

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL *POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID* (PLGA) PEMBAWA ASCORBYL PALMITATE (AP)**

**SKRIPSI**



Oleh:

**SYARIF MUHAMMAD FURKAN**

**12613044**

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

**2017**

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL *POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID* (PLGA) PEMBAWA *ASCORBYL PALMITATE* (AP)**

**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



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

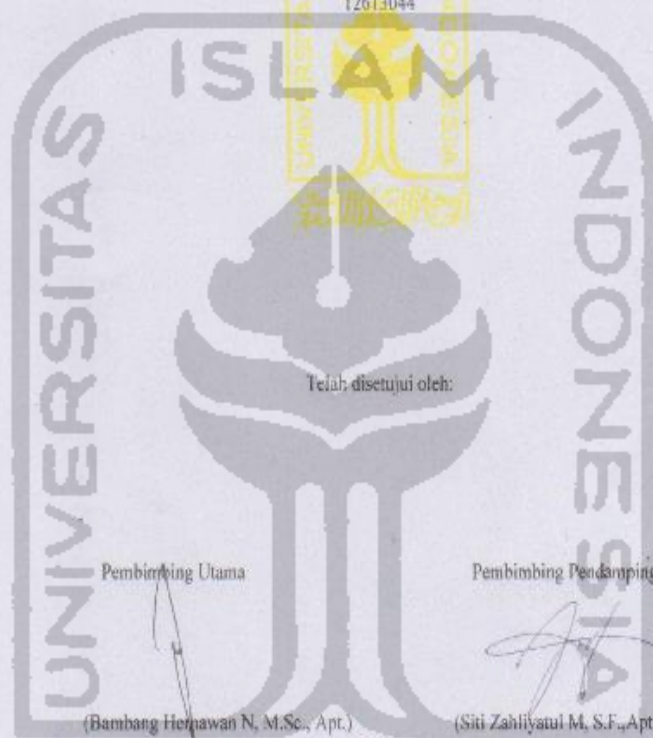
**2017**

SKRIPSI  
PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL *POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID* (PLGA) PEMBAWA  
*ASCORBYL PALMITATE* (AP)

Yang diajukan oleh:

SYARIF MUHAMMAD FURKAN

12613044



وَاللَّهُمَّ صَلِّ وَسَلِّمْ وَبَارِكْ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ

SKRIPSI

PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL *POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID* PLGA (PLGA) PEMBAWA *ASCORBYL PALMITATE* (AP)

oleh:

SYARIF MUHAMMAD FURKAN

12613044

Telah lulus uji etik penelitian  
dan dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 2017

Ketua Penguji : Bambang Homawan Nugroho, M.Sc., Apt

Anggota Penguji : 1. Siti Zahliyatul M. S.F., Apt.

2. Oktavia Indri, M.Sc., Apt

3. Lutfi Chabib, M.Sc., Apt.

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia



Drs. Brijwan M.Sc., Ph.D

iv

#### PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi 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.



Yogyakarta, 6 April 2017

Penulis,



Syarif Muhammad Furkan



## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia yang diberikan, sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi saya yang berjudul **Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel *Poly Lactic-co-Glycolic Acid* (PLGA) Sebagai Pembawa *Ascorbyl Palmiate* (AP)**. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua saya yang selalu memberikan dukungan dan doa untuk kesuksesan dalam menyelesaikan skripsi ini;
2. Bapak Bambang Hernawan Nugroho, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Siti Zahliyatul M, S.P., Apt selaku dosen pembimbing pendamping atas bimbingan, masukan, dorongan, dan nasihat yang sangat penulis butuhkan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini;
3. Ibu Dra Suparni M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberi nasihat hingga saat ini;
4. Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt selaku Ketua Program Studi Farmasi FMIPA UII;
5. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia;
6. Bapak Hartanto dan Mas Angga (Laboran Teknologi Sediaan Farmasi), yang telah banyak membantu selama melaksanakan penelitian;
7. Sahabat seperjuangan uul serta teman - teman Injectio dan parapenceliti di laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi, terimakasih atas ilmu dan bantuannya. Segegap civitas akademika dan berbagai pihak yang telah

8. banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berdoa semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan diberikan keberkahan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun penulis terima dengan segala kerendahan hati. Penulis mohon maaf jika terdapat kekhilafan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat dan dapat digunakan oleh berbagai pihak yang berkepentingan serta berguna bagi ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Yogyakarta, 6 April 2017

Penulis,



Syarif Muhammad Furkan



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
INTISARI.....	xi
ABSTRAK.....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar belakang masalah.....	1
1.2 Perumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian .....	3
1.4 Manfaat penelitian .....	3
<b>BAB II SUDI PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Tinjauan pustaka .....	4
2.1.1 Nanopartikel.....	4
2.1.2 Pembuatan nanopartikel.....	4
2.1.3 Metode <i>solvent evaporation</i> .....	5
2.1.4 Karakterisasi nanopartikel.....	5
2.1.4.1 Ukuran Partikel dan Nilai Indeks Polidispersitas .....	6
2.1.4.2 Pengujian morfologi nanopartikel .....	6
2.1.5 Uji stabilitas.....	6
2.1.6 Zeta potensial .....	7
2.1.7 <i>Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA)</i> .....	8
2.1.8 <i>Polyvinyl Alcohol (PVA)</i> .....	9
2.1.9 Kitosan.....	10
2.1.10 Etil asetat .....	11



2.1.11 <i>Ascorbyl palmitate</i> .....	12
2.2 Landasan teori .....	12
2.3 Hipotesis.....	14
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1 Bahan dan alat .....	15
3.1.1 Bahan .....	15
3.1.2 Alat.....	15
3.2 Cara penelitian .....	15
3.2.1 Sistematika penelitian .....	15
3.2.2 Pembuatan larutan stok PLGA.....	15
3.2.3 Pembuatan larutan stok PVA 1% 2,5% dan 5% .....	16
3.2.4 Pembuatan larutan kitosan .....	16
3.2.5 Pembuatan nanopartikel .....	17
3.2.6 Pengujian organoleptis .....	17
3.2.7 Penentuan ukuran partikel.....	17
3.2.8 Penentuan nilai zeta potensial .....	17
3.2.9 Penentuan morfologi nanopartikel .....	18
3.2.10 Pengujian stabilitas fisik .....	18
3.3 Analisis hasil .....	19
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>20</b>
4.1 Organoleptis nanopartikel PLGA-AP .....	20
4.2. Ukuran partikel .....	21
4.3 Nilai zeta potensial.....	23
4.4 Morfologi nanopartikel .....	25
4.5 Stabilitas fisik.....	25
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>28</b>
5.1 Kesimpulan .....	29
5.2 Saran.....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>29</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>32</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Struktur kimia PLGA .....	8
<b>Gambar 2.2</b> Struktur kimia <i>Polivinil Alkohol</i> .....	9
<b>Gambar 2.3</b> Struktur kimia kitosan .....	10
<b>Gambar 2.4</b> Struktur kimia <i>Etil Asetat</i> .....	11
<b>Gambar 2.5</b> Struktur kimia <i>Ascorbyl Palmitate</i> .....	12
<b>Gambar 3.1</b> Skema kerja penelitian.....	16
<b>Gambar 4.1</b> Hasil formulasi nanopartikel .....	20
<b>Gambar 4.2</b> Kurva Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel dengan Jumlah PVA 1 g.....	21
<b>Gambar 4.3.</b> Kurva Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel dengan Jumlah PVA 2,5 g.....	21
<b>Gambar 4.4</b> Kurva Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel dengan Jumlah PVA 5 g.....	22
<b>Gambar 4.5</b> Hasil Observasi Morfologi Partikel Nano Menggunakan <i>Transmission Electron Microscopy</i> .....	25
<b>Gambar 4.6</b> Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel PLGA-AP dengan ukuran partikel.....	26

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 3.1</b> Pembuatan nanopartikel .....	18
<b>Tabel 4.1</b> Nilai Ukuran Globul dan Indeks Polidispersitas Nanopartikel PLGA-AP .....	22
<b>Tabel 4.2</b> Nilai Zeta Potensial dan Konduktivitas Nanopartikel PLGA-AP .....	25
<b>Tabel 4.3</b> Nilai Ukuran Globul dan Indeks Polidispersitas .....	28



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b> Hasil pembacaan ukuran partikel menggunakan PSA pada formula nanopartikel PVA 1 g .....	32
<b>Lampiran 2</b> Hasil pembacaan ukuran partikel menggunakan PSA Pada Formula Nanopartikel PVA 2,5 g .....	33
<b>Lampiran 3</b> Hasil pembacaan ukuran partikel menggunakan PSA pada formula nanopartikel PVA 5 g .....	34
<b>Lampiran 4</b> Hasil pembacaan nilai zeta potensial menggunakan PSA pada formula nanopartikel PVA 1 g .....	35
<b>Lampiran 5</b> Hasil pembacaan nilai zeta potensial menggunakan PSA pada formula nanopartikel PVA 2,5 g .....	36
<b>Lampiran 6</b> Hasil pembacaan nilai zeta potensial menggunakan PSA pada formula nanopartikel PVA 5 g .....	37
<b>Lampiran 7</b> Gambar <i>Particle Size analyzer Horiba SZ-100</i> .....	38
<b>Lampiran 8</b> Gambar <i>Tranmision Electron Microscopy</i> (TEM) JEM-1010EX .....	39

# **PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL *POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID* (PLGA) PEMBAWA *ASCORBYL PALMITATE* (AP)**

**SYARIF MUHAMMAD FURKAN**  
**Program Studi Farmasi**  
**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**  
**Universitas Islam Indonesia**

## **INTISARI**

*Ascorbyl palmitate* (AP) adalah salah satu turunan vitamin C yang tergolong vitamin C ester yang larut dalam lemak. AP memiliki tingkat antioksidasi yang tinggi, Namun kelemahan dari AP adalah memiliki sifat reduktor kuat atau mudah teroksidasi. Hal ini yang menjadi dasar pertimbangan untuk memformulasikan suatu sistem pengantaran obat yang cepat dan tetarget yang dapat melindungi dan meningkatkan kemampuan penetrasi obat, nanopartikel PLGA yang telah banyak diaplikasikan dalam beberapa formulasi sediaan topikal dengan pengembangan nanosfer dan nanoenkapsulasi. Penelitian ini bertujuan untuk membuat formulasi, mengkarakterisasikan dan mengetahui stabilitas fisik nanopartikel PLGA-AP. Metode preparasi yang digunakan adalah metode *solvent evaporation*. Formula nanopartikel PLGA-AP dibuat dengan variasi jumlah *polyvinyl alcohol* (PVA) 1%, 2,5%, dan 5%. Karakterisasi nanopartikel PLGA-AP dilakukan dengan menentukan ukuran partikel, nilai indeks polidispersitas (PDI), serta pengujian morfologi nanopartikel. Uji kestabilan produk dilakukan pada suhu 25<sup>0</sup> C selama 14 hari penyimpanan. Dari data yang dihasilkan, didapatkan ukuran partikel pada PVA 1, 2,5 dan 5 % masing masing sebesar 429,9 nm, 307,0 nm dan 299,7 nm dan didapatkan nilai indeks polidispersitas masing masing sebesar 0,585, 0,390 dan 0,437 serta memiliki bentuk ukuran partikel yang kurang sferis dan memiliki distribusi ukuran partikel yang monodisper. Hasil uji stabilitas menunjukkan formula dengan konsentrasi PVA 1 % dinyatakan paling stabil dengan perubahan ukuran partikel yang paling kecil. Dapat disimpulkan bahwa penambahan variasi PVA (1-5%) nanopartikel PLGA-AP dapat menurunkan ukuran nanopartikel, namun tidak meningkatkan kestabilan.

**Kata Kunci** : nanopartikel, PLGA, *ascorbyl palmitat*



**PREPARATION AND CHARACTERIZATION *POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID (PLGA) NANOPARTICLES AS ASCORBYL PALMITATE (AP) CARRIER***

**SYARIF MUHAMMAD FURKAN**  
**Departement of Pharmacy**  
**Faculty of Mathematic and Natural Science**  
**Islamic University of Indonesia**

**ABSTRACT**

*Ascorbyl palmitate (AP)* is a derivative of vitamin C that classified as vitamin C ester that fat soluble. The AP has a high antioxidant levels, but has strong reducing agent properties or easily be oxidized. It is important to formulate the drug into fast and targeted drug delivery system, that can protect the drug and enhance the penetration. PLGA nanoparticles have been widely used for topical delivery with nanosphere and nanoencapsulation development. The aims of this research are to prepare, characterize and investigate the physical stability of the PLGA loaded AP (PLGA-AP) nanoparticles. PLGA-AP nanoparticles were prepared by *solvent evaporation* method, with variations of *polyvinyl alcohol* PVA at 1%, 2,5% and 5%. PLGA-AP nanoparticle characterization was done by determining the particle size, the value of polydispersity index (PDI), as well as testing the morphology by TEM determination. Stability testing was performed at a temperature of 25<sup>0</sup> C for 14 days of storage. From the resulting data, particle size PLGA-AP nanoparticles with PVA 1, 2,5 and 5% each of 429.9 nm, 307.0 nm and 299.7 nm and polydispersity index values are 0.585, 0.437, 0.390, respectively, TEM determination shows slightly spherical shape of nanoparticles. Stability test indicates that PLGA-AP with PVA 1% by the most stable than PLGA-AP with PVA 2,5 % and 5% since there is no significantly different of particle size during storage (14 days). It can be concluded that PVA (1-5%) PLGA-AP nanoparticles can lower nanoparticles size, but does not improve the stability.

**Key words** : nanoparticles, PLGA, *ascorbyl palmitate*

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang Masalah

Kosmetik berasal dari kata Yunani “*kosmetikos*” yang berarti ketrampilan menghias, mengatur. Defenisi kosmetik adalah setiap bahan atau sediaan dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik<sup>(1)</sup>. Sediaan topikal sering digunakan dalam kosmetika untuk memformulasi suatu sediaan obat yang terdiri dari vehikulum (bahan pembawa) dan zat aktif. Saat ini, banyaknya sediaan topikal yang tersedia ditujukan untuk mendapat efikasi maksimal zat aktif obat dan menyediakan alternatif pilihan bentuk sediaan yang terbaik<sup>(2)</sup>. Vehikulum atau bahan pembawa sangat mempengaruhi proses absorpsi obat pada kulit. Maka dari itu perlu suatu sistem penghantaran yang dapat mempercepat dan melindungi zat aktif pada proses absorpsi agar dapat

Nanopartikel dalam penghantaran obat dimanfaatkan dalam menghasilkan penghantaran obat tertarget meningkatkan bioavailabilitas dan pelepasan obat terkendali dan pelarutan obat ada penghantaran sistemik. Oleh sebab itu nanopartikel dapat diaplikasikan dalam penghantaran obat tertarget, penghantaran peptide dan aplikasi dalam penghantaran obat topikal<sup>(3,4)</sup>. Beberapa contoh nanopartikel telah diaplikasikan dalam beberapa formulasi adalah *PolyLactic-co-Glycolic Acid* (PLGA) dengan pengembangan nanosfer dan nanoenkapsulasi yang keduanya sama-sama memiliki keunggulan, sebagai contoh formulasi dalam bentuk nanoenkapsulasi memberi keuntungan yakni dapat menurunkan potensi efek samping obat dan memiliki karakteristik degradasi yang menguntungkan dan dapat mempertahankan terapi obat di lokasi target dalam waktu yang lama<sup>(5)</sup>.

Vitamin C saat ini sering menjadi pilihan dalam bidang kecantikan khususnya sediaan kosmetik. Salah satu turunan vitamin C adalah *ascorbyl palmitate* (AP), AP termasuk vitamin C ester yang memiliki keunggulan yaitu bersifat amphipatic molekul atau mempunyai dua kelarutan yaitu larut dalam air

dan larut dalam lemak sehingga memudahkan ia masuk ke dalam membrane sel, dan sisi lain AP sangat direkomendasikan dalam penggunaan sediaan kosmetik atau sediaan topikal karena AP memiliki kadar antioksidan yang tinggi sebagai anti penuaan<sup>(6)</sup>. Secara keseluruhan vitamin C mempunyai sifat reduktor kuat yang sangat mudah terjadi reaksi oksidasi secara cepat dengan adanya panas, sinar, alkali, enzim, oksidator, serta oleh katalis tembaga dan besi<sup>(6)</sup>. Oleh sebab itu dibutuhkan suatu formulasi yang memiliki sistem penghantaran yang dapat melindungi dan meningkatkan kemampuan zat aktif secara cepat dan tertarget dalam hal ini nanopartikel.

Untuk mengetahui kualitas nanopartikel yang dihasilkan, dilakukan karakterisasi secara menyeluruh, Karakterisasi nanopartikel meliputi evaluasi ukuran partikel dan morfologi. Dengan kombinasi PVA dapat berperan untuk mengontrol ukuran nanopartikel dan dapat meningkatkan stabilitas dari sediaan yang dibuat, karena PVA dapat digunakan sebagai *stabilizer*<sup>(7)</sup>. Variasi PVA sengaja diberikan untuk mengetahui karakteristik nanopartikel yang dihasilkan karena PVA sendiri bersifat sebagai agent penstabil atau stabilator dalam formulasi. Kitosan juga bisa ditambahkan untuk menjaga kestabilan formulasi nanopartikel, kelebihan kitosan yang bersifat *mucoadhesive* dan *biodegradable* sering diarahkan dalam aplikasi industri untuk menghasilkan produk yang bernilai tinggi seperti kosmetik, bahan pembawa obat bahan tambahan makanan, bahan *semipermeable* dan farmasi<sup>(8)</sup>. Dan terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas produk farmasi yaitu; stabilitas dari bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dan bahan tambahan, proses pembuatan, proses pengemasan, dan kondisi lingkungan selama pengangkutan, penyimpanan dan penanganan, dan jangka waktu produk antara pembuatan hingga pemakaian<sup>(9)</sup>. Maka dari itu perlu dilakukan uji stabilitas fisik untuk melihat kemampuan suatu produk bertahan pada batas yang ditetapkan.

Pada penelitian ini dilakukan preparasi nanopartikel dengan zat aktif AP dengan menggunakan metode *solvent evaporation*, metode *solvent evaporation* digunakan karena sesuai dengan karakter fisikokimia dari polimer dan obat yang digunakan. Selain itu dilakukan karakterisasi nanopartikel dengan zat aktif AP, nanopartikel dibentuk menggunakan PLGA sebagai polimer dan PVA sebagai

agen stabilator. Untuk mengetahui tingkat kestabilan produk dilakukan uji stabilitas fisik pada suhu 25<sup>0</sup> C selama 14 hari penyimpanan dengan melihat perubahan pada ukuran partikel.

### **1.2 Perumusan masalah**

1. Bagaimana preparasi AP menggunakan metode *solvent evaporation* dalam formulasi PLGA nanopartikel?
2. Bagaimana karakter nanopartikel PLGA-AP yang dihasilkan?
3. Bagaimana stabilitas fisik nanopartikel PLGA-AP selama 14 hari penyimpanan pada suhu 25<sup>0</sup>C?

### **1.3 Tujuan penelitian**

1. Mengetahui preparasi AP dengan menggunakan metode *solvent evaporation* dalam formulasi PLGA nanopartikel.
2. Mengetahui karakter nanopartikel PLGA-AP yang dihasilkan.
3. Mengetahui stabilitas fisik nanopartikel PLGA-AP selama 14 hari penyimpanan pada suhu 25<sup>0</sup>C.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Bagi perguruan tinggi hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dokumen akademik yang berguna untuk dijadikan acuan bagi sivitas akademik.
2. Bagi mahasiswa diharapkan penelitian ini dapat menambah pengetahuan terutama tentang formulasi nanopartikel polimer sehingga dapat dijadikan sebagai acuan untuk zata ktif lainnya.
3. Bagi industri farmasi, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan produk baru berupa sediaan nanopartikel PLGA-AP.

## BAB II

### 2.1 TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1.1 Nanopartikel

Nanopartikel merupakan struktur koloidal berukuran nanometer yang terdiri dari polimer sintesis atau semisintesis dengan rentang ukuran 1-1000 nm. Berdasarkan metode pembuatannya, dapat diperoleh nanosfer atau nanokapsul yang didalamnya terdapat obat baik dengan cara dilarutkan dijerat, dikapsulasi atau diikat pada matrik nanopartikel<sup>(10)</sup>.

Nanopartikel polimerik meliputi nanokapsul dan nanosfer, nanokapsul terdiri atas polimer yang membentuk dinding yang melingkupi inti dalam tempat dimana senyawa obat dijerat. Nanosfer dibuat dari matrik polimer padat dan didalamnya terdispersi senyawa obat<sup>(11)</sup>. Polimer sintesis yang biasa digunakan sebagai bahan untuk nanopartikel polimerik antara lain poli asam laktat (PLA), poli (asam glikolat) (PGA), poli (asam laktat-glikolat) (PLGA), poli (metilmetakrilat) (PMMA), poli (alkilsianoakrilat) (PACA), dan poli (metildenmanolat) (PMM). Beberapa polimer alam juga digunakan sebagai bahan dasar pembuatan nanopartikel polimerik. Polimer alam tersebut antara lain kitosan, gelatin, albumin, natrium aligant<sup>(13,14)</sup>.

#### 2.1.2 Pembuatan Nanopartikel

Sifat fisikokimia dari partikel sangat mempengaruhi tingkat absorpsi dalam saluran cerna dan sifat tersebut dipengaruhi oleh metode pembuatan nanopartikel polimerik. Secara umum nanopartikel dibuat dengan dua metode, yaitu polimerisasi monomer sintesis, dan dispersi polimer sintesis atau makromolekul alam. Pembuatan nanopartikel dengan reaksi polimerisasi telah berkembang untuk polimer seperti poli (metilmetakrilat) (PMMA), poli (alkilsianoakrilat) (PACA) dan poli (metildenmanolat) (PMM). Pada dasarnya, monomer yang tidak larut air didispersikan dalam fase air kemudian polimerisasi diinduksi dan dikendalikan dengan penambahan inisiator kimia atau dengan variasi dalam parameter fisik seperti PH, penggunaan radiasi sinar  $\gamma$  dan surfaktan sebagai penstabil senyawa obat akan terjat di dalam dinding polimer ketika ditambahkan ke dalam medium polimerisasi atau di adsorpsi pada permukaan partikel yang sudah terbentuk<sup>(15)</sup>.



Pemilihan metode pembuatan nanopartikel bergantung dengan karakter fisikokimia dari polimer dan obat yang akan dimasukkan. Adapun metode yang telah dilakukan adalah metode *double emulsion* dan evaporasi serta *solvent evaporation*<sup>(15)</sup>.

### **2.1.3 Metode Solvent Evaporation (Penguapan Pelarut)**

Merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan untuk preparasi nanopartikel. Dalam metode ini, larutan polimer disiapkan dalam pelarut yang mudah menguap dan emulsi yang telah diformulasikan. Di masa lalu, polimer diklorometana dan kloroform yang banyak digunakan, namun sekarang diganti dengan etil asetat yang memiliki profil toksikologi yang lebih baik. Metode ini memanfaatkan *high-speed* homogenisasi atau ultrasonikasi, diikuti oleh penguapan pelarut, baik dengan pengadukan magnetik terus menerus pada suhu kamar atau pada tekanan rendah. Disiapkan PLGA nanopartikel sekitar 200 nm dengan memanfaatkan diklorometana 1,0% (b/v) sebagai pelarut dan PVA atau Span 40 sebagai stabilizing agent. Atau bisa juga dengan disiapkan PLGA nanopartikel dengan ukuran partikel 60-200 nm dengan menggunakan diklorometana dan aseton (8:2, v/v) sebagai sistem pelarut dan PVA sebagai stabilizing agent. Ukuran partikel yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi stabilizing agent, kecepatan homogenizer dan konsentrasi polimer. Untuk menghasilkan ukuran partikel kecil, sering digunakan homogenisasi berkecepatan tinggi atau ultrasonikasi<sup>(16)</sup>.

### **2.1.4 Karakterisasi Nanopartikel**

Berbagai sediaan nanopartikel yang telah dibuat dilakukan evaluasi untuk menentukan karakteristik nanopartikel yang telah terbentuk. Karakterisasi yang dilakukan umumnya adalah menentukan ukuran partikel, nilai indeks (PDI), serta pengujian morfologi nanopartikel<sup>(17)</sup>.

#### **2.1.4.1 Ukuran Partikel dan Nilai Indeks Polidispersitas (PDI)**

Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan metode *dynamic light scattering* (DLS) pada alat *particle size analyzer* (PSA). PSA merupakan alat yang mampu mengukur distribusi ukuran partikel. PSA dapat digunakan untuk menganalisis partikel suatu sampel yang bertujuan menentukan ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel dari sampel. Ukuran partikel dapat dinyatakan dalam jari-jari untuk partikel yang berbentuk bola. Penentuan ukuran dan distribusi ukuran partikel menggunakan PSA dapat dilakukan dengan beberapa cara. Pertama, dengan difraksi sinar laser untuk partikel dari ukuran submikron sampai dengan milimeter. Kedua, *counter principle* untuk mengukur dan menghitung partikel berukuran mikron sampai milimeter. Terakhir, dengan penghamburan sinar untuk mengukur partikel yang berukuran mikron sampai dengan nanometer<sup>(18)</sup>.

#### **2.1.4.2 Pengujian Morfologi Nanopartikel**

Pengujian morfologi dilakukan untuk melihat bentuk dan ukuran dari nanopartikel. Karakterisasi bentuk dan ukuran dari nanopartikel dapat dilakukan dengan menggunakan alat *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Prinsip kerja dari TEM adalah elektron ditembakkan dari *electron gun* yang kemudian melewati oleh dua lensa kondenser yang berguna menguatkan dari elektron yang ditembakkan. Setelah melewati dua lensa kondenser elektron diterima oleh spesimen yang tipis dan berinteraksi, karena spesimen tipis maka elektron yang berinteraksi dengan spesimen diteruskan pada tiga lensa yaitu lensa objektif, lensa intermediet dan lensa proyektor. Lensa objektif merupakan lensa utama dari TEM karena batas penyimpangannya membatasi dari resolusi mikroskop, lensa intermediet sebagai penguat dari lensa objektif dan untuk lensa proyektor gunanya 11 untuk menggambarkan pada layar *fluorescent* yang ditangkap film fotografi atau kamera CCD<sup>(19)</sup>.

#### **2.1.5 Uji Stabilitas**

Stabilitas produk farmasi sering digunakan untuk menerapkan kemampuan suatu produk untuk bertahan dalam batas yang ditetapkan dengan syarat, saat

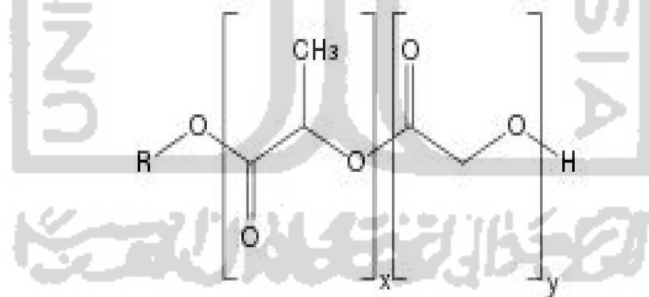
penyimpanan dan penggunaan serta sifat dan karakteristiknya sama dengan pada saat dibuat dalam beberapa periode. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas produk farmasi yaitu; stabilitas dari bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dan bahan tambahan, proses pembuatan, proses pengemasan, dan kondisi lingkungan selama pengangkutan, penyimpanan dan penanganan, dan jangka waktu produk antara pembuatan hingga pemakaian<sup>(9)</sup>. Stabilitas produk obat dibagi menjadi dua yaitu, stabilitas secara kimia dan stabilitas secara fisika. Stabilitas fisika adalah lamanya waktu suatu obat untuk mempertahankan sifat fisika dari suatu produk pada beberapa waktu periode penyimpanan. Contoh dari perubahan fisika antara lain perubahan warna, perubahan rasa, perubahan bau, perubahan tekstur atau penampilan. Evaluasi dari uji stabilitas fisika meliputi: pemeriksaan organoleptis, homogenitas, pH, bobot jenis. Sedangkan stabilitas kimia suatu obat adalah lamanya waktu suatu obat untuk mempertahankan integritas kimia dan potensinya seperti yang tercantum pada etiket dalam batas waktu yang ditentukan. Secara reaksi kimia zat aktif dapat terurai karena beberapa faktor diantaranya yaitu oksigen (oksidasi), air (hidrolisa), suhu (oksidasi), cahaya (fotolisis), karbon dioksida (turunnya pH larutan), dan ion logam sebagai katalisator reaksi oksidasi<sup>(7)</sup>.

#### **2.1.6 Zeta Potensial**

Zeta potensial adalah perbedaan potensial antara permukaan lapisan ion-ion yang terikat kuat pada permukaan zat padat dan bagian elktroneutral dari larutan. Penentuan nilai zeta potensial dilakukan untuk mengetahui muatan dari partikel yang dihasilkan. Muatan dari suatu partikel penting untuk ditentukan agar dapat diketahui interaksi elektrostatik dengan komponen bioaktif. Penentuan nilai zeta potensial dilakukan untuk memprediksi stabilitas penyimpanan dari sediaan. Zeta potensial adalah istilah ilmiah untuk elektrokinetik potensial dalam sistem koloid, dimana zeta potensial merupakan perbedaan potensial antara permukaan lapisan ion-ion yang terikat kuat pada permukaan zat padat dan bagian *electroneutral* dari larutan<sup>(20)</sup>. Muatan listrik yang tinggi pada permukaan nanopartikel akan mencegah agregasi dari nanopartikel tersebut karena kuatnya gaya tolak menolak antar partikel<sup>(21)</sup>.

### 2.1.7 Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA)

Polyester PLGA adalah kopolimer dari *poly lactic acid* (PLA) dan *poly glycolic acid* (PGA). Bentuk-bentuk entautomer dari polimer PLA adalah *poly D-lactic acid* (PDLA) dan *poly L-lactic acid* (PLLA). PLGA adalah singkatan dari asam poli D, L-laktat co-glikolat di mana bentuk asam laktat D- dan L- dalam rasio yang sama<sup>(16)</sup>. Secara umum, PLA polimer dapat dibuat dalam bentuk kristal (PLLA) atau sepenuhnya amorf (PDLA) karena memiliki rantai polimer yang teratur. Kelarutan dari PLGA yaitu larut di dalam diklorometan, etil asetat, kloroform, hexafluoro isopropanol, dan aseton, serta tidak larut di dalam air. Dalam air, PLGA akan terdegradasi oleh hidrolisis ikatan ester. Adanya gugus metil di PLA membuatnya lebih hidrofobik dari PGA dan juga karena memiliki banyak laktida sehingga menyebabkan kopolimer PLGA kurang hidrofilik. Efek dari sifat polimer pada tingkat pelepasan obat dari matriks polimer biodegradable telah banyak dipelajari. Perubahan sifat PLGA selama biodegradasi polimer mempengaruhi pelepasan dan degradasi molekul obat yang dimasukkan. Sifat fisik PLGA tergantung pada beberapa faktor, termasuk berat molekul awal, jumlah rasio laktida pada glikolida, paparan air (bentuk permukaan) dan suhu penyimpanan<sup>(22)</sup>.

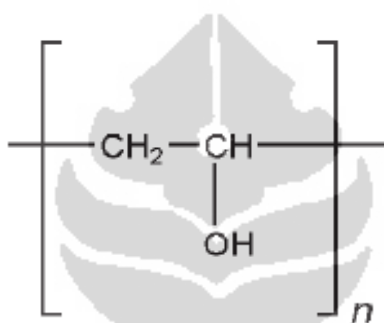


**Gambar 2.1** Struktur kimia PLGA<sup>(5)</sup>.

Banyak penelitian yang telah dilakukan pada pemberian obat menggunakan polimer *biodegradable*. Di antara semua biomaterial, penerapan polimer *biodegradable* PLGA telah menunjukkan potensi besar sebagai pembawa dalam pengiriman obat menuju lokasi. PLGA telah disetujui FDA sebagai polimer *biodegradable* yang memiliki sifat fisik kuat dan sangat biokompatibel dan telah dipelajari secara ekstensif sebagai pembawa dalam pengiriman untuk obat, protein

dan berbagai makromolekul lain seperti DNA, RNA dan peptida. PLGA sering digunakan sebagai polimer *biodegradable* karena memiliki karakteristik degradasi yang menguntungkan dan dapat mempertahankan terapi obat di lokasi target dalam waktu yang lama. Dalam penelitian terbaru menunjukkan bahwa degradasi PLGA dapat digunakan untuk pelepasan obat yang lama pada dosis yang diinginkan pada implantasi tanpa prosedur bedah<sup>(23)</sup>. Nanopartikel PLGA telah diaplikasikan dalam beberapa formulasi dengan pengembangan nanosfer dan nanoenkapsulasi. Formulasi dalam bentuk nanoenkapsulasi memberi keuntungan yakni dapat menurunkan potensi efek samping<sup>(5)</sup>.

### 2.1.8 Polyvinyl Alcohol (PVA)



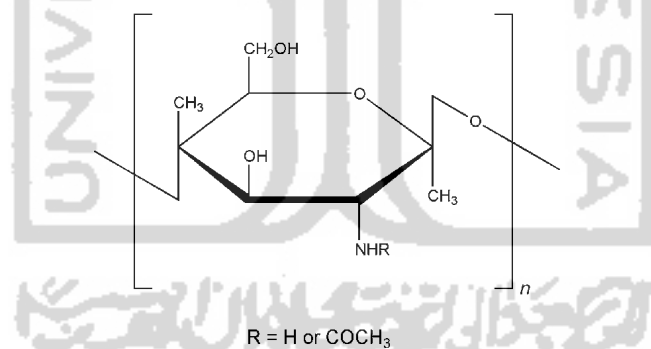
**Gambar 2.2.** Struktur kimia polivinil alkohol<sup>(24)</sup>.

Polivinil alkohol merupakan senyawa polimer sintetik dengan rumus molekul  $(C_2H_4O)_n$ . Nilai  $n$  untuk bahan yang tersedia secara komersial terletak diantara 500-5000, yang setara dengan berat molekul sekitar 20.000-200.000. Polivinil alkohol memiliki karakteristik berupa zat yang tidak berbau dengan warna bubuk granul putih hingga krem. PVA larut dalam air, sedikit larut dalam etanol (95%), dan tidak larut dalam pelarut organik. PVA stabil bila disimpan dalam wadah tertutup rapat di tempat yang sejuk dan kering. Pengawet dapat ditambahkan di dalam larutan untuk penyimpanan jangka panjang. Polivinil alkohol mengalami degradasi lambat pada suhu  $100^0$  C dan degradasi cepat pada suhu  $200^0$  C. Polivinil alkohol mengalami reaksi khas pada senyawa dengan gugus hidroksi sekunder seperti esterifikasi<sup>(24)</sup>.



Dalam bidang farmasi, PVA digunakan pada sediaan topikal dan formulasi tetes mata. PVA dapat digunakan sebagai agen untuk menstabilkan sediaan emulsi (0,25-3,0% w/v). Polivinil alkohol juga digunakan sebagai agen untuk meningkatkan viskositas pada formulasi kental seperti sediaan tetes mata. PVA digunakan dalam air mata buatan dan larutan pada sebagai pelumas, dalam formulasi lepas lambat untuk pemberian oral, dan di patch transdermal. PVA umumnya dianggap sebagai bahan non toksik. Bahan ini tidak mengiritasi kulit dan mata jika digunakan pada konsentrasi hingga 10%; dan konsentrasi sampai 7% digunakan dalam kosmetik. Dari studi penelitian dinyatakan bahwa nanopartikel PLGA dengan kombinasi PVA berperan untuk mengontrol ukuran nanopartikel dan dapat meningkatkan stabilitas dari sediaan yang dibuat, karena PVA dapat digunakan sebagai stabilizer. PVA juga mempengaruhi ukuran dari 14 partikel, ukuran partikel akan semakin kecil seiring dengan meningkatnya konsentrasi dari PVA<sup>(24,7,25)</sup>.

### 2.1.9 Kitosan



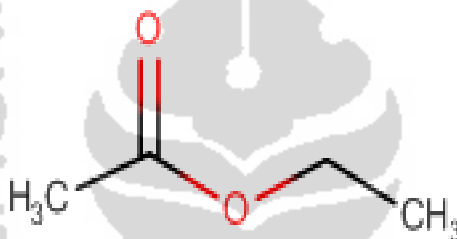
**Gambar 2.3.** Struktur kimia kitosan<sup>(24)</sup>.

Kitosan merupakan poliamina kationik dengan densitas muatan yang tinggi pada pH <6,5, memiliki karakteristik berupa serbuk tidak berbau dan berwarna putih. Kitosan merupakan polimer yang *biokompatibel* dan *biodegradable*. Selain itu, kitosan memiliki karakter unik sebagai polimer, yakni bersifat mukoadhesif atau dapat melekat pada permukaan mukosa. Karakteristik ini diakibatkan oleh interaksi ionik antara gugus ammonium kuartener kitosan dengan permukaan

mukus yang bermuatan negatif. Obat akan berinteraksi dengan kitosan melalui interaksi elektrostatis, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik<sup>(26)</sup>.

Kelarutan kitosan yaitu sedikit larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol (95%), pelarut organik lainnya, dan larutan netral atau basah pada pH >6,5. Kitosan dapat bereaksi dengan asam organik dalam suasana asam dan kelarutannya dipengaruhi oleh derajat deasetilasi serta penambahan garam didalam larutan. Kitosan stabil pada suhu kamar, walaupun bersifat higroskopis apabila dikeringkan. Kitosan harus disimpan di dalam wadah tertutup rapat ditempat yang sejuk dan kering. Kitosan tidak kompatibel dengan zat oksidator kuat<sup>(24)</sup>.

#### 2.1.10 Etil Asetat



**Gambar 2.4.** Struktur kimia etil asetat<sup>(24)</sup>.

*Etil asetat* adalah senyawa organik dengan rumus empiris  $C_4H_8O_2$ . Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan, tak berwarna tetapi memiliki aroma yang khas. Etil asetat merupakan pelarut polar menengah yang mudah menguap, tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 30% dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi, namun senyawa ini tidak stabil dalam air mengandung basa atau asam. Etil asetat dapat dihidrolisis pada keadaan asam atau basa yang menghasilkan asam asetat dan etanol kembali. Etil asetat memiliki titik didih  $77,1^{\circ}C$ , densitas  $0,89\text{ g/cm}^3$  berat molekul  $88,12\text{ g/mol}$ , tidak higroskopis dan tidak berwarna<sup>(24)</sup>.

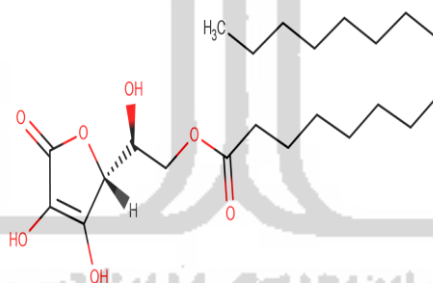
Senyawa ini digunakan sebagai eksipien, karena dianggap tidak toksik dan tidak iritan. Akan tetapi, pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan depresi

sistem saraf pusat. Etil asetat belum terbukti karsinogen pada manusia. WHO telah menetapkan penggunaan etil asetat yakni 25 mg/kg berat badan<sup>(24)</sup>.

### 2.1.11 Ascorbyl Palmitate (AP)

AP adalah golongan vitamin C larut dalam lemak atau tergolong vitamin C ester. Ester senyawa hanya di bentuk oleh kombinasi dari asam organik dan alkohol, dalam hal ini adalah asam askorbat dan asam palmitat (lemak - yang terdiri dari asam lemak dan gliserol – suatu alkohol). Oleh karena itu, AP dibentuk oleh esterifikasi asam askorbat dengan asam palmitat untuk membentuk vitamin C ester<sup>(6)</sup>.

AP tergolong *amphipathic* molekul, yaitu salah satu ujung adalah larut dalam air dan ujung lainnya adalah larut dalam lemak, karena memiliki dual kelarutan memungkinkan ia untuk masuk ke dalam membran sel dari sel darah merah manusia, Selain itu AP atau vitamin C secara keseluruhan memiliki efek antioksidan yang tinggi. AP telah ditemukan sebagai pelindung dari kerusakan oksidatif dan untuk melindungi alpha-tocopherol (antioksidan yang larut dalam lemak) dari oksidasi oleh radikal bebas<sup>(6)</sup>.



Gambar 2.5. Struktur kimia *ascorbyl palmitate*<sup>(6)</sup>.

## 2.2 Landasan teori

Nanopartikel merupakan sistem dispersi dalam skala 1-1000 nm. Menurut Nafee *et al*, penambahan agen stabilisator seperti PVA (*Polyvinyl Alcohol*) kedalam nanopartikel berperan untuk mengontrol ukuran partikel, dengan penambahan konsentrasi PVA maka ukuran diameter partikel akan mengecil. Menurut Apriandanu *et al*, bahwa penggunaan PVA sebagai stabilisator dapat

mengontrol ukuran nanopartikel jika berada dalam kondisi konsentrasi optimum. Apabila konsentrasi stabilisator yang ditambahkan di atas kondisi optimum (>3%), dapat mengakibatkan pencegahan stabilitas nanopartikel sehingga menyebabkan terjadinya proses agregasi<sup>(25,27)</sup>. Nanopartikel berbasis polimer akan membentuk morfologi layer-by-layer antara zat aktif dan polimer. PLGA sering digunakan sebagai polimer *biodegradable* karena memiliki karakteristik degradasi yang menguntungkan dan dapat mempertahankan terapi obat di lokasi target dalam waktu yang lama. Dalam penelitian terbaru menunjukkan bahwa degradasi PLGA dapat digunakan untuk pelepasan obat yang lama pada dosis yang diinginkan pada implantasi tanpa prosedur bedah<sup>(23)</sup>. Nanopartikel PLGA telah diaplikasikan dalam beberapa formulasi dengan pengembangan nanosfer dan nanoenkapsulasi. Formulasi dalam bentuk nanoenkapsulasi memberi keuntungan yakni dapat menurunkan potensi efek samping<sup>(5)</sup>.

Pemilihan metode pembuatan nanopartikel bergantung dengan karakter fisikokimia dari polimer dan obat yang akan dimasukkan. Adapun metode yang telah dilakukan antara lain metode *double emulsion* dan evaporasi serta *solvent evaporation*<sup>(28)</sup>. Karakterisasi merupakan hal yang penting dilakukan untuk penghantaran obat nanopartikel. Karakterisasi nanopartikel meliputi ukuran partikel, sifat permukaan partikel, persen penjeratan zat aktif, dan profil pelepasan zat aktif. Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan metode *dynamic light scattering* (DLS) pada alat *particle size analyzer* (PSA), sedangkan karakteristik morfologi dan ukuran partikel dapat dilakukan dengan menggunakan alat *Transmission Electron Microscopy* (TEM)<sup>(19)</sup>.

Dalam membuat suatu formulasi juga perlu diperhatikan kestabilan suatu zat, karena sediaan farmasi biasanya diproduksi dalam skala besar dan membutuhkan waktu yang lama untuk obat bisa digunakan oleh pasien<sup>(9)</sup>. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas produk farmasi yaitu; stabilitas dari bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dan bahan tambahan, proses pembuatan, proses pengemasan, dan kondisi lingkungan selama pengangkutan, penyimpanan dan penanganan, dan jangka waktu produk antara pembuatan hingga pemakaian<sup>(9)</sup>.

### 2.3 Hipotesis

1. Preparasi nanopartikel PLGA-AP dapat menggunakan metode *solvent evaporation*.
2. Karakteristik nanopartikel PLGA-AP yang dihasilkan meliputi ukuran partikel 1-1000 nm, nilai indeks polidispersitas  $<0,7$  dan memiliki bentuk yang spheris.
3. Stabilitas fisik dapat dinyatakan baik dengan tidak terjadinya perubahan yang cukup besar pada ukuran partikel yang dihasilkan dengan nilai awal 1-1000 nm. Semakin kecil perubahan ukuran partikel menunjukkan semakin baik kestabilan fisik nanopartikel tersebut.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan dan Alat**

##### **3.1.1. Bahan**

Pada penelitian ini digunakan bahan diantaranya *ascorbyl palmitate*, PLGA p.a (*Poly Lactic-co-Glycolic Acid*) (Aldrich), PVA (*Polyninyl Alcohol*) (Aldrich), kitosan p.a (Aldrich), etil asetat p.a (Merck), asam asetat glasial p.a (Merck), aqua pro injeksi (Ikapharmindo), mikrofilter 0,4  $\mu\text{m}$ .

##### **3.1.2. Alat**

Pada penelitian ini digunakan alat-alat diantaranya, mikropipet (*Thermoscientific Finnpiette*), timbangan analitik (*Ohaus*), *transmission electron microscopy* (JEOL JEM-1010) *ultrasonic homogenizer* (Biologic, Inc.), sentrifugator (Nuve NF-400), *particle size analyzer* (Horiba SZ-100), *magnetic stirrer* (Ika werke), mikrokuvet, spuit, dan seperangkat alat gelas (Pyrex).

#### **3.2 Cara Penelitian**

##### **3.2.1. Sistematika kerja penelitian**

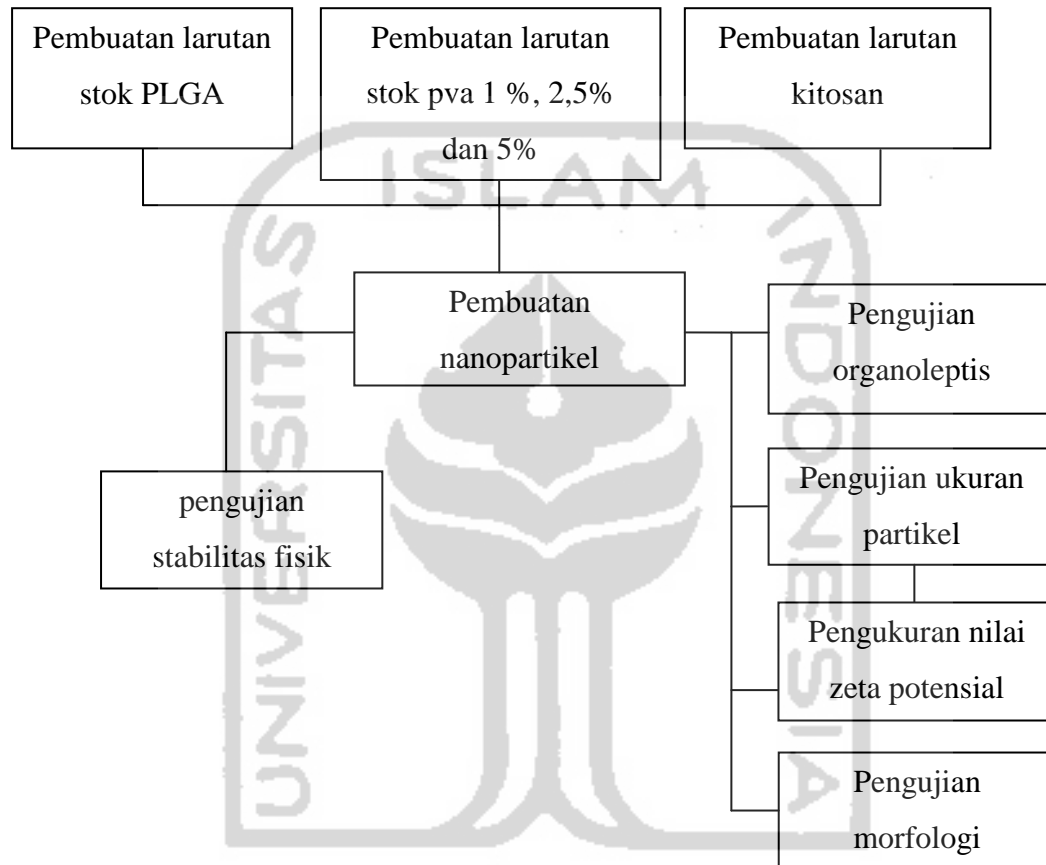
Sistematika kerja pada penelitian ini berisi urutan proses mulai dari pembuatan larutan stok PVA, pembuatan larutan stok PLGA, Pembuatan larutan kitosan, pembuatan nanopartikel, pengujian organoleptis, penentuan ukuran partikel, penentuan zeta potensial, pengujian morfologi nanopartikel, dan uji stabilitas. Untuk proses yang lebih rinci dapat dilihat pada gambar 2.6.

##### **3.2.2. Pembuatan Larutan Stok PLGA**

Diambil 0,25 ml PLGA, 10 mg AP dan dilarutkan dalam 2,25 mL etil asetat. Kemudian campuran tersebut dihomogenkan dengan cara di *stirrer* dengan kecepatan 175 rpm selama 10 menit.

### 3.2.3. Pembuatan Larutan Stok PVA 1 %, 2,5 %, dan 5%

Ditimbang 1 gram, 2,5 gram, dan 5 gram PVA kemudian dilarutkan masing-masing dalam 100 mL aqua pro injeksi. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara di *stirrer* dengan kecepatan 175 rpm selama 24 jam. Kemudian larutan disaring menggunakan mikrofilter 0,45  $\mu\text{m}$ .



Gambar 3.1. Skema kerja penelitian

### 3.2.4. Pembuatan larutan Kitosan

Asam asetat glasial sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 100 mL aqua pro injeksi. Sebanyak 0,9 ml larutan asam asetat digunakan untuk melarutkan kitosan sebanyak 2 mg, campuran dihomogenkan dengan cara digojok.

### 3.2.5. Pembuatan Nanopartikel

Nanopartikel dibuat dengan menggunakan metode penguapan pelarut. Disiapkan masing-masing campuran larutan PLGA sebanyak 2,5 mL yang terdiri atas 0,25mg larutan stok PLGA dan 2,25 ml etil asetat yang telah ditambahkan AP 10 mg diteteskan ke dalam larutan yang berisi 1,6 ml larutan PVA (1%, 2,5%, dan 5%), dan 2 mg kitosan yang telah dilarutkan dalam 0,9 ml asam asetat. Diteteskan secara perlahan (satu tetes tiap 20 detik) hingga terbentuk dua fase. Dua fase ini disatukan dengan menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 175 rpm selama 5 menit. Setelah itu campuran dihomogenkan dengan *ultrasonic homogenizer* kekuatan 40 *watt* selama 1 menit dengan *pulser* 20 detik. Campuran yang terbentuk diencerkan dengan 50 mL aqua pro injeksi. Pelarut etil asetat diuapkan selama 24 jam dengan menggunakan *stirrer*<sup>(29)</sup>.

### 3.2.6. Pengujian Organoleptis

Uji organoleptis adalah pengujian yang meliputi pengamatan terhadap bentuk, bau, dan warna terhadap nanopartikel yang dihasilkan. Dilakukan dengan cara mengamati sampel yang berada didalam vial.

### 3.2.7. Penentuan Ukuran Partikel

Penentuan ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer*. Ditimbang 0,25 gram sampel kemudian ditambahkan aqua pro injeksi hingga 2,5 gram dimasukkan kedalam kuvet. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat *particle size analyzer*.

### 3.2.8. Penentuan nilai Zeta Potensial

Penentuan zeta potensial dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer*. Sampel dimasukkan kedalam kuvet khusus zeta menggunakan spuit. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat *particle size analyzer*.



**Tabel 3.1** pembuatan nanopartikel

<b>Nama bahan</b>	<b>F I</b>	<b>F II</b>	<b>F III</b>
<i>Ascorbyl palmitate</i> (AP)	10 mg	10mg	10mg
<b>Etil asetat</b>	2,25 ml	2,25ml	2,25 ml
<i>Poly Lactic-co-Glycolic Acid</i> (PLGA)	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l
<i>Polyvinyl Alcohol</i> (PVA 1 %)	1,6 ml	-	-
<i>Polyvinyl Alcohol</i> (PVA) 2,5 %	-	1,6 ml	-
<i>Polyvinyl Alcohol</i> (PVA 5) %	-	-	1,6 ml
<b>Kitosan</b>	0,9 ml	0,9 ml	0,9 ml
<b>Aqua pro injeksi</b>	50ml	50 ml	50 ml

Keterangan :

FI : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g

FII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g

FIII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g

### 3.2.9. Pengujian Morfologi Nanopartikel

Morfologi yang terbentuk dari nanopartikel dibaca dengan menggunakan alat *transmission electron microscopy* (TEM). Sampel ditetaskan sebanyak 10  $\mu$ l kedalam grid, kemudian didiamkan selama 1 menit. Volume residu pada *grid* diserap menggunakan kertas saring. *Phosphothungstic acid* sebanyak 10  $\mu$ l ditetaskan kedalam grid. Volume residu pada grid diserap kembali menggunakan kertas saring. *Grid* dikeringkan selama 30 menit dan selanjutnya diobservasi menggunakan *transmission electron microscopy* (TEM).

### 3.2.10. Pengujian stabilitas fisik

Stabilitas fisika adalah lamanya waktu suatu obat untuk mempertahankan sifat fisika dari suatu produk pada beberapa waktu periode penyimpanan. Sampel didiamkan pada 14 hari penyimpanan pada suhu 25<sup>0</sup>C dengan rentang pemeriksaan menggunakan *particle size analyzer* selama 2 hari sekali atau sebanyak 7 kali pemeriksaan dalam 14 hari penyimpanan. Hasil akhir dapat dievaluasi dengan membandingkan ukuran partikel pada setiap uji.

### 3.2 Analisis Hasil

Analisis hasil dilakukan secara deskriptif. Data yang diperoleh dari hasil penelitian seperti ukuran globul dan morfologi partikel dibandingkan dengan jurnal. Analisis hasil uji stabilitas fisik dilakukan dengan membandingkan perubahan ukuran partikel pada setiap fase uji.

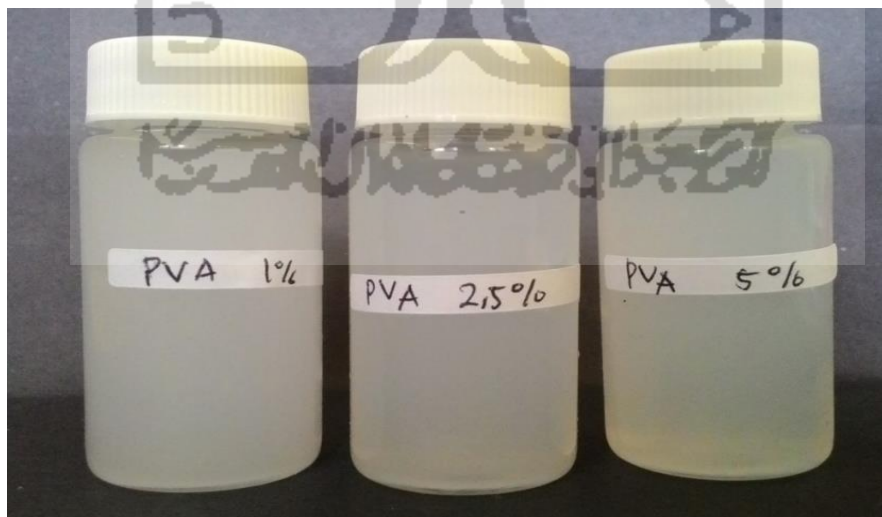


## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Organoleptis nanopartikel polimer PLGA

Uji organoleptis adalah pengujian yang meliputi pengamatan terhadap bentuk, bau, dan warna terhadap nanopartikel yang dihasilkan. Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati warna, bau, dan bentuk nanopartikel PLGA-AP. Uji organoleptis atau uji indera atau uji sensori merupakan cara pengujian dengan menggunakan inderamanusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap produk. Pengujian organoleptis memiliki peranan penting dalam penerapan mutu. Dengan dilakukannya pengujian organoleptis dapat memberikan indikasi kebusukan, kemunduran mutu, dan kerusakan lainnya dari produk.

Hasil yang didapat antara lain berwarna putih keruh, berbau sedikit etil asetat, dan berbentuk suspensi. Bentuk suspensi terlihat dari adanya partikel terdispersi. Suspensi terbentuk setelah pelarut fase organik terangkat melalui proses evaporasi. Setelah etil asetat menguap, PLGA akan menarik diri dari fase air, sehingga terbentuk suspensi. Untuk penggunaan sediaan tersebut perlu dilakukan resuspensi (penggojokan).



**Gambar 4.1.** Hasil formulasi nanopartikel PLGA-AP

## 4.2. Ukuran partikel

Penentuan ukuran globul nanopartikel PLGA-AP dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer*. Nilai ukuran globul dan indeks polidispersitas nanopartikel formula I, II dan III dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1.** Nilai Ukuran Globul dan Indeks Polidispersitas Nanopartikel PLGA-AP

Formula	Ukuran globul (nm)	Indeks polidispersitas
I	429,9	0,585
II	307,0	0,390
III	299,7	0,437

Keterangan :

FI : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g

FII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g

FIII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g

Pada formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g atau formula III menghasilkan ukuran partikel terkecil dan terjadi peningkatan ukuran partikel pada formula I dan II. Menurut penelitian Nafee *et al.*, PVA dapat menurunkan ukuran partikel, selain itu penggunaan PVA membuat ukuran partikel menjadi lebih stabil, terlihat pada formula III terjadi penurunan ukuran partikel dengan konsentrasi PVA 5%. PVA memiliki sifat adesif (perekat), selain itu stabilitas PVA akan teradsorpsi pada permukaan nanopartikel yang membentuk lapisan film pelindung. Lapisan film PVA ini memiliki sifat adesif yang berfungsi untuk menstabilkan bahan yang memiliki indeks polaritas yang rendah. PVA memiliki lapisan daya tegang atau *tensile strength* yang cukup tinggi dan tahan terhadap abrasi. PVA memiliki tegangan yang rendah sehingga dapat terjadi emulsifikasi yang baik dan dapat menjadi *protective colloid*<sup>(3,25)</sup>.

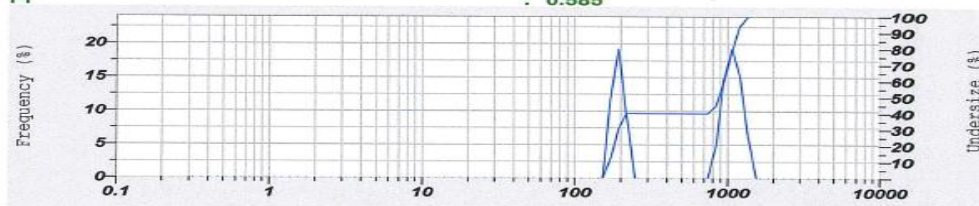
Kurva membentuk dua puncak pada nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g dan 1 g, sedangkan pada nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g kurva membentuk dua puncak. Hal ini berarti ukuran partikel nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g memiliki keseragaman yang paling baik dibandingkan nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g dan 2,5 g.

### Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	0.40	181.3 nm	16.0 nm	180.8 nm
2	0.60	1020.4 nm	137.5 nm	1007.0 nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	684.2 nm	424.8 nm	1007.0 nm

### Cumulant Operations

Z-Average : 429.9 nm  
PI : 0.585



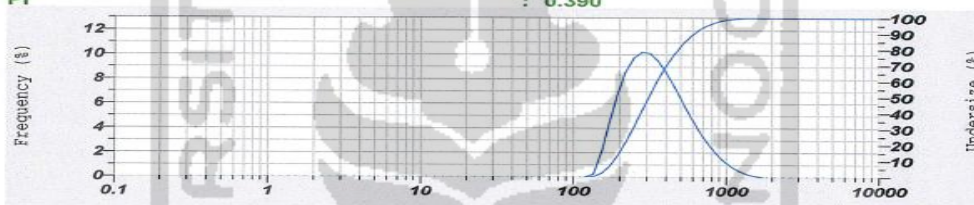
**Gambar 4.2.** Kurva Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel dengan Jumlah PVA 1 g.

### Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	361.3 nm	189.2 nm	263.1 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	361.3 nm	189.2 nm	263.1 nm

### Cumulant Operations

Z-Average : 307.0 nm  
PI : 0.390



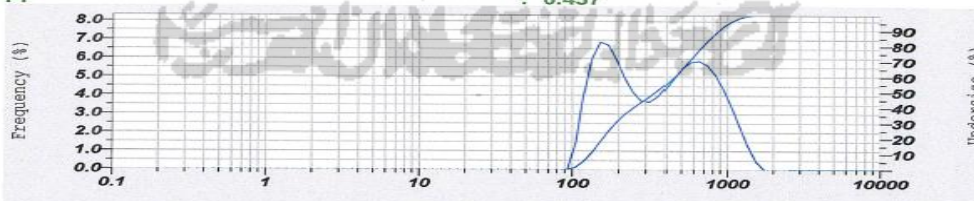
**Gambar 4.3.** Kurva Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel dengan Jumlah PVA 2,5 g

### Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	0.45	175.0 nm	51.2 nm	143.5 nm
2	0.55	640.8 nm	253.5 nm	615.6 nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	429.6 nm	300.1 nm	143.5 nm

### Cumulant Operations

Z-Average : 299.7 nm  
PI : 0.437



**Gambar 4.4.** Kurva Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g.

Puncak-puncak pada kurva tersebut menggambarkan area distribusi ukuran partikel. Pada sampel yang menghasilkan dua puncak artinya distribusi ukuran

partikel tersebar pada dua area sehingga memiliki indeks polidispersitas yang besar.

Nilai indeks polidispersitas (PI) memberikan gambaran luas atau sempitnya distribusi ukuran partikel, dengan nilai  $<0,1$  menunjukkan distribusi yang sangat sempit. Semakin tinggi nilai PI yang dihasilkan maka semakin tidak stabil formula tersebut. Hal ini dikarenakan jika ketidakseragaman partikel tinggi maka terbentuknya flokulasi dan koalesens formula akan semakin cepat. Sampel nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g cenderung memiliki ukuran partikel yang lebih seragam dibandingkan dengan nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g dan 2,5 g. Hal ini terkait dengan keseimbangan muatan pada komposisi formula dalam nanopartikel. PVA memiliki gugus vinil yang akan bergerak ke arah PLGA sedangkan gugus hidroksil pada PVA akan menjembatani air dan PLGA, sehingga PVA akan membentuk *crosslink* antara fase air dan fase organik dengan membentuk *layer* yang seragam<sup>(30)</sup>. Dengan ukuran yang lebih seragam, partikel dalam suspensi akan stabil dikarenakan simpangan ukuran lebih rendah. Apabila simpangan ukuran partikel tinggi, maka partikel akan lebih mudah mengalami aglomerasi dalam waktu yang lebih cepat. Distribusi ukuran partikel yang luas akan menyebabkan rendahnya stabilitas suspensi. Nilai PI yang rendah menunjukkan bahwa stabilisator mampu mencegah terjadinya aglomerasi antar partikel<sup>(31)</sup>.

#### 4.3 Nilai zeta potensial

Pengukuran zeta potensial nanopartikel PLGA-AP dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* pada suhu 25°C. Preparasi dilakukan dengan menimbang sediaan nanopartikel 25 mg dalam kuvet. Kuvet di masukkan kedalam alat *particle size analyzer* dan didapatkan nilai zeta potensial. Zeta potensial merupakan ukuran *repulsive force* diantara partikel<sup>(32)</sup>. Nilai zeta potensial diatas 30 mV menunjukkan stabilitas yang baik dari sebuah sistem. Pengujian zeta potensial dilakukan menggunakan tegangan sebesar 150 V. Nilai tegangan ini didapatkan dari data konduktivitas sediaan nanopartikel. Konduktivitas adalah ukuran seberapa kuat suatu larutan dapat menghantarkan arus listrik. Peningkatan nilai konduktivitas diikuti dengan peningkatan nilai zeta

potensial. Untuk nilai konduktivitas  $<5$  mS/cm maka tegangan yang digunakan untuk mengukur zeta potensial adalah 150 V, sedangkan untuk nilai  $5 - 30$  mS/cm dan  $>30$  mS/cm masing - masing tegangan yang digunakan adalah 50 V dan 10 V<sup>(11)</sup>.

Nilai zeta potensial dan konduktivitas nanopartikel PLGA-AP dapat dilihat pada tabel 4.2. Nilai zeta potensial pada ketiga formula tergolong rendah dan dapat dikatakan kurang baik. Hasil zeta potensial dari formula dengan kadar PVA 1 %, PVA 2,5 % dan PVA 5 % adalah -34,0 mV, -23,9 mV, -18,5 mV. Meskipun zeta potensial relatif lemah, namun nanopartikel akan distabilkan oleh lapisan PVA melalui stabilisasi sterik. Nanopartikel PLGA memiliki muatan negatif karena adanya gugus karboksil yang terionisasi.

**Tabel 4.2.** Nilai Zeta Potensial dan Konduktivitas Nanopartikel PLGA-AP

Formula	Zeta potensial (mv)	konduktivitas (mS/cm)
<b>F I</b>	-34,0 mV	0,092 mS/cm
<b>F II</b>	-23,7 mV	0,099 mS/cm
<b>F III</b>	-18,5mV	0,090 mS/cm

Keterangan :

FI : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g

FII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g

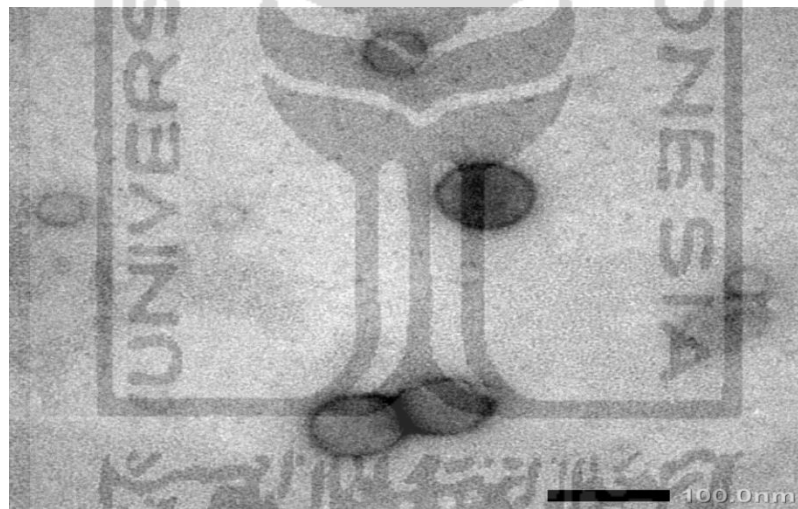
FIII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g

Adanya polimer ampifilik seperti PVA akan membentuk jaringan yang stabil pada permukaan polimer. Jaringan ini akan melindungi muatan permukaan dan bergeser dari permukaan partikel, yang mengakibatkan zeta potensial sedikit negatif<sup>(21)</sup>. Besarnya zeta potensial memberikan indikasi stabilitas potensi sistem koloid. Nilai zeta potensial yang baik yaitu  $-30 \leq$  atau  $\geq 30$ . Jika semua partikel memiliki potensial zeta besar negatif atau positif maka partikel akan saling tolak menolak dan dispersi sediaan akan stabil, sedangkan jika nilai zeta potensial Rendah maka tidak ada kekuatan untuk mencegah partikel berkumpul dan sistem disperse cenderung menjadi tidak stabil<sup>(18)</sup>.

#### 4.4 Morfologi nanopartikel

Pengujian morfologi nanopartikel PLGA-AP dilakukan dengan menggunakan alat *transmission electron microscopy*. Sampel yang dikarakterisasi dipilih berdasarkan nilai indeks polidispersitas yang paling baik, yaitu formulasi dengan penggunaan PVA 2,5%. Hasil pengamatan dengan TEM dapat dilihat pada gambar 4.5.

Hasil karakterisasi menggunakan TEM menunjukkan bahwa nanopartikel yang terbentuk bersifat kurang sferis dengan ukuran partikel  $\pm 100$  nm dan terjadi kontak antar molekul sehingga terbentuk agregasi pada partikel dengan *ascorbyl palmitate* terjerat di dalam nanopartikel PVA dan kitosan dalam bentuk matriks melapisi permukaan partikel. Pengujian morfologi partikel penting dilakukan, karena bentuk partikel yang kurang sferis akan mempermudah kontak antar partikel menjadi berujung pada agregasi<sup>(14)</sup>.



**Gambar 4.5.** Hasil Observasi Morfologi Nanopartikel Menggunakan *Transmission Electron Microscopy*.

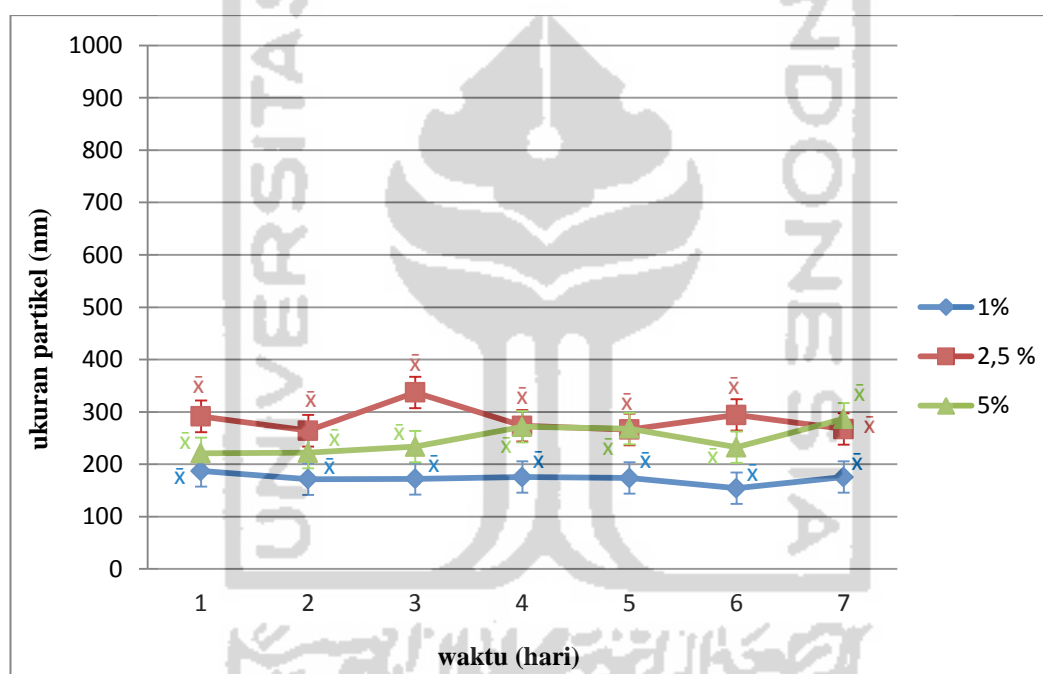
#### 4.5 Stabilitas fisik

Parameter penting pada sistem penghantaran obat nanopartikel adalah stabilitasnya di bawah kondisi lingkungan yang relevan untuk menghindari kerusakan dan pelepasan obat yang terlalu cepat. Pengujian dilakukan selama 14 hari dikarenakan PLGA sebagai polimer terdegradasi selama 14 hari<sup>(33)</sup>. Pengujian



stabilitas nanopartikel PLGA-AP dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* dengan masing-masing formula diberi perlakuan pada kondisi lingkungan yang sama dalam hal ini suhu. Hasil uji stabilitas dilihat dari perubahan grafik ukuran partikel serta melihat perubahan nilai zeta potensial dari tiap sampel. Hasil uji stabilitas ukuran partikel dapat dilihat pada gambar 4.6.

Hasil uji stabilitas ukuran partikel pada tiap sampel menunjukkan bahwa terlihat pada grafik nanopartikel masih mempertahankan ukuran partikelnya dalam suhu yang sama, hasil ukuran partikel formula II dan III masih berada didalam rentang ukuran nanometer yaitu  $\pm 200-400$  nm. Sedangkan formula I memiliki ukuran dibawah  $\pm 200-400$  nm yaitu berkisar  $\pm 100$  nm.



**Gambar 4.6** Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel PLGA-AP dengan ukuran partikel (n=3).

Hasil pengukuran indeks polidispersitas yang didapat pada tiap sampel juga sangat baik karena berada dalam syarat rentang indeks polidispersitas yang baik yaitu  $<0,7^{(34)}$ . Nilai ini menunjukkan bahwa sampel tersebut tidak akan mengalami sedimentasi karena distribusi ukuran yang sempit<sup>(35)</sup>. Hasil nilai indeks polidispersitas dapat dilihat pada tabel 4.3.

Dari grafik juga dapat terlihat tidak adanya peningkatan ukuran partikel yang begitu besar yang artinya tidak terjadi agregasi pada sampel yang mengakibatkan membesarnya ukuran partikel. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Khvedelidze *et al*, bahwa nanopartikel PLGA yang dilapisi oleh PVA dapat mempertahankan struktur dan ukuran partikelnya pada kondisi asam, netral maupun basa<sup>(36)</sup>.

**Tabel 4.3** Nilai Indeks Polidispersitas (n=3)

Waktu (hari)	F I	F II	F III
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
1	0,116 ± 0,146	0,228 ± 0,087	0,340 ± 0,152
2	0,199 ± 0,045	0,341 ± 0,154	0,374 ± 0,175
3	0,250 ± 0,084	0,223 ± 0,076	0,308 ± 0,122
4	0,154 ± 0,044	0,214 ± 0,057	0,211 ± 0,067
5	0,235 ± 0,077	0,462 ± 0,186	0,331 ± 0,136
6	0,313 ± 0,112	0,338 ± 0,148	0,361 ± 0,168
7	0,294 ± 0,102	0,290 ± 0,092	0,293 ± 0,097

Keterangan :

FI : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g

FII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g

FIII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

- 5.1.1 Nanopartikel PLGA-AP yang dihasilkan memiliki ukuran partikel 1-1000 nm dengan bentuk yang kurang sferis. Ketiga formula memiliki distribusi ukuran partikel monodisper.
- 5.1.2 Penambahan PVA dalam formulasi nanopartikel pembawa *ascorbyl palmitate* dapat memperbaiki karakteristik nanopartikel yang dihasilkan. PVA dengan konsentrasi 5 g menghasilkan ukuran partikel yang paling baik diikuti dengan konsentrasi PVA 1 dan 2,5 g.
- 5.1.3 Stabilitas fisik nanopartikel yang dihasilkan dapat dikatakan baik dengan tidak adanya perubahan ukuran partikel yang cukup besar. Dan formulasi PVA 1 g memiliki stabilitas paling baik dengan perubahan ukuran partikel paling kecil pada setiap fase uji. Variasi konsentrasi PVA mampu mempertahankan ukuran partikel dalam rentang nanometer dan memiliki nilai indeks polidispersitas  $< 0,7$ .

#### **5.2 Saran**

- 5.2.1 Perlu dilakukannya uji stabilitas pH PLGA-AP dalam jangka waktu yang lebih panjang.
- 5.2.2 Perlu dilakukan uji stabilitas kimia untuk mengetahui kemampuan dan ketahanan zat aktif dalam formulasi dalam rentang waktu yang di tentukan.
- 5.2.3 Perlu ditambahkan formula pembanding tanpa PVA sebagai stabilisator untuk mengetahui pengaruh PVA terhadap karakteristik nanopartikel.
- 5.2.4 Perlu dilakukan uji penetrasi *in vitro* untuk mengetahui efektivitas nanopartikel sebagai pembawa *ascorbyl palmitate*.

## DAFTAR PUSTAKA

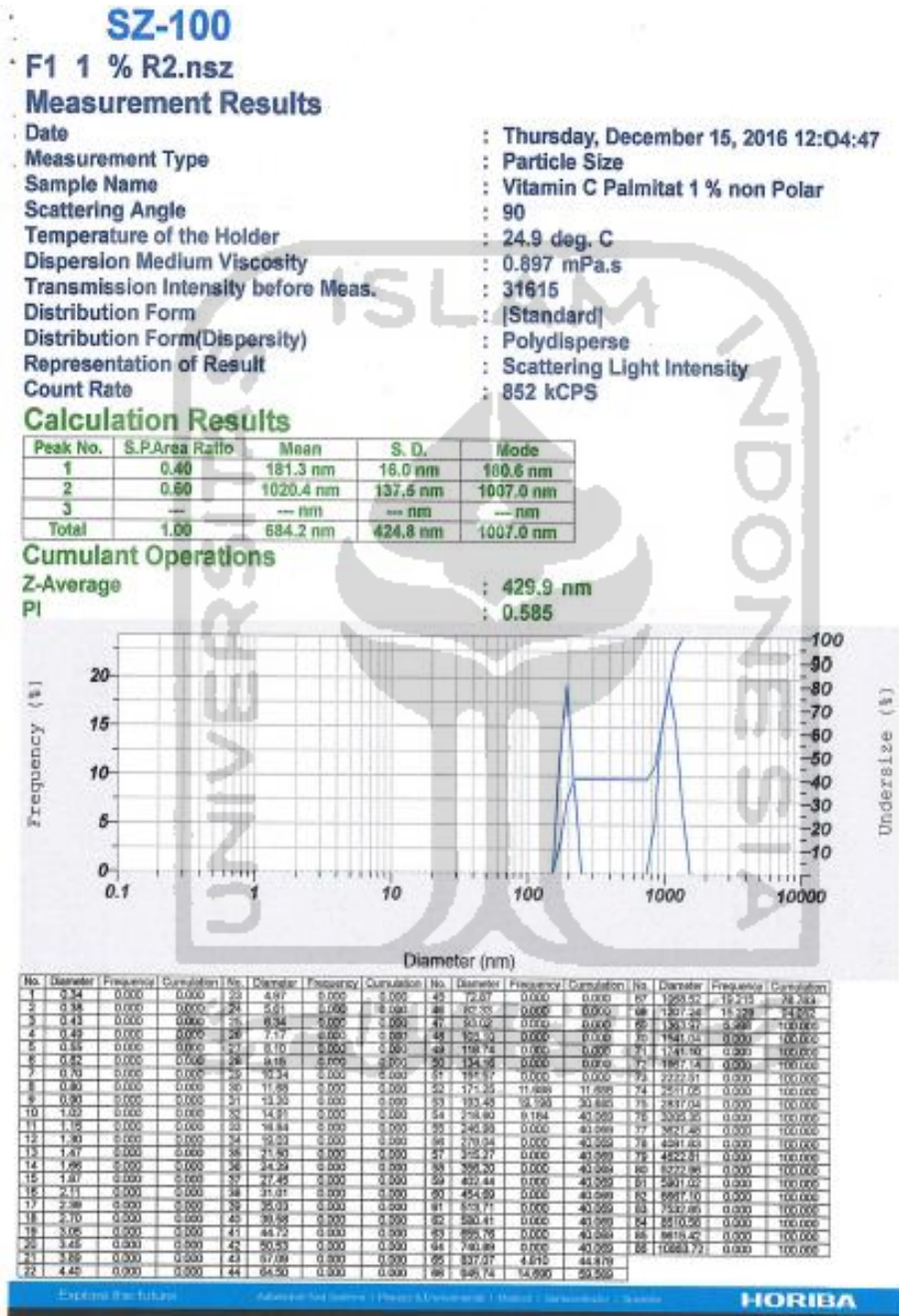
1. Badan POM RI. 2008. Bahan Berbahaya Dalam Kosmetik. In: Kosmetik Pemutih (Whitening), Naturakos, Vol.III No.8. Edisi Agustus 2008. Jakarta.
2. Wyatt EL, Sutter SH, Drake LA. Dermatological pharmacology. In: Hardman JG, Limbird IE, eds. Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutic. 10th ed. New York: McGraw Hill, 2001: 1795-814.
3. "Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Based Drug Delivery Systems. Colloids Surf B Biointerfaces. 2010 Jan;75(1):1-18.,” n.d.
4. Monhanraj , V.J., chen, Y., (2006) Nanoparticle – A Review. *Tropical journal of pharmaceutical research* 5 (1), 561 – 573.
5. Houchin ML, Topp EM. Physical properties of PLGA films during polymer degradation. *J Appl Polym Sci*. 2009 Dec 1;114(5):2848-54.
6. Ross, D. et al. Ascorbate 6-palmitate protects human erythrocytes from oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999; volume 26: pages 81-89.
7. Vandervoort J, Ludwig A. Biocompatible stabilizers in the preparation of PLGA nanoparticles: a factorial design study. *Int J Pharm*. 2002 May;238(1-2):77-92.
8. Kaban, J. 2009. Modifikasi Kimia dari Kitosan dan Aplikasi Produk yang Dihasilkan. Pidato Pengukuhan Guru Besar. Kimia FMIPA USU Medan.
9. Vadas E.B. Stability of Pharmaceutical Products. *Sci Pract Pharm*. 2010;1:988-9.
10. Rawat M, Singh D, Saraf S, Saraf S. *Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs*. *Biol Pharm Bull*. 2006 Sep;29(9):1790-8.
11. Ilium L. Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient. *Pharm Res*. 1998 Sep;15(9):1326-31.
12. Kamiya H, Iijima M. Surface modification and characterization for dispersion stability of inorganic nanometer-scaled particles in liquid media. *Sci Technol Adv Mater*. 2010 Feb 1;11(4):044304.
13. Bisht S, Fieldman G, Soni S, Ravi R, Karikar C, Maitra A. Polymeric Nanoparticle-Encapsulated Curcumin (nanocurcumin): a novel strategy for human cancer therapy. *J Biomater Sci Polym Edn*. 2007;18(2):205-21.

14. Martien R, Loretz B, Schnürch AB. Oral gene delivery: Design of polymeric carrier systems shielding toward intestinal enzymatic attack. *Biopolymers*. 2006 Nov 1;83(4):327–36.
15. Soppimath K. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery device. *J Controlled Release*. 2001;70:1–20.
16. Nagavarma BVN, Yadav HK, Ayaz A, Vasudha LS, Shivakumar HG. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles—a review. *Asian J Pharm Clin Res*. 2012;5(3):16–23.
17. Musmade KP, Deshpande PB, Musmade PB, Maliyakkal MN, Kumar AR, Reddy MS, et al. Methotrexate-loaded biodegradable nanoparticles: preparation, characterization and evaluation of its cytotoxic potential against U-343 MGa human neuronal glioblastoma cells. *Bull Mater Sci*. 2014 Aug 8;37(4):945–51.
18. Anonim. *Zetasizer Nano ZS Training Course*. UK: Malvern; 2010. 1-120 p.
19. Respati SMB. Macam-Macam Mikroskop Dan Cara Penggunaan. *Momentum*. 2008;4(2):42 – 44
20. Kutscher HL, Chao P, Deshmukh M, Sundara Rajan S, Singh Y, Hu P, et al. Enhanced passive pulmonary targeting and retention of PEGylated rigid microparticles in rats. *Int J Pharm*. 2010 Dec 15;402(1-2):64–71.
21. Sawant KK, Dodiya SS. Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles. *Recent Pat Drug Deliv Formul*. 2008;2(2):120–35.
22. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers*. 2011 Aug 26;3(4):1377–97.
23. Wu XS, Wang N. Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. Part II: Biodegradation. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2001 Jan;12(1):21–34.
24. Rowe RC, Paul JS, Malan EQ. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. 6th ed. London: The Pharmaceutical press; 2009. 159-161, 564 p.
25. Nafee N, Taetz S, Schneider M, Schaefer UF, Lehr C-M. Chitosan-coated PLGA nanoparticles for DNA/RNA delivery: effect of the formulation parameters on complexation and transfection of antisense oligonucleotides. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med*. 2007 Sep;3(3):173–83.
26. Singla AK, Chawla M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects - an update. *J Pharm Pharmacol*. 2001 Aug;53(8):1047–67.

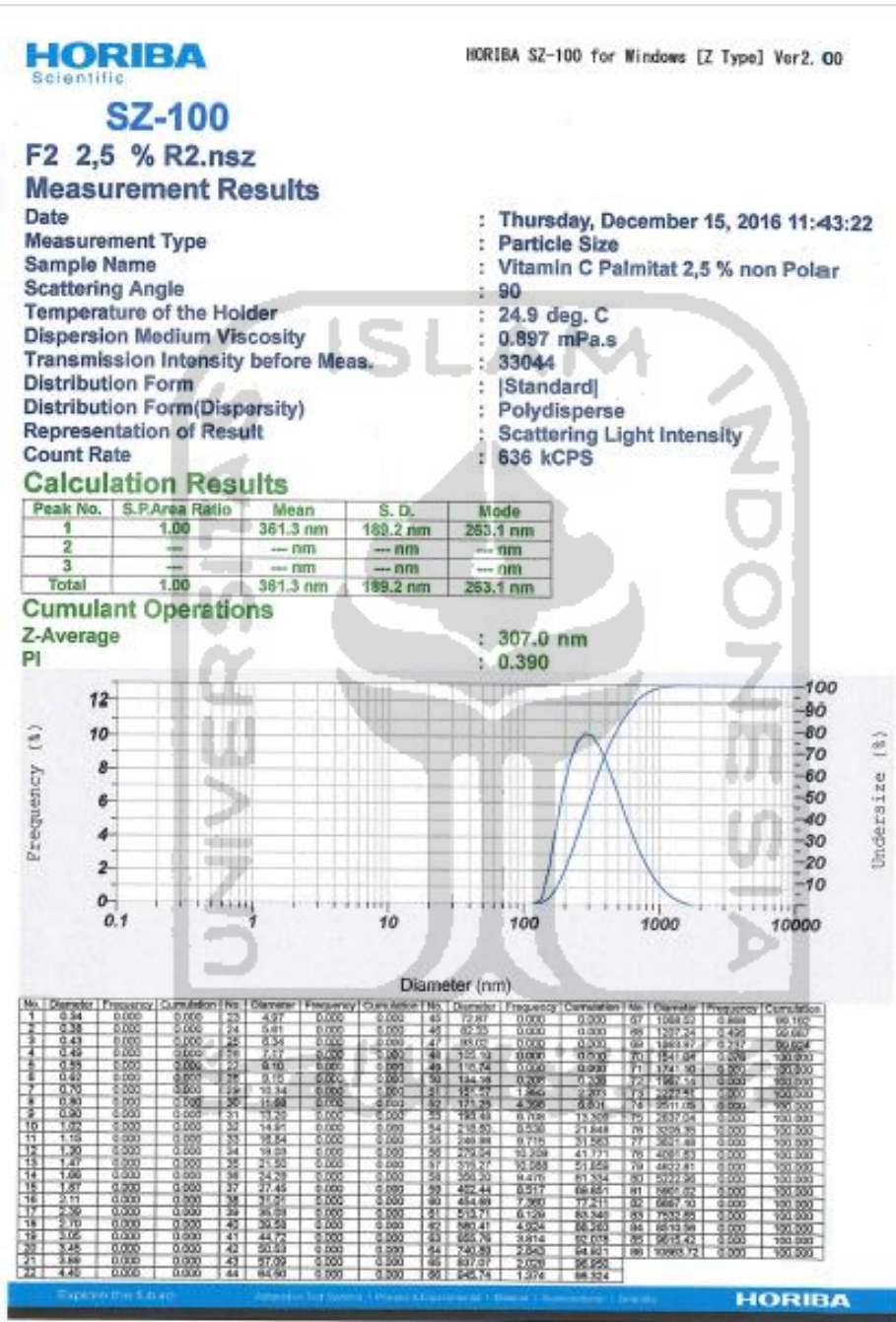
27. Apriandanu DOB, Wahyuni S, Hadisaputro S, others. Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Metode Poliol Dengan Agen Stabilisator Polivinil alkohol (PVA). *J MIPA* [Internet]. 2013 [cited 2016 May 3];36(2). Available from: <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM/article/view/2985>.
28. Swarbrick J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Third Edition. Vol. 2. New York: Informa Healthcare; 2007.
29. Agnihotri, S.A., Nadagounda N., Mallikarjuna, n Tejraj M., Aminabhavi. Recent advance on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *J Control Release*. 2004;100:5-28.
30. Mutia, Theresia., Rifaida, Eriningsih. The use of electrospun webs from alginate/polyvinyl alcohol for primary wound dressing. *Journal of industrial research*. 2012;VI(2):137-47.
31. Saberi A., Fang Y, McClements D. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *J Colloid Interface Sci*. 2013;31:95-102.
32. Hoeller S, Andrea S, Claudia V. Lecithin based nanoemulsions: a comparative study of the influence of non ionic surfactant and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation. *j.ijpharm*. 2009;370:181-6.
33. Anderson JM, Shive MS. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012 Dec;64:72-82.
34. Haryono A, Restu WK, Harmami SB. Preparation And Characterization Of Aluminium Phosphate Nanoparticles. *J Sains Materi Indones*. 2012;14(1):51-5.
35. Martien R, Adhyatmika ID, Farida V, Sari DP. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Maj Farm*. 2012;8(1):133-44.
36. Khvedelidze M, Mdzinarashvili T, Partskhaladze T, Nafee N, Schaefer UF, Lehr C-M, et al. Calorimetric and spectrophotometric investigation of PLGA nanoparticles and their complex with DNA. *J Therm Anal Calorim*. 2010 Jan;99(1):337-48.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil pembacaan ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* pada formula nanopartikel PVA 1 g.

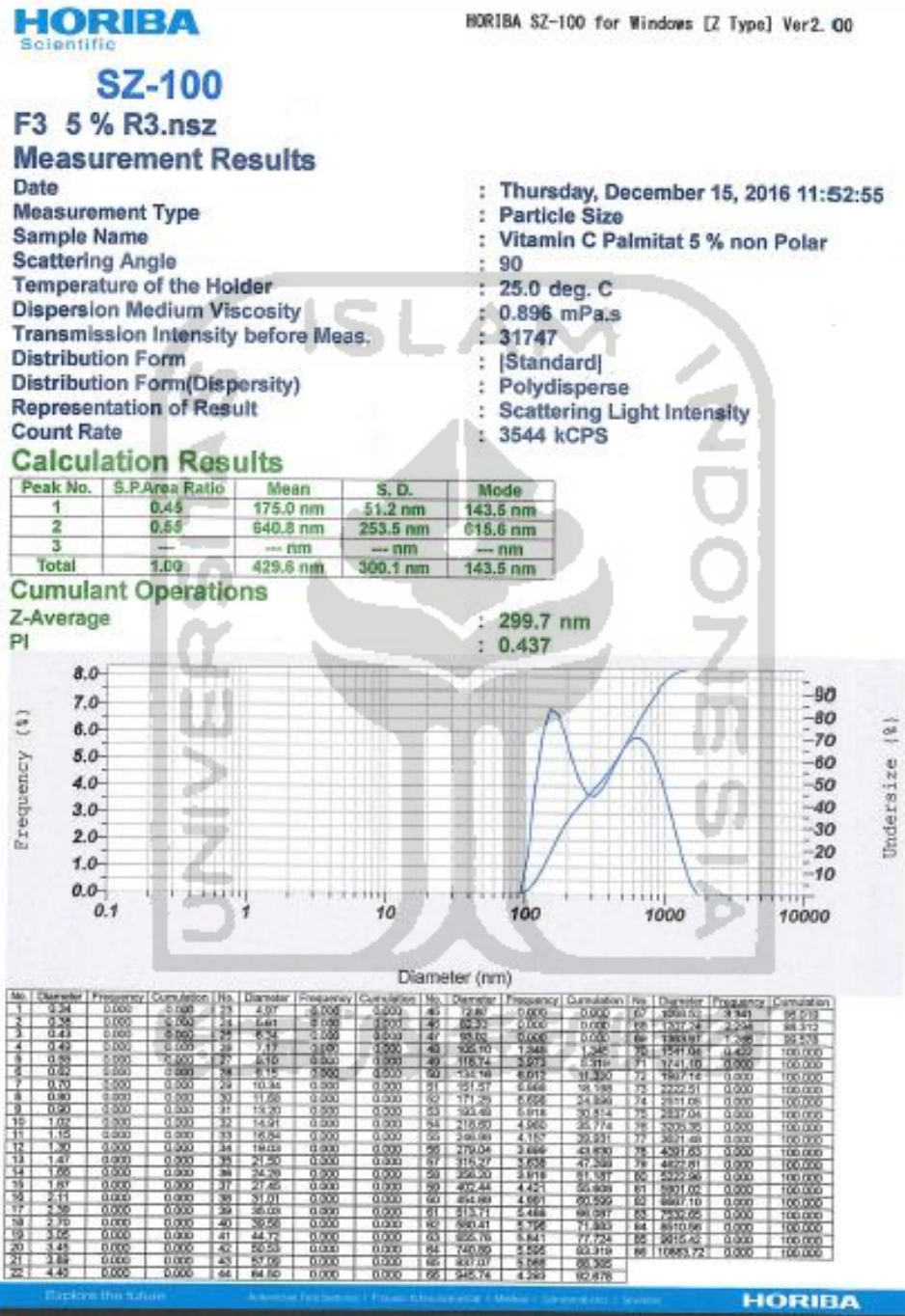


Lampiran 2 Hasil pembacaan ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* pada formula nanopartikel PVA 2,5 g.

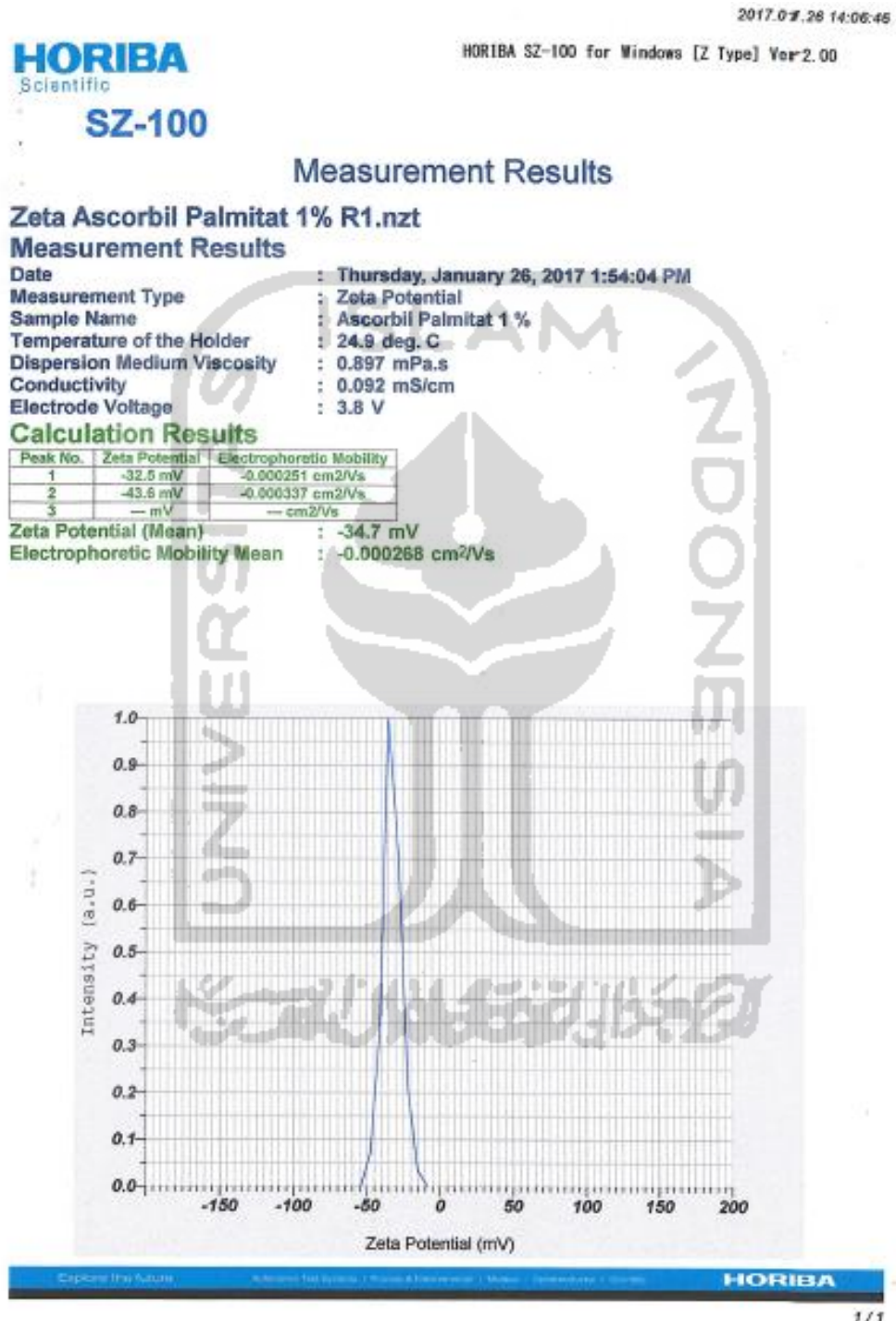




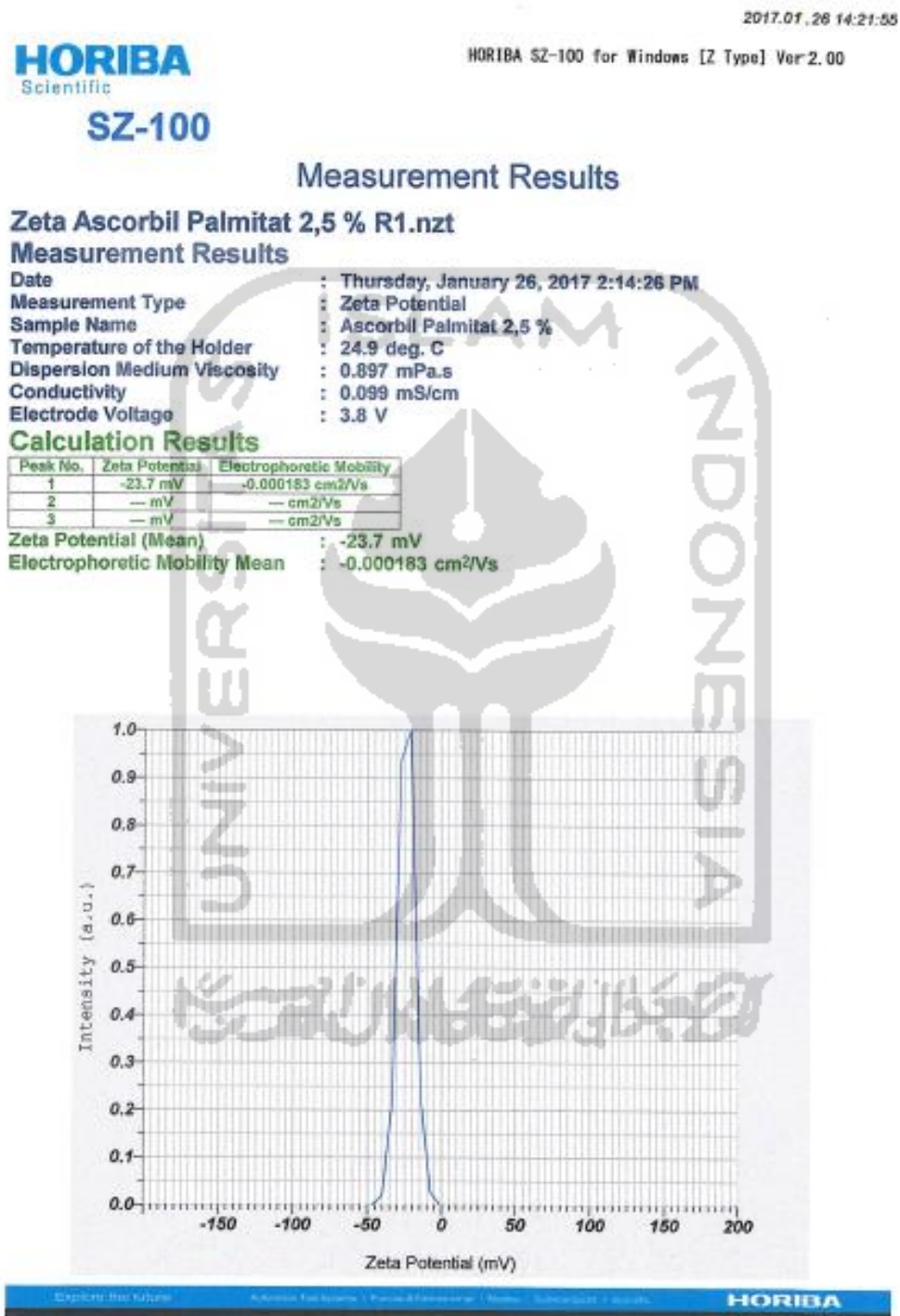
Lampiran 3 Hasil pembacaan ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* pada formula nanopartikel PVA 5 g.



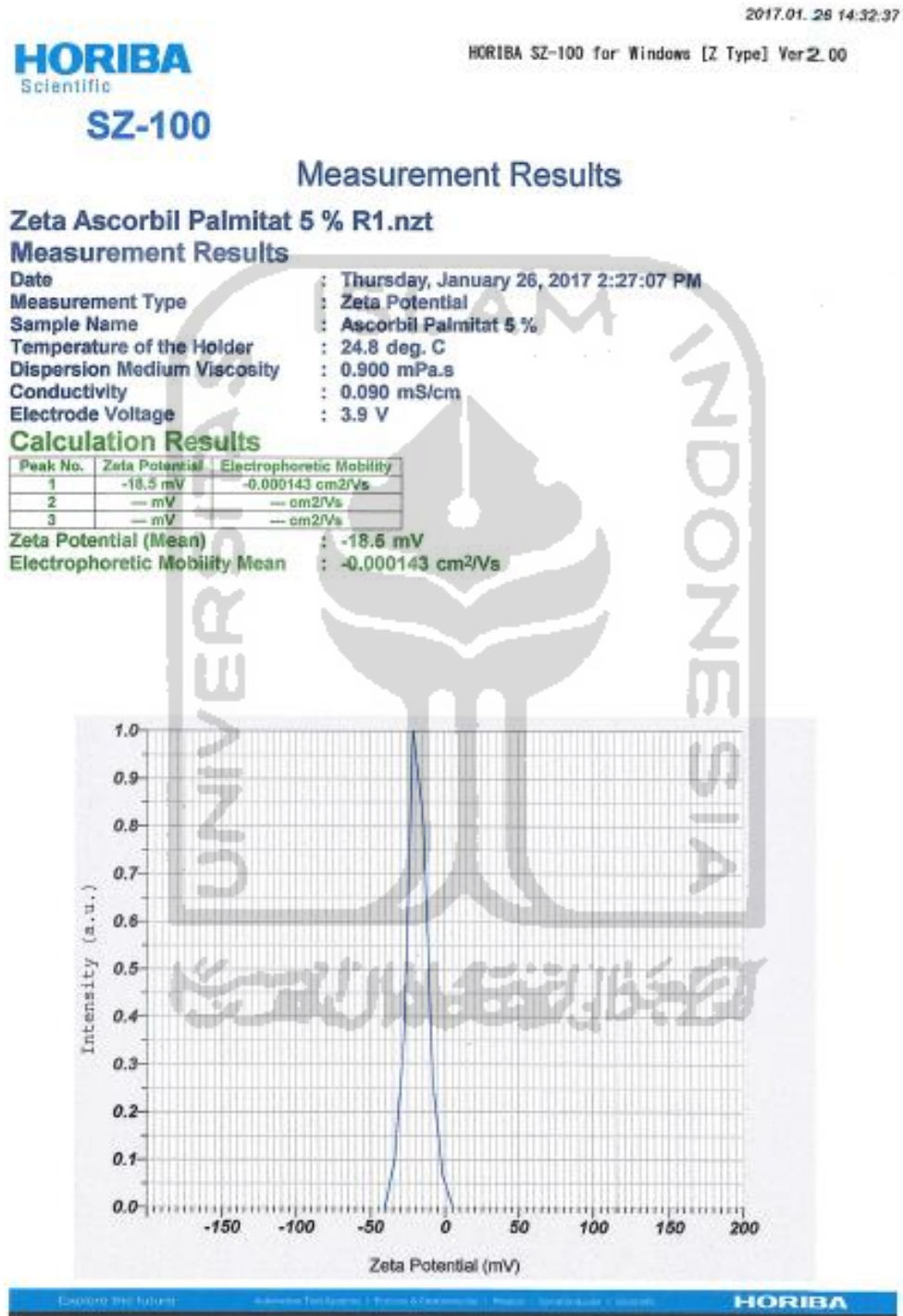
**Lampiran 4** Hasil pembacaan nilai zeta potensial menggunakan *Particle Size Analyzer* pada formula nanopartikel PVA 1 g.



**Lampiran 5** Hasil pembacaan nilai zeta potensial menggunakan *Particle SizeAnalyzer* pada formula nanopartikel PVA 2,5 g.



**Lampiran 6** Hasil pembacaan nilai zeta potensial menggunakan *Particle Size Analyzer* pada formula nanopartikel PVA 5 g.





**Lampiran 7** Gambar alat *Particle Size analyzer* (Horiba SZ-100)



**Lampiran 8** Gambar alat *Tranmision Electron Microscopy* (TEM) (JEM-1010EX)

