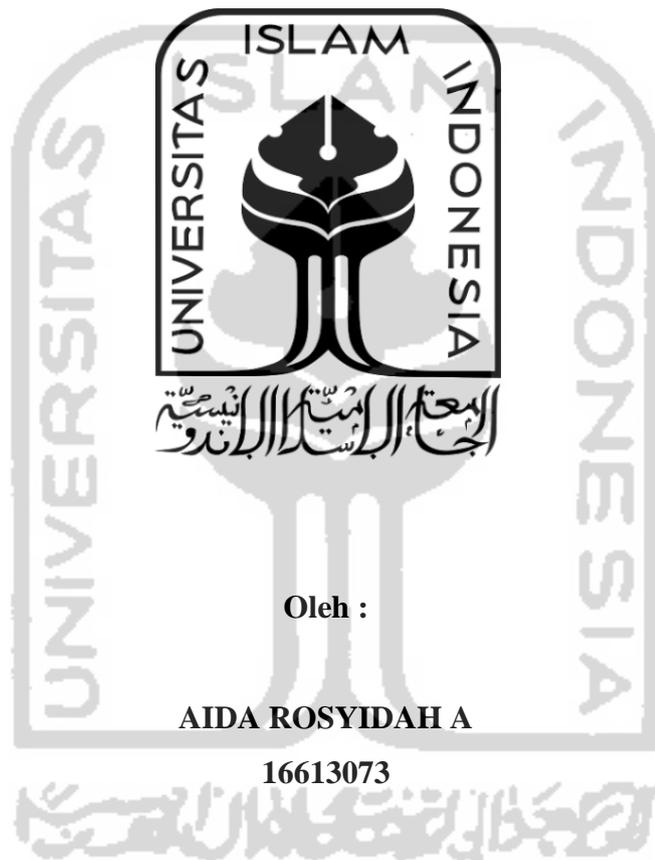


**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN
NANOLIPOSOM 3-O-ETHYL ASCORBIC ACID DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN*
SIZING SONIKATOR**

SKRIPSI



Oleh :

AIDA ROSYIDAH A

16613073

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
JULI 2020**

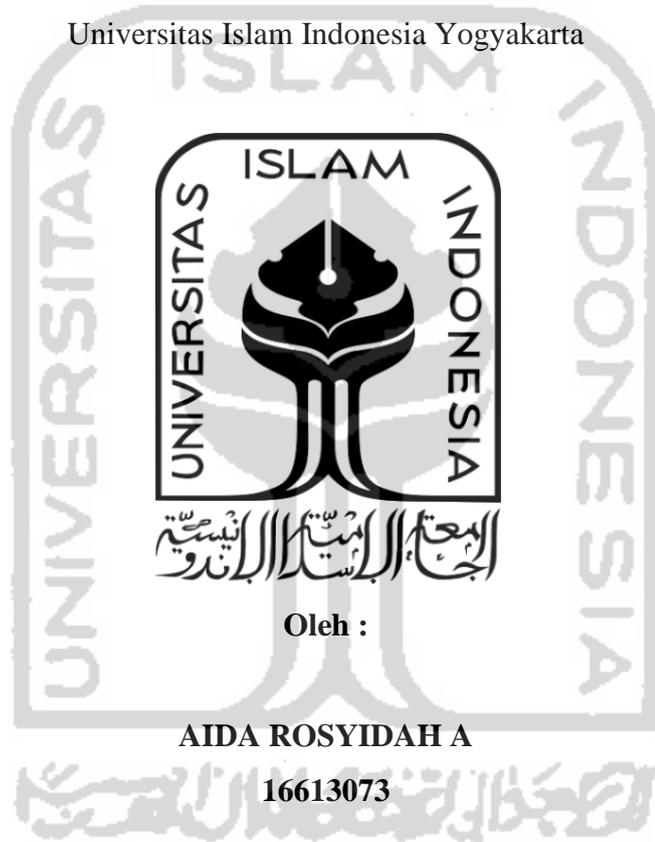
**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN
NANOLIPOSOM 3-O-ETHYL ASCORBIC ACID DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN
SIZING* SONIKATOR**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

AIDA ROSYIDAH A

16613073

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
JULI 2020**

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN
NANOLIPOSOM 3-O-ETHYL ASCORBIC ACID DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN
DOWN SIZING SONIKATOR**

Yang diajukan oleh:

AIDA ROSYIDAH A

16613073

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



(apt. Bambang Hernawan Nugroho, M.Sc.,)

(Dr. apt. Yandi Syukri, M.Si.)

SKRIPSI

**OPTIMASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN
NANOLIPOSOM 3-O-ETHYL ASCORBIC ACID DENGAN
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN
SIZING* SONIKATOR**

Oleh:

AIDA ROSYIDAH A

16613073

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 09 Juli 2020

Ketua Penguji : apt. Bambang Hernawan Nugroho, M.Sc.
Anggota Penguji : 1. Dr. apt. Yandi Syukri, S.Si., M.Si.
2. Dr. apt. Lutfi Chabib, S.Farm., M.Sc.
3. apt. Oktavia Indrati, M.Sc.

(...)

(...)

(...)

(...)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D

PERNYATAAN

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



“Barangsiapa menempati suatu tempat kemudian membaca ”
A’udzubikalimatillahittammami min syarrimakhalaq ” maka tidak ada sesuatu
apapun yang membahayakannya sampai ia meninggalkan tempat itu (HR
Muslim).



Atas izin Allah subhanahu wata’ala karya tulis ini penulis persembahkan untuk Ibunda Rohiyana dan Ayahanda Ade Rahmathullah, Kanda Muhammad Reyhan Assegaf, serta kedua adik saya Muhammad Arief Assegaf, dan Iqna Marwah Firizqi, terimakasih atas do’a tiada henti, dukungan, motivasi, nasehat, serta kasih sayang yang senantiasa diberikan sampai saat ini.

Sahabat penelitian saya Zulfa Nurafifah, terimakasih untuk bantuan dan kerjasama selama proses penelitian,terimakasih sudah menjadi partner yang sangat baik, saling support dan memberi masukan, semoga kita semua menjadi sarjana yang diberkahi Allah serta Rahmatan Lil Alamin. AamiinyaaRabbala’laamiin.

Almamater kebanggaan, Universitas Islam Indonesia

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur senantiasa penulis haturkan kepada Allah SWT, atas izin-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang Berjudul “Preparasi Dan Karakterisasi Sediaan Nanoliposom *3-O-Ethyl Ascorbic acid* Dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis Menggunakan *Down Sizing* Sonikator”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat bagi mahasiswa agar memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Islam Indonesia. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak baik berupa moril maupun materil. Penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak apt. Bambang Hernawan N., M.Sc. selaku dosen pembimbing utama sekaligus Koordinator Kepala Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan Bapak Dr. apt. Yandi Syukri, M.Si. selaku dosen pembimbing pendamping sekaligus Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia yang telah berjasa dan bersedia memberikan ilmu serta waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, dukungan, dan kemudahan kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. apt. Lutfi Chabib, M.Sc. dan Ibu apt. Oktavia Indrati, M.Sc. selaku dosen penguji yang bersedia memberikan waktunya untuk menguji dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis demi terselesaikannya naskah skripsi yang baik.
3. Bapak apt. Saepudin, M.Si., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan Bapak Prof. Riyanto., S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam

Indonesia yang telah memberikan fasilitas sebagai penunjang pembelajaran serta tugas akhir ini.

4. Ibu apt. Cynthia Astiti Putri, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah berjasa memberikan bantuan dan dukunga selama proses perkuliahan dan penyelesaian skripsi in.
5. Bapak Hartanto, mas Angga Kurniawan, A.Md, Bapak Yon Haryanto, STP. dan Bapak Riyanto, A.Md. serta seluruh laboran dan staf pengajar Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia yang telah memberi dukungan berupa fasilitas selama penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Zulfa Nurafifah selaku rekan penelitian yang telah bersedia bertukar pikiran dan membantu penulis dalam menjalankan penelitian ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat dituliskan satu persatu yang telah memberikan energi dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis berharap adanya kritik dan saran yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Akhir kata semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat memberikan informasi bagi pembaca dan bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

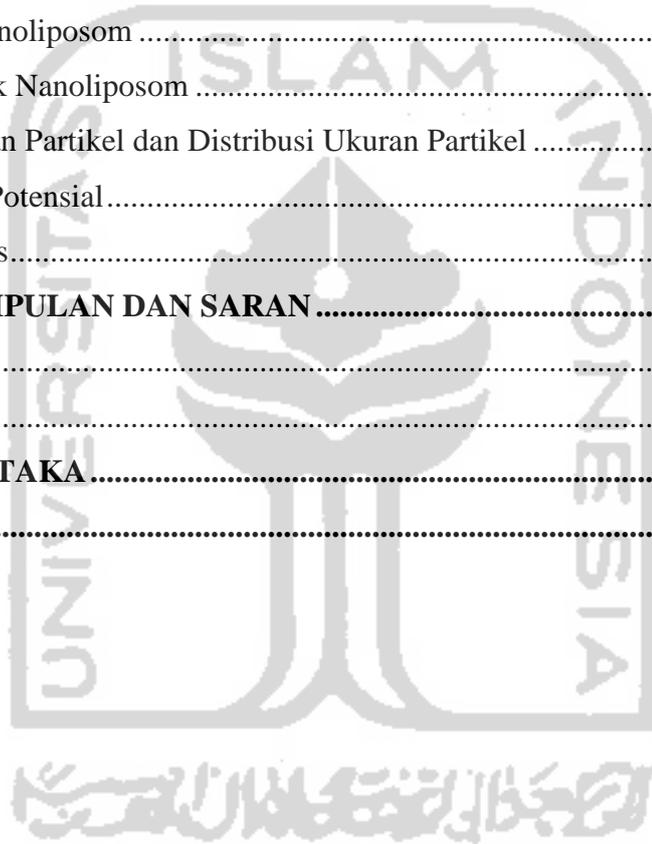
Yogyakarta, 09 Juli 2020
Penulis,

Aida Rosyidah A

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| INTISARI | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 2 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 3 |
| 2.1 Tinjauan Pustaka | 3 |
| 2.1.1 Liposom | 3 |
| 2.1.2 <i>3-O-Ethyl Ascorbic Acid</i> | 4 |
| 2.1.3 Kolesterol..... | 5 |
| 2.1.4 Karakteristik Nanopartikel..... | 5 |
| 2.1.5 Zeta Potensial..... | 6 |
| 2.1.6 Ukuran dan Distribusi Partikel..... | 6 |
| 2.1.7 Hidrasi Lapis Tipis..... | 6 |
| 2.1.8 Ultrasonikasi | 7 |
| 2.2 Hipotesis..... | 7 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 8 |
| 3.1 Alat dan Bahan..... | 8 |
| 3.1.1 Alat..... | 8 |
| 3.1.2 Bahan | 8 |
| 3.2 Cara Penelitian | 8 |
| 3.2.1 Sistematika Kerja Penelitian | 8 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.2 Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis | 9 |
| 3.2.3 Purifikasi Nanoliposom | 10 |
| 3.2.4 Pembacaan Ukuran Partikel dengan PSA | 11 |
| 3.2.5 Penentuan Zeta Potensial | 11 |
| 3.2.6 Uji Stabilitas Sediaan | 11 |
| 3.3 Analisis Hasil | 11 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 12 |
| 4.1 Preparasi Nanoliposom | 12 |
| 4.2 Karakteristik Nanoliposom | 13 |
| 4.2.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Ukuran Partikel | 13 |
| 4.2.2 Zeta Potensial | 16 |
| 4.4 Uji Stabilitas | 18 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 22 |
| 5.1 Kesimpulan | 22 |
| 5.2 Saran | 22 |
| DAFTAR PUSTAKA | 23 |
| LAMPIRAN | 26 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Struktur Liposome | 3 |
| Gambar 2.2 <i>3-O-Ethyl Ascorbic acid</i> | 4 |
| Gambar 2.3 Seteruktur Kolesterol | 5 |
| Gambar 3.1 Sekema Alur Penelitian | 9 |
| Gambar 4.1 Preparasi nanoliposom dengan variasi durasi (a) 4 menit,(b) 8 menit, (c) 6 menit, dan (d)12 menit | 12 |
| Gambar 4.2 Distribusi partikel nanoliposom hasil optimasi terhadap waktu | 15 |
| Gambar 4.3 Indeks polidispersitas dan ukuran partikel nanoliposomhasil optimasi terhadap waktu | 16 |
| Gambar 4.4 Zeta Potensial dan ukuran partikel nanoliposom hasil optimasi terhadap waktu sonikasi | 17 |
| Gambar 4.5 Perbandingan distribusi partikel nanoliposom selama 30 hari terhadap waktu sonikasi | 18 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 3.1 Formulasi liposom..... | 10 |
| Tabel 4.1 Hasil optimasi nanoliposom <i>3-O-ethyl ascorbic acid</i> (n=3) | 13 |
| Tabel 4.2 Hasil stabilitas nanoliposom selama 30 hari (n=3) | 18 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Hasil perhitungan formulasi nanoliposom 3-O-EAA | 25 |
| Lampiran 2. Hasil pembacaan ukuran partikel dari berbagai variasi durasi menggunakan PSA..... | 27 |
| Lampiran 3. Hasil pembacaan indeks polidispersitas dari berbagai variasi durasi menggunakan PSA..... | 29 |
| Lampiran 4. Hasil pembacaan zeta potensial dari berbagai variasi durasi menggunakan PSA..... | 31 |
| Lampiran 5. <i>Certificate of analysis</i> 3-O-EAA | 27 |



**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN NANOLIPOSOME
3-O-ETHYL ASCORBIC ACID DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS
MENGUNAKAN DOWN SIZING SONIKATOR**

Aida Rosyidah A.

Program Studi Farmasi

INTISARI

Senyawa *3-o-ethyl ascorbic acid* merupakan turunan dari vitamin c yang stabil dan dapat diserap oleh kulit. Untuk meningkatkan penghantarannya perlu dibuat menjadi nanoliposom dengan pengecil ukuran ultrasonikator. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan preparasi dan karakterisasi sediaan nanoliposom *3-o-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* sonikator. Nanoliposom *3-o-ethyl ascorbic acid* dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis kemudian diultrasonik dengan variasi durasi 4; 6; 8; dan 12 menit dilakukan untuk menentukan ukuran partikel, polidispersitas index, dan zeta potensial. Hasil preparasi nanoliposom selama 4 menit menghasilkan ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial berturut-turut $141,5 \pm 0,10\text{nm}$; $0,375 \pm 0,05\text{D}$; $-27,5 \pm 0,49\text{mV}$. Sonikasi selama 6 menit memberikan hasil ukuran partikel, indeks polidispersitas dan zeta potensial $131,1 \pm 1,53\text{nm}$; $0,288 \pm 0,04\text{D}$; dan $26,4 \pm 0,47\text{mV}$. Sonikasi selama 8 menit memberikan hasil ukuran partikel $98,33 \pm 0,85\text{nm}$; indeks polidispersitas $0,438 \pm 0,03\text{D}$; dan zeta potensial $18,8 \pm 0,30\text{mV}$. Sedangkan sonikasi selama 12 menit menunjukkan hasil $83,43 \pm 0,55\text{nm}$; $0,334 \pm 0,07\text{D}$; dan $17,3 \pm 0,32\text{mV}$ untuk ukuran partikel, indeks polidispersitas dan zeta potensial. Disimpulkan bahwa preparasi nanoliposom dengan variasi waktu 4 dan 6 menit merupakan preparasi optimal.

Kata kunci : *3-o-ethyl ascorbic acid*, liposome, sonikasi, hidrasi lapis tipis

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF
3-O-ETHYL ASCORBIC ACID NANOLIPOSOME WITH THIN LAYER
HYDRATION METHOD USING DOWN SIZING SONICATOR**

Aida Rosyidah A.

Departement of Pharmacy

ABSTRACT

3-o-ethyl compound of *ascorbic acid* is a derivative of vitamin C which is stable and can be absorbed by the skin. To increase it's delivery, it is necessary to make nanoliposomes with ultrasonicator size reducers. This study aims to prepare and characterize *3-o-ethyl ascorbic acid* nanoliposome preparations with a thin layer hydration method using downsizing sonication. Nanoliposome *3-o-ethyl ascorbic acid* is made by thin layer hydration method then ultrasonic with a variation of duration 4; 6; 8; and 12 minutes conducted to determine particle size, polydispersity index, and zeta potential. The The results of nanoliposome preparation for 4 minutes produced particle size, polydispersity index, and potential zeta $14.5 \pm 0.10\text{nm}$; $0.375 \pm 0.05\text{D}$; and $-27.5 \pm 0.49\text{mV}$, respectively. The sonication for 6 minutes demonstrated the particle size, polydispersity index, and zeta potential of $131.1 \pm 1.53\text{nm}$; $0.288 \pm 0.04\text{D}$; and $-26.4 \pm 0.47\text{mV}$. The sonication for 8 minutes gave a particle size of $98.33 \pm 0.85\text{nm}$; polydispersity index $0.438 \pm 0.03\text{D}$; and zeta potential of $-18.8 \pm 0.30\text{mV}$. While sonication for 12 minutes showed of $83.43 \pm 0.55\text{nm}$; $0.334 \pm 0.07\text{D}$; and $-17.3 \pm 0.32\text{mV}$ for particle size, polydispersity index and zeta potential. It was concluded that the preparation of nanoliposome with a variation of time of 4 and 6 minutes was the optimal preparation.

Keywords: *3-o-ethyl ascorbic acid*, liposome, sonication, thin layer hydration

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa *3-O-Ethyl ascorbic acid* adalah salah satu turunan dari asam askorbat yang memiliki sifat keasaman yang kuat, menyebabkan vitamin C tahan terhadap ion logam sehingga dapat menghambat terjadinya oksidasi (Hudiyanti *et al.*, 2017). Penggunaan *3-O-ethyl ascorbic acid* (EAA) dapat memberikan efek mencerahkan yang efektif untuk memperlambat jalur melanin biosintesis di kulit. EAA dilaporkan efektif dalam mengobati kondisi medis hiper-pigmentasi, seperti melasma. Meskipun telah banyak digunakan dalam produk kosmetik EAA memiliki kendala ketidakstabilan dan kelarutan air, oleh karena itu dibutuhkan sistem penghantaran yang baik (Iliopoulos *et al.*, 2019; Stamford, 2012).

Liposom merupakan suatu sistem yang dapat menghantarkan obat menuju sel atau jaringan target, mengurangi toksisitas dan meningkatkan indeks terapeutik (Popovska *et al.*, 2013). Selain itu liposom merupakan salah satu pembawa yang baik digunakan untuk meningkatkan kelarutan dan penetrasi senyawa yang dibawanya. Mekanisme yang mendasari pembentukan liposom pada dasarnya adalah interaksi hidrofilik-hidrofobik antara fosfolipid dan molekul air (Shashi *etal.*, 2012). Telah diteliti bahwa penggunaan liposom yang tergabung dalam kosmetik memiliki tingkat penetrasi transdermal dan stabilitas suhu kamar yang tinggi, salah satu teknik dalam pembuatan liposom dengan menggunakan hidrasi lapis tipis (Kapoor, 2018).

Metode hidrasi tipis digunakan karena cepat dan mudah serta menggunakan peralatan yang sederhana. Zat aktif dapat dilarutkan dalam fase air jika bersifat hidrofilik dan dapat dilarutkan dalam pelarut organik dengan senyawa lain jika bersifat hidrofobik. Pada penggunaan metode hidrasi lapis tipis akan membentuk hidrasi film dan terdapat jumlah bilayer berupa *Multi Lamellar Vesicles* (MLV) dan *Giant Unilamellar Vesicles* (GULV) dengan homogenitasnya yang buruk, hal ini menyebabkan dibutuhkannya pengecil ukuran (Isalomboto Nkanga *et al.*, 2019).

Ukuran partikel merupakan parameter yang perlu diperhatikan dalam pembuatan liposom. Salah satu upaya untuk memperkecil ukuran partikel adalah dengan sonikasi (Akbarzadeh *et al.*, 2013). Ultrasonikasi merupakan gelombang suara berfrekuensi tinggi yang dapat meningkatkan proses pencampuran, dan pemecahan dari suatu partikel. Semakin lama proses ultrasonikasi, energi yang diterima partikel akan rata di seluruh bagian sisi larutan dan ukuran partikel akan semakin homogen (Sulungbudi *et al.*, 2017).

Telah diteliti bahwa EAA dengan *Lamellar Liquid Crystal* (LLC) sebagai pembawa memiliki penyerapan yang baik untuk pemutih kulit, serta stabil sehingga meningkatkan retensi kulit untuk pemberian topikal (Li *et al.*, 2016). Namun, belum ditemukan penelitian mengenai EAA dengan liposom. Sehingga hal ini yang memicu peneliti untuk melakukan preparasi dan karakterisasi EAA dalam bentuk sediaan nanoliposom.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana preparasi dan karakterisasi sediaan nanoliposom *3-O-Ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* sonikator ?

1.3 Tujuan Penelitian

Melakukan preparasi dan karakterisasi sediaan nanoliposom *3-O-Ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* sonikator.

1.4 Manfaat Penelitian

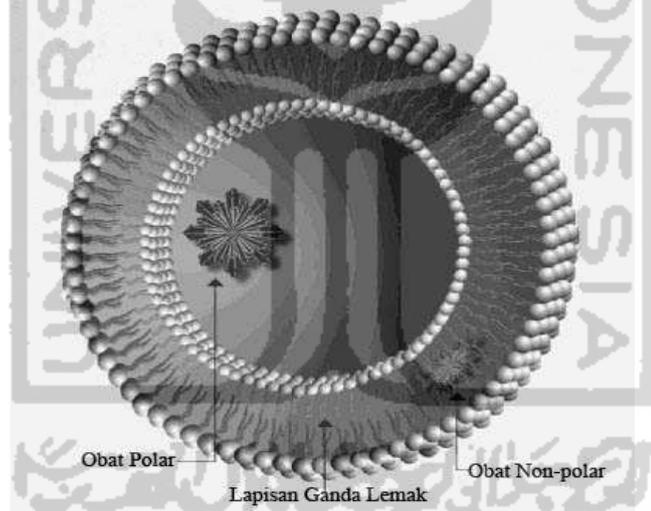
1. Bagi pengembangan ilmu pengetahuan, hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan dan digunakan sebagai referensi dalam pengembangan ilmu pengetahuan serta dapat dikembangkan untuk penelitian selanjutnya.
2. Bagi Industri Farmasi, bentuk sediaan nanoliposom dapat dijadikan sebagai alternatif baru dalam memformulasikan *3-O-Ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan bantuan sonikator.

BAB II STUDI PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Liposom

Menurut Shashi *et al.*, kegunaan liposom dapat menurunkan fluiditas dan mikroviskositas, sehingga mencegah kebocoran, mengurangi permeabilitas membran pada molekul larut air. Hal ini menambah daftar keuntungan liposom. Liposom memiliki struktur yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga obat yang bersifat hidrofilik terperjat pada bagian inti air sedangkan obat lipofilik terperjat pada bagian lipid lapis ganda (Laouini *et al.*, 2012). Seiring dengan kekuatan solubilisasinya yang baik, pembuatannya menjadi lebih mudah dan menjadikan liposom sebagai sistem pembawa obat yang menarik (Singh, 2013).



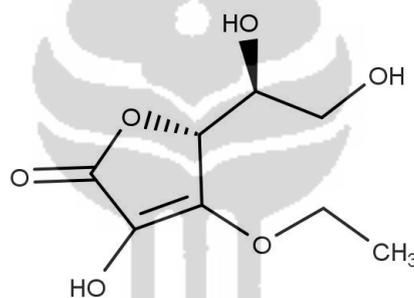
Gambar 2.1. Struktur Liposom (Panjaitan, 2008)

Telah diteliti bahwa liposom yang mengandung *Labisia pumila* dan *Ficus deltoidea* menunjukkan permeasitransdermal yang lebih baik dibandingkan dengan *Labisia pumila* dan *Ficus deltoidea* yang indikatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa liposom yang mengandung *Labisia pumila* dan *Ficus deltoidea* dapat dimanfaatkan sebagai bahan aktif dalam formulasi kosmetik herbal (Roslan *et al.*, 2017). Liposom digunakan dalam berbagai produk kosmetik karena biokompatibel, biodegradable, tidak beracun, dan vesikel fleksibel serta

dapat menyatukan bahan aktif dengan mudah. Liposom memiliki kemampuan untuk melindungi dari lingkungan luar dan cocok untuk pengiriman senyawa hidrofobik dan hidrofilik (Lohani *et al.*, 2014).

2.1.2. 3-O-Ethyl ascorbic acid

3-O-ethyl ascorbic acid merupakan vitamin C dengan grup etil terikat pada posisi karbon ketiga, yang merupakan turunan asam askorbat paling baik (Hudiyanti *et al.*, 2019). 3-O-etil-L-askorbat, adalah molekul yang diproduksi dengan memodifikasi vitamin C (asam askorbat). Serbuk asam askorbat etil adalah salah satu jenis ramifikasi Vitamin C yang dapat melarutkan basis minyak dan air. Hal ini dapat dengan mudah mencapai dermis. (SpecChem Ind; J Hsu, 2013).



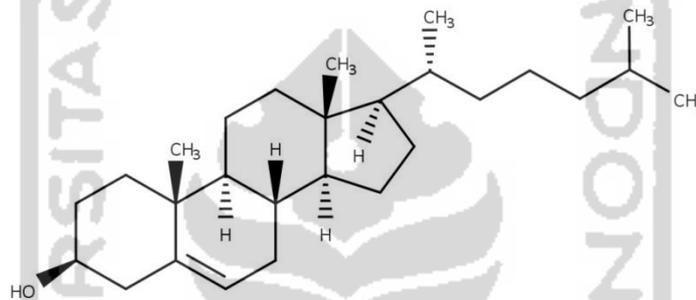
Gambar 2.2. Stuktur 3OEAA menggunakan Marvin Sketch versi 18.22

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Shimizu 3-O-ethyl-L ascorbic acid (3-EtAA, analog vitamin C) memiliki stabilitas yang baik dan dapat diserap oleh kulit dari pada asam askorbat (AA) oleh Riboflavin (RF) dalam fosfat buffer (Ph 6,8) dan EAA memiliki sifat pemutih kulit yang digunakan dalam kosmetik pemutih kulit (Shimizu, 2019). Telah diteliti bahwa hasil penelitian menggunakan bahan 3-O-ethyl-asam askorbat secara signifikan dapat meningkatkan retensi kulit dalam menghambat aktivitas tirosinase dan menghambat sintesis melanin dikulit, yang diabantu oleh pembawa *Lamellar Liquid Crystal* (LLC) (Laouini *et al.*, 2012).

2.1.3. Kolesterol

Telah diteliti bahwa penambahan kolesterol pada membran liposom mempengaruhi besarnya efisiensi enkapsulasi. Penambahan kolesterol sebesar

30% meningkatkan efisiensi enkapsulasi menjadi sebesar 92,71%. Suhu mempengaruhi kemampuan liposom kelapa untuk menyimpan vitamin C. Penyimpanan pada suhu 5°C menurunkan kebocoran liposom kelapa (Hudiyanti *et al.*, 2019). Kolesterol (3-hidroksi-5,6-kolestene) merupakan steroid yang terdiri dari kerangka karbon *cyclo pentano perhydro phenanthrene*, merupakan tiga cincin beranggota enam dan cincin beranggota lima. Serta memiliki mono hydroxy alcohol dan mengandung ikatan rangkap antara C5 dan C6 (Kailashiya *etal.*, 2017)



Gambar 2.3. Struktur Kolesterol menggunakan Marvin Sketch versi 20.15

2.1.4. Karakteristik Nanopartikel

Penentuan karakteristik nanopartikel bertujuan untuk mengetahui mutu dari sediaan nanopartikel yang telah dibuat. Sifat seperti distribusi ukuran, diameter partikel rata-rata, dan muatan mempengaruhi stabilitas fisik dan distribusi *in vivo* nanopartikel. Sifat seperti morfologi permukaan, ukuran dan bentuk keseluruhan ditentukan oleh teknik mikroskopi elektron. Selain itu, dapat digunakan untuk menentukan kinerja dan untuk merancang partikel, inovasi formulasi dan menanggulangi masalah ketika proses pembuatan nanopartikel. Beberapa karakteristik nanopartikel yang dapat diamati yakni sifat organoleptis, ukuran partikel, distribusi partikel, morfologi partikel, zeta potensial dan efisiensi enkapsulasi (Abdassah, 2017; Tyagi *et al.*, 2017).

2.1.5. Zeta Potensial

Zeta potensial adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi yang berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel. Interaksi elektrostatik antar partikel akan menentukan kecenderungan agregasi dan fenomena tolak menolak. Partikel harus memiliki muatan atau zeta potensial yang tinggi dibandingkan dengan medium pendispersi untuk mencegah pengumpulan (Abdassah, 2017). Nilai zeta potensial yang lebih besar dari +25 mV atau kurang dari -25 mV akan menghasilkan stabilitas elektrik nanopartikel yang lebih tinggi dan gaya tolak menolak yang tinggi pada. Bila nilai zeta potensial rendah sampel nanopartikel akan lebih mudah terbentuk agregat karena gaya tarik menarik atau vanderwaals yang lebih besar dari pada gaya tolak menolak (Amalia *et al.*, 2015; Atun and Handayani, 2017)

2.1.6. Ukuran dan Distribusi Partikel

Distribusi partikel dapat digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, biologis, toksisitas dan kemampuan untuk *targetting* dari sistem nanopartikel. Pengukuran ukuran dan distribusi partikel dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dengan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) (Abdassah, 2017). Metode DLS untuk menentukan ukuran partikel dengan cara memasukkan partikel kecil di dalam suspensi yang bergerak dalam pola acak. Nilai numerik angka indeks polidispersitas berkisar dari 0,0 (untuk sampel dengan partikel ukuran yang seragam secara sempurna) hingga 1,5 (untuk sampel yang sangat polidispersi dengan populasi ukuran partikel yang banyak). Dalam aplikasi pengiriman obat menggunakan pembawa berbasis lipid, seperti formulasi nanoliposom, angka indeks polidispersitas $\leq 0,3$ dianggap dapat diterima dan menunjukkan populasi vesikel fosfolipid yang homogen (Danaei *et al.*, 2018).

2.1.7. Hidrasi Lapis Tipis

Metode hidrasi lapis tipis merupakan metode sederhana serta sesuai dengan bahan obat yang bersifat lipofilik, lapisan tipis yang dihasilkan akan dihidrasi dengan penghidrasi sehingga terbentuk liposom cair. Proses awal untuk

melarutkan lipid dengan cara menguapkan pelarut organik yang digunakan seperti kloroform, etanol, atau kombinasinya dengan alat *rotary evaporator* hingga terbentuk lapisan tipis dibagian bawah labu alas bulat, selanjutnya ditambahkan buffer atau mencampurkan fase air untuk menghidrasi lapisan tersebut pada suhu diatas titik leleh campuran atau titik maksimal campuran, sehingga liposom yang dihasilkan berupa *Multi Lamellar Vesicles* (MLV). Perbedaan ukuran yang terbentuk bergantung pada waktu hidrasi, komposisi bahan, konsentrasi lipid, dan volume cairan penghidrasi (Dua *et al.*, 2012; Purnami, 2015).

2.1.8. Ultrasonikasi

Ultrasonikasi termasuk teknik yang paling efektif dalam pencampuran, proses reaksi, dan pemecahan bahan dengan bantuan energi tinggi. Pada proses ultrasonikasi, gelombang suara dengan frekuensi tinggi pada larutan kimia akan menghasilkan titik gelembung awal dalam larutan. Kemudian gelembung mengalami penambahan ukuran akibat proses difusi larutan ke dalam gelembung dan gelembung tersebut akan pecah ketika sudah mencapai ukuran maksimal. Peristiwa ini dapat menimbulkan terputusnya ikatan kimia bahan-bahan nanopartikel di sekitar gelembung sehingga didapatkan ukuran nanosfer berukuran kecil. Semakin lama proses ultrasonikasi, energi yang diterima partikel akan rata di seluruh bagian sisi larutan dan ukuran partikel akan semakin homogen, ukuran yang dihasilkan bisa berbeda-beda hal tersebut dipengaruhi oleh komposisi bahan, suhu, waktu sonikasi, dan kekuatan yang diberikan pada sampel (Dua *et al.*, 2012; Sulungbudi *et al.*, 2017)

2.2. Hipotesis

Pembuatan dan preparasi nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* menggunakan Lipoid S75 (mg), Lipoid DMPG-Na, dan Kolesterol (mg), sebagai pembawa mampu menghasilkan formula liposom yang stabil ditandai dengan tidak adanya pemisahan fase dan pengendapan, serta memenuhi karakteristik sediaan nanoliposom dengan ukuran partikel kisaran 100-200 nm, dan zeta potensial lebih dari ± 25 mV serta indeks polidispersitas liposom $\leq 0,3$

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Rotary evaporator* (Heidolph), *ultrasonic homogenizer probes* (Model 150VT Biologics, USA), *vortex* (Heidolph Reax Top, Jerman), *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100), timbangan analitik (Metler Toledo XS 205, kepekaan 0,01 mg), dan seperangkat alat gelas (Pyrex).

3.1.2 Bahan

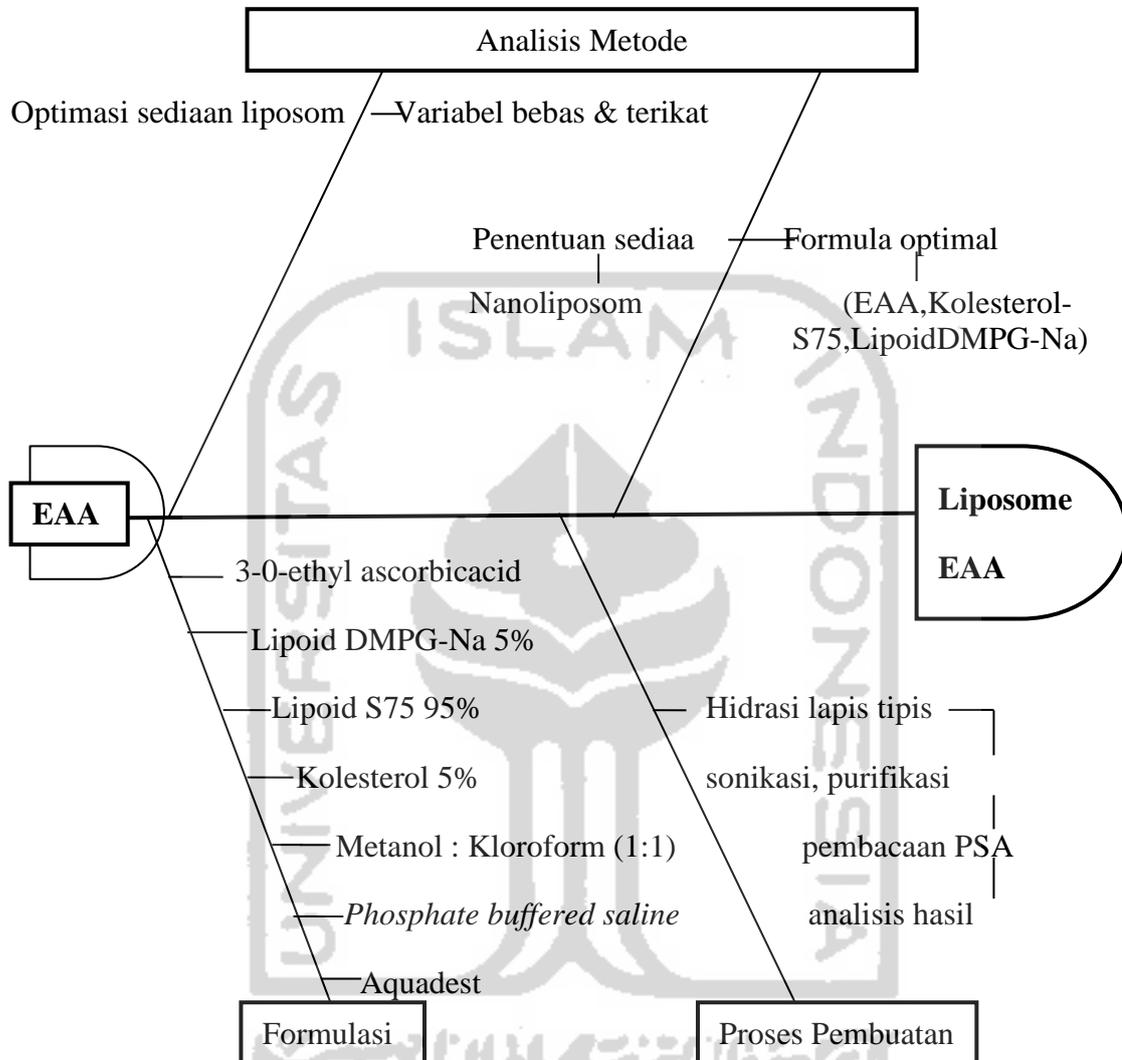
Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *3-O Ethy Ascorbic Acid* (Corum), Lipoid S75 95% (Sigma Aldrich), Lipoid DMPG-Na 5% (Sigma Aldrich), Kolesterol (Sigma Aldrich), Metanol (Merck), *Phosphate-buffered saline* (Merck), Kloroform Pa (Merck), Laktosa Monohidrat (Shaanxi), dan aquadest yang diperoleh dari Laboratorium Teknologi Farmasi, Yogyakarta.

3.2 Cara Penelitian

3.2.1 Sistematika Kerja Penelitian

Sistematika kerja pada penelitian ini berisi urutan proses mulai dari preparasi formulasi liposom, kemudian desain optimalisasi sediaan liposom, dengan dua variabel yaitu variabel bebas menggunakan Lipoid S75 95%, Lipoid DMPG-Na 5%, Kolesterol, Metanol, kloroform (1:1), kemudian membuat *Phosphate-buffered saline* dengan cara melarutkan 1 tablet kedalam 100 mL aquadest, kemudian ditambahkan EAA kedalam larutan 10 mL larutan PBS tersebut, dan variabel tergantung berupa pengukuran partikel, polidispersi indeks, zeta potensial, serta uji stabilitas setelah itu ditentukan dan diverifikasi desain sediaan liposome yang nantinya akan mendapatkan formula optimal yang diinginkan, lalu dipreparasi formula optimal tersebut serta ditentukan karakter dari formula optimal liposom melalui variabel tergantung, kemudian diuji stabilitas

dari formula EAA yang stabil. Skema penelitian secara umum dapat dilihat pada **Gambar 3.1**



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

3.2.2 Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis

Liposom diformulasikan dengan campuran dari Lipoid S75 95%, Lipoid DMPG-Na 5%, Kolesterol, EAA, metanol : kloroform (1:1), *Phosphate buffered saline*, dan aquadest. Liposom dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis. Formula liposom yang dibuat dapat dilihat pada **Tabel 3.1** (Nugroho *et al.*, 2020) semua bahan ditimbang sesuai formulasi kemudian bahan campuran A yang terdiri dari fase non polar menggunakan Lipoid S75 95%, Lipoid DMPG-Na 5%, Kolesterol,

Metanol, kloroform (1:1), semua bahan non polar yang digunakan ditimbang sesuai formulasi kemudian dilarutkan kedalam campuran metanol:kloroform (1:1) dan dihomogenkan menggunakan *vortex*, kemudian ditambahkan laktosa monohidrat kedalam labu alas bulat lalu dimasukan campuran non polar, larutan diuapkan sampai kering dengan kondisi vakum *rotary evaporator* pada suhu 45°C dengan kecepatan putaran 100 rpm.

Lapisan lipid yang terbentuk berupa film kering, lalu diinkubasi pada suhu ruang agar pelarut hilang sempurna, dibiarkan selama 6 jam lapisan tipis dihidrasi dengan fase polar terdiri dari PBS pH7,4 dengan cara melarutkan 1 tablet kedalam 100 mL aquadest, ditambahkan EAA kedalam larutan 10 mL larutan PBS tersebut di *rotary evaporator* pada suhu 45°C dengan kecepatan putaran 100 rpm tanpa keadaan vakum, suspensi yang terbentuk dimasukan kedalam vial, dan disimpan kedalam lemari pendingin, liposom yang terbentuk diseragamkan ukurannya menggunakan alat sonikator dengan variasi durasi 4 menit, 6 menit, 8 menit, dan 12 menit, hasil sonokasidimasukan kedalam vial lain dan disimpan kedalam lemari es atau langsung di ujikan (Hwang *et al.*, 2013).

Tabel 3.1 Formulasi Liposom 3-*o*-ethylascorbic acid

| Nama Bahan | Jumlah |
|---------------------------------------|--------|
| Lipoid S75 95% (mg) | 431,67 |
| Lipoid DMPG-Na 5% (mg) | 18,62 |
| Kolesterol (mg) | 9,66 |
| 3- <i>O</i> -ethyl ascorbic acid (mg) | 40 |
| Metanol (ml) | 5 |
| Kloroform (ml) | 5 |
| Phosphate-buffered saline (ml) | 10 |

3.2.3 Purifikasi Nanoliposom

Sediaan liposom dipurifikasi menggunakan kromatografi filtrasi dengan Sephadex-50 sebagai kolomnya. Sampel diambil lalu dialirkan ke kolom sphadex-

50 yang sudah dibuka, kemudian ditambahkan *phosphate buffered saline* kedalam alat sephadex-50 (Shashi *et al.*, 2012).

3.2.4 Pembacaan Ukuran Partikel dengan PSA

Pengukuran ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *particle size analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100) dengan hasil ukuran yang bervariasi dari perbandingan temperatur dan durasi yang dilakukan, pembacaan PSA dapat dilakukan menggunakan sediaan yang telah di *top down* ukuran oleh alat sonikator yang telah dilakukan pada PBS (Loquercio *et al.*, 2015).

3.2.5 Penentuan Zeta Potensial

Potensial zeta liposom dievaluasi dengan menggunakan *zeta-sizer*. Sampel liposom diencerkan dengan pengenceran 1 tetes dalam 10 ml larutan pendispersi, yaitu dapar fosfat 7,4. Liposom diencerkan dua kali dengan *phosphate buffered saline* sebelum pengukuran kemudian, sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan dianalisis pada suhu 25°C (Iskandarsyah *et al.*, 2016)

3.2.6 Uji Stabilitas Sediaan

Liposom beku-kering ditempatkan dalam vial dan vial disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2-8 °C. Sampel diambil pada hari ke-30. Lalu diuji ukuran partikel dan indeks polidispersitas dari sediaan tersebut (Yang *et al.*, 2013)

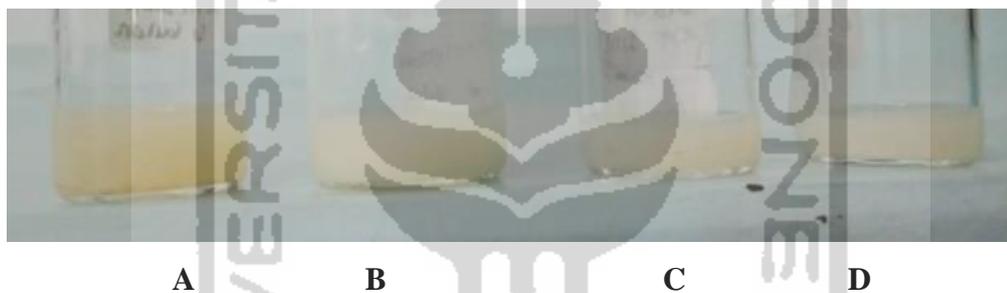
3.3 Analisis Hasil

Analisis hasil dilakukan secara deskriptif. Data yang diperoleh dari hasil penelitian seperti, ukuran partikel, indeks polidispersitas dan zeta potensial dibandingkan dengan jurnal.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Nanoliposom

Metode hidrasi lapis tipis dipilih pada penelitian ini karena metode pembuatan liposom yang paling umum digunakan (Iskandarsyah *et al.*, 2016). Tahap awal yang dilakukan pada penelitian ini yaitu preparasi nanoliposom 3-*O*-ethyl ascorbic acid dengan variasi durasi 4 menit; 6 menit; 8 menit; dan 12 menit. Hasil yang diperoleh dari preparasi nanoliposom berbentuk larutan putih. Hasil organoleptis dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1. Preparasi nanoliposom dengan variasi durasi (A) 4 menit, (B) 6 menit, (C) 8 menit dan (D) 12 menit.

Hasil yang diperoleh dengan berbagai variasi durasi sonikasi dengan tujuan memperkecil ukuran partikel, mempengaruhi tingkat kejernihan sediaan. Pada formula dengan durasi sonikasi 4 menit didapatkan larutan berwarna putih pekat dengan sedikit serbuk putih serta viskositas agak kental. Pada formula dengan durasi sonikasi 6 menit diperoleh larutan putih dengan viskositas lebih encer. Pada formula dengan durasi sonikasi 8 menit didapatkan larutan berwarna putih dan viskositas encer. Sedangkan, pada formula dengan durasi sonikasi 12 menit didapatkan hasil berwarna putih yang memiliki tingkat kejernihan paling jernih menunjukkan hasil preparasi yang baik.

Dari hasil preparasi formula dengan durasi sonikasi 4; 6; 8; dan 12 menit mempunyai tingkat kekeruhan, dan viskositas yang berbeda-beda. Gelombang

ultrasonik yang diberikan selama proses sonikasi merupakan salah satu faktor dimana terdapat energi tambahan yang menyebabkan perubahan pengaturan lipid, yang awalnya tidak teratur, dan kemudian melengkung membentuk liposom, sementara itu gelombang ultrasonik dapat memecah liposom berukuran besar menjadi lebih kecil. Telah diteliti bahwa durasi sonikasi yang lebih lama dapat memengaruhi ukuran partikel karena dapat menghancurkan membran dan menyebabkan liposom menjadi lebih kecil, tetapi interaksi yang terjadi tidak signifikan serta tidak mempengaruhi indeks polidispersitas liposom (Putri *et al.*, 2017).

4.2 Karakteristik Nanoliposom

Dari sediaan nanoliposom yang sudah dipreparasi, hasil karakterisasi nanoliposom menggunakan metode hidrasi lapis tipis berdasarkan variasi durasi 4 menit; 6 menit; 8 menit; dan 12 menit dengan bantuan alat ultrasonikator dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Hasil optimasi nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* (n=3)

| Tipe Durasi | Ukuran Partikel (nm) | Indeks Polidispersitas (Đ) | Zeta Potensial (mV) | Warna (Kekeruhan) |
|-------------|----------------------|----------------------------|---------------------|-------------------|
| 4 menit | 141,5 ± 0,10 | 0,375 ± 0,05 | -27,5 ± 0,49 | Putih, keruh |
| 6 menit | 131,1 ± 1,53 | 0,288 ± 0,04 | -26,4 ± 0,47 | Putih, keruh |
| 8 menit | 98,33 ± 0,85 | 0,438 ± 0,03 | -18,8 ± 0,30 | Putih, keruh |
| 12 menit | 83,43 ± 0,55 | 0,334 ± 0,07 | -17,3 ± 0,32 | Putih, jernih |

Tabel diatas menunjukkan karakterisasi nanoliposom berupa tipe durasi yang digunakan serta terdapat, warna sediaan nanoliposom, rata-rata ukuran partikel, rata-rata indeks polidispersitas, dan terdapat rata-rata zeta potensial dari masing-masing durasi sonikasi.

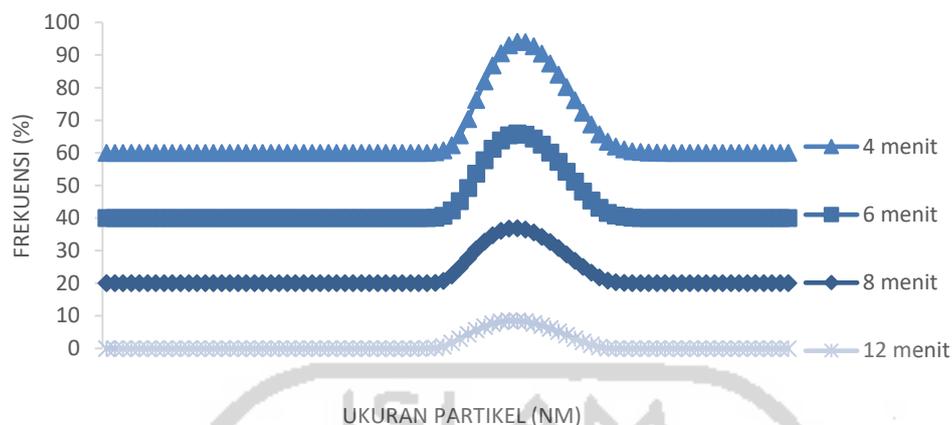
4.2.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Partikel

Ukuran dan distribusi nanopartikel diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) menggunakan prinsip *Photon Correlation Spectroscopy* dan *Electrophoretic Light Scattering*. Ukuran dan distribusi partikel merupakan karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel. Metode yang dapat digunakan adalah *Dynamic Light Scattering* (DLS). Nanopartikel bertujuan untuk

mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, memodifikasi sistem penghantaran obat sehingga obat dapat langsung menuju daerah yang spesifik, dan meningkatkan stabilitas zat aktif dari degradasi lingkungan (Abdassah, 2017). **Tabel 4.1** menunjukkan bahwa ukuran partikel dengan perbandingan waktu ultrasonikasi 4; dan 6 menit menghasilkan ukuran partikel berturut-turut $141,5 \pm 0,10$ nm; dan $131,1 \pm 1,53$ nm dimana range ukuran partikel yang didapat 100-1000 nm, serta tidak ada perbedaan signifikan terhadap ukuran partikel antar variasi durasi sonikasi. Liposom yang telah memenuhi syarat ukuran bisa menuju target sasaran terapi dengan baik yaitu berukuran 100 - 200 nm (Szekalska *et al.*, 2018).

Dari data di atas menunjukkan bahwa semakin lama pengadukan maka ukuran partikel yang dihasilkan semakin kecil hal ini dikarenakan proses sonikasi akan menghasilkan getaran ultrasonik, menyebabkan tumbukan antara partikel liposom dalam suatu medium, sementara gelombang ultrasonik dapat memecah liposom berukuran besar menjadi lebih kecil. Durasi sonikasi yang lebih lama dapat memengaruhi ukuran partikel karena dapat menghancurkan membran dan menyebabkan liposom menjadi lebih kecil. Suspensi *3-o-ethyl ascorbic acid* sebelum sonikasi sangat keruh, ini jelas berbeda dari setelah sonikasi, yang kurang keruh. Semakin keruh dispersi berarti ukuran partikel lebih besar daripada dispersi yang lebih jernih menunjukkan bahwa proses sonikasi dapat mengurangi ukuran partikel liposom (Putri *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, untuk pembuatan produk kosmetik jika tujuan pembuatan dalam ukuran nanopartikel maka harus melebihi 100 nm agar bahan aktif dapat dicapai melalui proses enkapsulasi sehingga dapat menghantarkan obat dengan profil pelepasan terkontrol dalam jangka waktu yang lama (Lohani *et al.*, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa proses sonikasi yang dilakukan berhasil menurunkan ukuran partikel dalam upaya memenuhi karakteristik sediaan nanoliposom pada **Gambar 4.2** terlihat muncul satu puncak yang tinggi dan sempit. Hal ini dapat memperkuat bukti keseragaman ukuran yang baik dan homogen.

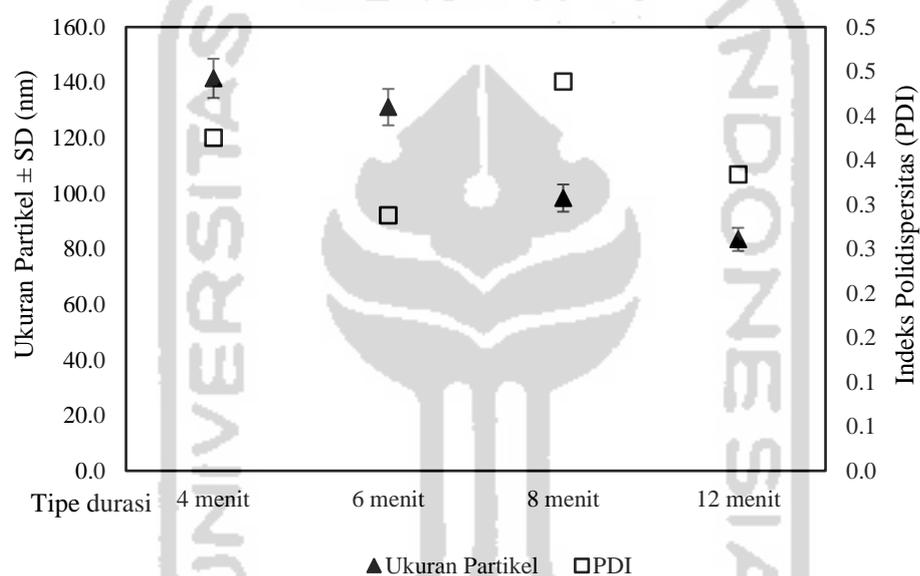


Gambar 4.2 Distribusi partikel nanoliposom hasil optimasi terhadap waktu

Polidispersitas nanoliposom diukur untuk menentukan homogenitas ukuran liposom. Indeks polidispersitas dalam setiap variasi dapat diamati pada Tabel 4.1. Jika indeks polidispersitas nanoliposom adalah $\leq 0,3$ dapat dikatakan bahwa liposom memiliki homogenitas ukuran liposom yang baik. Dalam persiapan nanoliposom dengan durasi sonikasi 4; 6; dan 12 menit indeks polidispersitas yang diperoleh yaitu $\leq 0,3$ sehingga, ditentukan bahwa dalam keempat kondisi, homogenitas ukuran liposom berbeda. Hasil ini mungkin terjadi karena gelombang ultrasonik yang diterapkan pada dispersi tidak menyebar secara merata (Putri *et al.*, 2017).

Nilai PDI di bawah 0,05 biasanya dimiliki oleh sistem monodispersi. Untuk partikel berukuran 100-300 nm, nilai PDI umumnya di bawah 0,3 maka dapat dikatakan baik. Partikel dengan ukuran di atas 500 nm dan memiliki nilai PDI di atas 0,5 dikatakan besar (Abdassah, 2017). Nilai numerik angka indeks polidispersitas berkisar dari 0,0 (untuk sampel dengan partikel ukuran yang seragam secara sempurna) hingga 1,5 (untuk sampel yang sangat polidispersi dengan populasi ukuran partikel yang banyak). Dalam aplikasi pengiriman obat menggunakan pembawa berbasis lipid, seperti formulasi nanoliposom, angka indeks polidispersitas $\leq 0,3$ dianggap dapat diterima dan menunjukkan populasi vesikel fosfolipid yang homogen (Danaei *et al.*, 2018).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi ukuran partikel adalah variasi waktu terhadap ukuran partikel nanoliposom. Berdasarkan penelitian sebelumnya hasil distribusi ukuran partikel dapat dikatakan masuk dalam rentang nilai persyaratan indeks polidispersitas yakni 0,0-1,5 dimana sampel memiliki ukuran yang seragam dan populasi ukuran yang banyak, sehingga tiap formula dengan variasi durasi sebanyak 4; 6; 8; dan 12 menit dapat dikatakan memiliki keseragaman ukuran yang baik dan homogen (Suhaimi *et al.*, 2015). **Gambar 4.3** merupakan hasil indeks polidispersitas.



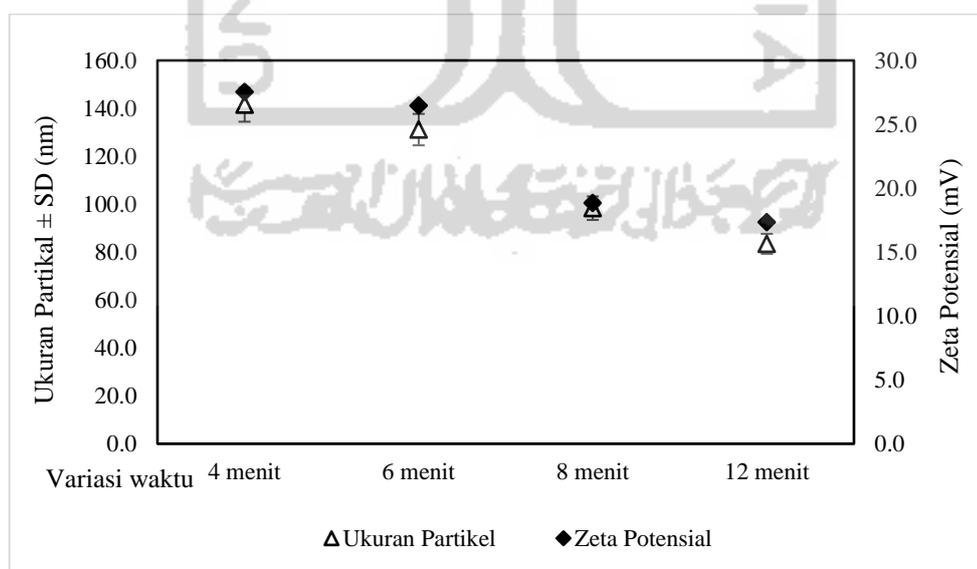
Gambar 4.3 Indeks polidispersitas dan ukuran partikel nanoliposom hasil optimasi terhadap waktu sonikasi

4.2.2 Nilai Zeta Potensial

Potensial zeta digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel. Interaksi elektrostatik akan menentukan kecenderungan agregasi dan tolak menolak. Potensial zeta adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Idealnya, muatan potensial zeta partikel harus lebih tinggi dari medium pendispersi untuk mencegah agregasi. Nilai minus menandakan adanya asam lemak bebas pada sediaan sehingga terjadi penolakan

yang cukup besar antar tetesan untuk bergabung yang menyebabkan sistem emulsi menjadi stabil (Abdassah, 2017; Nugroho *et al.*, 2020).

Besarnya zeta potensial dapat memprediksi stabilitas koloid, untuk mengetahui nilai zeta dapat diukur menggunakan *zetasizer*. Nanopartikel dengan nilai zeta potensial ± 25 mV memiliki derajat stabilitas yang tinggi. Hubungan antara ukuran partikel dan nilai angka zeta potensial dapat dilihat pada **Gambar 4.4** yang menunjukkan bahwa hasil pengujian zeta potensial nanoliposom *3-o ethyl ascorbic acid* pada durasi sonikasi 6 menit yaitu -26,4 mV dan pada durasi sonikasi 4 menit yaitu -27,5 mV. Berdasarkan hasil yang diperoleh pengukuran nilai zeta potensial relatif stabil sehingga dapat dikatakan gaya tolak menolak partikel yang terdapat pada sediaan nanoliposom cenderung lebih besar dibandingkan dengan gaya tarik menarik antar partikel. Sehingga resiko partikel mengalami penggumpalan cenderung berkurang dan dapat dinyatakan bahwa hasil nanoliposom *3-o ethyl ascorbic acid* yang dihasilkan cukup stabil, sedangkan pada variasi durasi sonikasi 8 menit; dan 12 menit sampel masih kurang stabil, nilai potensial zeta suspensi dikatakan stabil adalah nilai potensial zeta yang menjauhi titik isoelektrik yaitu 0 (Atun, 2017; Iskandarsyah *et al.*, 2016).



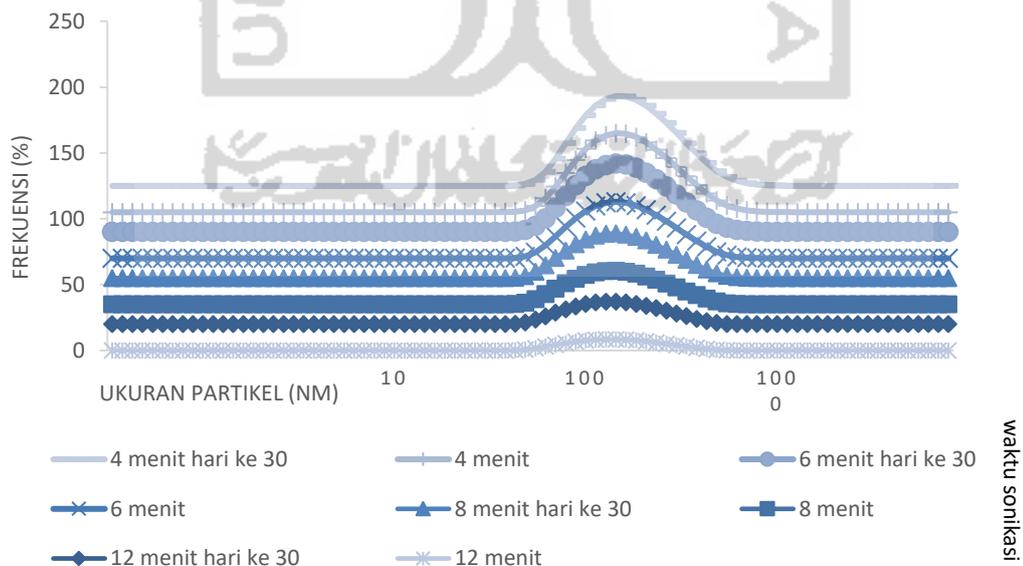
Gambar 4.4 Zeta potensial dan ukuran partikel nanoliposom hasil optimasi terhadap waktu sonikasi

4.3 Uji Stabilitas

Stabilitas merupakan salah satu kriteria yang sangat penting untuk hasil dari pembuatan yang baik. Ketidakstabilan produk dapat menyebabkan terjadinya pengurangan khasiat, yang dapat diketahui dari ada atau tidaknya penurunan kadar selama penyimpanan. Faktor yang dapat mempengaruhi seperti suhu, radiasi cahaya, ukuran partikel, pH, dan sifat pelarutnya dapat mempengaruhi stabilitas (Pratiwi *et al.*, 2018). Stabilitas perlu memiliki sediaan yang stabil secara termodinamik dalam nanoliposom untuk memaksimalkan pelepasan pada saat ultrasonikasi. Tekanan yang lebih rendah menyebabkan pelepasan obat makromolekul yang signifikan. Sebaliknya, tekanan yang lebih tinggi dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang tidak diinginkan (de Matos *et al.*, 2019).

Tabel 4.2 Hasil stabilitas nanoliposom selama 30 hari (n=3)

| Tipe Durasi | Ukuran Partikel (nm) | | Index Polidispersitas (Đ) | |
|-------------|----------------------|--------------|---------------------------|--------------|
| | Hari ke-1 | Hari ke-30 | Hari ke-1 | Hari ke-30 |
| 4 menit | 145,6 ± 2,30 | 152,7 ± 2,30 | 0,450 ± 0,03 | 0,236 ± 0,06 |
| 6 menit | 153,6 ± 1,00 | 121,6 ± 1,53 | 0,214 ± 0,02 | 0,467 ± 0,01 |
| 8 menit | 136,7 ± 2,50 | 116,0 ± 0,30 | 0,346 ± 0,06 | 0,364 ± 0,03 |
| 12 menit | 112,9 ± 0,58 | 92,83 ± 0,64 | 0,264 ± 0,06 | 0,468 ± 0,01 |



Gambar 4.5 Perbandingan distribusi partikel nanoliposom selama 30 hari terhadap waktu sonikasi

Uji stabilitas dapat dilihat pada data hasil yang diperoleh dari penyimpanan sediaan nanoliposom EAA pada hari ke-1 dan hari ke-30 dengan kondisi penyimpanan pada suhu 2-8 °C sebagai berikut pada **Tabel 4.2** dan grafik uji stabilitas selama 30 hari dapat dilihat pada **Gambar 4.5** data tersebut menunjukkan bahwa sudah memenuhi persyaratan, ditandai dengan sediaan tidak mengalami perubahan terhadap penampakan fisik terkait warna dan campuran yang tidak terpisah, hal ini menjadi ciri bahwa sediaan nolioposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dapat dinyatakan stabil. Stabilitas dipengaruhi oleh konfigurasi partikel fase terdispersi dalam medium pendispersi. Semakin kecil ukuran partikel fase terdispersi maka konfigurasi partikel fase terdispersi dalam medium pendispersi akan semakin teratur. Semakin besar peningkatan gaya kinetik (kecepatan homogenisasi) yang diberikan, maka ukuran partikel akan semakin kecil (Suprobo and Rahmi, 2015).

Hasil yang di dapat pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan ukuran partikel pada durasi sonikasi 4 menit, sedangkan pada durasi waktu 6; 8; dan 12 menit terjadi penurunan nilai ukuran namun, tidak ada perbedaan yang signifikan pada nilai ukuran partikel selama 30 hari. Nilai indeks polidispersitas yang didapat pada waktu sonikasi 4 menit terjadi penurunan, untuk PDI pada durasi sonikasi 6 menit dan 12 menit terjadi penambahan nilai, namun nilai PDI yang didapat pada durasi sonikasi 8 menit tetap sama selama 30 hari. Gambar 4.5 menunjukkan bahwa terdapat peak yang lancip dan ukuran partikel yang tidak berbeda secara signifikan, hal tersebut menandakan suspensi nanoliposom yang homogen. Nilai polidispersitas index penting karena menunjukkan distribusi ukuran nanoliposom, yang dapat berkorelasi dengan stabilitas. Penampakan fisik nanoliposom formulasi tampak tidak berubah, menunjukkan stabilitas sistem liposomal yang tinggi secara umum. Persentase pengujian ukuran partikel rata-rata, dan PDI memuaskan selama 30 hari selama studi stabilitas pada suhu 2-8 °C (Amiri *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2013).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pembuatan dan preparasi sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan bahan lipoid didapatkan hasil dengan tidak adanya pemisahan fase dan pengendapan pada saat hidrasi lapis tipis, serta memenuhi karakteristik sediaan nanoliposom dengan ukuran partikel dan zeta potensial yang didapat pada sonikasi 4 dan 6 menit berturut-turut yaitu $141,5 \pm 0,10$ nm; $131,1 \pm 1,53$ nm dan $27,5 \pm 0,49$ mV; $26,4 \pm 0,47$ mV, sedangkan pada polidispersitas indeks yang memenuhi persyaratan ada pada durasi sonikasi 4; 6; dan 12 menit berturut-turut $0,375 \pm 0,05$ Đ; $0,288 \pm 0,04$ Đ; $0,334 \pm 0,07$ Đ. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa preparasi nanoliposom *3-o-ethyl ascorbic acid* dengan variasi waktu 4 dan 6 menit merupakan preparasi optimal.

5.2 Saran

Perlu adanya lanjutan pengujian terkait penelitian ini seperti efisiensi enkapsulasi, morfologi nanoliposom serta stabilitas dipercepat suatu sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* sonikator.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M., 2017. Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik. *J. Farmaka* 15, 8.
- Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejati-Koshki, K., 2013. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res. Lett.* 8, 102.
- Amalia, A., Jufri, M., Anwar, E., 2015. (Preparation and Characterization of Solid Lipid Nanoparticle (SLN) of Gliclazide) 13, 7.
- Amiri, Samaneh, Rezazadeh-Bari, M., Alizadeh-Khaledabad, M., Amiri, Saber, 2019. New formulation of vitamin C encapsulation by nanoliposomes: production and evaluation of particle size, stability and control release. *Food Sci. Biotechnol.* 28, 423–432.
- Atun, S., 2017. Characterization Of Nanoparticles Produced By Chloroform Fraction Of Kaempferia Rotunda Rhizome Loaded With Alginate Acid And Chitosan And Its Biological Activity Test. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 10, 399.
- Atun, S., Handayani, S., 2017. Synthesis of Nanoparticles Produced by Ethanol Extract of Boesenbergia rotunda Rhizome Loaded with Chitosan and Alginate Acid and its Biological Activity test. *Pharmacogn. J.* 9, 142–147.
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., Mozafari, M., 2018. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* 10, 57.
- de Matos, M.B.C., Deckers, R., van Elburg, B., Lajoinie, G., de Miranda, B.S., Versluis, M., Schiffelers, R., Kok, R.J., 2019. Ultrasound-Sensitive Liposomes for Triggered Macromolecular Drug Delivery: Formulation and In Vitro Characterization. *Front. Pharmacol.* 10, 1463.
- Dua, J.S., Rana, A.C., Bhandari, D.A.K., 2012. Liposome: Methods Of Preparation And Applications. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research* 7.
- Hudiyanti, D., Hamidi, N.I., Anugrah, D.S.B., Salimah, S.N.M., Siahaan, P., 2019. Encapsulation of Vitamin C in Sesame Liposomes: Computational and Experimental Studies. *Open Chem.* 17, 537–543.
- Hudiyanti, D., Triana, D., Siahaan, P., 2017. Studi Pendahuluan tentang Enkapsulasi Vitamin C dalam Liposom Kelapa (*Cocos nucifera* L.) 4.
- Hwang, S.-J., Karn, P.R., Won Kyung Cho, Hee Jun Park, Park, J.S., 2013. Characterization and stability studies of a novel liposomal cyclosporin A prepared using the supercritical fluid method: comparison with the modified conventional Bangham method. *Int. J. Nanomedicine* 365.
- Iliopoulos, F., Sil, B.C., Moore, D.J., Lucas, R.A., Lane, M.E., 2019. 3-O-ethyl-ascorbic acid: Characterisation and investigation of single solvent systems for delivery to the skin. *Int. J. Pharm.* X 1, 100025.
- Isalomboto Nkanga, C., Murhimalika Bapolisi, A., Ikemefuna Okafor, N., Werner Maçedo Krause, R., 2019. General Perception of Liposomes: Formation,

- Manufacturing and Applications, in: Catala, A. (Ed.), *Liposomes - Advances and Perspectives*. IntechOpen.
- Iskandarsyah, I., Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Sagita, E., 2016. Uji Aktivitas Antiproliferasi Formula Liposom Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharm. Sci. Res.* 3, 45–59.
- Kailashiya, J., Mukherjee, A., Dash, D., 2017. *Essentials of medical biochemistry: With clinical cases*. *Indian J. Med. Res.* 145, 576.
- Kapoor, M.S., 2018. Stable Liposome in Cosmetic Platforms for Transdermal Folic acid delivery for fortification and treatment of micronutrient deficiencies. *Sci. Rep.* 12.
- Laouini, A., Jaafar-Maalej, C., Limayem-Blouza, I., Sfar, S., Charcosset, C., Fessi, H., 2012. Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art. *J. Colloid Sci. Biotechnol.* 1, 147–168.
- Li, Y., Dong, C., Cun, D., Liu, J., Xiang, R., Fang, L., 2016. Lamellar Liquid Crystal Improves the Skin Retention of 3-O-Ethyl-Ascorbic Acid and Potassium 4-Methoxysalicylate In Vitro and In Vivo for Topical Preparation. *AAPS PharmSciTech* 17, 767–777.
- Lohani, A., Verma, A., Joshi, H., Yadav, N., Karki, N., 2014. Nanotechnology-Based Cosmeceuticals. *ISRN Dermatol.* 2014, 1–14.
- Loquercio, A., Castell-Perez, E., Gomes, C., Moreira, R.G., 2015. Preparation of Chitosan-Alginate Nanoparticles for *Trans*-cinnamaldehyde Entrapment: Chitosan alginate nanoparticle synthesis. *J. Food Sci.* 80, N2305–N2315.
- Nugroho, B.H., Ningrum, A.D.K., Pertiwi, D.A., Salsabila, T., Syukri, Y., 2020. Pemanfaatan Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* L.) Berbasis Nanoteknologi Liposom Sebagai Pengobatan Antihiperlikemia. *Eksakta J. Ilmu-Ilmu MIPA* 216–229.
- Panjaitan, E., 2008. Karakterisasi Fisik Liposom Asam Salisilat Menggunakan Mikroskop Elektron Transmisi. *Jurnal Sains Materi Indonesia* 9, 4.
- Popovska, O., Simonovska, J., Kavrakovski, Z., Rafajlovska, V., 2013. An Overview: Methods for Preparation and Characterization of Liposomes as Drug Delivery Systems. *J. Pharm. Phytopharmacol.* 8.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., Pramono, S., 2018. Physical and Chemical Stability Test of SNEDDS (Self-nanoemulsifying Drug Delivery System) and Nanoemulsion Ethyl Acetate Fraction of *Garcinia mangostana* L. *Maj. Obat Tradis.* 23, 84.
- Purnami, N.L.W., 2015. Karakterisasi Sistem Liposom Kering Kurkumin Yang Dibuat Dari Egg Phosphatidylcholine Dan Hydrogenated Egg Phosphatidylcholine. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya 105.
- Putri, D.C.A., Dwiastuti, R., Marchaban, M., Nugroho, A.K., 2017. Optimization Of Mixing Temperature And Sonication Duration In Liposome Preparation. *J. Pharm. Sci. Community* 14, 79–85.
- Roslan, N.Z.I., Abdul Ghani, S.M., Yusof, N.B., Abd. Aziz, A., 2017. Liposome As Transdermal Carrier For *Labisia pumila* And *Ficus deltoidea* Water Extracts. *J. Teknol.* 79. 5

- Shashi, K., Satinder, K., Bharat, P., 2012. A Complete Review On: Liposomes. *International Research Journal of Pharmacy* 7.
- Shimizu, R., 2019. Suppression of riboflavin-sensitized singlet oxygen generation by l-ascorbic acid, 3-O-ethyl-l-ascorbic acid and Trolox. *J. Photochem.* 7.
- Singh, R.A., 2013. A Review on Liposomes as a Topical Drug Delivery. *Journal of Pharmaceutical Research*. 3, 13.
- Stamford, N.P.J., 2012. Stability, transdermal penetration, and cutaneous effects of ascorbic acid and its derivatives. *J. Cosmet. Dermatol.* 11, 310–317.
- Suhaimi, S.H., Hasham, R., Rosli, N.A., 2015. Effects of Formulation Parameters on Particle Size and Polydispersity Index of Orthosiphon Stamineus Loaded Nanostructured Lipid Carrier. *Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology* 1, 5.
- Sulungbudi, G.T., Z.L., W., Salam, R., Mujamilah, M., 2017. Pengendalian Suhu Ultrasonikasi Pada Pelapisan Nanopartikel Magnet (Fe₃O₄) Dengan Kitosan. *J. Kim. Dan Kemasan* 39, 95.
- Suprobo, G., Rahmi, D., 2015. Pengaruh Kecepatan Homegenisasi Terhadap Sifat Fisika dan Kimia Krim Nanopartikel dengan Metode High Speed Homogenization (HSH). *J. Litbang Ind.* 5, 1.
- Szekalska, M., Sosnowska, K., Czajkowska-Kośnik, A., Winnicka, K., 2018. Calcium Chloride Modified Alginate Microparticles Formulated by the Spray Drying Process: A Strategy to Prolong the Release of Freely Soluble Drugs. *Materials* 11, 1522.
- Tyagi, L.K., Shekhar, R., Gaur, K., Kori, M.L., 2017. Development and In-Vitro Characterization of Ca-Alginate Beads of Oxytetracycline Hydrochloride for Oral Use: Effect of Process Variables. *Am. J. Pharmacol. Sci.* 8.
- Yang, S., Liu, C., Liu, W., Yu, H., Zheng, H., Zhou, W., Hu, Y., 2013. Preparation and Characterization of Nanoliposomes Entrapping Medium-Chain Fatty Acids and Vitamin C by Lyophilization. *Int. J. Mol. Sci.* 14,

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil perhitungan formulasi Nanoliposom *3-O-Ethyl-Ascorbic Acid*

Rasio fosfolipid : zat lainnya (95 % : 5%)

Total Lipid : 100 % = 50 mMol/ml

50 mMol = 5×10^{-4} mol

- Lipoid S75 95% (mg)

Bahan yang dibutuhkan yakni 95% dari 50 mMol Lipoid, maka :

$$\text{Massa (g)} = \frac{5}{10.000} \times 908,779 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,0005 \times 908,779 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,45438 \text{ g}$$

$$\text{Massa (mg)} = 454,389 \text{ mg}$$

$$95\% \text{ dari } 454,389 \text{ mg yakni } \frac{5}{100} \times 454,389 \text{ mg} = 431,67 \text{ mg}$$

- Lipoid DMPG-Na 5% (mg)

Bahan yang dibutuhkan yakni 5% dari 5 mMol Lipoid, maka :

$$\text{Massa (g)} = \frac{5}{10.000} \times 744,9 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,0005 \times 744,9 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,37245 \text{ g}$$

$$\text{Massa (mg)} = 372,45 \text{ mg}$$

$$5\% \text{ dari } 372,45 \text{ mg yakni } \frac{5}{100} \times 372,45 \text{ mg} = 18,62 \text{ mg}$$

$$(1.862,25 \text{ mg} = 1,8 \text{ g})$$

- Kolesterol 5% (mg)

Bahan yang dibutuhkan yakni 5% dari 5 mMol Lipoid, maka :

$$\text{Massa (g)} = \frac{5}{10.000} \times 386,65 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,0005 \times 386,65 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,19325 \text{ g}$$

$$\text{Massa (mg)} = 193,25 \text{ mg}$$

$$5\% \text{ dari } 193,25 \text{ mg yakni } \frac{5}{100} \times 193,25 \text{ mg} = 9,66 \text{ mg}$$

- Laktosa Monohidrat 5%

$$\text{Massa (g)} = \frac{5}{10.000} \times 342,30 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa (g)} = 0,0005 \times 342,30 \text{ g/mol}$$

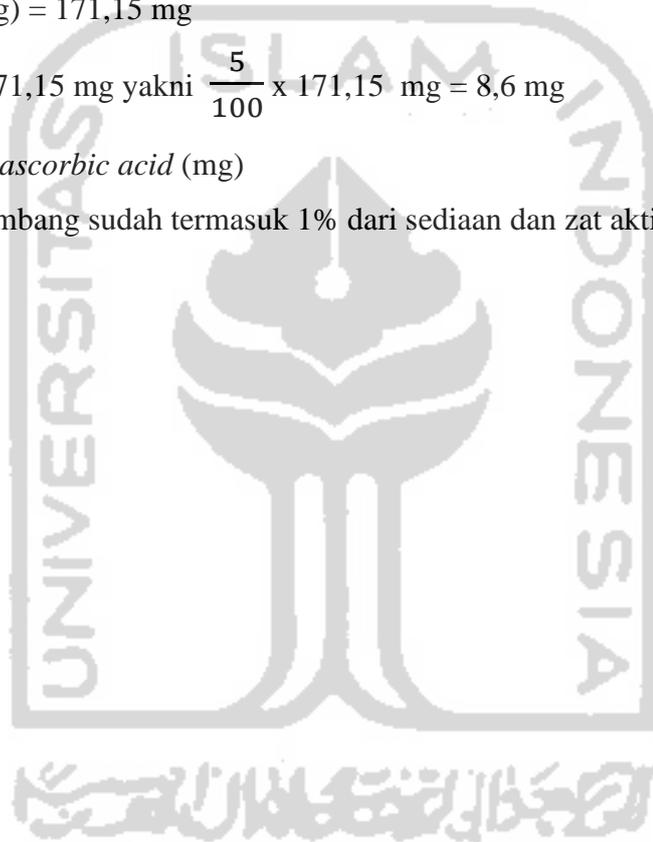
$$\text{Massa (g)} = 0,17115 \text{ g}$$

$$\text{Massa (mg)} = 171,15 \text{ mg}$$

$$5\% \text{ dari } 171,15 \text{ mg yakni } \frac{5}{100} \times 171,15 \text{ mg} = 8,6 \text{ mg}$$

- *3-O-ethyl ascorbic acid* (mg)

40mg ditimbang sudah termasuk 1% dari sediaan dan zat aktif larut dalam PBS



Lampiran 2. Hasil Pembacaan Ukuran Partikel dari berbagai variasi durasi menggunakan *Particle Size of Analyze*.

Optimasi (1) gabungan hari ke-1 dan hari ke-30

| Jumlah Durasi | Ukuran Partikel | Rata-rata | SD | RSD |
|---------------|-----------------|-----------|--------|--------|
| 4 menit | 147,9 | 149,16 | 2,3003 | 0,0154 |
| | 143,3 | | | |
| | 145,6 | | | |
| | 150,4 | | | |
| | 155,0 | | | |
| | 152,8 | | | |
| 6 menit | 154,6 | 137,63 | 1,2653 | 0,0095 |
| | 153,6 | | | |
| | 152,6 | | | |
| | 121,1 | | | |
| | 121,1 | | | |
| | 123,4 | | | |
| 8 menit | 135,0 | 126,366 | 1,4003 | 0,0104 |
| | 139,6 | | | |
| | 135,6 | | | |
| | 116,0 | | | |
| | 115,7 | | | |
| | 116,3 | | | |
| 12 menit | 112,7 | 102,90 | 0,6144 | 0,0060 |
| | 113,6 | | | |
| | 112,5 | | | |
| | 92,4 | | | |
| | 93,6 | | | |
| | 92,6 | | | |

Optimasi (2)

| Jumlah Durasi | Ukuran Partikel | Rata-rata | SD | RSD |
|---------------|-----------------|-----------|--------|--------|
| 4 menit | 141,6 | 141,50 | 0,1000 | 0,0007 |
| | 141,4 | | | |
| | 141,5 | | | |
| 6 menit | 132,9 | 131,13 | 1,5307 | 0,0116 |
| | 130,2 | | | |
| | 130,3 | | | |
| 8 menit | 97,7 | 98,33 | 0,8504 | 0,0086 |
| | 99,3 | | | |
| | 98,0 | | | |
| 12 menit | 83,7 | 83,43 | 0,5507 | 0,0066 |
| | 83,8 | | | |
| | 82,8 | | | |

Lampiran 3. Hasil Perhitungan Indeks Polidispersitas dari berbagai variasi durasi menggunakan *Particle Size of Analyzer*

Optimasi (1) gabungan hari ke-1 dan hari ke-30

| Jumlah Durasi | PI | Rata-rata | SD | RSD |
|---------------|-------|-----------|--------|--------|
| 4 menit | 0,440 | 0,3440 | 0,0524 | 0,1826 |
| | 0,495 | | | |
| | 0,420 | | | |
| | 0,288 | | | |
| | 0,259 | | | |
| | 0,162 | | | |
| 6 menit | 0,235 | 0,3405 | 0,7761 | 0,0636 |
| | 0,215 | | | |
| | 0,192 | | | |
| | 0,477 | | | |
| | 0,453 | | | |
| | 0,471 | | | |
| 8 menit | 0,409 | 0,3556 | 0,0492 | 0,2792 |
| | 0,284 | | | |
| | 0,347 | | | |
| | 0,402 | | | |
| | 0,330 | | | |
| | 0,362 | | | |
| 12 menit | 0,190 | 0,3663 | 0,0379 | 0,1342 |
| | 0,294 | | | |
| | 0,308 | | | |
| | 0,478 | | | |
| | 0,472 | | | |
| | 0,456 | | | |

Optimasi (2)

| Jumlah Durasi | PI | Rata-rata | SD | RSD |
|---------------|-------|-----------|--------|--------|
| 4 menit | 0,340 | 0,375 | 0,0535 | 0,1427 |
| | 0,349 | | | |
| | 0,437 | | | |
| 6 menit | 0,246 | 0,288 | 0,0491 | 0,1705 |
| | 0,342 | | | |
| | 0,276 | | | |
| 8 menit | 0,475 | 0,439 | 0,0375 | 0,0856 |
| | 0,400 | | | |
| | 0,441 | | | |
| 12 menit | 0,341 | 0,334 | 0,0075 | 0,0226 |
| | 0,326 | | | |
| | 0,335 | | | |

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Zeta Potensial dari berbagai variasi durasi menggunakan *Zeta sizer*

| Jumlah Durasi | Zeta Potensial | Rata-rata | SD | RSD |
|---------------|----------------|-----------|--------|---------|
| 4 menit | -27,3 | -27,533 | 0,4932 | -0,0179 |
| | -28,1 | | | |
| | -27,2 | | | |
| 6 menit | -26,1 | -26,467 | 0,4725 | -0,0178 |
| | -27,0 | | | |
| | -26,3 | | | |
| 8 menit | -18,9 | -18,833 | 0,3055 | -0,0162 |
| | -19,1 | | | |
| | -18,5 | | | |
| 12 menit | -17,2 | -17,333 | 0,3214 | -0,0185 |
| | -17,7 | | | |
| | -17,1 | | | |

Lampiran 5. Certificate of Analysis 3-O-Ethyl-Ascorbic Acid

CORUM

Advance through Knowledge

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT: Et-VC™

BATCH NUMBER: NT022515

CHARACTERISTICS

Appearance White crystalline powder
 Odour Characteristic

SPECIFICATIONS

| | RESULTS | MIN | MAX |
|------------------------|----------------|------------------|------------|
| Purity by HPLC (area%) | 99.98 | 99.00 | |
| Loss on drying (%) | 0.10 | | 1.00 |
| PH (3% aq) | 4.31 | 3.50 | 5.00 |
| Heavy metal | Pass | Less than 20 ppm | |

Product meet specifications

Manufacturing Date : 29/Oct/2014

Retest Date : 29/Oct/2016

Quality Department