikel. Nanopartikel dengan muatan permukaan tinggi sangat terikat pada membran sel dan menunjukkan serapan seluler tinggi, di mana interaksi elektrostatik antara membran anionik dan nanopartikel kationik memfasilitasi penyerapan tersebut. Setelah adsorpsi nanopartikel pada membran sel, penyerapan terjadi melalui beberapa mekanisme yang mungkin seperti pinositosis, endositosis dan fagositosis. Senyawa kationik juga dapat memiliki efek positif pada permeasi kulit, dimana komponen penyusun jaringan kulit seperti fosfatidilkolin dan karbohidrat yang ditemukan di sel mamalia mengandung gugus bermuatan negatif (Honary & Zahir 2013).

Nanopartikel dengan muatan positif lebih cenderung diserap oleh sel tumor dan waktu retensi yang lebih lama dibandingkan dengan partikel bermuatan negatif atau netral karena fosfatidilserin, residu bermuatan negatif, ditranslokasikan ke permukaan sel kanker dan nanopartikel dengan muatan positif

dapat ditranslokasikan oleh sel-sel tumor baik melalui endositosis, atau interaksi muatan dan penambatan ligan-reseptor (Honary & Zahir 2013).

3. SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

SEM adalah analisis untuk menggambarkan sampel dengan perbesaran hingga puluhan ribu kali. Analisis dengan menggunakan SEM dapat digunakan untuk melihat ukuran partikel yang tersebar pada sampel. SEM bekerja dengan memanfaatkan elektron sebagai sumber cahaya untuk menembak sampel. Sampel yang ditembak akan menghasilkan penggambaran dengan ukuran hingga ribuan kali lebih besar (Stevens 2001).

SEM berbeda dengan TEM (*Transmision Electron Microscopy*) dalam hal bahwa suatu berkas elektron yang sangat halus di-scan menyilangi permukaan sampel dalam sinkronisasi berkas tersebut dalam tabung sinar katoda. Elektron elektron yang terhambur digunakan untuk memproduksi sinyal yang memodulasi berkas dalam tabung sinar katoda, yang memproduksi suatu citra dengan kedalaman medan yang besar dan penampakan yang hampir tiga dimensi. Penggunaan SEM dalam analisis morfologi permukaan sampel terbatas pemakaiannya, tetapi memberikan informasi yang bermanfaat mengenai topologi permukaan dengan resolusi sekitar 100 Å (Stevens 2001).

4. Liofilisasi/*Freeze Drying*

Liofilisasi atau *freeze drying* merupakan metode pengeringan yang banyak digunakan dalam farmasi untuk meningkatkan kestabilan dan memperpanjang waktu penyimpanan, salah satunya adalah untuk meningkatkan kestabilan transfersom (Patel 2012). *Freeze drying* merupakan proses pengeringan dengan menggunakan temperatur yang rendah, metode ini menguntungkan bagi bahan yang tidak tahan panas. Pada prinsipnya pengeringan beku terdiri dari dua proses, yaitu pembekuan yang dilanjutkan dengan pengeringan. Proses pengeringan berlangsung pada saat bahan dalam keadaan beku sehingga proses perubahan fase yang terjadi adalah sublimasi (Alanzi *et al.* 2007).

Proses pengeringan beku diperlukan suatu krioprotektan untuk melindungi sistem transfersom dari agregasi dan penggabungan ukuran partikel. Krioprotektan yang biasa digunakan adalah manitol, sorbitol, *trehalose*, glukosa

dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) (Nireesha *et al.* 2013). Konsentrasi krioprotektan yang digunakan biasanya adalah 10-15% (Patel 2012).

5. Efisiensi penjerapan

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

a. Dialysis

Dispersi cairan transfersom didialisis dalam tabung dialisis dengan menggunakan buffer fosfat atau normal saline atau larutan glukosa.

b. Gel filtration

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

c. Sentrifugasi

Suspensi transfersom disentrifugasi dan supernatannya dipisahkan. Pelet yang diperoleh dicuci kemudian disuspensikan kembali untuk mendapatkan transfersom yang bebas dari obat yang tidak terjerap.

Efisiensi penjerapan vesikel ditentukan dengan memisahkan obat bebas dari vesikel penjerap obat dengan menggunakan teknik ultrasentrifugasi. Suspensi transfersom disentrifugasi selama 50 menit pada 2000 rpm 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 penyerapan (%EP) dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ EP} = \frac{TD - FD}{TD} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan:

TD = total senyawa yang terdapat dalam formula

FD = jumlah senyawa yang terdeteksi pada supernatan (tidak terjerap).

G. Landasan teori

Fisetin termasuk obat golongan BCS kelas II dengan kelarutan 0,002 mg/ml dengan absorbsi dan bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10-44,1% (Yao *et al.* 2013; Dang *et al.* 2014). Fisetin memiliki aktifitas farmakologi sebagai antioksidan dan antiradikal bebas, anti karsinogenik, anti inflamasi, anti sklerosis dan anti thrombosis (Adhami 2012). Obat yang memiliki kelarutan rendah akan mengakibatkan laju disolusinya juga rendah sehingga absorbsinya kurang sempurna dan memiliki bioavailabilitas yang rendah pula (Shargel & Yu 2005).

Beberapa cara telah dilakukan untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas fisetin salah satunya berupa teknologi formulasi liposom, namun hal tersebut belum mampu meningkatkan kelarutan fisetin secara signifikan karena terbatasnya pemahaman tentang sifat fisika kimia dan sifat biologis fisetin (Yao *et al.* 2013). Salah satu pengembangan yang dilakukan berupa formulasi fisetin dalam bentuk transfersom. Transfersom memiliki beberapa kelebihan antara lain : Transfersom memiliki kemampuan untuk mengalami deformasi dan melewati pori-pori sempit, memberikan penetrasi yang lebih baik pada vesikula utuh, memiliki efisiensi penyerapan yang tinggi sekitar 90% pada obat lipofilik, berfungsi sebagai pembawa obat-obat dengan berat molekul besar atau kecil, misalnya hormon seks insulin analgesik, anestesi, kortikosteroid, antikanker, *gap junction* protein, dan albumin (Prajapati *et al.* 2011; Walve *et al.* 2011 & Kombath *et al.* 2012).

Preparasi transfersom dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain: metode dispersi film/hidrasi film tipis, metode penguapan fase balik, metode homogenisasi bertekanan tinggi, dan metode dispersi ultrasonik. Pada metode hidrasi film tipis fosfatidilkolin dan surfaktan dilarutkan dalam pelarut organik kemudian pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator*, lapisan yang terbentuk dihidrasi dengan buffer pH 6,5 pada putaran 60rpm, untuk menghasilkan vesikel kecil vesikel hasil hidrasi disonikasi pada suhu 4°C selama 30 menit. Ultrasonik merupakan vibrasi suara dengan frekuensi melebihi batas pendengaran manusia yaitu di atas 20 KHz (Tipler 1998). Ultrasonik merupakan salah satu teknik paling efektif dalam pencampuran, proses reaksi, dan pemecahan bahan dengan

bantuan energi tinggi (Pirrung 2007). Batas atas rentang ultrasonik mencapai 5 MHz untuk gas dan 500 MHz untuk cairan dan padatan (Mason & Lorimer 2002).

Berdasarkan penelitian Patel (2009), dilakukan pembuatan transfersom sebagai sistem penghantaran obat dengan zat aktif kurkumin sebagai antiinflamasi. Kurkumin yang memiliki bioavailabilitas yang buruk, hampir 25-85% kurkumin yang diberikan secara peroral tidak diserap oleh tubuh dan memiliki permeabilitas yang rendah, untuk mengatasi masalah tersebut dilakukan pengembangan sistem penghantaran obat menggunakan sistem transfersom dengan metode *hand shaking* - hidrasi lapis tipis. Transfersom dibuat dengan menggunakan fosfatidilkolin dan surfaktan (tween 80, span 80) dengan berbagai variasi konsentrasi. Transfersom yang dibuat dengan perbandingan fosfatidilkolin: span80 (85:15) dapat meningkatkan permeabilitas dari curcumin (Patel *et al.* 2009). Marwa (2013) menyatakan bahwa transfersom dengan zat aktif nistatin yang dibuat dengan variasi konsentrasi surfaktan menghasilkan perbedaan efisiensi penyerapan dari transfeersom yang dihasilkan (Marwa *et al.* 2013)

Pengukuran partikel dilakukan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA). Persyaratan parameter ini adalah partikel mempunyai ukuran 50-1000 nm dan stabil pada periode waktu tertentu (Muller *et al.* 2000). Potensial zeta diukur dengan menggunakan *zetaszizer*. 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. Zeta potensial berperan dalam stabilitas fisik, mempengaruhi efektivitasnya sebagai sistem penghantaran obat. Dispersi dengan nilai potensial zeta rendah akan menghasilkan agregat karena interaksi *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. Berkurangnya ukuran partikel dapat mempengaruhi efisiensi distribusi obat dalam tubuh karena dengan berkurangnya ukuran partikel maka akan meningkatkan luas permukaan

partikel. Berkurangnya ukuran partikel juga meningkatkan disolusi dan kejemuhan larutan yang berhubungan dengan peningkatan kinerja obat secara *in vivo*. Sifat-sifat nanopartikel secara umum tidak sama dengan senyawa obat tersebut dalam ukuran partikel yang lebih besar (Rachmawati 2007).

Analisis morfologi partikel dilakukan menggunakan SEM. Mikroskop ini digunakan untuk mempelajari struktur permukaan partikel. SEM bekerja dengan memanfaatkan elektron sebagai sumber cahaya untuk menembak sampel. Sampel yang ditembak akan menghasilkan penggambaran dengan ukuran hingga ribuan kali lebih besar (Stevens 2001). Efisiensi penjerapan vesikel ditentukan dengan memisahkan obat bebas dari vesikel penjerap obat dengan menggunakan teknik ultrasentrifugasi. Suspensi transfersom disentrifugasi selama 50 menit pada 2000 rpm 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).

H. Hipotesis

1. Transfersom fisetin dapat diperoleh menggunakan metode hidrasi lapis tipis.
2. Variasi konsentrasi surfaktan memiliki pengaruh terhadap efisiensi penjerapan fisetin dalam transfersom.
3. Karakterisasi fisetin seperti ukuran partikel, morfologi dan efisiensi penjerapan dapat dilakukan setelah dibuat transfersom.
4. Transfersom fisetin dapat stabil selama proses penyimpanan.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi sampel yang digunakan adalah mikrokristal fisetin (Shaanxi Dideu Medichem Co. Ltd, Cina). Ukuran kisaran mikron yang telah terjamin kemurniaannya, yang dibuat dengan surfaktan span 80 dengan berbagai variasi konsentrasi dan *phosphatidilcholine*.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sejumlah mikrokristal fisetin murni yang dibuat tranfersome fisetin dengan span 80 dan *phosphatidilcholine*.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel utama dalam penelitian ini adalah formula dari transfersom fisetin yang dibuat dengan variasi konsentrasi surfaktan span 80. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah karakteristik, stabilitas dan mutu fisik dari transversom fisetin (ukuran partikel).

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah metode pembuatan tranfersome fisetin (alat, dan lama sonikasi)

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung yaitu variasi konsentrasi surfaktan yang digunakan dalam pembuatan transversom fisetin.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian ini yaitu karakterisasi transversom fisetin meliputi ukuran partikel dan zeta potensial, analisis morfologi, dan efisiensi penjerapan.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil

yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat yaitu proses pembuatan transfersom dengan metode hidrasi film tipis.

3. Definisi operasional variabel utama

Zat aktif fisetin dengan proposi stabilizer surfaktan dan *phosphatidylcholine*. Menentukan ukuran partikel pada transfersom fisetin yaitu kurang dari 1000 nm. Ukuran partikel dapat mempengaruhi muatan obat, pelepasan obat, dan stabilitas dari nanopartikel. Ukuran partikel merupakan uji untuk mengetahui ukuran partikel dari transfersom fisetin yang dibuat. Pengukuran ukuran partikel dilakukan dengan alat *Particle Size Analyzer* (PSA).

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. Potensial zeta merupakan uji untuk mengetahui dan mengkarakterisasi sifat muatan permukaan partikel yang berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel. Potensial zeta mencerminkan potensi muatan dari partikel dan dipengaruhi oleh komposisi dari partikel dan medium tempat nanopartikel terdispersi. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Zeta Potensial Analyzer*.

Analisis morfologi merupakan analisis yang digunakan untuk membandingkan bentuk dan morfologi fisetin standar dengan transfersom yang mengandung fisetin. Analisis morfologi dilakukan dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Uji efisiensi penjerapan untuk mengetahui banyaknya fisetin yang terjerap pada transfersom.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah fisetin (Shaanxi Dideu Medichem Co. Ltd, Cina), span 80, aquadestilata (PT. Bratachem, Indonesia), fosfatidilkolin, Chloroform dan methanol (Merck).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat untuk memperkecil ukuran partikel *bath sonicator* (QSonica, newtown, U.S.A), alat uji ukuran partikel dan zeta potensial *particle size analyzer* (Malvern instrumen, United

Kingdom),, *centrifuge* (SPLC Series, Gemmy 8 Hole, Taiwan), pH meter (Eutech Instruments, Ecoscan hand-held series, Singapura), *Scanning Electron Microscopy* (Lab MIPA terpadu, UNS), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10s, Thermo scientific), , timbangan analitik (Ohaus), rotary evaporator, alat-alat gelas alat (Pyrex, Jepang) dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

D. Jalannya Penelitian

1. Percobaan pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan kondisi percobaan terbaik untuk menghasilkan sediaan transfersom yang stabil dan homogen. Pembuatan transfersom ini menggunakan metode hidrasi lapis tipis.

Tabel 1. Komposisi formula transfersom fisetin

Komposisi	F1	F2	F3	F4	F5
Fisetin (mg)	10	10	10	10	10
Fosfatidilkolin	475mg	462,5mg	450mg	425mg	400mg
Span 80	25mg	37,5mg	50mg	75mg	100mg
Buffer fosfat pH 6,4 ad	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml

Ket : Formula 1 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (95:5)
 Formula 2 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (92,5:7,5)
 Formula 3 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (90:10)
 Formula 4 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (85:15)
 Formula 5 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (80:20)

Tabel 2. Formula rujukan transfersom nistatin (Marwa 2013)

Formulation	Composition PL:EA (% w/w)	Drug conc. (mg/ml)	Entrapment efficiency % \pm SD
SP80-1	97.5:2.5	10	61,98 \pm 0,62
SP80-2	95:5	10	66,01 \pm 0,68
SP80-3	92.5:7.5	10	70,67 \pm 1,56
SP80-4	90:10	10	80,71 \pm 1,11
SP80-5	85:15	10	68,16 \pm 1,13
SP80-6	80:20	10	62,56 \pm 1,49
TW80-1	97.5:2.5	10	60,63 \pm 1,26
TW80-2	95:5	10	63,13 \pm 1,49
TW80-3	92.5:7.5	10	68,14 \pm 1,35
TW80-4	90:10	10	74,24 \pm 0,71
TW80-5	85:15	10	65,97 \pm 0,63
TW80-6	80:20	10	61,44 \pm 1,19
SDC-1	97.5:2.5	10	57,22 \pm 0,82
SDC-2	95:5	10	59,62 \pm 1,13
SDC-3	92.5:7.5	10	63,80 \pm 1,04
SDC-4	90:10	10	69,78 \pm 1,54
SDC-5	85:15	10	62,53 \pm 1,53
SDC-6	80:20	10	58,52 \pm 2,08
Liposomes	PL:Chol (7:3)	10	51,85 \pm 1,82
SP80-4a	90:10	2,5	50,54 \pm 1,84
SP80-4b	90:10	5	71,91 \pm 0,52
SP80-4c	90:10	7,5	78,73 \pm 0,38
SP80-4d	90:10	15	60,37 \pm 0,89
SP80-4e	90:10	20	5719 \pm 2,78

2. Pembuatan fisetin transfersom

Pembuatan transfersom fisetin diawali dengan mencampur fisetin dan fosfolipid dan surfaktan dengan melarutkan dalam pelarut organik yang mudah menguap (kloroform-metanol). Pelarut organik diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan putaran 60rpm dan suhu 50°C. Lapisan tipis yang diterbentuk dihidrasi dengan buffer (pH 6.4). Vesikel yang dihasilkan disonikasi pada suhu 4°C selama 30 menit menggunakan sonikator *bath*.

3. Karakterisasi fisetin transfersom

3.1. Penetapan distribusi ukuran partikel dan potensial zeta. Untuk mengetahui ukuran sediaan nanopartikel dilakukan pengukuran ukuran dan distribusi nanopartikel menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA). Untuk mengetahui nilai potensial zeta diukur menggunakan *zeta potensial analyzer*.

3.2. Pengujian morfologi transfersom. Penentuan bentuk partikel nanosuspensi dilakukan menggunakan mikroskop SEM dengan cara sampel diberi

lapisan tipis emas-paladium (Au (80%) dan Pd (20%)) menggunakan arus pada posisi 6-7,5 mA, tegangan 1,2 kV, kevakuman pada nilai 0,2 Torr selama 4 menit sehingga diperoleh lapisan 400 amstrong.

3.3. Uji efisiensi penjerapan. Efisiensi penjerapan vesikel ditentukan dengan memisahkan obat bebas dari vesikel perjerap obat dengan menggunakan teknik ultrasentrifugasi. Suspensi transfersom disentrifugasi selama 50 menit pada 2000 rpm 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 (%EP) dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ EP} = \frac{TD - FD}{TD} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan:

TD = total senyawa yang terdapat dalam formula

FD = jumlah senyawa yang terdeteksi pada supernatan (tidak terjerap).

3.3.1. Pembuatan larutan induk. Pembuatan larutan induk fisetin 100ppm dibuat dengan ditimbang seksama sejumlah 10 mg serbuk fisetin murni, dilarutkan dengan 10ml etanol 96%, dimasukkan kedalam labu takar 100 ml, dan ditambahkan dapar fosfat pH 6,4 sampai tanda batas (El-Gawad 2014).

3.3.2. Penetapan panjang gelombang maksimum. Larutan induk fisetin dibaca dengan spektofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum ditunjukan dengan nilai serapan yang paling tinggi (El-Gawad 2014).

3.3.3. Penetapan *operating time*. Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui kestabilan reaksi suatu senyawa (El-Gawad 2014). Pengujian dilakukan dengan membaca larutan induk fisetin pada panjang gelombang maksimum fisetin, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai serapan yang stabil.

3.3.4. Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi. Seri konsentrasi 8 ppm, 12 ppm, 16 ppm, 20 ppm, 24 ppm, 28 ppm dengan larutan dapar fosfat pH 6,4. Seri larutan tersebut diukur serapannya dengan spektofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum fisetin,

dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi fisetin sehingga diperoleh persamaan *regresi linear* (El-Gawad 2014).

3.3.5. Verifikasi metode spektrofotometri UV-Vis. Verifikasi metode spektrofotometri UV-Vis berdasarkan beberapa parameter seperti linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ). Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dilakukan dengan menggunakan metode perhitungan berdasarkan standar deviasi respon dan kemiringan (slope) kurva baku. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linear atau dengan 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).

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 transfersom fisetin, 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.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kurva kalibrasi dan verifikasi metode

1. Pembuatan kurva kalibrasi

1.1 Penentuan panjang gelombang maksimum

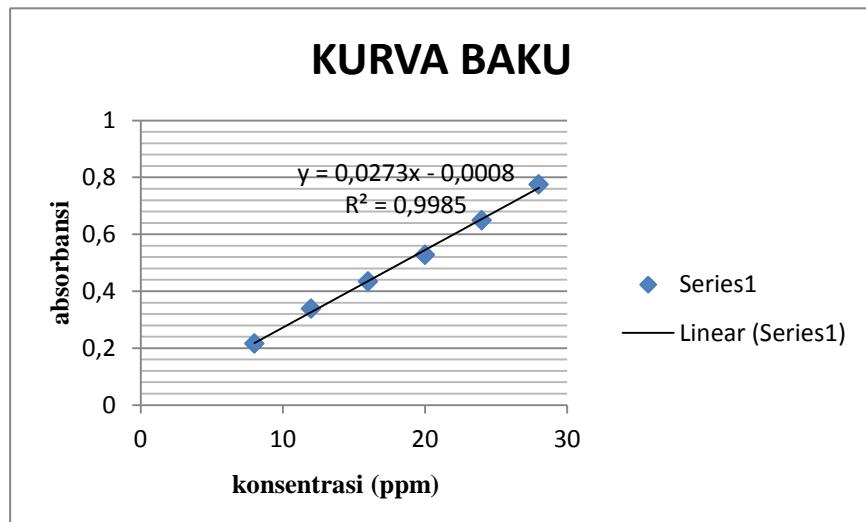
Larutan induk fisetin 100 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg fisetin dilarutkan dengan 10mL etanol 96%, kemudian ditambah buffer fosfat pH 6,4 dalam labu takar 100mL ad tanda batas. Larutan yang terbentuk diencerkan 10 kalinya hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm, kemudian dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400nm. Panjang gelombang maksimum diperoleh pada panjang gelombang 361nm dengan absorbansi sebesar 0,2450 (Lampiran 4.1).

1.2 Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui kestabilan reaksi senyawa yang dianalisis yang ditandai dengan serapan yang tetap pada selang waktu tertentu. Penentuan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang maksimum dan dibaca mulai menit ke 0-30. Larutan induk fisetin menunjukkan serapan yang stabil pada menit ke-5 sampai menit ke-7 dengan nilai absorbansi sebesar 0,2410 (Lampiran 4.2).

1.3 Kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi fisetin dibuat dengan medium buffer fosfat pH 6,4 dengan konsentrasi 8ppm, 12 ppm, 16ppm, 20ppm, 24ppm, 28ppm dengan 3 kali pembacaan. Seri konsentrasi tersebut dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi (ppm) dengan absorbansi fisetin sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = -0,0008+0,0273x$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9985. Hasil koefisien korelasi menunjukkan bahwa persamaan regresi linear tersebut memenuhi parameter linearitas dari 6 konsentrasi yang berbeda.



Gambar 7. Kurva baku fisetin

2. Verifikasi metode analisis

2.1 Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Parameter adanya hubungan linear digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $Y = a + bX$.

Salah satu syarat metode analisis dikatakan valid menurut Harmita (2004) dan Synder *et al.* 1997 adalah nilai koefisien korelasinya $\geq 0,999$. Nilai koefisien korelasi yang semakin mendekati angka 1 menandakan bahwa suatu kurva kalibrasi menghasilkan garis yang linear dan kesalahan yang dapat terjadi antara 2 variabel yang berhubungan (absorbansi dan konsentrasi) semakin kecil. Nilai koefisien korelasi yang dihasilkan berdasarkan rasio serapan terhadap konsentrasi menunjukkan nilai 0,9985. Hal ini membuktikan bahwa metode analisis yang digunakan telah memenuhi syarat linearitas.

2.2 Penentuan LOD dan LOQ

Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan berdasarkan persamaan garis hasil uji linearitas. Batas deteksi ditentukan untuk mengetahui konsentrasi

terkecil yang digunakan agar tetap memberikan kecermatan yang baik yang masih bisa dideteksi oleh instrumen, sedangkan batas kuantifikasi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang masih memberikan hasil ketelitian yang akurat.

Batas kuantifikasi dipengaruhi oleh galat sistemik yang ditunjukkan oleh intersep pada persamaan garis. Pendekatan yang dilakukan untuk menentukan nilai batas kuantifikasi sama dengan pendekatan yang dilakukan untuk menentukan batas deteksi. Pada penentuan batas kuantifikasi perbandingan nilainya sebesar 10:1 terhadap *signal-to-noise ratio*, sedangkan batas deteksi memiliki nilai dengan perbandingan sebesar 3:1 untuk *signal-to-noise ratio*.

Konsentrasi terendah analit yang masih dapat terdeteksi adalah 1,4932ppm dan apabila dimasukkan dalam persamaan regresi linear $y = -0,0008 + 0,0273x$ diperoleh nilai serapan 0,0399. Batas kuantifikasi yang terdeteksi adalah 4,524 dengan nilai serapan sebesar 0,1227.

Tabel 3. Parameter verifikasi metode analisis kurva kalibrasi fisetin

Parameter	Hasil
R2 (koefisien determinasi)	0,9985
Batas Deteksi (LOD)	0,0399
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,1227

B. Pembuatan Fisetin Transfersom

Fisetin transfersom dibuat dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis sehingga menghasilkan transfersom yang homogen dan memiliki ukuran partikel yang kecil. Metode ini banyak digunakan dalam pembuatan transfersom karena prosesnya mudah dilakukan dan tidak memakan waktu lama. Metode hidrasi lapis tipis mampu menjerap lebih banyak obat jika dibandingkan dengan metode pembuatan yang lain seperti *hand shaking* dan injeksi eter (Bhaskaran *et al.* 2009). Pada metode ini fisetin, fosfatidilkolin dan span 80 dilarutkan dalam pelarut organik yaitu kloroform:metanol (2:1), menghasilkan larutan berwarna kuning gelap sampai coklat. Larutan yang terbentuk kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 60rpm dan suhu 50°C. Lapis tipis dapat terbentuk dengan bantuan pemanasan pada temperatur transisi span 80 dan fosfatidilkolin yaitu pada suhu 50°C. Temperatur ini diperlukan untuk

pembentukan lipid bilayer. Pada temperatur transisi lipid bilayer akan terdisposisi di dinding labu sebagai lapis tipis. Lipid lapis ganda terbentuk karena sifat termodinamika fosfolipid, terjadi transisi struktur lipid lapis ganda dari fasa gel (padat) menjadi fasa kristal cair karena pengaruh perubahan temperatur. Sifat termodinamika yang harus diperhatikan pada fosfolipid adalah fasa transisi dan interaksi molekular dari fosfolipid (Abdassah 2011).

Lapis tipis dihidrasi dengan larutan dapar fosfat pH 6,4, dilakukan dengan tujuan untuk pembentukan secara spontan vesikel dan mengoptimalkan penjerapan fisetin. Transfersom secara spontan akan terbentuk saat hidrasi dilakukan, karena masuknya fase air pada lapis tipis akan menyebabkan lipid bilayer akan melekuk secara spontan membentuk gelembung dan menjadi renggang sehingga obat yang terlarut dapat masuk ke vesikel sehingga penjerapan obat optimal. Lapis tipis yang melekat berbentuk lapisan-lapisan yang melekat pada dinding labu yang ketika dihidrasi dengan sejumlah cairan penghidrasi lapis tipis tersebut mengembang dan segera menutup membentuk gelembung. Dengan mengembangnya vesikel maka obat yang masih berada diluar akan berdifusi masuk ke dalam vesikel dan terdifusi pada bagian bilayernya. Vesikel yang terbentuk kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer* dan disonikasi menggunakan sonikator bath selama 30 menit. Fisetin transfersom yang terbentuk kemudian dikarakterisasi meliputi penentuan ukuran partikel, zeta potensial, morfologi partikel dan efisiensi penjerapan.

C. Karakterisasi Fisetin Transfersom

1. Penetapan distribusi dan ukuran partikel

Ukuran partikel fisetin transfersom diukur dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Ukuran partikel yang dihasilkan berkisar antara 332,433-671,433nm dengan indeks polidispersitas antara 0,533-0,820. Indeks polidispersitas yang dihasilkan < 1 menunjukkan bahwa sediaan yang dihasilkan memiliki tingkat keseragaman yang baik (homogen). Sistem monodispersi lebih stabil dibandingkan sistem polidispersi karena pada sistem polidispersi memiliki kecenderungan partikel membentuk agregat. Agregat tersebut dapat terjadi apabila partikel-partikel yang terdapat dalam sistem polidispersi memiliki muatan yang

berlawanan sehingga akan terjadi tarik menarik yang menyebabkan terbentuknya agregat.

Tabel 4. Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel

Formula	Ukuran partikel (nm)±SD	Indeks polidispersitas(PI)±SD
1	332,433±27,511	0,820±0,189
2	593,533±14,219	0,570±0,028
3	620,900±25,228	0,561±0,022
4	671,433±6,4820	0,533±0,041
5	412,800±13,817	0,565±0,129

2. Stabilitas Fisetin Transfersom selama penyimpanan

2.1 Pengamatan secara visual

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk untuk bertahan dalam batas spesifikasi yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, mutu, dan kemurnian produk tersebut. Sediaan obat dikatakan stabil apabila masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode penyimpanan dan penggunaan, artinya sifat-sifat khasnya sama seperti pada saat dibuat. Terdapat 5 jenis stabilitas yang dikenal, yaitu stabilitas kimia, fisika, mikrobiologi, terapi, dan toksikologi (Agoes 2001). Ketidakstabilan formulasi obat dapat dideteksi antara lain dari perubahan dalam penampilan fisik: warna, bau, rasa, dan teksturnya. Ketidakstabilan fisik dapat menyebabkan perubahan kinerja yang tidak diinginkan seperti berkurangnya kelarutan, ketersediaan secara hayati, atau bahkan kegagalan produk. Uji stabilitas bertujuan menunjukkan mutu senyawa aktif atau jenis produk farmasi di bawah pengaruh faktor lingkungan, seperti suhu, kelembapan, dan pencahayaan. Suhu dan kelembapan udara sangat memengaruhi stabilitas obat dan dapat mengganggu sifat organoleptik, fisikokimia, dan mikrobiologi obat.

Fisetin transfersom disimpan pada suhu ruang selama 4 minggu. Pada minggu pertama transfersom yang disimpan pada suhu kamar menunjukkan adanya endapan dalam jumlah sedikit, dan jumlah endapan yang terbentuk meningkat pada minggu ke-2 sampai minggu ke-4. Suhu penyimpanan yang tidak sesuai dapat merusak gerak brown. Gerak brown adalah gerak tidak beraturan atau gerak acak atau gerak zig-zag partikel koloid. Gerak brown dapat menghindarkan partikel koloid dari pengendapan karena terus bergerak (Wanibesak 2011).

Endapan yang terbentuk bersifat reversible dan dapat terdispersi kembali setelah dilakukan pengocokan.

Tabel 5. Stabilitas fisetin transfersom pada suhu kamar

Formula	Pembentukan endapan			
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
1	+	++	+++	+++
2	+	++	+++	+++
3	+	++	+++	+++
4	+	++	+++	+++
5	+	++	+++	+++

Keterangan =
 + → terbentuk endapan
 ++ → terbentuk endapan lebih banyak
 +++ → terbentuk endapan lebih banyak dari sebelumnya

2.2 Pengukuran ukuran partikel sebelum dan sesudah penyimpanan

Tabel 6. Ukuran partikel sebelum penyimpanan dan Sesudah penyimpanan

Formula 5	Minggu ke-	Ukuran partikel (nm) \pm SD	Indeks polidispersitas \pm SD	Zeta potensial (mV) \pm SD
	0	412,800 \pm 13,817	0,565 \pm 0,1290	-2,916 \pm 0,365
	4	562,466 \pm 1,556	0,422 \pm 0,0112	0,193 \pm 0,955

Uji stabilitas fisetin transfersom dilakukan pada formula 5 selama 4 minggu dengan melihat ukuran partikel, indeks polidispersitas dan zeta potensial pada minggu ke-4 dan dibandingkan dengan hasil pengujian awal. Hasil uji stabilitas terdapat peningkatan ukuran partikel dan zeta potensial serta penurunakan indeks polidispersitas.

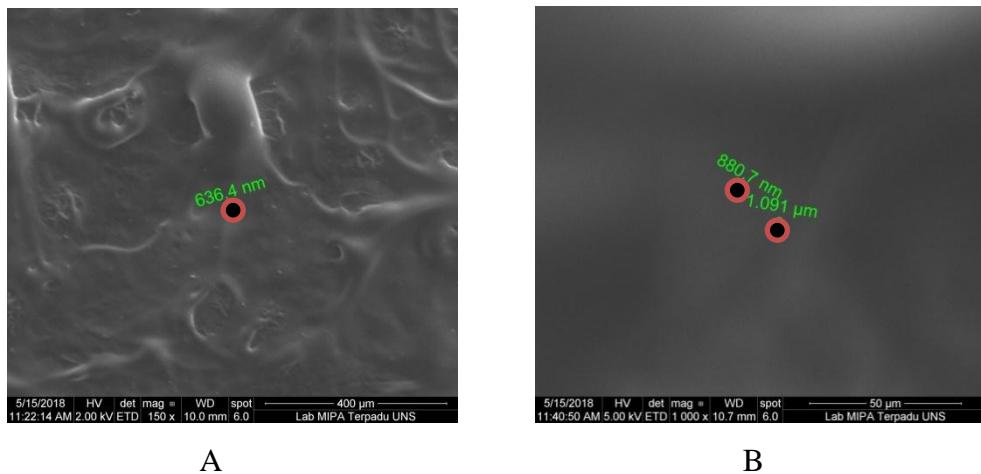
Peningkatan ukuran partikel dapat disebabkan karena suhu penyimpanan yang tidak sesuai/tidak stabil sehingga menyebabkan partikel membentuk agregat. Indeks polidispersitas (PDI) merupakan indikator distribusi ukuran partikel dalam emulsi, nilai PDI mendekati nol menunjukkan sistem mono-dispersi dan nilai PDI mendekati 1,0 yang menunjukkan bahwa emulsi memiliki distribusi ukuran yang sangat luas. Nilai PDI yang dapat diterima harus kurang dari 0,7 tergantung pada jenis sampel (Cheong *et al.* 2008; Hoeller *et al.* 2009; Flores *et al.* 2011). Berdasarkan hasil pengukuran indeks polidispersitas pada formula 5 mengalami penurunan yang dapat disebabkan karena proses penggojogkan selama pengiriman

sampel sebelum diuji tetapi nilai indeks polidispersitas tersebut masih dapat diterima.

Pengukuran zeta potensial memberikan hasil muatan positif. Semakin besar muatan suatu partikel maka semakin stabil pula partikel tersebut, hal ini disebabkan karena adanya daya tolak menolak yang semakin besar antara partikel dengan muatan sejenis sehingga mencegah penggabungan partikel. Zeta potensial yang bernilai positif memiliki kelebihan dalam hal penghantaran obat terkait kemampuan interaksinya dengan barier absorbsi. Lapisan mukosa memiliki muatan negatif sehingga transfersom yang bermuatan positif dapat melekat dan dinyatakan bersifat mukoadesif (Bernkop-Schnurch 2005). Membran sel juga bermuatan negatif sehingga transfersom dikembangkan sebagai *cell-targeted delivery system* (Luo *et al.* 2010).

3. Pengujian morfologi fisetin transfersom

Bentuk dan keadaan permukaan nanopartikel penting untuk diketahui karena dapat memberikan informasi tentang sifat pelepasan obat. Pengujian morfologi fisetin transfersom dilakukan menggunakan SEM. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa transfersom yang dibuat memiliki bentuk tidak beraturan dengan ukuran yang beragam yaitu 636,4nm (gambar A), dan 880,7nm (gambar B). Pada preparasi terlihat pula adanya transfersom yang bergabung sehingga menghasilkan partikel dengan ukuran yang lebih besar. Adanya transfersom yang bergabung tersebut disebabkan karena fosfatidikolin tidak hanya membentuk *cross link* antar partikel dalam satu nanopartikel tetapi juga membentuk *cross link* antara nanopartikel satu dengan nanopartikel yang lain sehingga nanopartikel saling bergabung membentuk ukuran yang lebih besar.



Gambar 8. Uji SEM formula 5. (A) morfologi fisetin transfersom pada perbesaran 150 kali. (B) morfologi fisetin transfersom pada perbesaran 1000 kali

4. Efisiensi penjerapan fisetin transfersom

Fosfatidilkolin merupakan komponen utama pembentuk gelembung (*vesicles*) pada transfersom, dimana gelembung inilah yang akan menjerap obat. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi fosfatidilkolin yang menjerap fisetin secara optimal. Fosfolipid akan membentuk gelembung tertutup. Fospholipid dapat menggabungkan diri dan membentuk beberapa struktur, termasuk misel dan liposom. Komposisi transfersom selain fosfatidilkolin adalah surfaktan, dimana surfaktan yang digunakan adalah span 80 yang merupakan surfaktan nonionik yang diharapkan dengan konsentrasi tersebut dapat membentuk gelembung lapis ganda (Leekumjorn 2004).

Pemisahan obat bebas dengan obat yang terjerap dalam transfersom dilakukan dengan sentrifugasi selama 50 menit dengan kecepatan 2000rpm. supernatan hasil sentrifugasi diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui kadar fisetin yang tidak terjerap. Jika jumlah obat yang terdeteksi pada supernatan sama dengan jumlah obat yang ditambahkan pada formula maka dapat diasumsikan bahwa tidak ada obat yang terjerap, tetapi jika jumlah obat pada supernatan berbeda maka diperkirakan telah terbentuk transfersom yang membawa obat (Blazek-Rhodes 2001).

Tabel 6. Persen Efisiensi Penjerapan

Formula	Fosfatidilkolin:Span80	% Efisiensi Penjerapan
1	475mg:25mg	73,01%
2	462,5mg:37,5mg	82,75%
3	450mg:50mg	86,64%
4	425mg:75mg	90,34%
5	400mg:100mg	92,43%

Transfersom memiliki kemampuan menjerap obat yang tinggi dengan konsentrasi lipid penyusun yang rendah, karena akan membentuk vesikel dengan ukuran yang lebih kecil sehingga memungkinkan absorpsi lintas membran yang lebih baik. Hal ini tergantung dari berapa banyak obat yang bisa masuk ke dalam vesikel yang terbentuk sesuai dengan ukuran vesikel transfersom tersebut. Ukuran transfersom ditentukan oleh besarnya konsentrasi fosfolipid dan metode pembuatan yang digunakan. Tingkat optimal obat yang terjerap di dalam transfersom ditentukan oleh seberapa kecil ukuran transfersom yang terbentuk dan besarnya obat yang terjerap. Semakin kecil ukuran dari gelembung transfersom maka akan semakin besar pula persen penjerapannya.

Hasil pengukuran fisetin yang terjerap dalam transfersom menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi surfaktan yang digunakan menunjukkan peningkatan penjerapan fisetin. Hal ini disebabkan karena dengan meningkatnya konsentrasi surfaktan akan membuat membran transfersom yang dihasilkan menjadi kurang permeabel sehingga dapat meningkatkan proses enkapsulasi. Pada pengukuran persen efisiensi penjerapan diperoleh hasil sebesar 73,01%, 82,75%, 86,64%, 90,34%, 92,43%. Pada penelitian ini, konsentrasi fosfatidilkolin:span 80 (80:20) memberikan penjerapan optimal fisetin sebesar 92,43%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Fisetin transfersom dapat dibuat menggunakan metode hidrasi lapis tipis.
2. Variasi konsentrasi surfaktan menghasilkan transfersom dengan perbedaan efisiensi penjerapan pada kelima formula. Peningkatan konsentrasi surfaktan meningkatkan efisiensi penjerapan transfersom fisetin.
3. Karakterisasi fisetin transfersom menghasilkan ukuran partikel pada F1, F2, F3, F4 dan F5 berturut-turut sebesar 332,43; 593,53; 620,90; 671,43; 412,80nm. Efisiensi penjerapan kelima formula berturut-turut sebesar 73,01%, 82,75%, 86,64%, 90,34%, 92,43%. Pada uji SEM dan uji stabilitas yang dilakukan pada formula 5, terlihat transfersom dengan bentuk tidak beraturan dan ukuran partikel 562,46nm serta zeta potensial 0,19mV.
4. Fisetin transfersom mengalami peningkatan ukuran partikel tetapi cukup stabil dalam proses penyimpanan.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan uji kelarutan kinetik dan uji disolusi untuk mengetahui kelarutan fisetin transfersom.
2. Perlu dilakukan variasi kombinasi surfaktan untuk mengetahui stabilitas terbaik fisetin transfersom.

DAFTAR PUSTAKA

Abdassah, Marlin. 2011. *Liposom Sebagai Sistem Penghantar Obat Kanker*, FMIPA UNPAD: Sumedang. Hal.1-5.

Adhami VM, Syed D, Khan N, Mukhtar H. Dietary flavonoid fisetin: a novel dual inhibitor of PI3K/Akt and mTOR for prostate cancermanagement. *Biochem Pharmacol*. 2012; 84 :1277-1281.

Agoes G. 2001. *Studi Stabilitas Sediaan Farmasi*. Bandung: Teknologi Farmasi Program Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.

Alanzi, F.K., et al. 2007. Improvement of Albendazole Disolution by Preparing Microparticle Using Spray-drying Tehnique. *ScientiaPharmaceutica (Sci.Phar.)*. 75, 63-79.

Arai Y., Watanabe S., Kimira M., Shimoi K., Mochizuki R., Kinae N. Dietary intakes of flavonols, flavones and isofl avones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J. Nutr*. 2000;130:2243-2250.

Arbiser JL, Fisher DE. Fisetin: a natural fist against melanoma. *J Invest Dermatol*. 2011; 131 :1187-1189.

Arora, Rajnish and Jain,C.P. 2007. Advances in Niosome as a Drug carrier, *Asian Journal of Pharmaceutics* 1(1) April-June.

Ashish Y. Pawar, Khanderao R. Jadhav, Laxmikant H. Chaudhari. 2016. Transfersome: A Novel Technique Which Improves Transdermal Permeability. *Asian Journal of Pharmaceutic*

Bernkop-Schnurch, A. 2005, Thiomers: a new generation of mucoadhesive polymers, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 57: 1569-1582

Bhaskaran, Shyamala., P.K. Lakshmi., 2009, *Comparative Evaluation of Niosome Formulations Prepared by Different Techniques*, *Acta Pharmaceutica Scienza*, 51: 27-32

Blazek-Weish, A. I., Rhodes, D. G. 2001. Maltodextrin-Based Proniosom. *AAPS Pharmaceutical Sciences*. 3(1): 1-8.

Bombardelli, E., Curri, S.B., Della, L. R., Del, N.P., Tubaro A., Gariboldi, P., 1989. *Complex between phospholipids and vegetal derivatives of biological interest*. Fitoterapia. New York. 60:1 – 9.

Bombardelli,E.1991. *Tecnology for the Processing of Medicinals Plant*, In: Wijesekera, R. O. B. (Ed). *The Medicinal Plant Industry*. CRC Press. Florida.

Bothiraja C, Yojana, B D, Pawar A P, Shaikh K S and Thorat U H 2014 *Expert Opin. Drug Deliv* 11(1) 17-29.

Burda, S., dan Oleszek, W., 2001, Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids, *J.Agric.Food Chemistry*, 49, 2774-2779.

Burkhart C, Morrell D, Goldsmith L. Dermatological pharmacology. Dalam: Hardman JG, Limbird LE, penyunting. *Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. Edisi ke-12. New York: McGraw-Hill; 2010. h.1803-30.

Chen WS. Lee YJ. Yu YC. Hsiao CH. Yen JH. Yu SH. Tsai YJ. Chiu SJ. Enhancement of p53-mutant human colorectal cancer cells radiosensitivity by flavonoid fisetin. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010; 77 :1527–1535.

Chen YC. Shen SC. Lee WR. Lin HY. Ko CH. Shih CM. Yang LL. Wogonin and fisetin induction of apoptosis through activation of caspase 3 cascade and alternative expression of p21 protein in hepatocellular carcinoma cells SK-HEP-1. *Arch Toxicol.* 2002; 76 :351–359.

Cheong, J. N., Tan, C. P., Man, Y. B. C., & Misran, M. (2008). α -Tocopherol nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation. *Journal of Food Engineering*, 89(2), 204-209.

Chien CS. Shen KH. Huang JS. Ko SC. Shih YW. Antimetastatic potential of fisetin involves inactivation of the PI3K/Akt and JNK signaling pathways with downregulation of MMP-2/9 expressions in prostate cancer PC-3 cells. *Mol Cell Biochem.* 2010; 333 :169–180.

Christina. 2010. Pengaruh Metanol, Etanol, dan Propilen Glikol terhadap Profil Penetrasi Perkutan Glukosanim Secara In Vitro Menggunakan Sel Difusi Franz [Skripsi]. Depok: Sarjana FMIPA, Universitas Indonesia.

Flores, F. C., Ribeiro, R. F., Ourique, A. F., Rolim, C. M. B., Silva, C. D. B. D., Pohlmann, A. R., & Guterres, S. S. (2011). Nanostructured systems containing an essential oil: protection against volatilization. *Química Nova*,34(6), 968-972.

Gandjar, I. G., Rahman, A. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustakan Pelajar, Yogyakarta.

Gopalan Sriram Prasath, Sorimuthu Pillai Subramanian. 2011. Modulatory effects of fisetin, a bioflavonoid, on hyperglycemia by attenuating the keyenzymes of carbohydrate metabolism in hepatic and renal tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology* 668 (2011) 492-496

Hamada A, Kawaguchi T, Nakano M. Clinical Pharmmakinetics of Cytarabine Formulations. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41 (10): 705-71

Harmita. 2004. 'Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya', Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. I, No. 3, Desember.

Hoeller, S., Sperger, A., & Valenta, C. (2009). Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation. *International journal of pharmaceutics*, 370(1), 181-186.

Honary, S.; & Zahir, F. 2013. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano Drug Delivery Systems - A Review (Part 1). *Trop. J. of Pharmaceutical Research* April 12 (2): 255-264

Hong, C., Dang ,Y., Lin,G.,Yao, Y.,Li, G.,Ji, G., Shen ,H.,Xie, Y., 2014 : Effects of Stabilizing Agents on The Development of Myricetin Nanosuspension and its Characterization: An *in Vitro* and *in Vivo* Evaluation, *International Journal of Pharmaceutics*,477.251–260

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.

Jain S, Umamaheshwari RB, Bhadra D, Tripathi P, Jain P, Jain NK. Ultra deformable liposome: A recent tool for effective transdermal drug delivery. *Indian J Pharm Sci* 2003;65:223-31.

Jonassen, H. 2014. Polysaccharide Based Nanoparticles for Drug Delivery Applications [Thesis]. Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Oslo.

Jufri M. Arah dan Perkembangan Liposom: drugs delivery systems. Majalah Ilmu Kefarmasian 2004; I(2): 59-68

Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., dan Naguib, N.Y., 2007, Growth, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Some Medical Plants Grown under Organic Farming Condition, *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4):451-457.

Kombath RV, Minumula SK, Sockalingam A, Subadhra S, Parre S, Reddy TR, et al. Critical issues related to transfersomes - Novel vesicular system. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2012;11:67-82.

Kronberg B, Dahlman A, Carlfors J, Karlsson J, Artursson P. Preparation and Evaluation of Sterically Stabilized Liposomes: colloidal stability, serum stability, macrophage uptake, and toxicity. *J pharm Sci* 1990; 79(8):667-71.

Kumar A, Pathak K, Bali V. *Ultra-adaptable nanovesicular systems: a carrier for systemic delivery of therapeutic agents*. Drug Discov Today. 2012.17(21-22):1233-41.

Lalatendu Panigrahi, Snigdha P dan Saroj K.G. 2004. Design and Characterization of Mucoadhesive Buccal Patches of Salbutamol Sulphate. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*. Vol 61 No. 5 Hal : 351 - 360.

Leekumjorn, Sukit (2004). *Synthesis and Characterization of Potensial Drug Delivery Systems using Nonionic Surfactant "Niosom"*.

Lida, Y., Tuziuti T., Yasui K., Towata A., and Kozuka T. 2002. *Control of Viscosity in Starch and Polysaccharide Solution with Ultrasound After Gelatinization*. Journal of National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST).Nagoya, Japan.

Luo, Y., Zhang, B., Cheng, W. and Wang, Q. 2010, Preparation, Characterization and Evaluation of Selenite-Loaded Chitosan/TPP Nanoparticles with or Without Zein Coating, Carbohydrate Polymer, 82: 942-951

Marwa H. Abdallah. 2013. Transfersomes as a Transdermal Drug Delivery System For Enhancement the Antifungal Actitity of Nistatin. *Int J Pharm Pharm Sci*, Vol 5, Issue 4, 560-567

Mason TJ, Lorimer JP. 2002. *Applied Sonochemistry* : The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing. Verlag: Whiley-VCH

Mayes AP. *Lipid yang memiliki makna fisiologi*. Dalam: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia harper. Jakarta: EGC 2003; 151-154

Modi CD, Bharadia PD. Transfersomes: A new dominants for transdermal drug delivery. *Am J PharmTech Res* 2012;2:71-91.

Müller, R.H., Böhm, B.H.L. dan M.J. Grau. 2000. Nanosuspensions: A Formulation Approach for Poorly Soluble and Poorly Bioavailable Drugs. In: D.L. Wise (eds). *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. New York: Marcel Dekker, Inc. Pages 345-346.

Myers D. 2006. *Surfactant Science and Technology*. Edisi III. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Nandure, H.P., Prashant P., Prabhanjan G. dan Vidya L., 2013, Ethesome: A Novel Drug Carrier, *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, Vol. 2, No. 3, Page18-30.

Nireesha GR. Divya L, Sowmya C, Venkateshan N, Babu MN, LavakumaV. Lyophilization/Freeze Drying An Review. *International Journal of novel Trends In Pharmaceutical Sciences*. 2013;3(4):2277-2782.

Pandey S, Goyani M, Devmurari V, Fakir J. Transfersomes: A novel approach for transdermal drug delivery. *Der Pharm Lett* 2009;1:143-50.

Patel, Y., 2012, *Fast Dissolving Drug Delivery System: An Update*.

Pham, Thi Thuy. 2012. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Liposome and Niosome Preparation Using A Membrane Contactor for Scale-Up. France. 94, 15 - 21.

Pirrung MC. 2007. *The Synthetic Organic Chemist's Companion*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.

Polozova A, et al. Formulation of homogenous unilamellar liposomes from an interdigitated matrix. *Biochim Biophys. Acta* 2005;1668:117-125

Prajapati ST, Patel CG, Patel CN. Transfersomes: A vesicular carrier system for transdermal drug delivery. *Asian J Biochem Pharm Res* 2011;2:507-24.

Prasath Sriram G., Subramanian S. 2011. Fisetin, A. Bioflavonoid Ameliorates Hyperglycemia In Stz-Induced Experimental Diabetes In Rats, *Research Article*, Depaetement of Biochemistry, Universitas of Madras, Guindy Campus, Chennai 600 025, India.

Prochazkova, D., Boušova, I., & Wilhelmova, N. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82 (4), 513–523.

Rachmawati, H., Reker-Smit, C., Hooge, M.N.L., Loenen Weemaes, A.M.V., Poelstra, K., Beljaars, L. 2007. *Chemical Modification of Interleukin-10 with Mannose 6-Phosphate Groups Yield a Liver-Selective Cytokine*. DMD, 35 : 814-821.

Ronson, 2012. *Zeta Potensial Analysis of Nanoparticles*. San Diego :NanoComposix.

R.P. Singh, H.V. Gangadharappa, K. Mruthunjaya. 2017. Phospholipids: Unique carriers for drug delivery systems, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, doi: 10.1016/j.jddst.2017.03.027.[28 Mar 2017]

R.Patel, S.K.Singh., S.Singh., Dr. N.R. Sheth., R. Gendle. 2009. Development and Characterization of Curcumin Loaded Transfersome for Transdermal Delivery. *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol.1(4), 71-80.

Rusli, P. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Titanium Dioksida Fasa Anatase dengan Metode SolGel [Skripsi]. Universitas Negeri Medan. Medan

Sala, M., Diab, R., Elaissari, A., Fessi, H. 2017. Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: Properties, mechanisms of skin interactions and medical applications. *International Journal of Pharmaceutics* <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.10.046> [25 Okt 2017]

Shargel, L., Yu, A., and Wu, S., 2005, *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*, Edisi kedua, Airlangga University Press, Surabaya. 167 – 187.

Sheo DM, Shweta A, Ram CD, Ghanshyam M, Girish K, Sunil KP. Transfersomes - A novel vesicular carrier for enhanced transdermal delivery of stavudine: Development, characterization and performance evaluation. *J Sci Speculations Res* 2010;1:30-6.

Sinko, PJ. 2012. *Martin Farmasi Fisik dan Ilmu Farmasetika* (Ed. 5) (Joshita & Amalia, Penerjemah.). jakarta EGC. 585-587.

Sjahbanar SZ, Setiadi E(ed). Stryer L. *Biokimia* Vol 1. Edisi 4. Jakarta: EGC 2000:264-77

Snyder. L.R, Joseph J.K and Joseph L.G, 1997, Practical HPLC Method Development, 2nd ed., John Willey and sons, Inc., New York, 654 – 664, 687 – 706

Stevens, Malcolm P. (2001). Polymer Chemistry: An Introduction. Oxford University Press. Diterjemahkan oleh Iis Sopyan. (2001). *Kimia Polimer*. Jakarta : PT Pradnya Paramita.

Stockburger, G., 1981, *Process for Preparing Sorbitan Esters*, US Patent no: 4, 297, 290.

Sulisck KS, Price GJ. 1999. *Applications of ultrasound to materials chemistry*. Annu Rev Mater Sci. 29:295-326.

Tarekegn, Alemayehu, dkk (2010). Niosom in targeted drug delivery: some recent advances, *IJPSR* Vol 1(9): 1-8.

Tippler PA. 1998. *Fisika untuk Sains dan Teknik*. Prasetyo L & Adi RW, penerjemah. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: Physics for Scientists and Engineers

Verma, Surender, S.K. Singh, Navneet S., P. Mathur, V. Valecha (2010). Nanoparticle vesicular system: A versatile tool for drug delivery. *J. Chem. Res.* Vol 2 (2): 496-509.

Walve JR, Bakliwal SR, Rane BR, Pawar SP. Transfersomes: A surrogated carrier for transdermal drug delivery system. *Int J Appl Bio Pharm Technol* 2011;2:201-14.

Wanibesak, E. 2011. Sistem Koloid. http://wanibesak.wordpress.com/2011/05/30/system_koloid/ [12 Desember 2017]

Wardiyati S. 2004. *Pemanfaatan ultrasonik dalam bidang kimia. Di dalam: Penguasaan IPTEK Bahan untuk Meningkatkan Kualitas Produk Nasional*. Prosiding Pertemuan Ilmiah IPTEK Bahan; Serpong, 7 Sep 2004. Serpong: P3IB Batan. Hlm 419-424.

Williams, A.R. 1983. Ultrasound: *Biological Effects and Potential Hazards*. Academic Press.

Xiao YL, Luo JB, Yan ZH. *Preparation and in vitro and in vivo evaluation of topically applied capsaicin transfersomes*. Zhangguo Zhong Yao Za Zhi. 2006. 31:981-4.

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 .

L

A

M

P

I

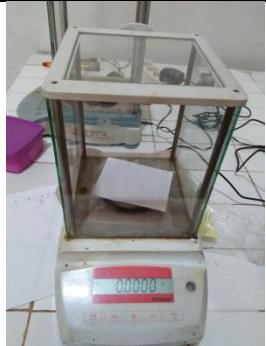
R

A

N

LAMPIRAN 1

1.1 ALAT

No	Nama dan Gambar alat	Fungsi
1	 Neraca analitik	Untuk menimbang bahan
2	 Rotary evaporator	Untuk menguapkan pelarut organik
3	 pH meter	Untuk mengukur pH buffer

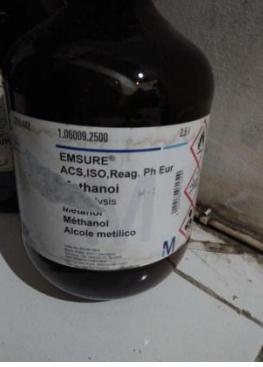
4	 <p>Magnetic stirer</p>	Untuk menghomogenkan vesikel setelah dihidrasi
5	 <p>Sonikator bath</p>	Untuk memperkecil ukuran partikel
6	 <p>Malvern instrumen</p>	Untuk mengukur ukuran partikel dan zeta potensial

7	 Freeze drying	Untuk mengeringkan sampel
8	 SEM	Untuk mengetahui morfologi partikel
9	 Alat sentrifugasi	Untuk memisahkan obat bebas dengan obat yang terjerap dalam transfersom

10		Untuk mengetahui lamda maks dan operating time fisetin serta mengetahui absorbansi fisetin adlam supernatan (tidak terjerap) Spektrofotometer Uv-Vis
----	--	---

1.2 BAHAN

No	Nama dan gambar bahan	Fungsi
1	 Fisetin	Zat aktif
2	 Fosfatidilkolin	Fosfolipid
3	 Span 80	Surfaktan

4		Kloroform	Pelarut
5		Metanol	Pelarut
6		Buffer fosfat pH 6,4	Pelarut untuk kurva kalibrasi dan untuk pembentukan vesikel
7		Aquadest	Untuk melarutkan KH2PO4 dan NaOH dalam pembuatan buffer fosfat

8	 Etanol 96%	Melarutkan fisetin untuk kurva kalibrasi
---	---	--

1.3 FORMULA



Ket : Formula 1 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (95:5)
Formula 2 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (92,5:7,5)
Formula 3 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (90:10)
Formula 4 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (85:15)
Formula 5 menggunakan perbandingan forfatidilkolin : span 80 (80:20)

1.4 CoA fisetin

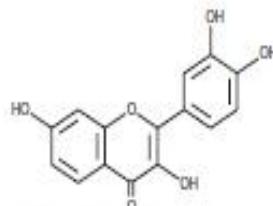
PRODUCT INFORMATION

Fisetin

Item No. 15246

CAS Registry No.: 528-48-3

Formal Name: 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,7-dihydro-4H-1-benzopyran-4-one
 Synonyms: CI-75620, NSC 407010, NSC 656275
 MF: C₁₅H₁₀O₆
 FW: 286.2
 Purity: ≥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. Szczepankiewicz, 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 [Safety Data Sheet](#), which has been sent via email to your institution.

WARRANTY AND LIMITATION OF LIABILITY

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

Copyright Cayman Chemical Company 03/22/2014

CAYMAN CHEMICAL

1100 EAST ELLSWORTH RD

ANN ARBOR, MI 48108 - USA

PHONE: (800) 364-9897

(734) 971-3335

FAX: (734) 971-3640

CUSTSERV@CAYMANCHEM.COM

WWW.CAYMANCHEM.COM

1.5 CoA fosfatidilkolin

REVIEWED
By lia.aksari at 3:36 pm, Sep 08, 2016

Lipoid

ANALYTICAL DATA

AN21032023
- 1 -

LIPOID S 100 ✓ PT. Menjangan Sakti

Batch	579000-1160709-06 ✓	Recommended storage	-20 +/- 5 °C
		Date of production	03/2016
		Retest date	02/2019 ✓
Phosphatidylcholine from Soybean			

Parameter	Result	Specification min	Specification max	Unit	Method
Phosphatidylcholine (based on dry weight)	97,7	94,0		%	PC3
Identity (TLC)	complies	complies			ADC1
Lysophosphatidylcholine	0,7		3,0	%	ADC3
N-Acyl-phosphatidyl- ethanolamine	I.t. 0,1		0,5	%	ADC3
Phosphatidylethanolamine	I.t. 0,1		0,1	%	ADC3
Phosphatidylinositol	I.t. 0,1		0,1	%	ADC3
Non-polar lipids	0,8		3,0	%	ADC5
Triglycerides	0,3		2,0	%	ADC5
Free fatty acids	I.t. 0,05		0,5	%	ADC5
DL-a-Tocopherol	0,20	0,15	0,25	%	TO
Phosphorus	3,8	3,7	4,0	%	TP
Iodine value	106	97	107		Ph.Eur.2.5.4A
Peroxide value	0		3		Ph.Eur.2.5.5A
Water	0,5		2,0	%	USP <921>la
Ethanol	I.t. 0,2		0,2	%	ET

.../2

REVIEWED BY: *lia.aksari*

Lipoid GmbH - Frigenstraße 4 - D-67065 Ludwigshafen · Tel. 0621-5 38 19-0 · Fax 0621-55 35 59

REVIEWED
By lia.aksari at 3:36 pm, Sep 08, 2016

Lipoid

ANALYTICAL DATA

AN2103202/3
- 2 -

LIPOID S 100

PT. Menjangan Sakti

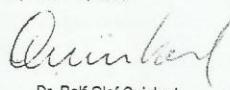
Batch 579000-1160709-06

Parameter	Result	Specification min	Specification max	Unit	Method
Heavy metals	I.t. 10		10	mg/kg	USP <231>II
Consistency	coarse agglomerates (waxy)		coarse agglomerates		visuell
Colour	light yellow - yellowish		light yellow - yellowish		visuell
Bacterial Endotoxins (Gel-clot method: limit test)	I.t. 0,7		6	EU/g	EU

Microbiological quality

TAMC	I.t. 10	100	cfu/g	USP<61>
Yeasts	I.t. 10	10	cfu/g	USP<61>
Moulds	I.t. 10	10	cfu/g	USP<61>
E.coli	absent	absent	/10g	USP<62>
Salmonella	absent	absent	/10g	USP<62>
Pseudomonas aeruginosa	absent	absent	/10g	USP<62>
Staphylococcus aureus	absent	absent	/10g	USP<62>

Ludwigshafen, September 6, 2016



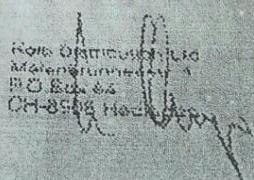
Dr. Ralf-Olaf Quinkert
Quality Control

REVIEWED BY:  

Dr. Dirk Bruns
Head of Quality Control

Lipoid GmbH · Frigenstraße 4 · D-67065 Ludwigshafen · Tel. 0621-5 38 19-0 · Fax 0621-55 35 59

1.6 CoA span 80

Kolb Distribution AG Phone: +41 44 762 46 46	Malenbrunnenstrasse 1 Fax: +41 44 762 46 00	PO. Box 64 www.kolb.ch	CH-8908 Hedingen Switzerland CH-Mwst/VAT/VAT216.228																																			
 Member of the KOLB Group																																						
Quality certificate																																						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%;">Material : Our / Your reference</td> <td>101158 Kosteran-O/1 VL</td> </tr> <tr> <td>Batch : 2/2419371 / Quantity</td> <td>6000 KG</td> </tr> <tr> <td colspan="2"> Date 27.10.2016 Purchase order item/date SUR/28/KOLB/TSJ/10/16/15.10.2016 Delivery item/date 80024005 000001/28.10.2016 Order item/date 1844405 000010/19.10.2016 Customer code 105148 </td> </tr> </table>				Material : Our / Your reference	101158 Kosteran-O/1 VL	Batch : 2/2419371 / Quantity	6000 KG	Date 27.10.2016 Purchase order item/date SUR/28/KOLB/TSJ/10/16/15.10.2016 Delivery item/date 80024005 000001/28.10.2016 Order item/date 1844405 000010/19.10.2016 Customer code 105148																														
Material : Our / Your reference	101158 Kosteran-O/1 VL																																					
Batch : 2/2419371 / Quantity	6000 KG																																					
Date 27.10.2016 Purchase order item/date SUR/28/KOLB/TSJ/10/16/15.10.2016 Delivery item/date 80024005 000001/28.10.2016 Order item/date 1844405 000010/19.10.2016 Customer code 105148																																						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Characteristic</th> <th style="width: 15%;">Unit</th> <th style="width: 30%;">Value</th> <th style="width: 25%;">Lower Limit</th> <th style="width: 25%;">Upper Limit</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Temperature 25°C</td> <td>-</td> <td>25°C</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Liquid state.</td> <td>-</td> <td>liquid</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acid number</td> <td>Mg KOH</td> <td>5,5</td> <td>4,7</td> <td>7,5</td> </tr> <tr> <td>OH number</td> <td>Mg KOH</td> <td>199</td> <td>193</td> <td>209</td> </tr> <tr> <td>Saponification number</td> <td>Mg KOH</td> <td>44</td> <td>40</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>Water content</td> <td>%</td> <td>2,8</td> <td>0,0</td> <td>3,0</td> </tr> </tbody> </table>				Characteristic	Unit	Value	Lower Limit	Upper Limit	Temperature 25°C	-	25°C	-	-	Liquid state.	-	liquid			Acid number	Mg KOH	5,5	4,7	7,5	OH number	Mg KOH	199	193	209	Saponification number	Mg KOH	44	40	50	Water content	%	2,8	0,0	3,0
Characteristic	Unit	Value	Lower Limit	Upper Limit																																		
Temperature 25°C	-	25°C	-	-																																		
Liquid state.	-	liquid																																				
Acid number	Mg KOH	5,5	4,7	7,5																																		
OH number	Mg KOH	199	193	209																																		
Saponification number	Mg KOH	44	40	50																																		
Water content	%	2,8	0,0	3,0																																		
Production date : 09.2016 Expiry date : 09.2018		 Kolb Distribution AG Malenbrunnenstrasse 1 PO. Box 64 CH-8908 Hedingen																																				
The determination of the effective values is made in our control-laboratory. Document designed automatically without signature																																						

LAMPIRAN 2 PSA dan Zeta Potensial

2.1 DATA PSA

FORMULA	PEMBACAAN 1 (nm)	PEMBACAAN 2 (nm)	PEMBACAAN 3 (nm)	RATA-RATA (nm)
1	364,2	316,4	316,7	332,433
2	607,3	578,9	594,4	593,533
3	594,6	644,9	623,2	620,900
4	666,6	678,8	668,9	671,433
5	419,6	396,9	421,9	412,800

2.2 DATA PdI

FORMULA	PEMBACAAN 1	PEMBACAAN 2	PEMBACAAN 3	RATA-RATA
1	0,605	0,893	0,963	0,820
2	0,554	0,603	0,554	0,570
3	0,556	0,542	0,586	0,561
4	0,551	0,486	0,563	0,533
5	0,469	0,713	0,515	0,565

2.3 DATA Zeta Potensial

FORMULA	PEMBACAAN 1 (mV)	PEMBACAAN 2 (mV)	PEMBACAAN 3 (mV)	RATA-RATA (mV)
1	-1,03	-1,82	-2,25	-1,700
2	-2,99	-3,3	-3,78	-3,356
3	-1,57	-1,61	-1,96	-1,713
4	-3,4	-4,61	-5,43	-4,480
5	-2,99	-2,52	-3,24	-2,916

2.4 DATA Standar Deviasi

FORMULA	Replikasi	Ukuran Partikel (nm) \pm SD	PdI \pm SD	Zeta Potensial \pm SD
FORMULA 1	1	364,2 \pm 27,51114926	0,605 \pm 0,18974	-1,03 \pm 0,618789
	2	316,4 \pm 27,51114926	0,893 \pm 0,18974	-1,82 \pm 0,618789
	3	316,7 \pm 27,51114926	0,963 \pm 0,18974	-2,25 \pm 0,618789
FORMULA 2	1	607,3 \pm 14,21982185	0,554 \pm 0,02829	-2,99 \pm 0,398037
	2	578,9 \pm 14,21982185	0,603 \pm 0,02829	-3,3 \pm 0,3980370
	3	594,4 \pm 14,21982185	0,554 \pm 0,02829	-3,78 \pm 0,398037
FORMULA 3	1	594,6 \pm 25,22875344	0,556 \pm 0,02248	-1,57 \pm 0,214554
	2	644,9 \pm 25,22875344	0,542 \pm 0,02248	-1,61 \pm 0,214554
	3	623,2 \pm 25,22875344	0,586 \pm 0,02248	-1,96 \pm 0,214554
FORMULA 4	1	666,6 \pm 6,482540654	0,551 \pm 0,04143	-3,4 \pm 1,0212250
	2	678,8 \pm 6,482540654	0,486 \pm 0,04143	-4,61 \pm 1,021225
	3	668,9 \pm 6,482540654	0,563 \pm 0,04143	-5,43 \pm 1,021225
FORMULA 5	1	419,6 \pm 13,81774222	0,469 \pm 0,12965	-2,99 \pm 0,365559
	2	396,9 \pm 13,81774222	0,713 \pm 0,12965	-2,52 \pm 0,365559
	3	421,9 \pm 13,81774222	0,515 \pm 0,12965	-3,24 \pm 0,365559

2.5 PSA

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: FORMULA 1 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: risna_psabaru.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 39

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,52

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,100

Measurement Date and Time: Rabu, 18 April 2018 09.31.40

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 467,8

Measurement Position (mm): 0,85

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 4

Results

Size (d.n.m.) % Intensity: St Dev (d.n.m.)

Z-Average (d.n.m): 364,2

Peak 1: 331,5

46,7

139,1

Pdi: 0,605

Peak 2: 2382

44,0

1007

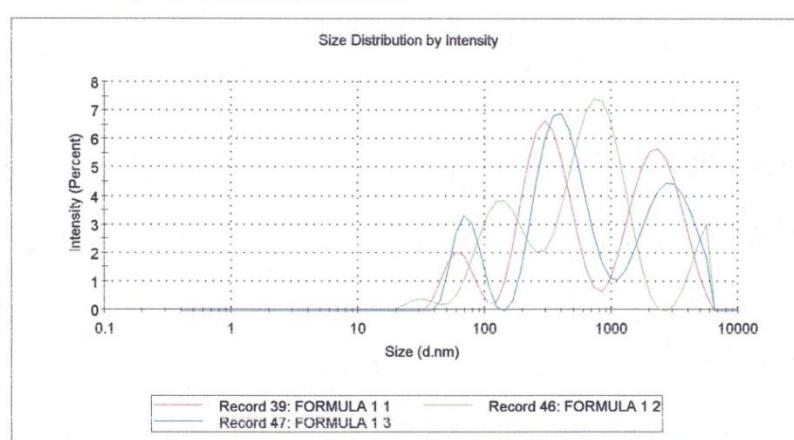
Intercept: 0,912

Peak 3: 63,44

9,2

15,61

Result quality Refer to quality report



Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: FORMULA 2 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: risna_psabaru.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 48

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,52

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,100

Measurement Date and Time: Rabu, 18 April 2018 09.53.01

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 311,4

Measurement Position (mm): 0,85

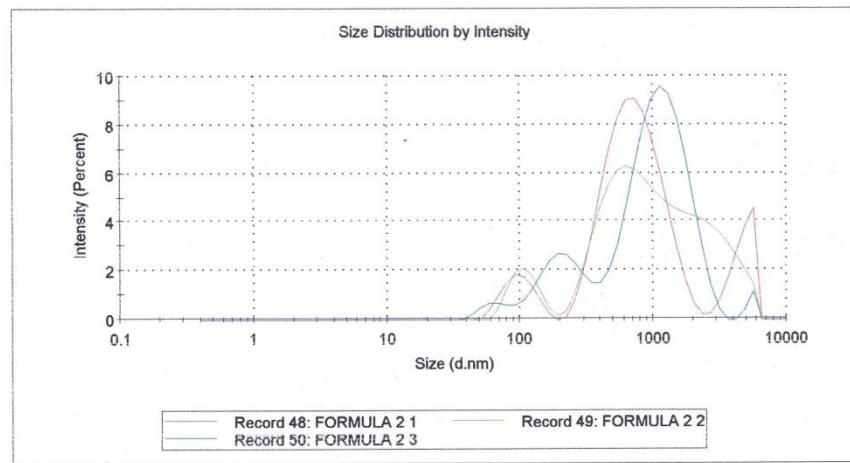
Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 3

Results

		Size (d.n.m.)	% Intensity:	St Dev (d.n.m.)
Z-Average (d.n.m):	607,3	Peak 1:	770,2	361,8
Pdi:	0,554	Peak 2:	4596	866,7
Intercept:	0,911	Peak 3:	98,77	25,48

Result quality Refer to quality report



Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: FORMULA 3 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: risna_psabaru.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 51

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,52

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorption: 0,100

Measurement Date and Time: Rabu, 18 April 2018 10.05.59

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 225,4

Measurement Position (mm): 0,85

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 3

Results

Size (d.n... % Intensity: St Dev (d.n...

Z-Average (d.nm): 594,6

Peak 1: 1277 80,2 817,0

Pdi: 0,556

Peak 2: 169,5 15,3 56,22

Intercept: 0,918

Peak 3: 4840 4,5 578,1

Result quality Refer to quality report



Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: FORMULA 4 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: risna psabaru.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 55

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,52

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorption: 0,100

Measurement Date and Time: Rabu, 18 April 2018 15.04.06

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 214,0

Measurement Position (mm): 0,85

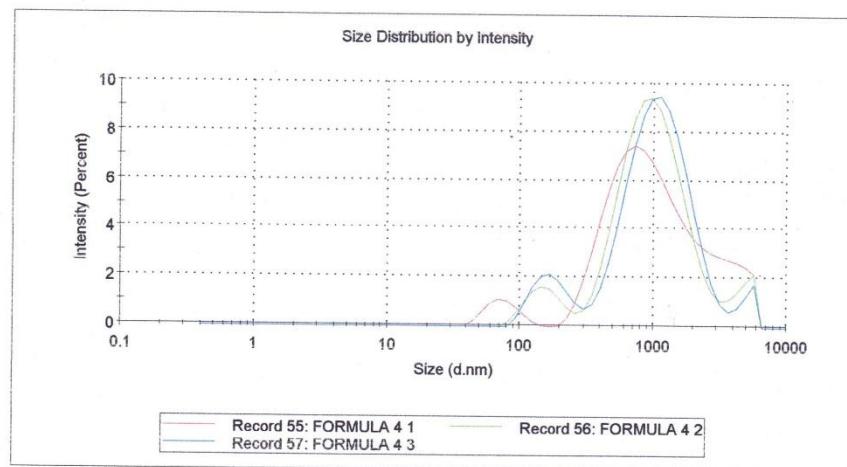
Cell Description: Disposable sizing cuvette

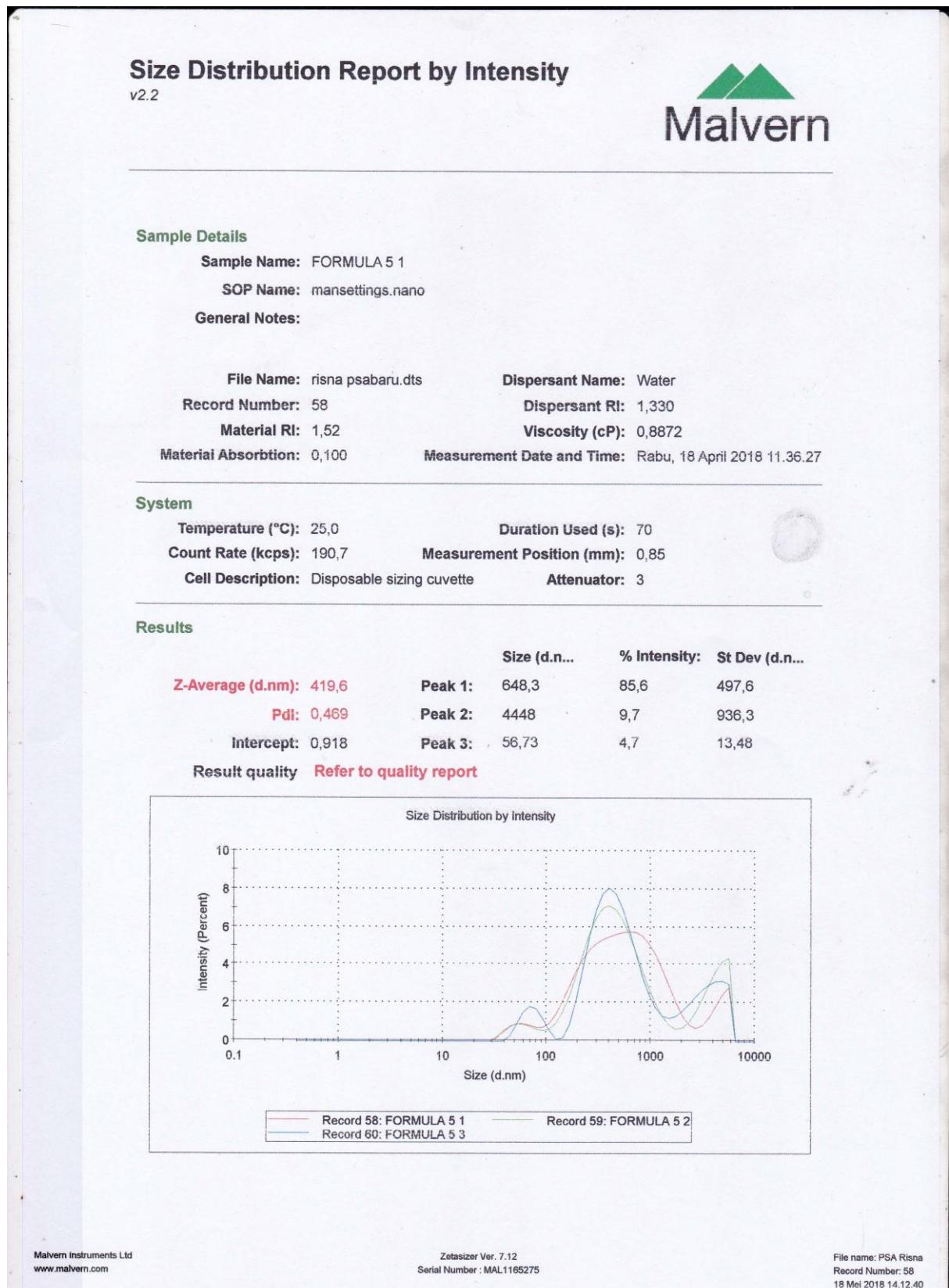
Attenuator: 3

Results

		Size (d.n.m.)	% Intensity:	St Dev (d.n.m.)
Z-Average (d.n.m):	666,6	Peak 1:	1436	94,6
Pdi:	0,551	Peak 2:	74,89	5,4
Intercept:	0,918	Peak 3:	0,000	0,000

Result quality Refer to quality report





2.6 ZETA POTENSIAL

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: FORMULA 1 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: RISNA zeta baru.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 28	Dispersant RI: 1,330
Date and Time: Rabu, 18 April 2018 15.54.45	Viscosity (cP): 0,8872
Dispersant Dielectric Constant: 78,5	

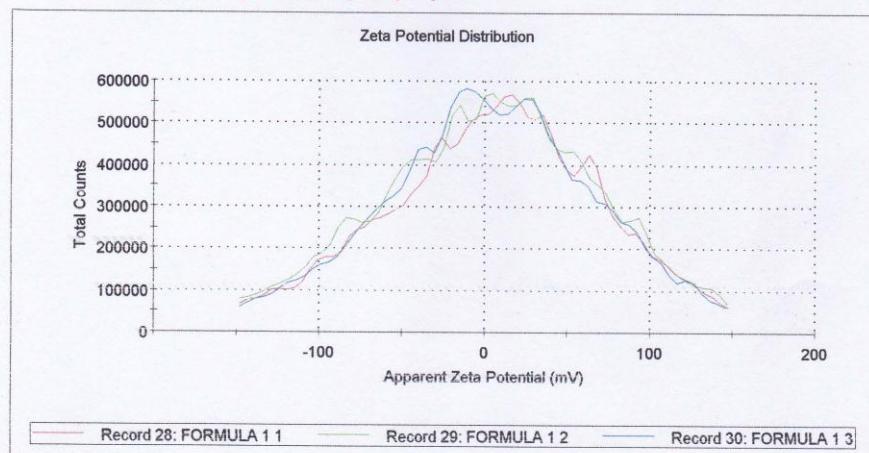
System

Temperature (°C): 25,0	Zeta Runs: 100
Count Rate (kcps): 109,2	Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell	Attenuator: 5

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -1,03	Peak 1: 5,30	30,9	15,8
Zeta Deviation (mV): 81,3	Peak 2: -58,8	28,8	27,8
Conductivity (mS/cm): 1,12	Peak 3: 41,0	13,5	7,91

Result quality [See result quality report](#)



Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: FORMULA 2 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: RISNA zeta baru.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 31	Dispersant RI: 1,330
Date and Time: Rabu, 18 April 2018 17.20.56	Viscosity (cP): 0,8872
	Dispersant Dielectric Constant: 78,5

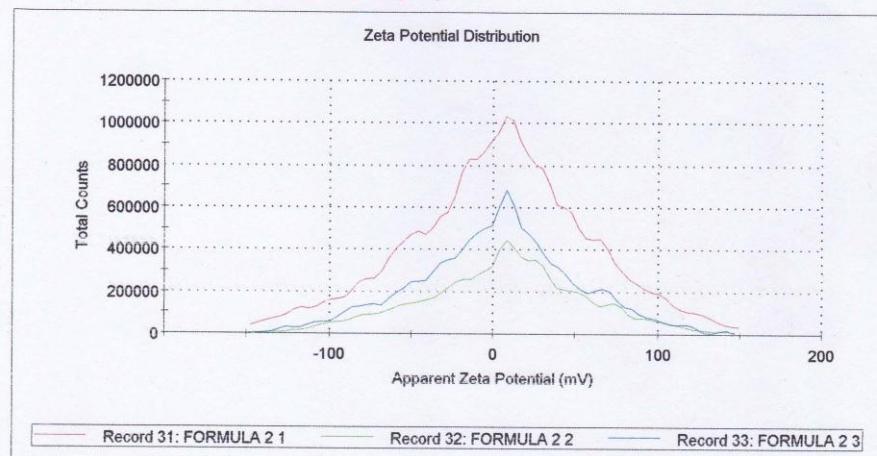
System

Temperature (°C): 25,0	Zeta Runs: 100
Count Rate (kcps): 290,6	Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell	Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -2,99	Peak 1: 8,49	63,9	27,3
Zeta Deviation (mV): 72,2	Peak 2: -67,6	18,0	20,2
Conductivity (mS/cm): 1,18	Peak 3: 87,9	15,2	23,1

Result quality See result quality report



Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2006

Sample Details

Sample Name: FORMULA 3 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: RISNA zeta baru.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 34	Dispersant RI: 1,330
Date and Time: Rabu, 18 April 2018 17.00.24	Viscosity (cP): 0,8872
	Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 100

Count Rate (kcps): 342,8

Measurement Position (mm): 4,50

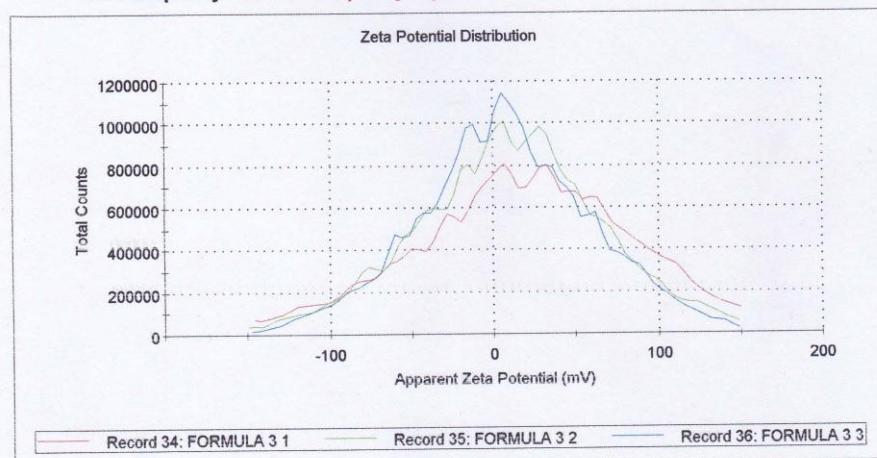
Cell Description: Zeta dip cell

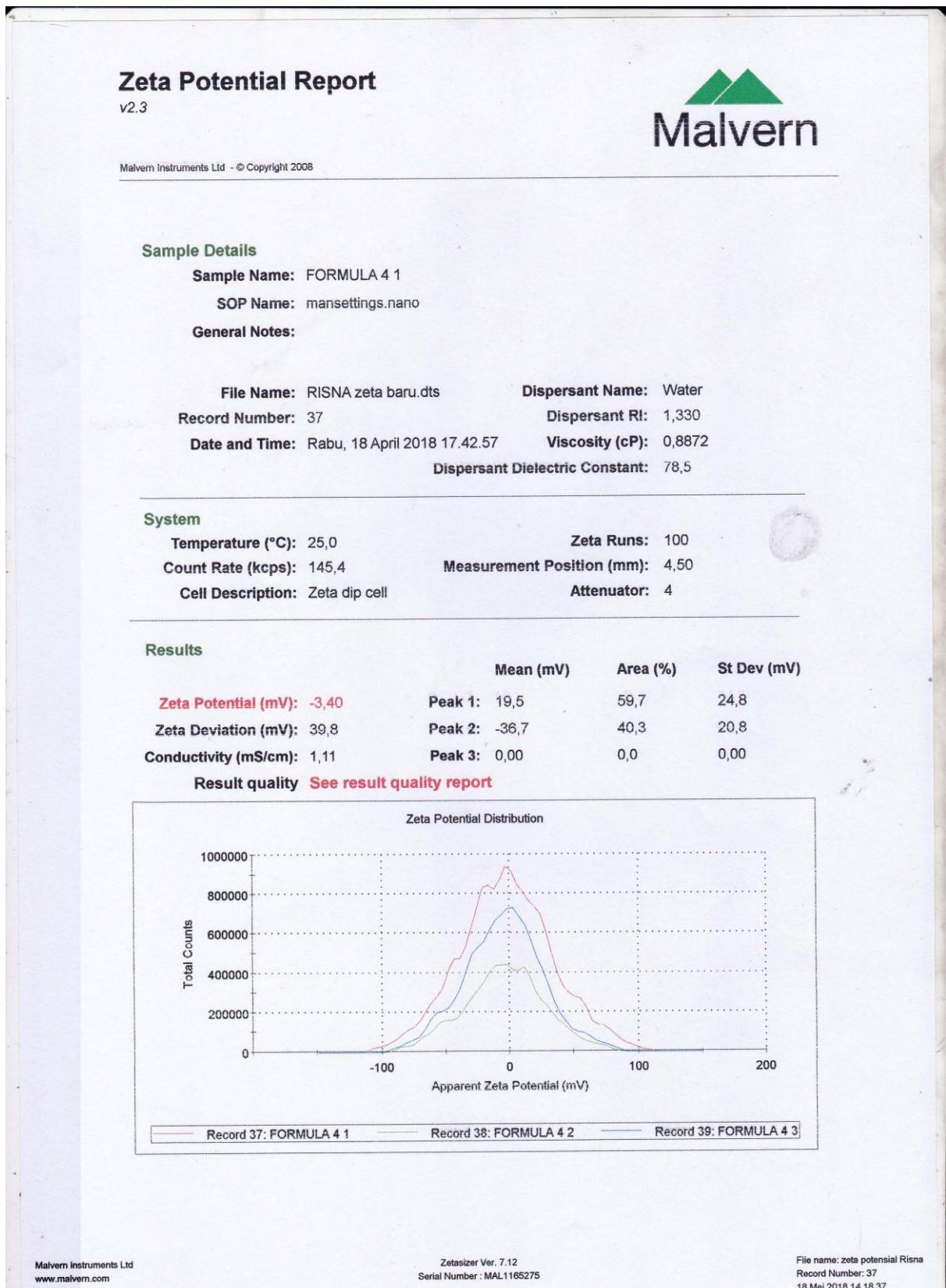
Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -1,57	Peak 1: 88,5	27,2	26,0
Zeta Deviation (mV): 102	Peak 2: -1,44	20,2	10,8
Conductivity (mS/cm): 1,26	Peak 3: -77,3	17,4	27,4

Result quality [See result quality report](#)





Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: FORMULA 5 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: RISNA zeta baru.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 40

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: Rabu, 18 April 2018 17.57.04

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 100

Count Rate (kcps): 161,9

Measurement Position (mm): 4,50

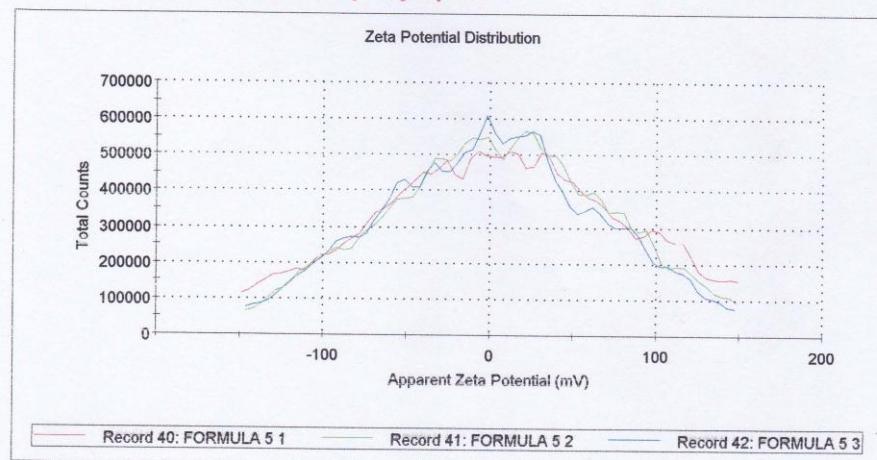
Cell Description: Zeta dip cell

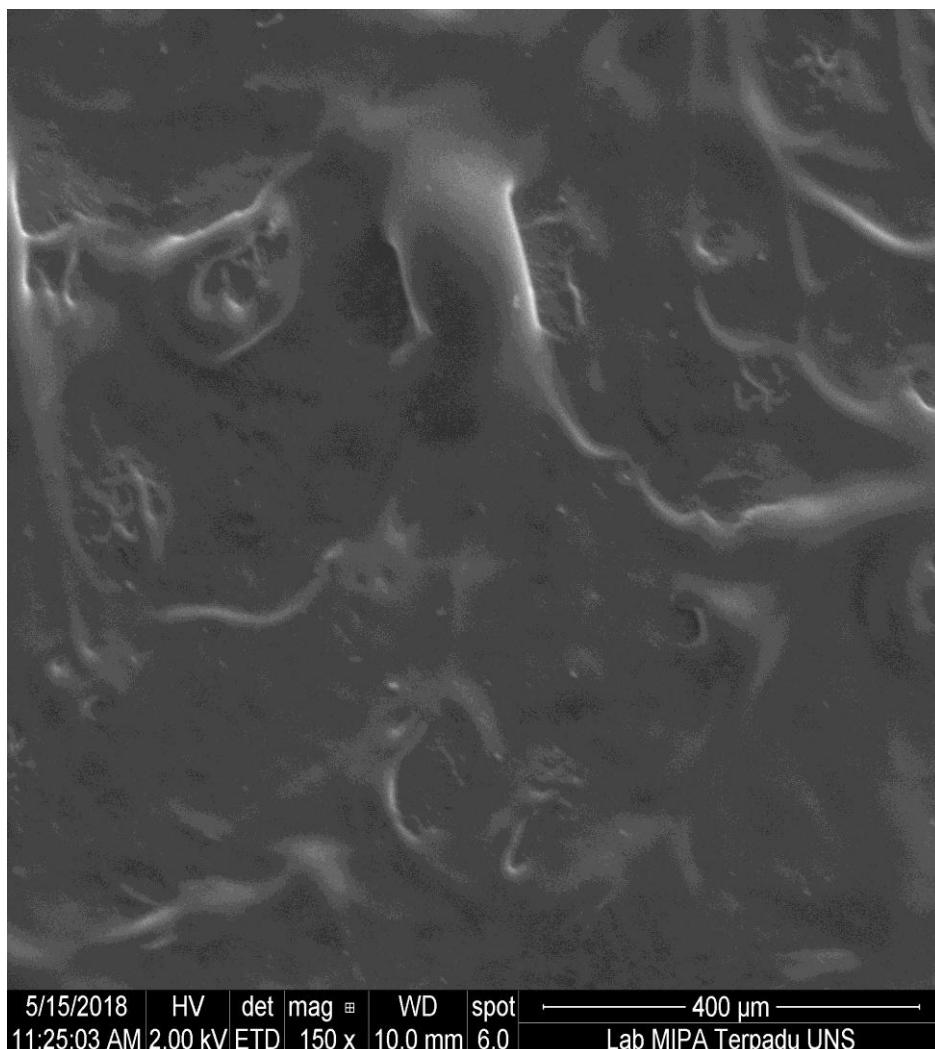
Attenuator: 6

Results

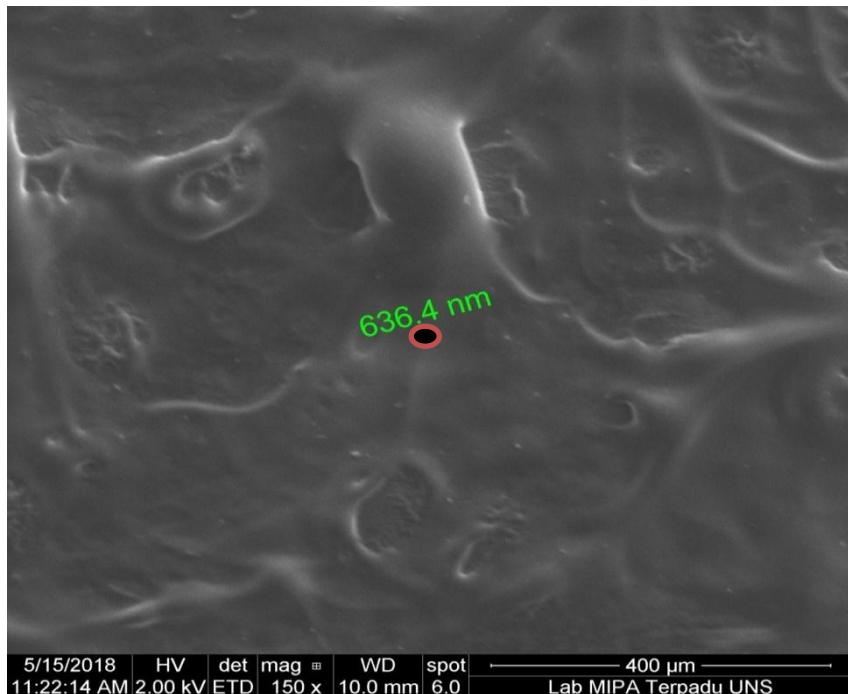
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -2,99	Peak 1: 50,8	25,8	19,9
Zeta Deviation (mV): 106	Peak 2: -67,0	23,1	22,4
Conductivity (mS/cm): 1,25	Peak 3: -4,62	12,6	7,95

Result quality See result quality report

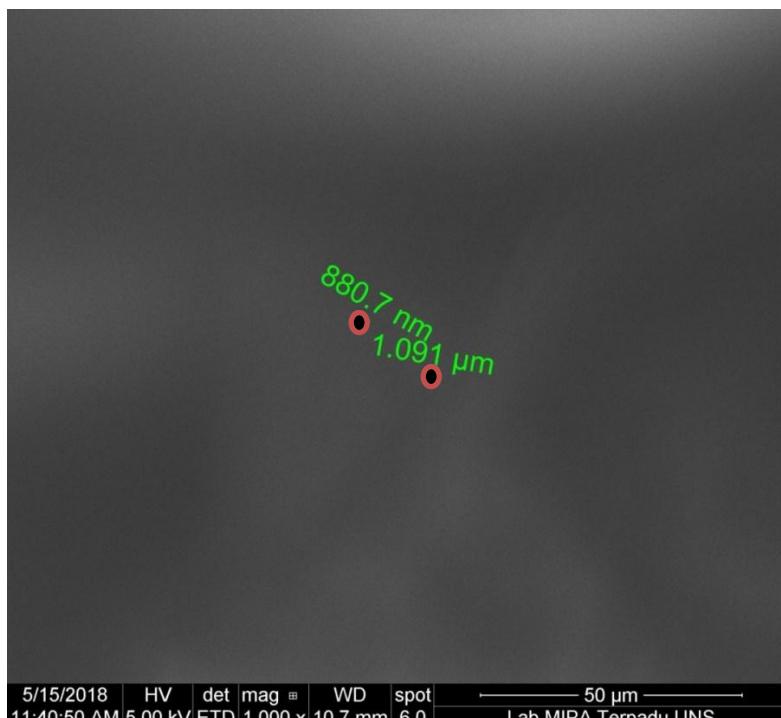


LAMPIRAN 3 SEM

Morfologi partikel transfersom fisetin formula 5 dengan perbesaran 150 kali



Morfologi partikel transfersom fisetin formula 5 dengan perbesaran 150 kali diperoleh transfersom dengan ukuran 636,4 nm dengan bentuk tidak beraturan.

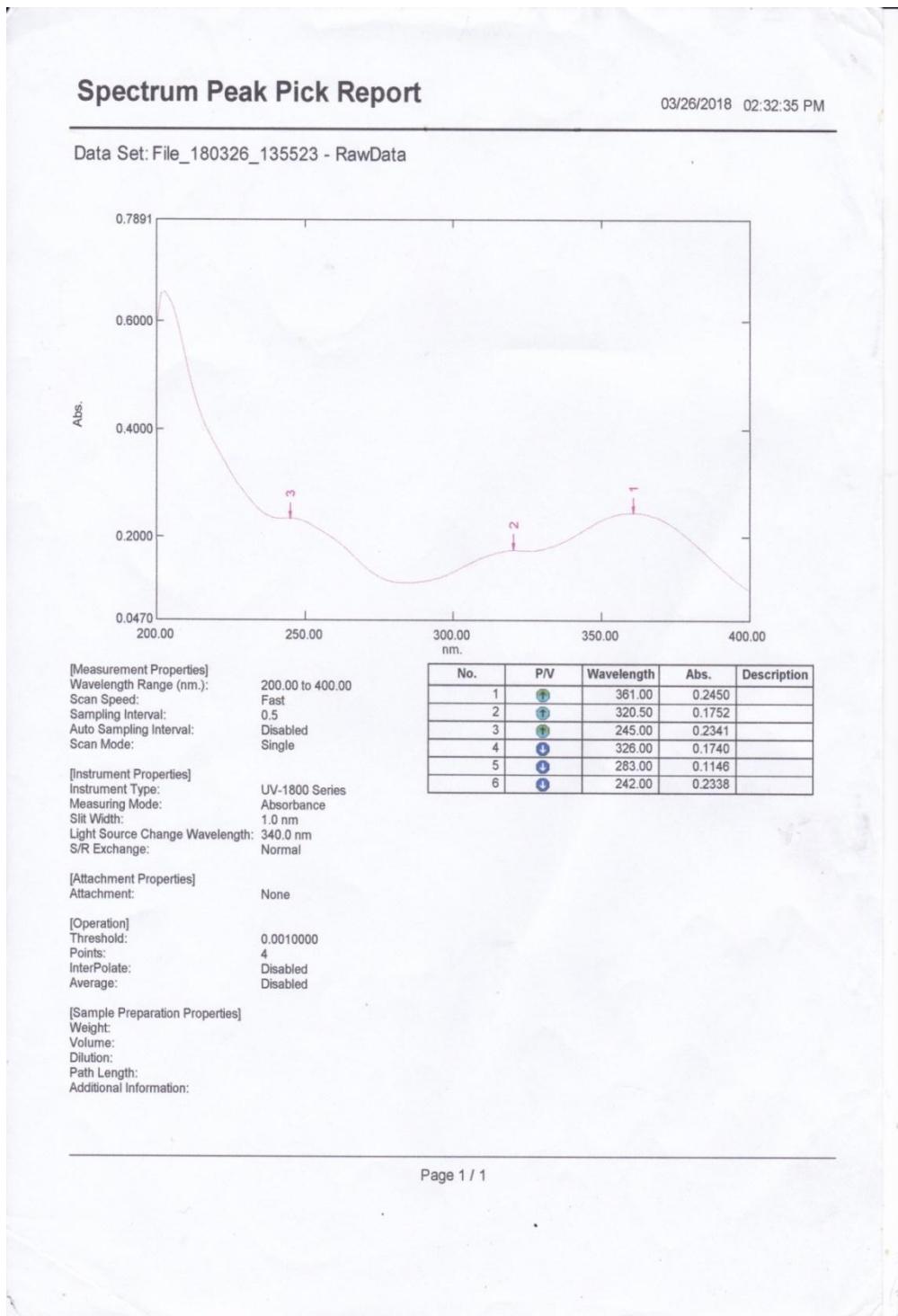


Morfologi partikel transfersom fisetin formula 5 dengan perbesaran 1000 kali diperoleh transfersom dengan ukuran 880,7 nm dan 1,091 μm dengan bentuk tidak beraturan.

LAMPIRAN 4

DATA VERIFIKASI SPEKTROFOTOMETER UV-Vis

4.1 LAMDA MAKS



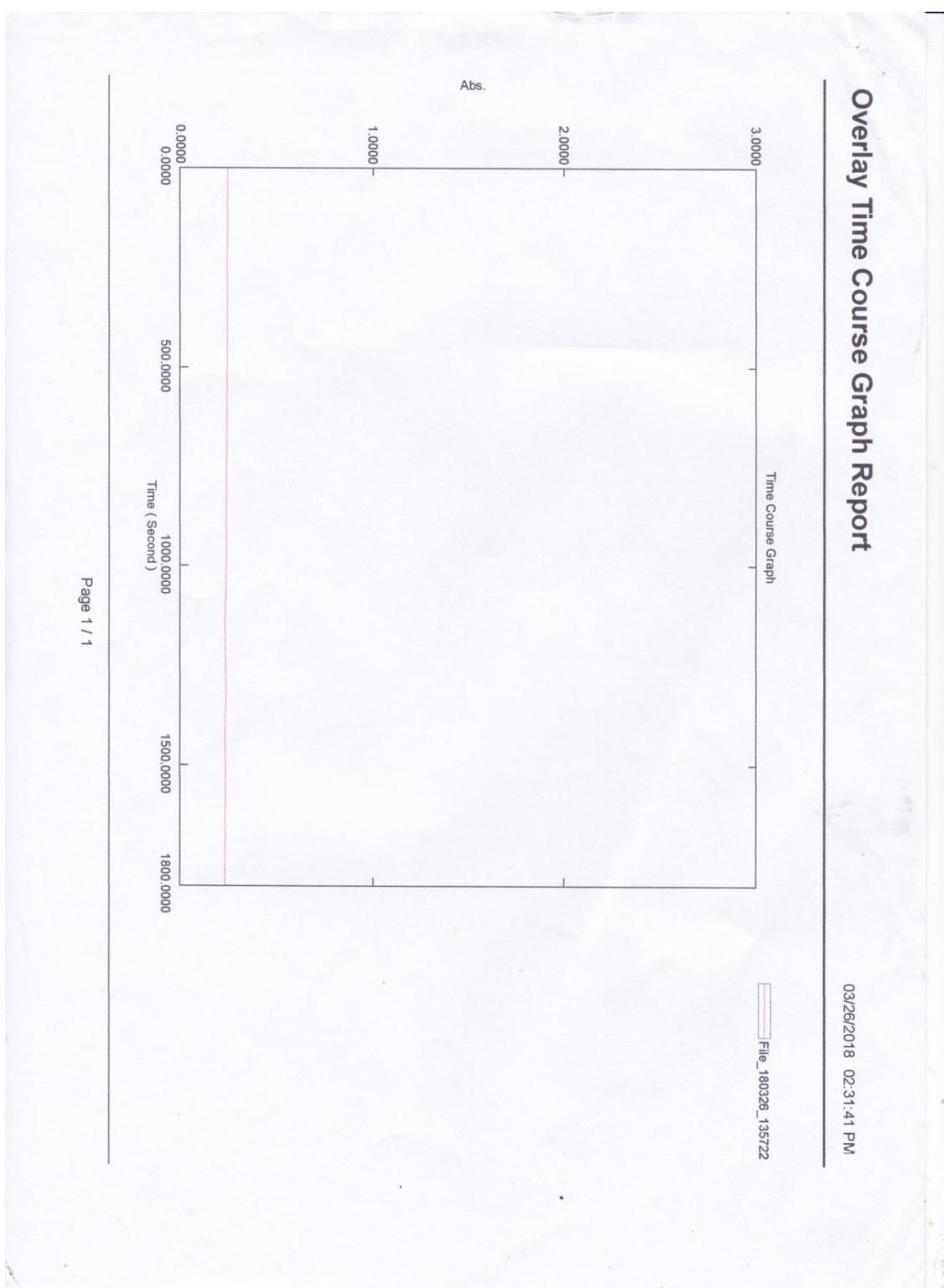
4.2 OPERATING TIME

A DATA OT

Kinetics Data Print Report		
Time (Second)	RawData ...	Waktu (Menit)
0.0000	0.2441	0
60.0000	0.2432	1
120.0000	0.2431	2
180.0000	0.2430	3
240.0000	0.2417	4
300.0000	0.2410	5
360.0000	0.2410	6
420.0000	0.2410	7
480.0000	0.2412	8
540.0000	0.2408	9
600.0000	0.2393	10
660.0000	0.2382	11
720.0000	0.2380	12
780.0000	0.2362	13
840.0000	0.2360	14
900.0000	0.2357	15
960.0000	0.2372	16
1020.0000	0.2348	17
1080.0000	0.2331	18
1140.0000	0.2305	19
1200.0000	0.2302	20
1260.0000	0.2327	21
1320.0000	0.2330	22
1380.0000	0.2311	23
1440.0000	0.2305	24
1500.0000	0.2311	25
1560.0000	0.2316	26
1620.0000	0.2307	27
1680.0000	0.2317	28
1740.0000	0.2288	29
1800.0000	0.2292	30

Page 1 / 1

B GRAFIK OT



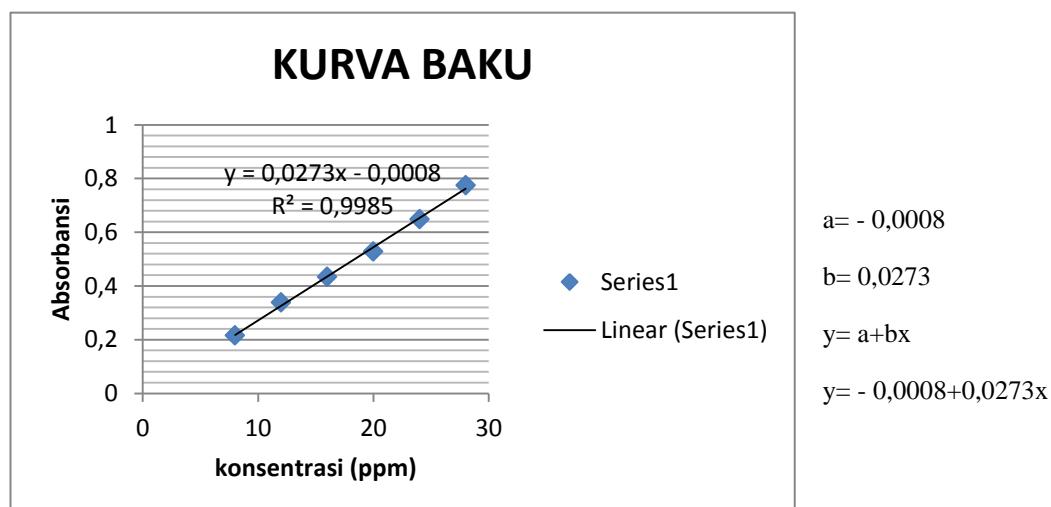
4.3 KURVA BAKU

Lamda maks = 361 nm

OT = 5-7 menit

Larutan induk = 100 ppm

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	RATA-RATA
8	0,216	0,216	0,216	0,216
12	0,339	0,339	0,339	0,339
16	0,434	0,434	0,434	0,434
20	0,528	0,528	0,529	0,528
24	0,649	0,649	0,650	0,649
28	0,776	0,775	0,774	0,775



A. Linearitas

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	RATA-RATA
8	0,216	0,216	0,216	0,216
12	0,339	0,339	0,339	0,339
16	0,434	0,434	0,434	0,434
20	0,528	0,528	0,529	0,528
24	0,649	0,649	0,650	0,649
28	0,776	0,775	0,774	0,775

$a = -0,0008$

$b = 0,0273$

$r = 0,9985$

Hasil linearitas diperoleh $r = 0,9985$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data linear.

B. LOD dan LOQ

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	y'	y-y'	y-y' ²
8	0,216	0,2176	-0,0016	0,00000256
12	0,339	0,3268	0,0122	0,00014900
16	0,434	0,436	-0,0020	0,00000400
20	0,528	0,5452	-0,0172	0,00029600
24	0,649	0,6544	-0,0054	0,00002916
28	0,775	0,7636	0,0114	0,00013000
			$\sum y-y' ^2$	0,00061

Nilai y' diperoleh dari substitusi konsentrasi dalam persamaan $y = -0,0008 + 0,0273x$, dengan x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah serapan (y')

$$1. \quad y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 x$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 \cdot 8$$

$$y = 0,02176$$

$$4. \quad y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 x$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 \cdot 20$$

$$y = 0,5452$$

$$2. \quad y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 x$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 \cdot 12$$

$$y = 0,3268$$

$$5. \quad y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 x$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 \cdot 24$$

$$y = 0,6544$$

$$3. \quad y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 x$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 \cdot 16$$

$$y = 0,436$$

$$6. \quad y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 x$$

$$y = -0,0008 + 0,0273 \cdot 28$$

$$y = 0,7636$$

$$\frac{Sx}{y} = \sqrt{\frac{\sum|y - y'|^2}{N - 2}}$$

$$\frac{Sx}{y} = \text{simpangan baku residual}$$

N = jumlah data

$\sum|y - y'|^2$ = jumlah kuadrat total residual

$$\frac{Sx}{y} = \sqrt{\frac{0,00061}{6-2}} = 0,01235$$

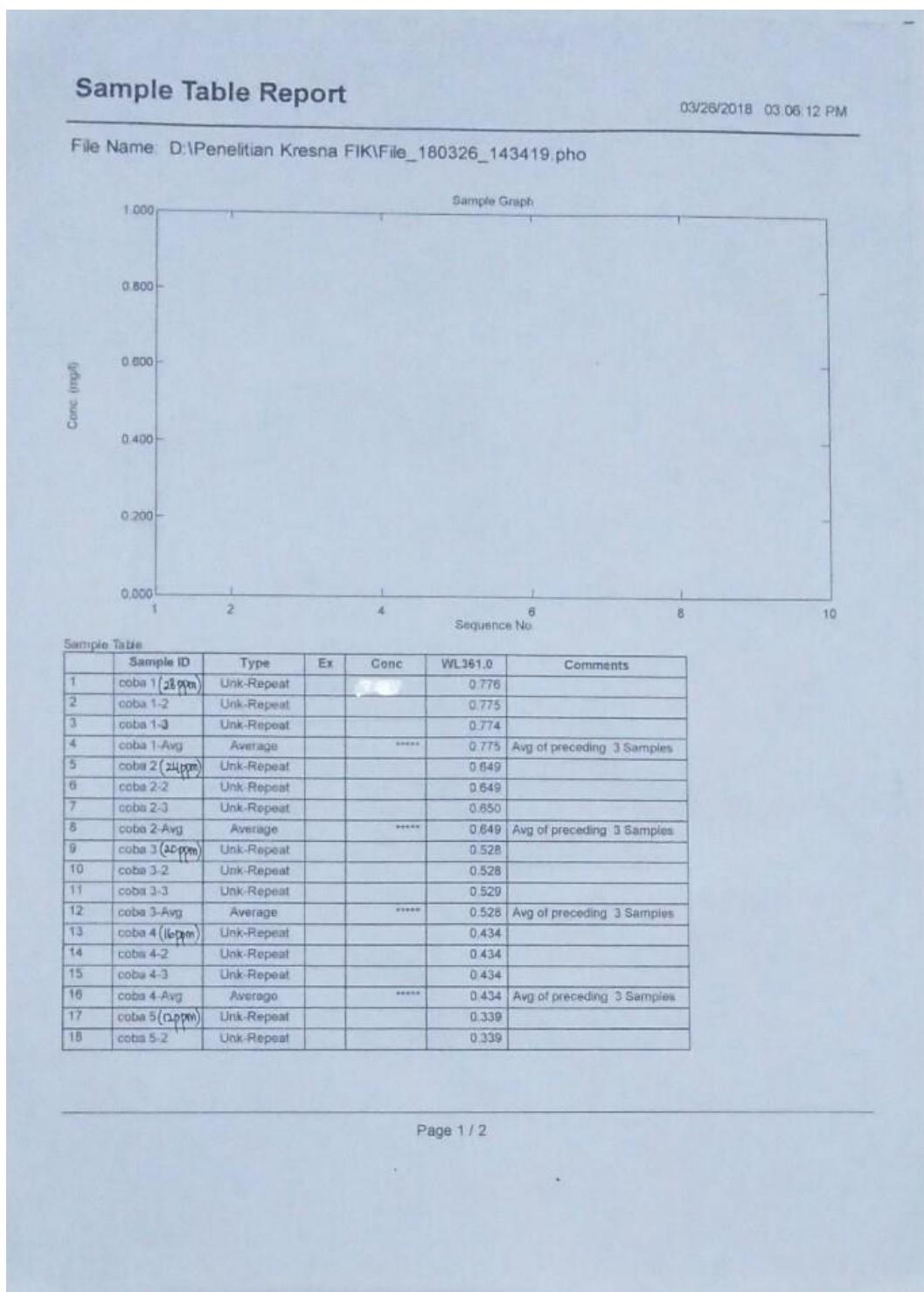
$$\begin{aligned}
 \text{LOD} &= 3,3 \cdot \frac{s_x/y}{b} \\
 &= 3,3 \cdot \frac{0,01235}{0,0273} \\
 &= 3,3 \cdot 0,4524 \\
 &= 1,4932
 \end{aligned}$$

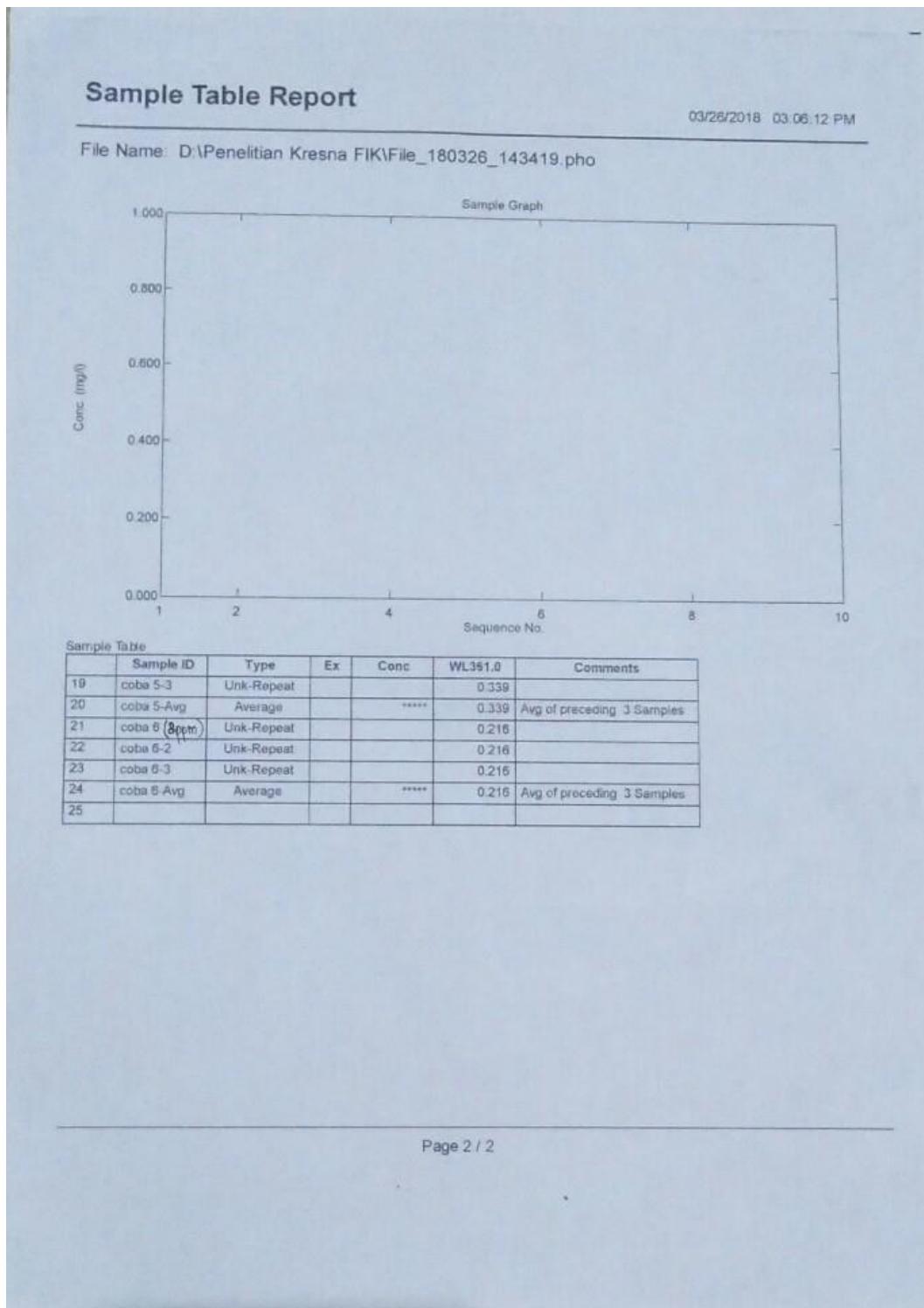
$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 y &= -0,0008+0,0273x \\
 y &= -0,0008+0,0273 \cdot 1,4932 \\
 y &= -0,0008+0,0407 \\
 y &= 0,0399
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{LOQ} &= 10 \cdot \frac{s_x/y}{b} \\
 &= 10 \cdot \frac{0,01235}{0,0273} \\
 &= 10 \cdot 0,4524 \\
 &= 4,524
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 y &= a+bx \\
 y &= -0,0008+0,0273x \\
 y &= -0,0008+0,0273 \cdot 4,524 \\
 y &= -0,0008+0,1235 \\
 y &= 0,1227
 \end{aligned}$$

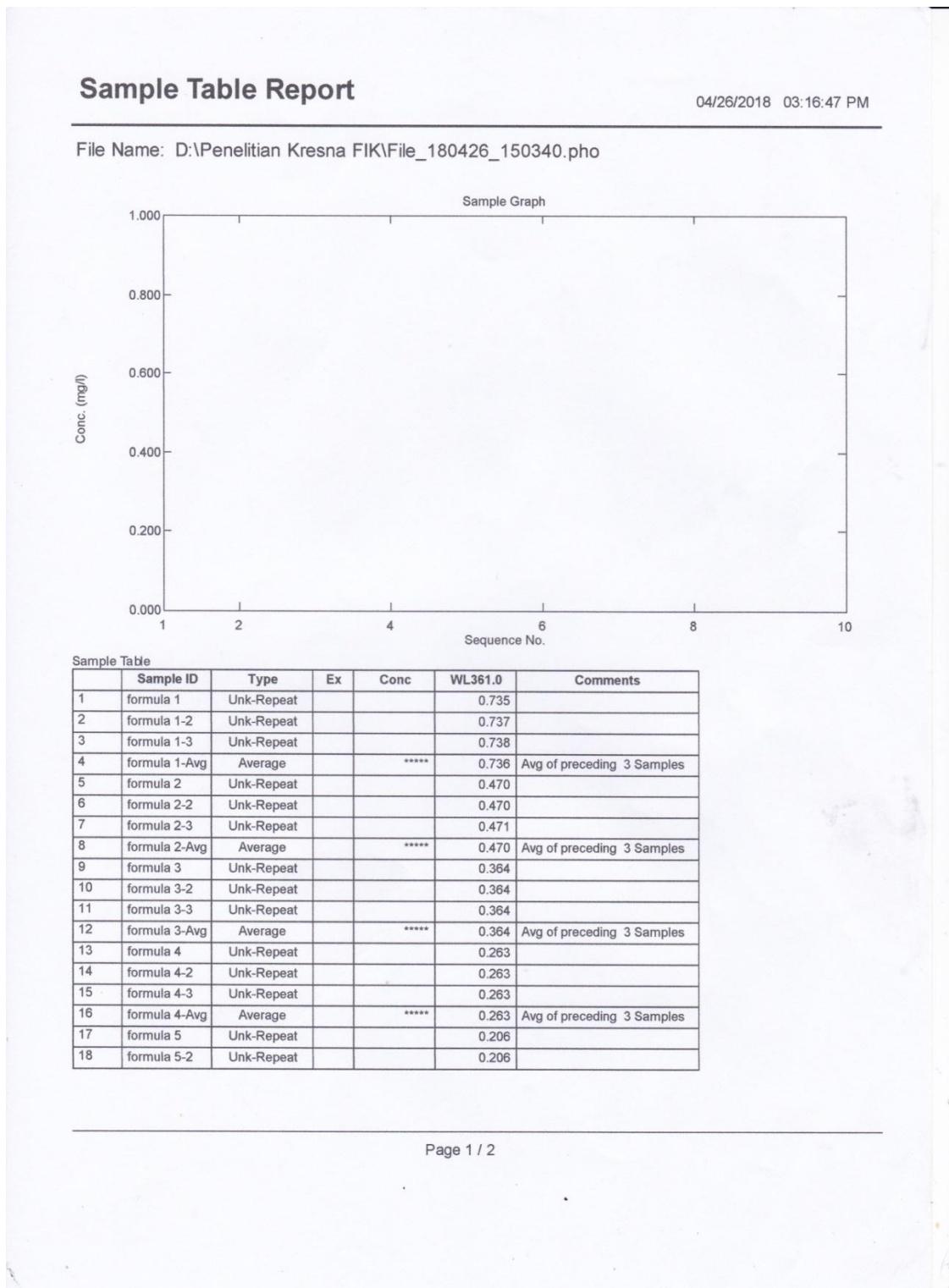
C. ABSORBANSI KURVA BAKU





LAMPIRAN 5 EFISIENSI PENJERAPAN

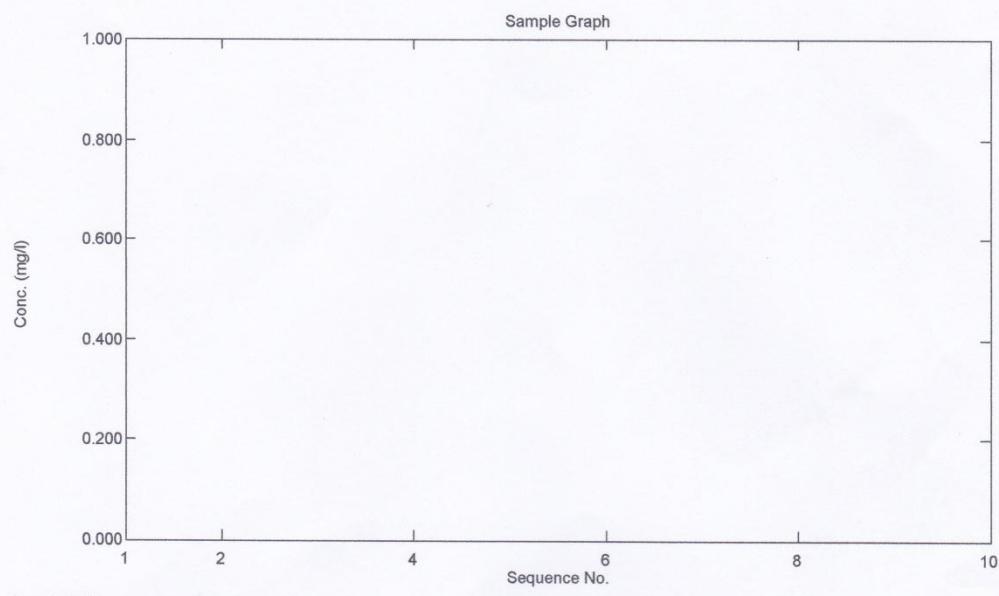
5.1 ABSORBANSI SAMPEL



Sample Table Report

04/26/2018 03:16:47 PM

File Name: D:\Penelitian Kresna FIK\File_180426_150340.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL361.0	Comments
19	formula 5-3	Unk-Repeat			0.206	
20	formula 5-Avg	Average		*****	0.206	Avg of preceding 3 Samples
21						

5.2 DATA EFISIENSI PENJERAPAN

Formula	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Rata-Rata
1	0,735	0,737	0,738	0,736
2	0,470	0,470	0,471	0,470
3	0,364	0,364	0,364	0,364
4	0,263	0,263	0,263	0,263
5	0,206	0,206	0,206	0,206

$$\% \text{ Efisiensi Penjerapan} (\% \text{EP}) = \frac{TD - FD}{TD} \times 100\%$$

Keterangan \rightarrow TD = Total jumlah fisetin yang terdapat dalam formula
 FD = Total fisetin yang terdeteksi dalam supernatan (tidak terjerap)

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273x$$

a. Formula 1

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,736 = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,736 + 0,0008 = 0,0273x$$

$$\frac{0,7368}{0,0273} = x$$

$$X = 26,9890 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Fisetin yang tidak terjerap} &= \frac{26,9890}{100} \times 10 \text{ mg} \\ &= 2,6989 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ EP} &= \frac{10 \text{ mg} - 2,6989 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 73,01\% \end{aligned}$$

b. Formula 2

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,470 = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,470 + 0,0008 = 0,0273x$$

$$\frac{0,4708}{0,0273} = x$$

$$X = 17,2454 \text{ ppm}$$

$$\text{Fisetin yang tidak terjerap} = \frac{17,2454}{100} \times 10\text{mg} \\ = 1,72454\text{mg}$$

$$\% \text{ EP} = \frac{10\text{mg} - 1,72454\text{mg}}{10\text{mg}} \times 100\% \\ = 82,75\%$$

c. Formula 3

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,364 = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,364 + 0,0008 = 0,0273x$$

$$\frac{0,3648}{0,0273} = x$$

$$X = 13,3626\text{ppm}$$

$$\text{Fisetin yang tidak terjerap} = \frac{13,3626}{100} \times 10\text{mg} \\ = 1,33626\text{mg}$$

$$\% \text{ EP} = \frac{10\text{mg} - 1,33626\text{mg}}{10\text{mg}} \times 100\% \\ = 86,64\%$$

d. Formula 4

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,263 = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,263 + 0,0008 = 0,0273x$$

$$\frac{0,2638}{0,0273} = x$$

$$X = 9,6630\text{ppm}$$

$$\text{Fisetin yang tidak terjerap} = \frac{9,6630}{100} \times 10\text{mg} \\ = 0,9663\text{mg}$$

$$\% \text{ EP} = \frac{10\text{mg} - 0,9663\text{mg}}{10\text{mg}} \times 100\% \\ = 90,34\%$$

e. Formula 5

$$y = a + bx$$

$$y = -0,0008 + 0,0273x$$

$$0,206 = -0,0008 + 0,0273x$$

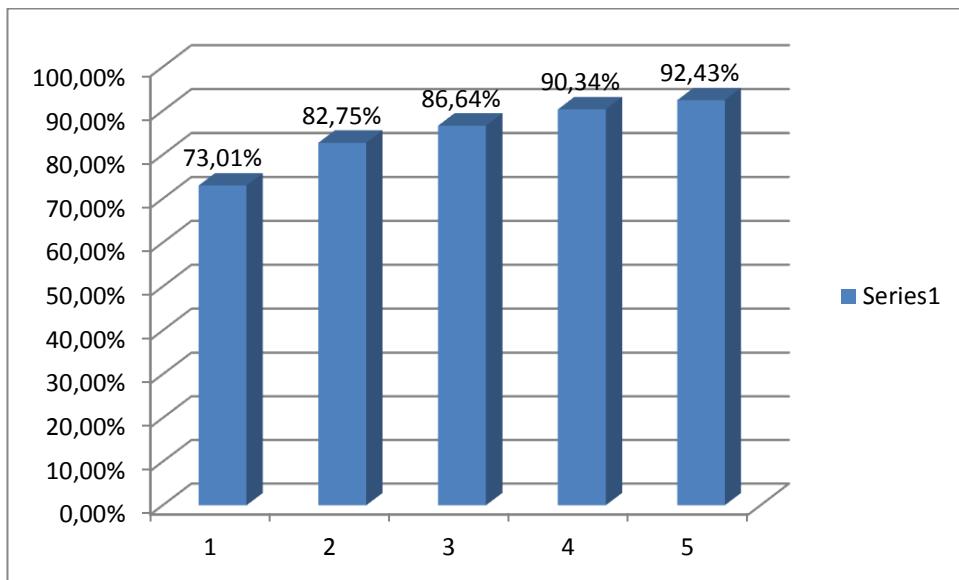
$$0,206 + 0,0008 = 0,0273x$$

$$\frac{0,2068}{0,0273} = x$$

$$X = 7,5751 \text{ ppm}$$

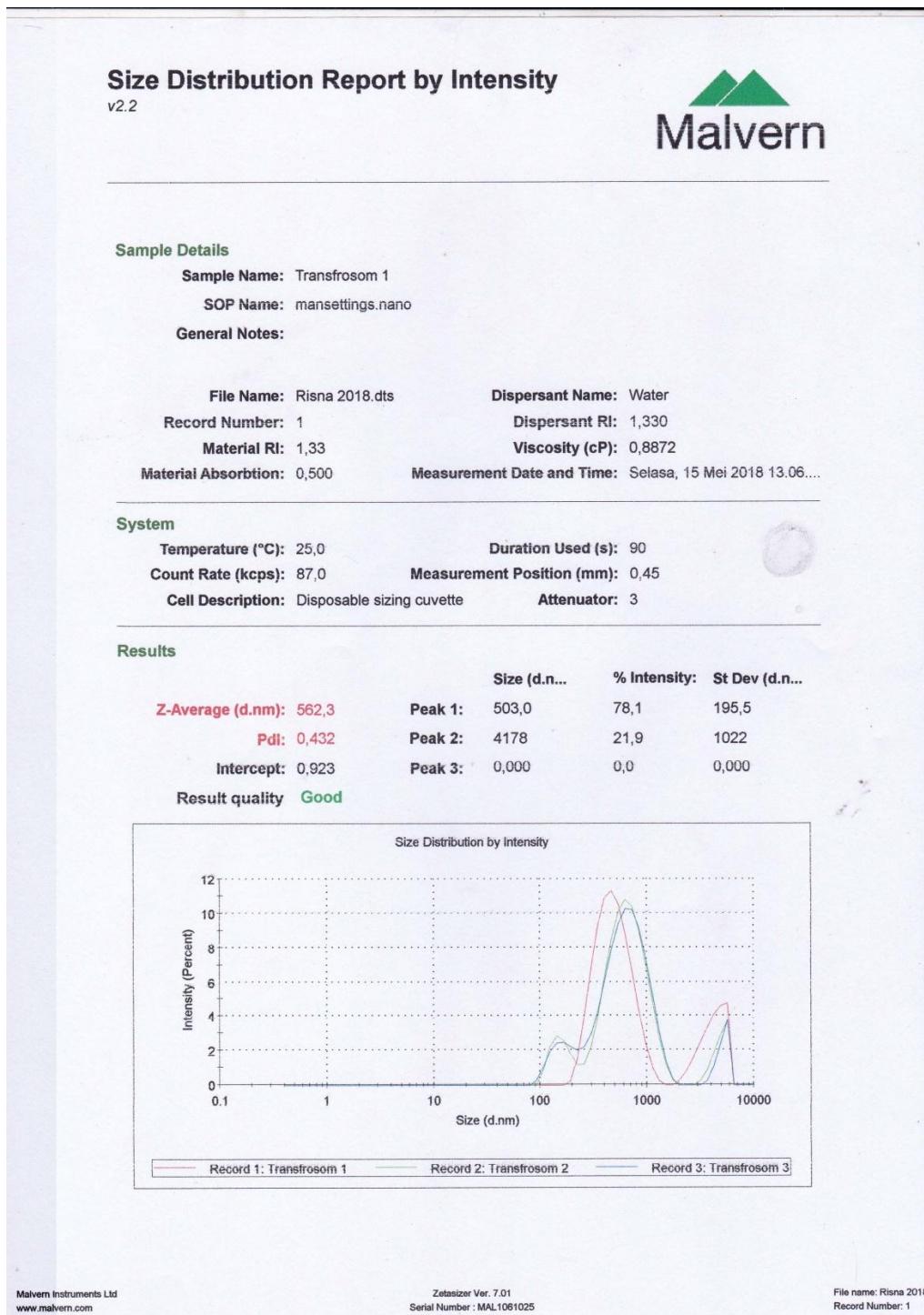
$$\text{Fisetin yang tidak terjerap} = \frac{7,5751}{100} \times 10 \text{ mg} \\ = 0,7575 \text{ mg}$$

$$\% \text{ EP} = \frac{10 \text{ mg} - 0,7575 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ = 92,43\%$$

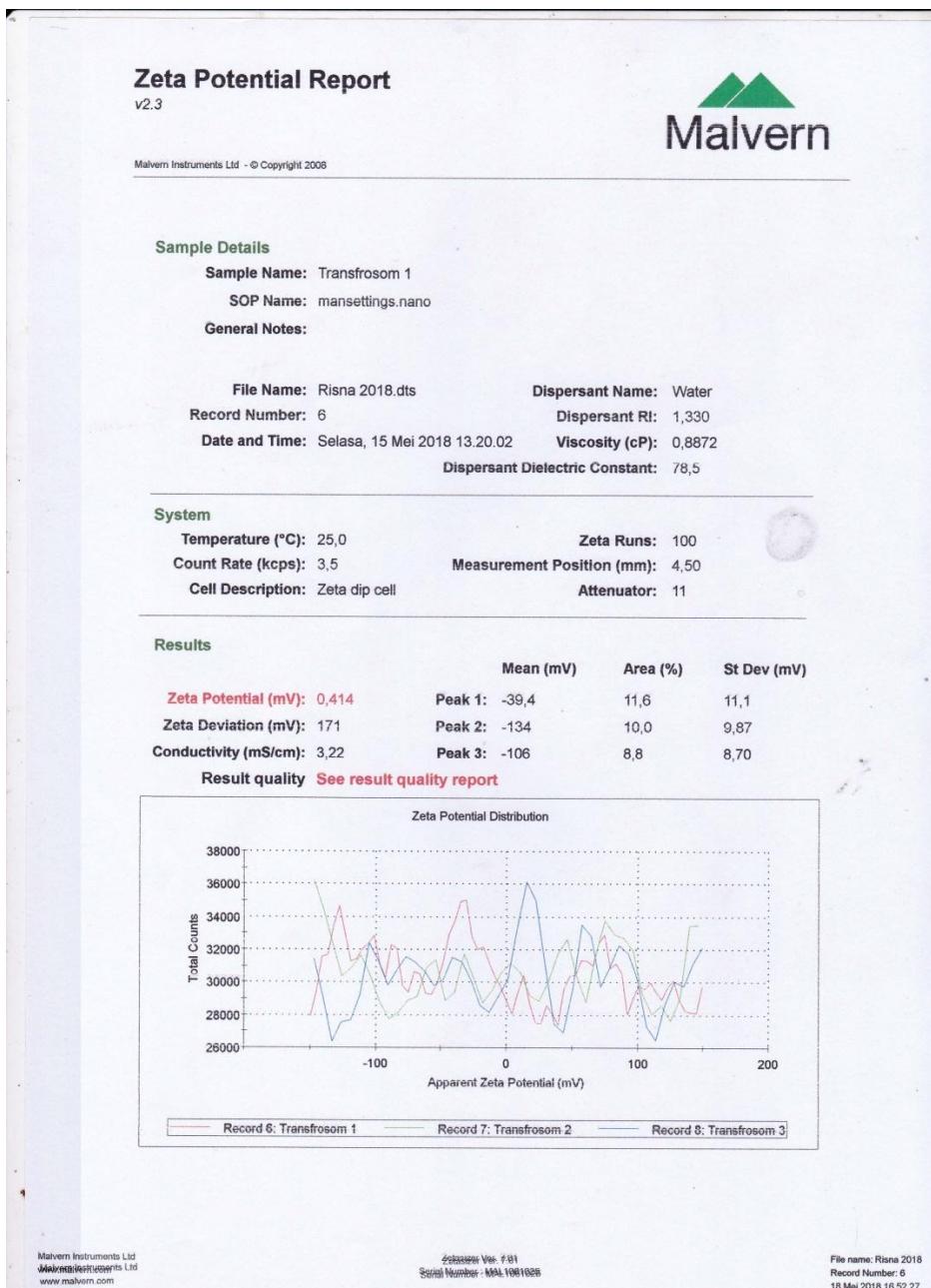


LAMPIRAN 6 PSA dan ZETA POTENSIAL setelah penyimpanan

6.1 PSA setelah penyimpanan



6.2 Zeta Potensial setelah penyimpanan



6.3 DATA

Formula 5

PENGUKURAN	PEMBACAAN 1	PEMBACAAN 2	PEMBACAAN 3	RATA-RATA \pm SD
Ukuran Partikel (nm)	562,3	564,1	561	562,4667 \pm 1,556706
PdI	0,432	0,41	0,425	0,422333 \pm 0,01124
Zeta Potensial (mV)	0,414	1,02	-0,853	0,193667 \pm 0,955742