

BAB I
PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang Masalah

Nanopartikel adalah partikel berukuran antara 1-1000 nanometer⁽¹⁾. Sediaan nanopartikel yang bersifat *biodegradable* digunakan untuk meningkatkan nilai terapi berbagai obat yang sukar larut dalam air atau obat-obat yang bersifat lipofilik dengan meningkatkan bioavailabilitas kelarutan dan waktu retensi. Nanopartikel juga memiliki beberapa kelebihan yaitu, mampu menembus ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal, kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi, serta fleksibilitasnya untuk dikombinasikan dengan berbagai teknologi lain sehingga berpeluang untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target yang ingin dicapai. Kelebihan lain dari teknologi ini adalah kemampuannya untuk dikombinasikan dengan berbagai molekul pendukung tambahan, sehingga menghasilkan sebuah sistem baru dengan spesifikasi yang lebih lengkap^(2,12).

Salah satu molekul pendukung tambahan yang berpotensi untuk dikombinasikan dengan nanopartikel yaitu polimer salah satunya adalah PLGA (*poly lactic-co-glycolic acid*) yang bersifat *biodegradable* dan memiliki karakteristik degradasi yang menguntungkan serta dapat mempertahankan terapi obat di lokasi target dalam waktu yang lama. PLGA bersifat aman, dapat diterima oleh tubuh, dan dapat digunakan sebagai penghantar obat^(2,3). Hal ini merupakan pengembangan yang baik untuk digunakan sebagai pembawa obat agar nanopartikel dapat terserap secara utuh di dalam sistem pencernaan setelah masuk ke dalam tubuh. Berbagai penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa nanopartikel dapat meningkatkan bioavailabilitas, efektivitas, serta stabilitas suatu obat. Untuk memperoleh stabilitas nanopartikel yang lebih baik, dapat ditambahkan agen stabilisator yaitu PVA (*polyvinyl alcohol*)⁽³⁾. PVA (*polyvinyl alcohol*) merupakan stabilisator sterik dan dalam formulasi emulsi digunakan sebagai penstabil pada konsentrasi 0,25%-3% w/v yang bekerja dengan cara menempel pada nanopartikel untuk mencegah aglomerasi pada nanopartikel⁽⁴⁾.

Penelitian sebelumnya dengan menggunakan PVA (*polyvinyl alcohol*) sebagai stabilisator telah dilakukan dengan zat aktif rifampin, ZnO, deksamethason, elkatonin dan menghasilkan nanopartikel yang baik⁽⁵⁾. Namun untuk isolat *andrografolida* menggunakan stabilisator PVA belum pernah dilaporkan oleh karena itu formulasi nanopartikel menggunakan PVA sebagai stabilisator akan dicobakan dengan zat aktif isolat *andrografolida*. Dalam penelitian ini PVA yang digunakan merupakan stabilisator sterik yang dapat meningkatkan stabilitas nanopartikel yang dihasilkan.

Andrografolida adalah diterpenoid lakton, berupa kristal tak berwarna dan mempunyai rasa yang sangat pahit yang memiliki efek anti inflamasi. Salah satu masalah utama dengan senyawa ini adalah memiliki kelarutan yang rendah dalam air dan mempunyai bioavailabilitas rendah setelah pemberian oral⁽⁶⁾. Penelitian sebelumnya menggunakan *andrografolida* telah dilakukan dalam bentuk sediaan tablet konvensional, tablet bukal, dan SNEEDS. Pada penelitian ini isolat *andrografolida* dibuat dalam bentuk sediaan nanopartikel dimana nanopartikel merupakan pengembangan yang baik untuk zat aktif yang memiliki kelarutan rendah didalam air. Selain itu nanopartikel menggunakan polimer PLGA sebagai media penghantar obat ke sel target untuk meningkatkan bioavailabilitas demi mencapai terapeutik yang diinginkan. PLGA mempunyai sifat yang biodegradable dan dapat mempertahankan obat didalam lokasi sel^(7,9,10). Metode yang digunakan adalah metode *solvent evaporation*, metode ini paling umum digunakan untuk membuat nanopartikel PLGA. Metode *solvent evaporation* ini dianggap paling cocok digunakan untuk zat aktif tidak larut dalam air^(8,11).

1.2. Perumusan Masalah

Bagaimana pengaruh variasi PVA terhadap karakteristik fisik nanopartikel isolat *andrografolida* dan stabilitas formulasi nanopartikel isolat *andrografolida*?

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh variasi PVA terhadap karakteristik fisik nanopartikel isolat *andrografolida* yang dihasilkan dan mengetahui stabilitas formulasi nanopartikel isolat *andrografolida* yang dihasilkan.

1.4. Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang teknologi farmasi, penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan menjadi rujukan penelitian mengenai preparasi dan karakterisasi formulasi PLGA nanopartikel pembawa isolat *andrografolida* dengan perbandingan PVA.
- 1.4.2 Bagi industri farmasi, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan produk baru berupa sediaan PLGA nanopartikel pembawa isolat *andrografolida*.



BAB II
STUDI PUSTAKA
2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Nanopartikel

Penghantaran nanopartikel dideskripsikan sebagai formulasi suatu partikel yang terdispersi pada ukuran nanometer atau skala per seribu mikron. Masih terdapat perbedaan batasan ukuran partikel untuk sistem ini karena nanopartikel pada sistem penghantaran obat berbeda dengan teknologi nanopartikel secara umum. Pada beberapa sumber menyebutkan bahwa nanopartikel memiliki ukuran dengan rentang 1-1000 nm⁽⁹⁾. Nanopartikel obat secara umum harus terkandung obat dengan jumlah yang cukup di dalam matriks pada tiap butir partikel. Meskipun demikian secara umum tetap disepakati bahwa nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran di bawah 1 mikron⁽¹⁾.

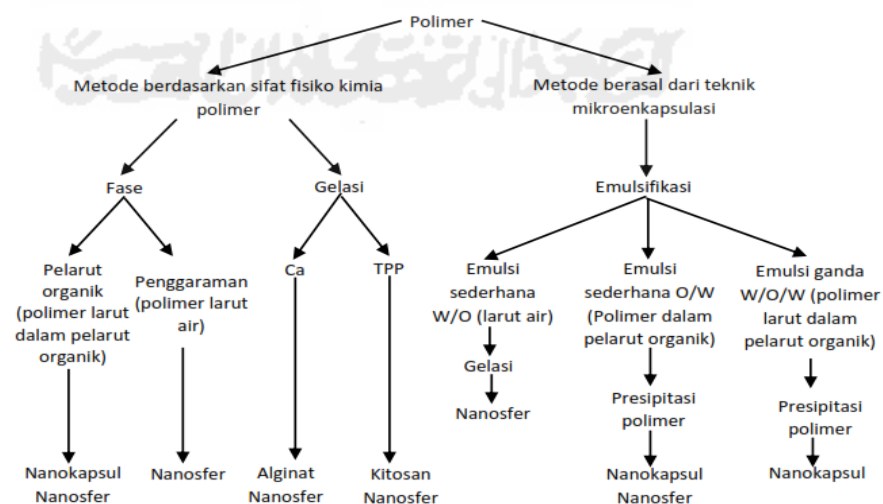
Beberapa kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal, kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi, baik melalui difusi maupun opsonifikasi, dan fleksibilitasnya untuk dikombinasi dengan berbagai teknologi lain sehingga membuka potensi yang luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain dari nanopartikel adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama. Nanopartikel juga memiliki beberapa kekurangan yang sering timbul pada saat preparasi seperti agregasi yang cepat dan memiliki keseragaman ukuran partikel yang tidak merata, mengakibatkan stabilitas dari sistem dispersi menjadi sulit dikontrol. Permasalahan dapat dipahami dengan melakukan karakterisasi secara menyeluruh pada nanopartikel^(1,9).

Pembentukan nanopartikel dapat dicapai dengan berbagai teknik yang sederhana. Nanopartikel pada sediaan farmasi dapat berupa sistem obat dalam matriks seperti nanosfer dan nanokapsul, nanoliposom, nanoemulsi, dan sebagai sistem yang dikombinasikan dalam perancah (*scaffold*) dan penghantaran transdermal⁽⁵⁾. Salah satu contoh bahan nanopartikel yang sering dipakai adalah

nanopartikel polimer. Nanopartikel polimerik merupakan suatu struktur koloidal yang memiliki ukuran nanometer yang terdiri dari polimer sintesis ataupun semisintesis. Nanopartikel polimerik terdiri dari nanokapsul dan nanosfer, dimana nanokapsul meliputi suatu polimer yang membentuk dinding yang menyelubungi inti dan didalamnya terdapat senyawa obat yang dijerat, sedangkan nanosfer dibuat dari suatu matrik polimer padat dan didalamnya terdispersi senyawa obat. Polimer memiliki sifat yang dapat mengatur farmakokinetik dari suatu obat yang dibawanya dan membuat keadaan obat lebih stabil⁽¹²⁾. Kelebihan yang didapat dari nanopartikel polimerik merupakan sistem yang efektif dalam mengikat atau mengenkapsulasi obat-obat bioteknologi yang biasanya sensitif terhadap perubahan lingkungan. Nanopartikel polimerik dapat ditargetkan untuk menghantarkan konsentrasi senyawa obat yang lebih tinggi menuju lokasi target yang dikehendaki⁽¹³⁾.

2.1.2 Metode Pembuatan Nanopartikel

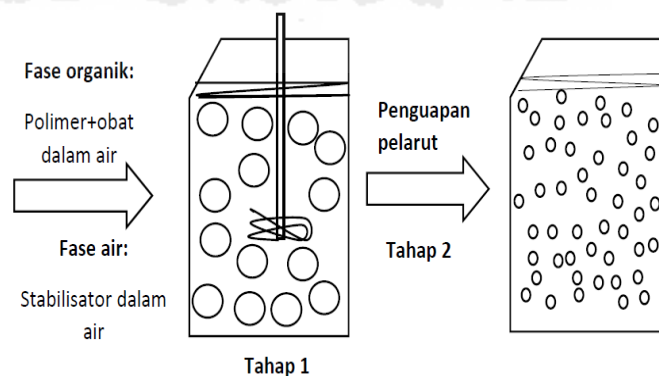
Pemilihan metode pembuatan nanopartikel bergantung dengan karakter fisikokimia dari polimer dan obat yang akan dimasukkan. Adapun metode yang telah dilakukan antara lain (lihat gambar 2.1.), namun yang paling banyak digunakan adalah metode *double emulsion* dan evaporasi serta *solvent evaporation*⁽¹⁴⁾.



Gambar 2.1. Metode pembuatan nanopartikel polimer⁽¹⁴⁾.

Pada metode *solvent evaporation*, larutan polimer disiapkan dalam pelarut yang mudah menguap dan emulsi yang telah diformulasikan. Zaman dahulu, polimer digunakan menggunakan pelarut diklorometana dan kloroform, namun sekarang terjadi perubahan dengan etil asetat yang memiliki profil toksikologi yang rendah dibandingkan diklorometana dan kloroform. 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. Partikel nano dikumpulkan oleh ultrasentrifugasi dan dicuci dengan air suling untuk menghilangkan residu *stabilizer* atau obat bebas dan dilyophilisasi untuk penyimpanan⁽¹⁵⁾.

Dalam metode *solvent evaporation*, larutan polimer disiapkan dalam pelarut yang mudah menguap dan emulsi yang telah diformulasikan. Zaman dahulu polimer banyak digunakan menggunakan pelarut diklorometana dan kloroform, namun seiring berkembangnya zaman diganti dengan etil asetat yang memiliki profil toksikologi yang rendah. 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⁽¹⁶⁾. Partikel nano dikumpulkan oleh ultrasentrifugasi dan dicuci dengan air suling untuk menghilangkan residu *stabilizer* atau obat bebas dan dilyophilisasi untuk penyimpanan. PLGA nanopartikel yang digunakan memiliki ukuran partikel 60-200 nm dan digunakan diklorometana dan aseton sebagai sistem pelarut dan PVA sebagai *stabilizing agent*⁽¹⁵⁾.

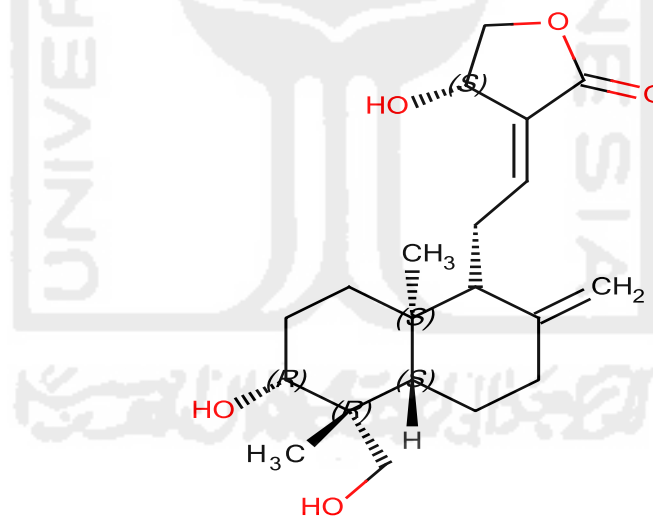


Gambar 2.2. Metode *Solvent Evaporation*⁽¹⁴⁾.

Ukuran partikel yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi *stabilizing agent*, kecepatan *homogenizer* dan konsentrasi polimer. Untuk menghasilkan ukuran partikel yang kecil, sering digunakan homogenisasi berkecepatan tinggi atau ultrasonikasi⁽¹⁷⁾.

2.1.3 *Andrografolida*

Andrografolida adalah diterpenoid lakton, berupa kristal tak berwarna dan mempunyai rasa yang sangat pahit. *Andrografolida* mudah larut dalam metanol, etanol, Piridin, asam asetat dan aseton, tapi sedikit larut dalam eter dan air. Rumus molekul *andrografolida* adalah $C_{20}H_{30}O_5$. *Andrografolida* memiliki banyak khasiat dalam dunia kesehatan karena memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti menurunkan kadar gula darah, trigliserida dan LDL, antiinflamasi vaskuler untuk mencegah aterosklerosis, antioksidan dan analgesik⁽¹⁸⁾. Kadar *andrografolida* berkisar antar 2,5-4,6% dari berat kering⁽⁶⁾.

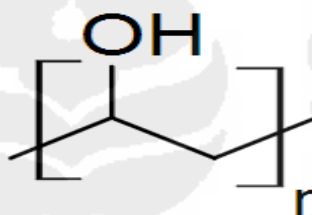


Gambar 2.3. Struktur Kimia *andrografolida* (Marvin Sketch)

Andrografolida memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi dengan cara dapat menghambat lipopolisakarida yang menstimulasi Nitrit Oksidan dan PGE_2 dalam pelepasan makrofag. Pemakaian *andrografolida* dosis tinggi dan jangka panjang tidak dilaporkan memiliki efek toksik, tetapi diketahui dapat mematkan janin, dan tidak aman untuk ibu hamil⁽¹⁹⁾.

2.1.4 Polivinil Alkohol

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⁽²⁰⁾. Pada sediaan oral, polivinil alkohol digunakan untuk pelepasan terkendali. PVA bersifat kompatibel secara hayati dan sesuai untuk simulasi jaringan alami. PVA mempunyai permeabilitas oksigen yang baik, tidak bersifat imunogenik, memiliki sifat yang sangat baik dalam pembentukan film, pengemulsi dan dapat dilembabkan⁽²¹⁾.



Gambar 2.4. Struktur Kimia Polivinil Alkohol⁽²²⁾.

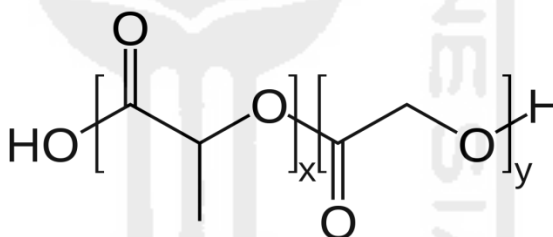
PVA stabil disimpan dalam wadah tertutup rapat ditempat yang sejuk dan kering. PVA mengalami degradasi perlahan pada suhu $100^{\circ}C$ dan terdegradasi secara cepat pada suhu $200^{\circ}C$ ⁽²¹⁾. Terurai dalam asam kuat dan larut dalam asam lemah dan basa. PVA sepenuhnya *degradable* dan larut dengan cepat⁽²²⁾. PVA bersifat nontoksik, sehingga banyak digunakan di berbagai bidang, antara lain bidang medis dan farmasi. Produk ini sangat sesuai digunakan secara komersial dalam skala besar sebagai eksipien dalam berbagai produk farmasi seperti sediaan emulsi, tablet salut, tetes mata, biofermentasi dan topikal⁽⁹⁾.

2.1.5 Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA)

PLGA adalah kopolimer yang berasal *Poly Lactic Acid* (PLA) dan *Poly Glicolic Acid* (PGA). PLGA adalah polimer yang *biodegradable* yang telah disetujui oleh FDA yang dapat digunakan sebagai pembawa obat, protein, dan berbagai makromolekul lain seperti DNA, RNA dan peptida^(8,12). PLGA

mempunyai efektivitas klinis yang panjang dengan pelepasan terkendali. PLGA dapat diformulasikan dalam berbagai bentuk dan ukuran yang berfungsi untuk mengenkapsulasi molekul dalam berbagai ukuran. PLGA larut dalam berbagai pelarut diantaranya adalah tetrahidofuran, aseton, dan etil asetat. PLGA mempunyai sifat fisik yang dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah berat molekul, rasio *lactide* dan *glycolide*, suhu penyimpanan, dan pengaruh kontak dengan air⁽⁸⁾.

Pengantaran obat dengan pembawa PLGA harus memenuhi kriteria terkait dengan durasi, biodistribusi, dan konsentrasi yang memberikan efek terapeutik. Biodistribusi dan farmakokinetik PLGA mengikuti model kinetika tidak bergantung dosis atau non-linear. Nanopartikel PLGA telah diaplikasikan dalam beberapa formulasi dengan pengembangan *nanosphere* dan nanoenkapsulasi. Formulasi dalam bentuk nanoenkapsulasi memberi keuntungan yakni dapat menurunkan potensi efek samping^(12,13).



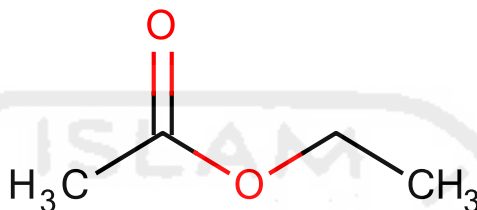
Gambar 2.5. Struktur Kimia PLGA⁽⁸⁾.

PLGA akan mengalami degradasi oleh reaksi hidrolisis melalui pemutusan ikatan ester menjadi oligomer dan monomer. Proses degradasi PLGA terjadi ketika air berpenetrasi ke dalam matriks PLGA dan molekul obat. Difusi dan erosi pada permukaan matriks merupakan proses degradasi yang terjadi pada PLGA⁽³⁾.

2.1.6 Etil Asetat

Etil Asetat merupakan suatu senyawa organik dengan rumus $C_4H_8O_2$ dengan bobot molekul 88.1 g/mol. Senyawa berbentuk cairan, tidak berwarna tetapi memiliki aroma yang khas. Etil asetat bersifat semipolar dan 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 yang mengandung basa atau asam. Etil asetat memiliki titik lebur sebesar 77°C dan titik beku sebesar $-83,6^{\circ}\text{C}$. Etil asetat secara perlahan mengalami penguraian oleh kondisi lembab dan menjadi asam⁽²⁵⁾.



Gambar 2.6. Struktur Kimia Etil Asetat (Marvin Sketch).

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, penggunaan etil asetat yakni 25 mg/kg berat badan⁽²⁶⁾.

2.1.7 Karakterisasi Nanopartikel

Karakterisasi nanopartikel dilakukan agar dapat mengetahui kualitas dari nanopartikel yang dibuat. Kualitas nanopartikel ini dapat dilihat dari beberapa pengujian yang dilakukan, mulai dari pengukuran ukuran partikel dan nilai zeta potensial, pengujian stabilitas dari nanopartikel yang terbentuk, pengukuran morfologi dari nanopartikel, dan pengukuran persen efisiensi enkapsulasi. Pengukuran ukuran partikel dan morfologi dilakukan untuk melihat seberapa besar partikel yang terbentuk agar didapat besaran ukuran yang sesuai. Nilai zeta potensial dilakukan untuk melihat stabilitas dan kualitas dari nanopartikel yang didapat. Uji stabilitas untuk melihat stabilitas nanopartikel terhadap pengaruh perbedaan pH, suhu dan kelembaban. Pengukuran persen efisiensi enkapsulasi untuk melihat seberapa banyak isolat *andrografolida* yang dapat terjerat dalam sediaan nanopartikel polimer yang dihasilkan.

2.1.7.1 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⁽²⁷⁾.

Nilai indeks polidispersitas (PDI) menggambarkan distribusi ukuran partikel. Nilai PDI yang baik menunjukkan stabilitas jangka panjang yang baik. Keterangan perolehan nilai PDI dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Acuan indeks polidispersitas⁽²⁸⁾.

Nilai PDI	Keterangan
<0,05	Monodispersi
<0,08	Hampir monodispersi
0,08-0,7	Nilai tengah dari PDI, ini adalah kisaran atas yang mana algoritma distribusi beroperasi paling baik.
>0,7	Sangat polidispersi dan menunjukkan distribusi yang sangat luas dari ukuran partikel. Kemungkinan terjadi sedimentasi.

Nilai ini menunjukkan hasil perhitungan dari rata-rata berat molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul. Semakin mendekati nol berarti distribusinya semakin baik⁽²⁹⁾.

2.1.7.2 Pengukuran Nilai Zeta Potensial

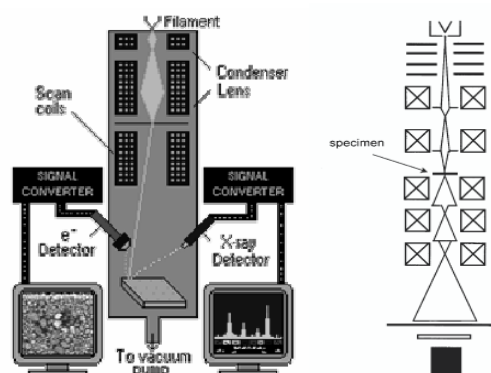
Zeta potential merupakan parameter muatan listrik antara partikel koloid. Semakin besar nilai zeta potensial maka akan semakin mencegah terjadinya flokulasi (peristiwa penggabungan koloid dari yang kecil menjadi besar). Pengurangan nilai zeta potensial akan memungkinkan partikel untuk saling tarik menarik dan terjadi flokulasi. Koloid dengan nilai zeta potensial yang tinggi (negatif atau positif) yang elektrik stabil sementara koloid dengan nilai zeta potensial rendah cenderung mengental atau terflokulasi yang dituangkan dalam tabel 2.2⁽³⁰⁾.

Tabel 2.2 Stabilitas berdasarkan nilai zeta potensial.

Nilai Zeta Potensial	Stabilitas dari koloid
0 sampai ± 5	Flokulasi
$\pm 10 \pm 30$	Kurang stabil
$\pm 30 \pm 40$	Stabilitas tingkat moderat
$\pm 40 \pm 60$	Stabilitas baik
Lebih dari ± 61	Stabilitas sangat baik

2.1.7.3 Morfologi Nanopartikel

Pengamatan morfologi ini dilakukan dengan menggunakan alat *Transmission Electron Microscopy* (TEM). TEM mempunyai fungsi untuk menganalisis morfologi, struktural kristal dan komposisi spesimen. TEM mempunyai resolusi yang sangat tinggi, sehingga dapat dengan mudah menganalisis ukuran atom⁽³¹⁾.



Gambar 2.7. Rangkaian Alat TEM⁽³¹⁾.

Sampel yang akan diuji menggunakan TEM nantinya akan ditembakkan menggunakan elektron yang memiliki energi tinggi dari *electron gun*, kemudian akan melewati dua lensa kondensor yang berfungsi untuk menguatkan elektron yang ditembakkan, lalu elektron diterima oleh spesimen tipis dan akan berinteraksi, karena spesimen tipis maka elektron akan berinteraksi dengan spesimen dan diteruskan ke tiga lensa yaitu lensa objektif, *intermediate*, dan proyektor. Lensa objektif adalah lensa utama dari TEM karena batas penyimpangannya membatasi dari resolusi mikroskop. Lensa *intermediate* digunakan sebagai penguat dari lensa objektif. Lensa proyektor digunakan untuk menggambarkan pada layar *fluorescent* yang ditangkap pada film fotografi atau kamera CCD⁽³¹⁾.

2.1.7.4 Pengujian Stabilitas

Stabilitas adalah faktor penting dalam kualitas, keamanan dan kemanjuran dari produk obat. Sebuah produk yang memiliki kestabilan yang kurang baik dapat mengakibatkan perubahan fisik (seperti kekerasan, laju disolusi, terjadi pemisahan fase dan lain-lain) serta karakteristik kimia dari sebuah produk. Stabilitas kimia obat sangat penting karena menjadi kurang efektif jika mengalami degradasi. Obat yang mengalami dekomposisi dapat menjadi beracun dan berbahaya bagi pasien. Uji stabilitas juga berpengaruh dalam penentuan kadaluarsa obat. Uji stabilitas juga dilakukan agar obat tidak rusak selama proses penyimpanan dan pendistribusian. Stabilitas dapat didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk untuk bertahan dalam batas yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan, sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat. Faktor lingkungan seperti suhu (temperatur), radiasi, cahaya, udara (terutama oksigen, karbon dioksida, dan uap air) dan kelembaban dapat mempengaruhi stabilitas. Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi stabilitas yaitu ukuran partikel, pH, pelarut yang digunakan, dan keberadaan bahan kimia lain

2.1.7.5 Pengukuran Persen Efisiensi Enkapsulasi

Pengukuran persen efisiensi enkapsulasi (%EE) dilakukan untuk melihat seberapa besar keberhasilan dari nanopartikel dalam menjerat obat. Faktor yang dapat mempengaruhi %EE adalah kelarutan partikel obat dalam polimer penjerat, formulasi dari polimer, bobot molekul, dan interaksi antara obat dengan polimer. Nilai %EE ditentukan dengan menggunakan rumus berikut

$$\%EE = \frac{\text{zat aktif dalam sampel} - \text{zat aktif dalam supernatan}}{\text{zat aktif dalam sampel}} \times 100\%$$

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. 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⁽³²⁾.

Karakterisasi secara menyeluruh meliputi ukuran partikel, karakter morfologi partikel, zeta potensial dilakukan untuk mengetahui kualitas nanopartikel yang dihasilkan. Nanopartikel dengan bentuk yang sferis dapat dengan mudah menembus membran seluler serta akan mengurangi agregasi karena berkurangnya interaksi antar permukaan partikel. Nilai zeta potensial menunjukkan stabilitas sistem dispersi nanopartikel yang terbentuk. Sebagai aturan praktis, nilai-nilai zeta potensial ± 30 mV akan memberikan stabilitas yang baik dan ± 60 mV memiliki stabilitas yang sangat baik^(33,34).

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. Sediaan nanopartikel polimer dapat meningkatkan stabilitas dari zat aktif yang digunakan, karena dengan membuat sediaan dalam ukuran nanopartikel dapat meningkatkan kemampuan melarutkan yang tinggi baik obat yang bersifat hidrofilik maupun

lipofilik⁽³⁵⁾. PVA bersifat sebagai stabilisator sterik yang dapat meningkatkan stabilitas dengan cara mengurangi interaksi antar partikel sehingga tidak terjadi agregasi pada nanopartikel. Menurut penelitian lain disebutkan bahwa apabila suatu formulasi menggunakan agen stabilisator sterik dan jika nilai zeta potensial hanya 20 mV atau jauh lebih rendah akan tetap memberikan stabilisasi yang baik⁽³⁰⁾.

2.3 Hipotesis

Penambahan PVA dapat mempengaruhi karakteristik nanopartikel pembawa isolat *andrografolida*, semakin meningkatnya konsentrasi PVA yang digunakan akan memperkecil ukuran partikel yang didapatkan, nilai PDI <0,7, morfologi yang tersusun berbentuk sferis, dan formulasi nanopartikel isolat *andrografolida* dengan variasi konsentrasi PVA yang digunakan akan mempertahankan ukuran partikelnya dalam variasi pH buffer sehingga memiliki stabilitas yang baik.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Pada penelitian ini digunakan bahan diantaranya isolat *andrografolida* (Yandi Syukri), PLGA p.a (*Poly Lactic-co-Glycolic Acid*) (Aldrich), PVA (*Polyninyl Alcohol*) (Aldrich), etil asetat p.a (Merck), aqua pro injeksi (Ikapharmindo), natrium hidroksida (NaOH), kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄), aquades (Lab. Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia), bluetip, mikrofilter 0,4 µm, dan *aluminium foil*.

3.1.2. Alat

Pada penelitian ini digunakan alat-alat diantaranya *magnetic stirrer* (Ika werke), mikropipet (Thermoscientific FinnpiPETTE), *particle size analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100), sentrifugator (Sorvall), HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (Hitachi), timbangan analitik (Metler Toledo), *transmission electron microscopy* (JEM-1010EX, Jeol, Jepang), dan seperangkat alat gelas.

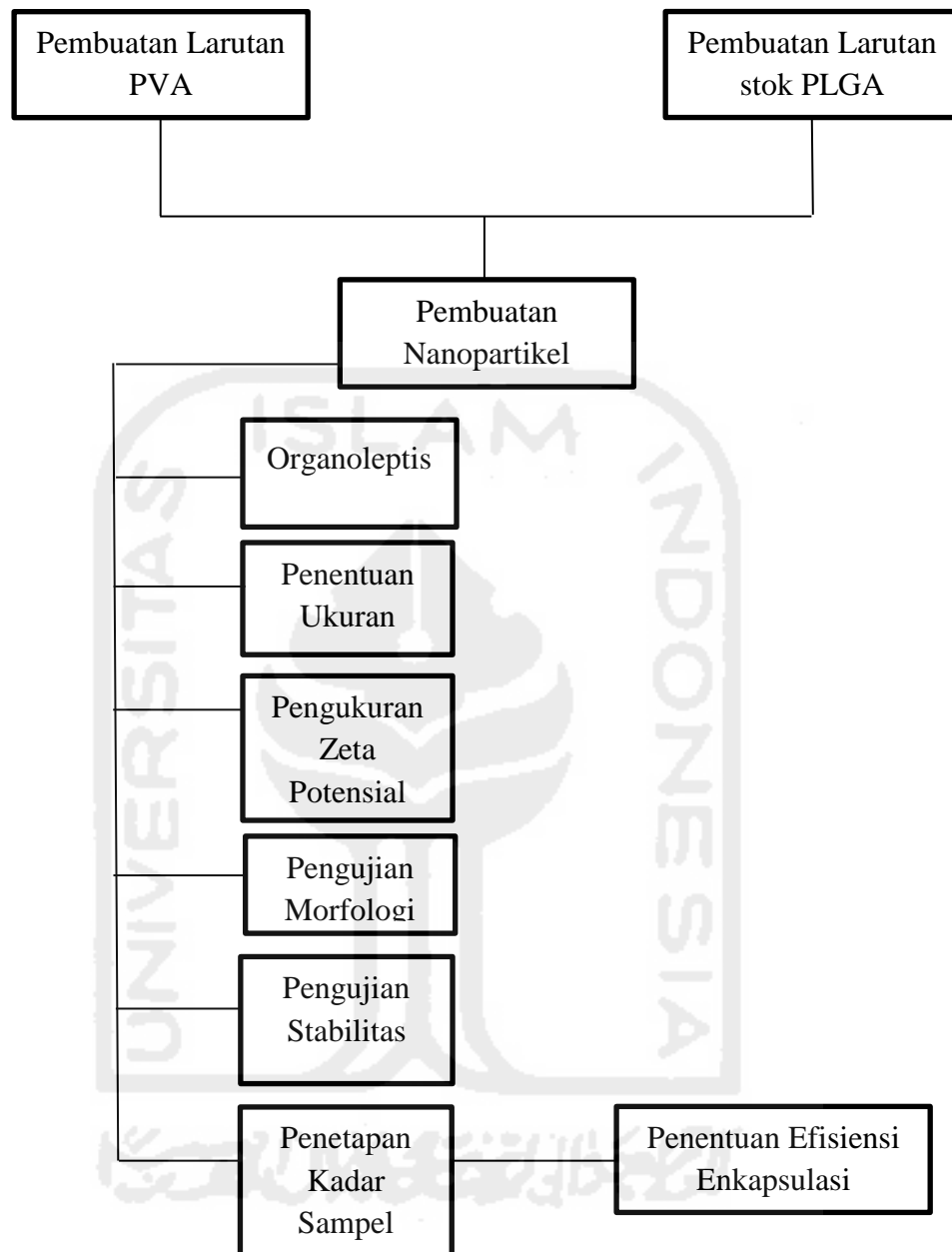
3.2. Cara Penelitian

3.2.1. Sistematika kerja penelitian

Sistematika kerja pada penelitian ini berisi urutan proses mulai dari pembuatan larutan stok PLGA, pembuatan larutan stok PVA, pembuatan nanopartikel, penentuan ukuran partikel dan zeta potensial, pengujian morfologi nanopartikel, uji stabilitas, dan pengukuran penentuan efisiensi enkapsulasi (%EE). Untuk proses yang lebih rinci dapat dilihat pada gambar 3.1.

3.2.2 Pembuatan larutan stok PVA

Ditimbang 1 gram, 2,5 gram, dan 5 gram PVA kedalam beker 100 mL, kemudian dilarutkan menggunakan 100 mL aquabides yang dituang menggunakan gelas ukur 100 mL. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 2000 rpm sampai PVA larut dengan sempurna.



Gambar 3.1. Skema Penelitian Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Isolat *andrografolida* dengan Variasi Perbandingan PVA (Polyvinyl Alcohol)

3.2.3 Pembuatan Larutan Stok PLGA

Ditimbang 100 mg PLGA dan dilarutkan dalam 1 mL etil asetat yang telah dituangkan dari gelas ukur 10 mL. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan *stirrer* selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm.

3.2.4 Pembuatan Nanopartikel

Tabel 3.1 Formula Nanopartikel polimer⁽³⁸⁾.

Nama Bahan	FI	FII	FIII
Isolat <i>Andrographolida</i>	2 mg	2 mg	2 mg
Etil Asetat	2 mL	2 mL	2 mL
PLGA	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
PVA 1%	2,5mL	-	-
PVA 2,5%	-	2,5mL	-
PVA 5%	-	-	2,5mL
Aquabides	50 mL	50 mL	50 mL

Menurut Low M, 2 mg/hari *andrographolida* memiliki efek antiinflamasi tanpa menimbulkan efek samping yang membahayakan bagi tubuh⁽³⁶⁾. Nanopartikel ini dibuat menggunakan metode *solvent evaporation* yang terdiri dari 2 fase, yaitu fase air dan fase organik. Fase air dibuat masing-masing sebanyak 2,5 mL dengan menggunakan PVA 1g, 2,5g, 5g dan air sampai tanda batas. Fase organik dibuat sebanyak 2,5 mL yang terdiri dari larutan PLGA 500 μ L dan ditambahkan 2 mg *andrographolida* yang telah dilarutkan ke dalam 2 mg etil asetat. Fase organik dan fase air dicampurkan dengan cara fase organik diteteskan ke dalam fase air menggunakan mikropipet dengan volume 50 μ L secara perlahan dan diaduk menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 2000 rpm. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *ultrasonicator homogeneizer* selama 2 menit. Campuran yang sudah terbentuk diencerkan dengan 50 mL aquades dan pelarut etil asetat diuapkan selama 24 jam dengan pengadukan menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 2000 rpm.

3.2.5 Organoleptis Nanopartikel Polimer

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.

3.2.6 Karakterisasi Nanopartikel Polimer

3.2.6.1 Penentuan Ukuran Partikel

Penentuan ukuran partikel menggunakan *particle size analyzer* (PSA). Ditimbang 0,25 mg sampel lalu dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan aqua pro injeksi sampai 2,5 mg. Kuvet dimasukkan ke dalam *holder* alat PSA.

3.2.6.2 Pengukuran Zeta Potensial

Pengukuran zeta potensial menggunakan *particle size analyzer* (PSA). Diambil larutan sampel sebanyak 1 mL kemudian diletakkan kedalam kuvet zeta potensial lalu diletakkan ke dalam *holder* alat PSA.

3.2.6.3 Pengujian Morfologi Nanopartikel

Morfologi yang terbentuk dari nanoemulsi dibaca menggunakan alat *transmission electron microscopy* (TEM). Sampel diteteskan sebanyak 10 μ L kedalam *grid*, lalu didiamkan selama 1 menit, kemudian cairan sisa diambil kembali menggunakan mikropipet. Diteteskan *uranyl acetate* sebanyak 10 μ L kedalam *grid*. Cairan sisa diambil kembali menggunakan mikropipet. *Grid* selanjutnya dikeringkan selama 30 menit dan kemudian dilihat ke dalam alat *transmission electron microscopy* (TEM).

3.2.6.4 Pembuatan Buffer Fosfat

Pembuatan buffer fosfat dengan cara disiapkan larutan stok NaOH 0,8g/100ml dan KH₂PO₄ 2,72g/100ml, dari larutan stok dicampur 50 mL KH₂PO₄ dengan NaOH sebanyak 1,6 ml; 3,6 ml; 5,6 ml; 11,6 ml; 29,1 ml; untuk pH berturut-turut 5,6; 5,8; 6; 6,4; 7, dan diencerkan dengan aqua pro injeksi hingga 200 ml.

3.2.6.5 Pengujian Stabilitas

Pengujian stabilitas dilakukan menggunakan *particle size analyzer* (PSA) selama 14 hari. Pada 1 minggu pertama sampel diletakkan di suhu ruangan,

sedangkan minggu ke 2 sampel diletakkan di suhu dingin. Digunakan sampel dan variasi buffer sebanyak 5 buffer dengan pH 5,6; 5,8; 6; 6,4; dan 7. Sampel diambil sebanyak 0,25 gram, kemudian ditambahkan buffer sebanyak 2,5 gram dan dibaca di PSA.

3.2.7 Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi (%EE)

3.2.7.1 Penetapan Kadar Sampel

Dibuat larutan sampel 10ppm dengan cara diambil sebanyak 0,4 ml sediaan nanopartikel isolat *andrografolida* dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan metanol:air 70:30, dibaca menggunakan HPLC.

3.2.7.2 Penetapan Kadar Supernatan Hasil Sentrifugasi

Diambil 15 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung vivaspin®, kemudian dimasukkan ke dalam alat sentrifugasi. Sampel disentrifuse selama 60 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatan yang terdapat dibawah tabung kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam vial. Dipipet supernatan sebanyak 0,4 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan metanol:air 70:30. Lalu dibaca menggunakan HPLC.

3.2.7.3 Pengukuran Persen Efisiensi Enkapsulasi (%EE)

Diambil sampel nanopartikel sebanyak 15 mL dan dimasukkan ke dalam vivaspin®, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 30 menit. Supernatan yang terbentuk kemudian diambil dan diukur jumlah isolat *andrografolida* yang terdapat dalam supernatan menggunakan HPLC.

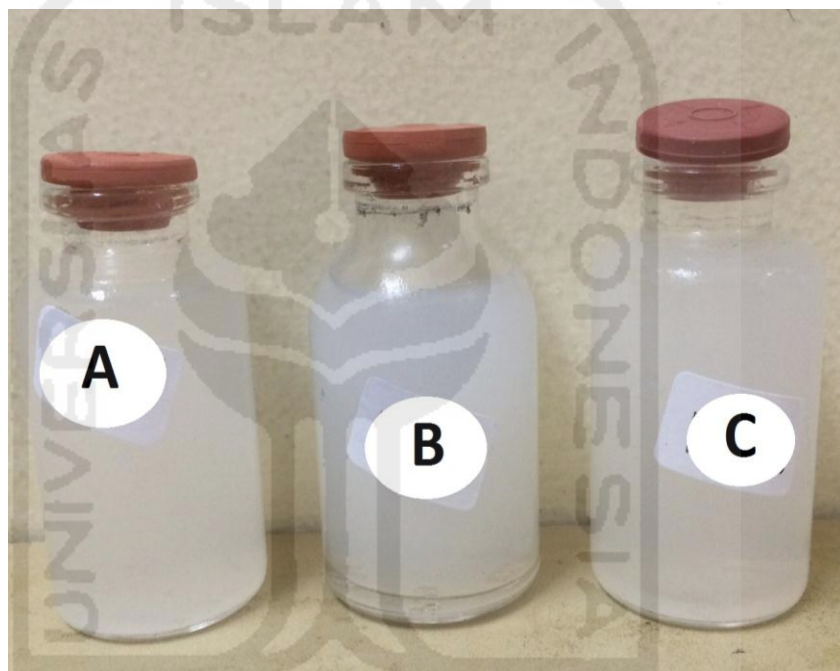
3.3 Analisis Hasil

Analisis hasil dilakukan secara deskriptif, dengan cara membandingkan data yang diperoleh dari hasil penelitian seperti ukuran globul, zeta potensial, morfologi partikel, dan persen efisiensi enkapsulasi dibandingkan dengan jurnal. Analisis hasil data stabilitas dilakukan dengan melihat grafik yang terbentuk dan diamati adanya perubahan yang signifikan, kemudian dibandingkan dengan jurnal.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Organoleptis Nanopartikel Isolat *Andrografolida*

Pengujian organoleptis dilakukan dengan melihat bau, rasa dan warna dari hasil nanopartikel yang terbentuk. Uji Organoleptik dengan menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap kualitas suatu bahan atau produk. Organoleptik merupakan salah satu komponen yang sangat penting dalam menganalisis kualitas dan mutu produk.



Gambar 4.1. Hasil nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA.

Keterangan :

- A : Formula nanopartikel isolat andrografolida PVA 1%
- B : Formula nanopartikel isolat andrografolida PVA 2,5%
- C : Formula nanopartikel isolat andrografolida PVA 5%

Hasil yang didapat dari penelitian ini adalah berwarna putih keruh, tidak memiliki bau yang khas, dan terdapat endapan di bagian bawah vial. Endapan yang terbentuk terjadi setelah pelarut organik terangkat melalui proses evaporasi. PLGA akan menarik diri ke dalam fase air setelah pelarut etil asetat menguap.

4.2 Karakteristik Nanopartikel Isolat *Andrographolida*

4.2.1 Ukuran Partikel

Ukuran partikel nanopartikel isolat *andrographolida* diukur menggunakan *particle size analyzer*. Pengukuran globul ini dilihat dari ukuran partikel yang didapat dan indeks polidispersitas. Ukuran partikel dan polidispersitas sampel FI, FII dan FIII dapat dilihat pada table 4.1.

Tabel 4.1. Nilai ukuran partikel dan indeks polidispersitas formulasi isolat *andrographolida* dengan variasi PVA

Formula	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas
I	376,8 \pm 19,41	0,445 \pm 0,081
II	290,5 \pm 13,82	0,276 \pm 0,049
III	256,2 \pm 19,95	0,321 \pm 0,144

Keterangan :

FI :Formula nanopartikel isolat *andrographolida* dengan PVA 1%

FII : Formula nanopartikel isolat *andrographolida* dengan PVA 2,5%

FIII : Formula nanopartikel isolat *andrographolida* dengan PVA 5%

Pada formula nanopartikel diatas terlihat bahwa dari ketiga formula yang didapat yaitu Formula I 376,8 \pm 19,41; Formula II 290,5 \pm 13,82 dan Formula III 256,2 \pm 19,95 masuk dalam range nanometer. Dan pada formula 3 didapatkan ukuran partikel yang paling kecil dibandingkan formula 1 dan formula 2. Menurut penelitian Nafee *et al.*, PVA dapat menurunkan ukuran partikel, selain itu penggunaan PVA membuat ukuran partikel menjadi lebih stabil, terlihat pada formula FIII 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*^(12,32).

Indeks polidispersitas adalah ukuran dari distribusi massa molekul dalam sampel tertentu. Semakin kecil nilai PDI maka menggambarkan semakin stabil juga formula dari suatu sediaan yang dibuat, hal ini dikarenakan semakin besar nilai PDI menunjukkan partikel yang terbentuk tidak seragam, sehingga formula akan terflokulasi dengan cepat. Hasil indeks polidispersitas yang paling baik dihasilkan oleh formula dengan penggunaan PVA 2,5% yaitu $0,276 \pm 0,049$. Sedangkan formula dengan penggunaan PVA 1% dan 5% memiliki nilai indeks polidispersitas $0,445 \pm 0,081$ dan $0,321 \pm 0,144$. Nilai PDI ketiga formula ini masuk dalam rentang nilai tengah dari indeks polidispersitas yaitu 0,08-0,7, ini adalah kisaran atas yang mana algoritma distribusi beroperasi paling baik. Jika nilai indeks polidispersitas $>0,7$ menunjukkan distribusi yang sangat luas dari ukuran partikel dan kemungkinan akan terjadi sedimentasi. Kestabilan formula yang didapat tidak terlepas dari peran PVA sebagai *stabilizer*. PVA dapat menjembatani antara fase air dengan PLGA sebagai fase organik. Gugus vinil pada PVA akan bergerak ke arah PLGA, sedangkan gugus hidroksil pada PVA akan menjadi jembatan antara air dan PLGA, sehingga akan terbentuk *crosslink* antara fase air dan fase organik dengan terbentuk lapisan yang seragam⁽³²⁾.

4.2.2 Zeta Potensial

Pengukuran zeta potensial nanopartikel isolat *andrografolida* dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* pada suhu 25°C. Zeta potensial adalah istilah ilmiah untuk elektrokinetik potensial dalam sistem koloid, zeta potensial merupakan perbedaan potensial antara permukaan lapisan ion-ion yang terikat kuat pada permukaan zat padat dan bagian *electroneutral* dari larutan. Muatan listrik yang tinggi pada permukaan nanopartikel akan mencegah agregasi dari nanopartikel tersebut karena kuatnya gaya tolak menolak antar partikel⁽²⁸⁾.

Sebagai aturan praktis, nilai-nilai zeta potensial ± 30 mV akan memberikan stabilitas yang baik dan ± 60 mV memiliki stabilitas yang sangat baik⁽²⁸⁾. Sekitar ± 20 mV hanya memberikan stabilitas jangka pendek, nilai zeta potensial kisaran ± 5 mV menunjukkan agregasi yang cepat. Dalam hal ini jika

nilai zeta potensial hanya 20 mV atau jauh lebih rendah dapat memberikan stabilisasi yang cukup⁽³⁰⁾. Hasil pengukuran nilai zeta potensial dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2. Hasil pengukuran zeta potensial nanopartikel isolat *andrografolida*

Formula	Nilai Zeta Potensial (mV)
	$\bar{x} \pm SD$
F1	$-29,2 \pm 0,51$
F2	$-30,3 \pm 2,06$
F3	$-26,16 \pm 0,87$

Keterangan:

F1 : Formula nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA 1%

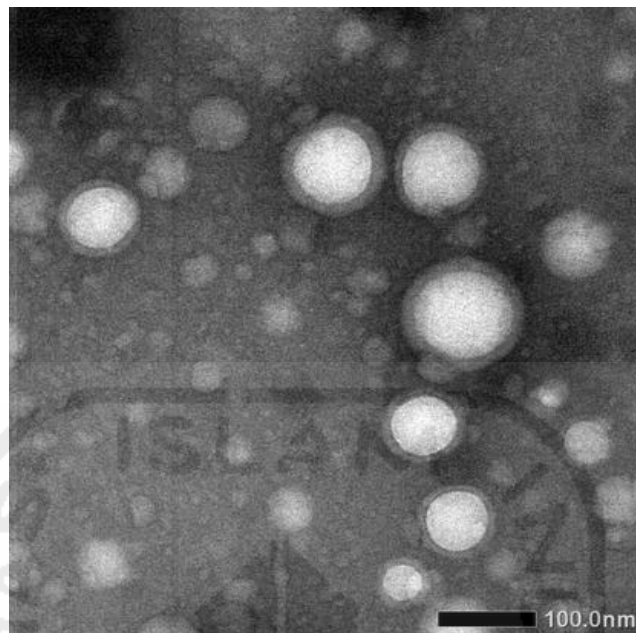
F2 : Formula nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA 2,5%

F3 : Formula nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA 5%

Nilai zeta potensial yang dihasilkan pada ketiga formula tergolong baik yaitu ± 30 mV dan ± 20 mV . Hasil zeta potensial dari formula PVA 1%, PVA 2,5% dan PVA 5% adalah $-29,2 \pm 0,51$ mV; $-30,3 \pm 2,06$ mV; $-26,16 \pm 0,87$. Partikel yang memiliki nilai zeta potensial besar baik positif atau negatif akan menyebabkan gaya tolak menolak antar partikel, sedangkan apabila nilai zeta potensialnya rendah menyebabkan terjadi gaya tarik menarik antar partikel yang mengakibatkan partikel bergabung dan menjadi tidak stabil⁽²⁹⁾. Nilai yang didapat adalah cenderung ke arah negatif karena pengaruh dari PLGA dan PVA yang memiliki muatan negatif. Penggunaan PVA dapat menstabilkan nanopartikel yang terbentuk, PVA akan membentuk jaringan yang stabil pada permukaan polimer melalui stabilisasi sterik⁽³²⁾.

4.2.3 Pengujian Morfologi

Pengujian morfologi dilakukan menggunakan alat *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Sampel yang digunakan dalam pengujian morfologi ini adalah sampel formulasi III. Sampel ini memiliki nilai indeks polidispersitas dan ukuran partikel yang baik.



Gambar 4.2. Hasil pembacaan Transmission Electron Microscopy perbesaran 40.000 kali

Gambar 4.10 menunjukkan bahwa sampel FIII memiliki ukuran partikel sekitar 70-100 nm dan berbentuk spheris. Ukuran partikel yang didapat dari hasil TEM lebih kecil dari pada yang didapat menggunakan PSA. Pada pengukuran menggunakan TEM, sampel yang dibaca harus tipis, agar dapat ditembus oleh elektron, sedangkan PSA pengukuran yang memiliki sifat hidrodinamik, atau densitas dari cairan dapat mempengaruhi ukuran partikel dari sampel. Pertama sampel diletakkan diatas *grid* TEM yang terbuat dari tembaga atau karbon. *Pal SL*, melakukan karakterisasi nanopartikel PLGA yang ditambahkan dengan PVA, hasilnya nanopartikel memiliki bentuk spheris (bulat). Partikel yang berbentuk spheris ini lebih mudah masuk kedalam membran seluler.

4.2.4 Pengukuran Persen Efisiensi Enkapsulasi (%EE)

Pengukuran kadar isolat *andrografolida* yang terenkapsulasi dalam nanopartikel dilakukan dengan mengukur kadar supernatant yang didapat menggunakan HPLC dengan panjang gelombang maksimal 229 nm. Panjang gelombang tersebut mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Syukri, Y.

(unpublished). Efisiensi enkapsulasi menunjukkan jumlah isolat *andrografolida* yang dapat terjerat dalam matriks nanopartikel polimer. Semakin tinggi efisiensi enkapsulasi berarti menunjukkan bahwa semakin banyak zat aktif yang terjerat dalam sediaan nanopartikel polimer. Hasil persen efisiensi enkapsulasi nanopartikel isolat *andrografolida* dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4.3. Hasil persen efisiensi enkapsulasi nanopartikel isolat *andrografolida* dengan persamaan regresi $y = 50130 x - 9547,3$ dan $r = 0,9999$

Formula	% Efisiensi Enkapsulasi
F1	17,3 %
F2	6,2331%
F3	38,723 %

Keterangan:

F1 : Formula nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA 1%

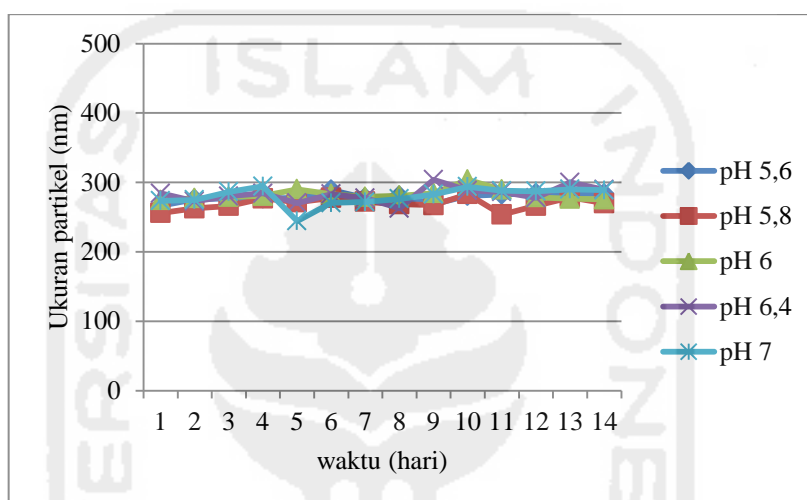
F2 : Formula nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA 2,5%

F3 : Formula nanopartikel isolat *andrografolida* dengan PVA 5%

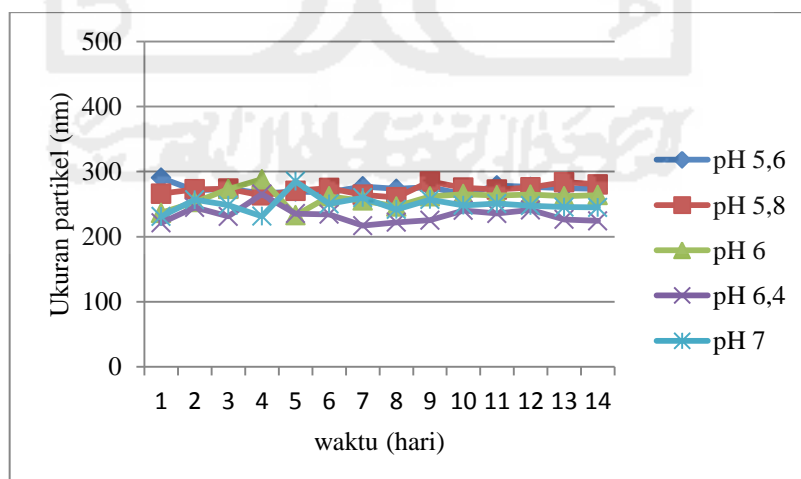
Hasil efisiensi enkapsulasi yang dimiliki oleh tiap formula berbeda-beda. Hasil paling tinggi diperoleh oleh formula dengan penggunaan PVA 5% yaitu 38,723% isolat *andrografolida* terjerat kedalam matriks nanopartikel. Pada formula PVA 1% didapatkan persen efisiensi enkapsulasi sebesar 17,3% dan pada formula PVA 2,5% didapatkan persen efisiensi enkapsulasi yang paling rendah yaitu 6,2331% hal ini dimungkinkan terjadi karena urutan pencampuran yang tidak tepat saat preparasi sehingga menyebabkan tidak terbentuknya droplet yang terjerat dalam nanoenkapsulasi. Hasil yang diperoleh pada formula 5% yaitu 38,723% hasil tersebut sudah cukup baik dikarenakan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mardiyanto dengan menggunakan zat aktif rifampisin mendapatkan persen efisiensi enkapsulasi sebanyak 37%⁽³⁸⁾.

4.2.5 Pengujian Stabilitas

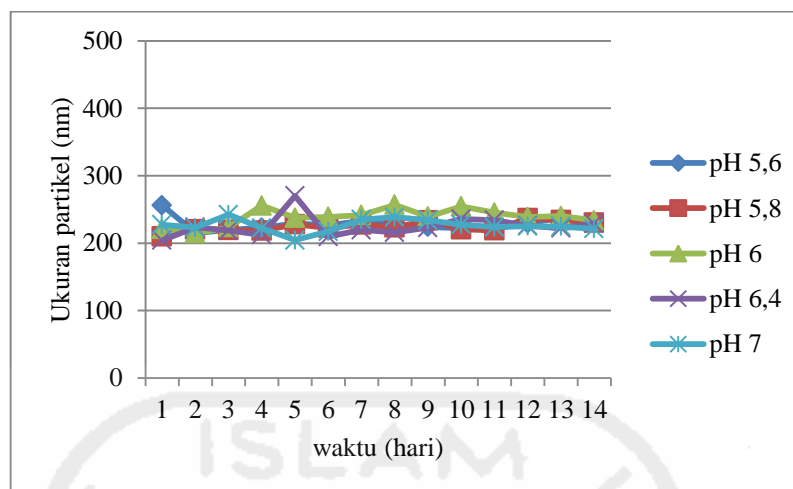
Pengujian stabilitas nanopartikel isolat *andrografolida* dilakukan dengan alat *Particle Size Analyzer* dengan masing-masing formula dicampurkan ke dalam variasi pH yang berbeda-beda selama 14 hari⁽³⁸⁾. Hasil uji stabilitas dilihat dari perubahan grafik ukuran partikel serta perubahan nilai zeta potensial dari tiap sampel. Hasil uji stabilitas ukuran partikel dapat dilihat pada gambar 4.3 4.4, 4.5



Gambar 4.3. Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel isolat *andrografolida* dengan ukuran partikel dalam variasi buffer formula PVA 1% selama 14 hari (n : 3)



Gambar 4.4. Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel isolat *andrografolida* dengan ukuran partikel dalam variasi buffer formula PVA 2,5% selama 14 hari (n : 3)

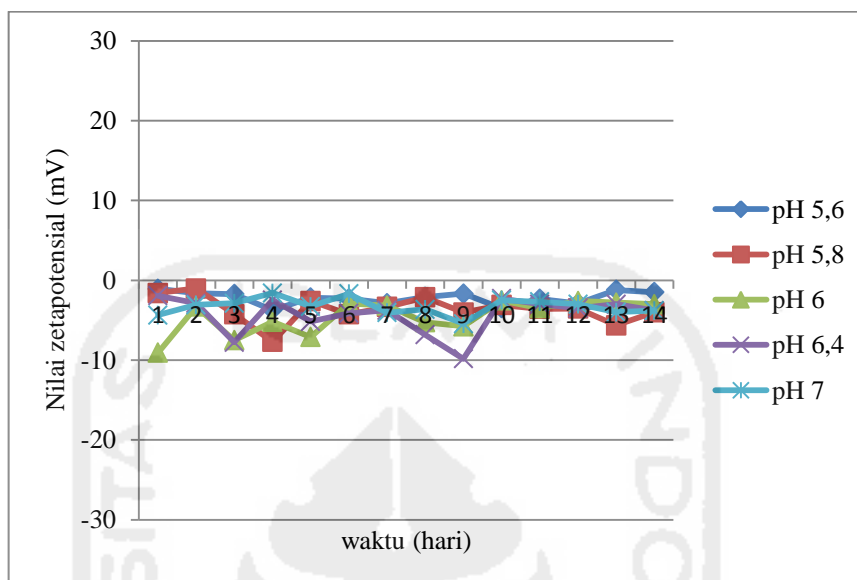


Gambar 4.5. Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel isolat *andrographolida* dengan ukuran partikel dalam variasi buffer formula PVA 5% selama 14 hari (n : 3)

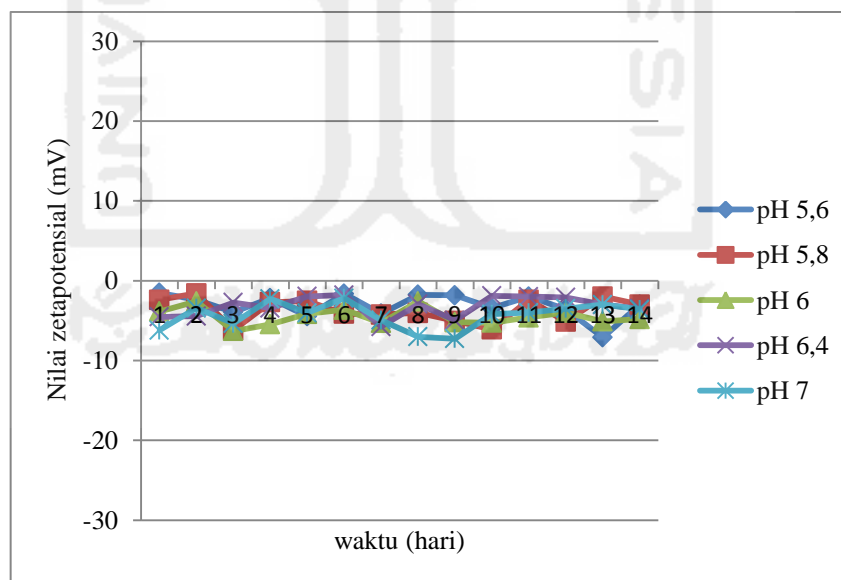
Parameter penting pada sistem penghantaran obat nanopartikel adalah stabilitasnya di bawah kondisi lingkungan yang relevan untuk menghindari kerusakan dan pelepasan obat yang terlalu cepat. Pengujian dilakukan selama 14 hari dikarenakan PLGA sebagai polimer terhidrolisis selama 14 hari⁽³⁾. Hasil uji stabilitas ukuran partikel pada tiap sampel menunjukkan bahwa terlihat pada grafik nanopartikel masih mempertahankan ukuran partikelnya didalam pH asam maupun netral, hasil ukuran partikel formula 1, 2, dan 3 masih berada didalam rentang ukuran nanometer yaitu $\pm 200-400$ nm. 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. Kestabilannya terhadap kondisi lingkungan ini sangat penting karena nanopartikel yang dibuat dapat digunakan dalam suasana asam untuk penghantaran obat⁽³⁹⁾.

Zeta potensial adalah salah satu parameter yang dapat digunakan untuk melihat stabilitas dari suatu sediaan. Suatu sampel yang memiliki nilai zeta potensial diatas ± 30 mV dikatakan memiliki stabilitas yang baik, jika nilai zeta

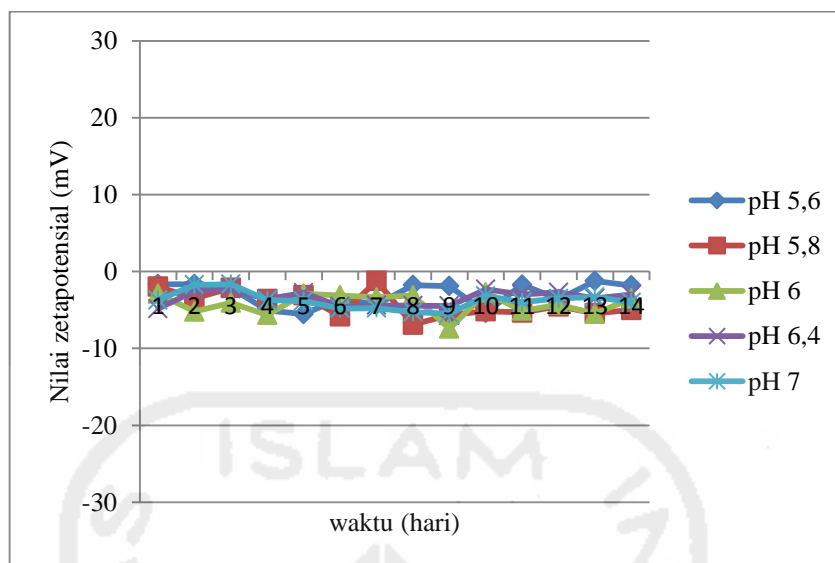
potensial terlalu kecil menyebabkan aglomerasi pada partikel didalam sampel.
 Hasil pengujian stabilitas dilihat dari nilai zeta potensial gambar 4.6, 4.7, 4.8



Gambar 4.6. Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel isolat *andrografolida* dengan zeta potensial dalam variasi buffer formula PVA 1% selama 14 hari (n : 3)



Gambar 4.8. Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel isolat *andrografolida* dengan zeta potensial dalam variasi buffer formula PVA 2,5% selama 14 hari (n : 3)



Gambar 4.9. Kurva hubungan waktu penyimpanan nanopartikel isolat *andrographolida* dengan zeta potensial dalam variasi buffer formula PVA 5% selama 14 hari (n : 3)

Nilai zeta potensial yang dihasilkan pada ketiga formula dalam variasi pH sangat rendah, dimana nilai zeta potensial masing-masing formula berada diantara -1 mV dan -10 mV. Meskipun zeta potensial yang dihasilkan sangat rendah, namun nanopartikel akan distabilkan oleh lapisan PVA melalui stabilisasi sterik. Seperti disebutkan oleh Honary *et al*, dalam penelitiannya bahwa jika nilai zeta potensial hanya 20 mV atau jauh lebih rendah namun memiliki sifat stabilitas sterik maka dapat memberikan stabilisasi yang cukup⁽³⁰⁾. Stabilisasi sterik adalah stabilitas yang melibatkan adsorpsi polimer pada permukaan partikel⁽⁴⁰⁾. Lapisan yang teradsorpsi oleh polimer seperti PVA akan bertindak sebagai penghalang di permukaan partikel, sehingga akan mencegah partikel untuk kembali menyatu karena adanya daya tarik van der Waals yang akan menyebabkan flokulasi⁽⁴¹⁾. PVA merupakan kopolimer dengan sifat stabilisator sterik yang sangat efektif, seperti penelitian yang dilakukan sebelumnya bahwa ZnO dengan penambahan kopolimer akan mengurangi agregasi partikel secara drastis⁽¹²⁾.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Variasi konsentrasi PVA mempengaruhi karakteristik nanopartikel pembawa isolat *andrografolida* yang didapat. Ukuran nanopartikel isolat *andrografolida* yang dihasilkan adalah 200-400 nm dengan nilai indeks polidispersitas $<0,7$ serta memiliki bentuk sferis. Zeta potensial tertinggi dihasilkan oleh formula dengan penggunaan PVA 2,5% $-30,3 \pm 2,06\text{mV}$. Persen efisiensi enkapsulasi paling tinggi didapat pada formula dengan penggunaan PVA 5% yakni 38,723 %. Variasi konsentrasi PVA yang digunakan pada nanopartikel isolat *andrografolida* memiliki hasil yang tidak berbeda untuk tiap formula dalam meningkatkan stabilitas nanopartikel isolat *andrografolida* dikarenakan PVA mampu mempertahankan ukuran partikelnya dalam rentang nanometer setelah di uji menggunakan buffer pH dengan rentang 5,6-7 dan memiliki nilai indeks polidispersitas $<0,7$. Walaupun ketiga formula memiliki nilai zeta potensial yang rendah setelah ditambahkan buffer, stabilitasnya akan dibantu oleh sifat PVA yang memiliki kemampuan menstabilkan dengan melalui kemampuan sterik.

5.2. Saran

- 5.2.1. Perlu dilakukan uji stabilitas nanopartikel isolat *andrografolida* dalam jangka waktu yang lebih panjang.
- 5.2.2. Perlu ditambahkan formula pembanding tanpa PVA sebagai stabilisator untuk mengetahui pengaruh PVA terhadap stabilitas nanopartikel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Martien R, Adhyatmika ID, Farida V, Sari DP. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat.
2. Pal SL, Jana U, Manna PK, Mohanta GP, Manavalan R. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization (2000-2010). 2011
3. Anderson JM, Shive MS. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012 Dec;64:72–82.
4. Martinho N. Recent Advances in Drug Delivery Systems. *J Biomater Nanobiotechnology.* 2011;2(5):510–26.
5. Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H, Kuno Y. Mucoadhesive DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres coated with chitosan to improve oral delivery of elcatonin. *Pharm Dev Technol.* 2000;5(1):77–85.
6. Ratnani RD, Hartati I, Kurniasari L. Potensi Produksi Andrographolide dari Sambiloto (*andrographis paniculata* Nees) melalui Proses Ekstrasi Hidrotropi. *Momentum [Internet].* 2012 [cited 2016 Nov 16];8(1).
7. Guo M, Chu Z, Yao J, Feng W, Wang Y, Wang L, et al. The effects of tensile stress on degradation of biodegradable PLGA membranes: A quantitative study. *Polym Degrad Stab.* 2016 Feb;124:95–100.
8. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers.* 2011 Aug 26;3(4):1377–97.
9. 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.
10. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases.* 2007;2(4):MR17.
11. Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H, Kuno Y. Mucoadhesive DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres coated with chitosan to improve oral delivery of elcatonin. *Pharm Dev Technol.* 2000;5(1):77–85.
12. Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerphases.* 2010 Jan;75(1):1–18.
13. Delie F, Blanco-Príeto MJ. Polymeric particulates to improve oral bioavailability of peptide drugs. *Molecules.* 2005;10(1):65–80.

14. Naik JB, Lokhande AB, Mishra S, Kulkarni RD. Development of sustained release micro/nanoparticles using different solvent emulsification technique: A review. *Int J Pharm Bio Sci.* 2012;3(4):573–590.
15. Tiwari S, Verma P, Batra N. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY & LIFE SCIENCES. *Int J Pharm Life Sci IJPLS.* 2011;2(3):617–619.
16. Freitas S, Merkle HP, Gander B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *J Controlled Release.* 2005 Feb;102(2):313–32.
17. Dwiastuti R, Noegrohati S, Istyastono EP, Marchaban M. METODE PEMANASAN DAN SONIKASI MENGHASILKAN NANOLIPOSOM DARI FOSFOLIPID LESITIN KEDELAI (SOY LECITHIN). *J Farm Sains Dan Komunitas.* 2016;13(1):23–27.
18. EI S, NK W, SM D. Pengaruh Penggunaan Propilenglikol dan Mentol Terhadap Matrik Patch Transdermal Ekstrak Air Herba Sambilotto (*Andrographis paniculata* (burm. F.) Nees). *J Farm Udayana [Internet].* 2015
19. Harjotaruno S, Widyawaruyanti A, Sisindari S, Zaini NC. Apoptosis Inducing Effect Of Andrographolide On TF-47 Human Breast Cancer Cell Line. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2007;4(3):345–351.
20. Nadeem M, Ahmad M, Akhtar MS, Shaari A, Riaz S, Naseem S, et al. Magnetic Properties of Polyvinyl Alcohol and Doxorubicine Loaded Iron Oxide Nanoparticles for Anticancer Drug Delivery Applications. Xu B, editor. *PLOS ONE.* 2016 Jun 27;11(6):e0158084.
21. Pu-You J, Cai-ying B, Li-hong H, Yong-hong Z. Properties of Poly (vinyl alcohol) Plasticized by Glycerin. *J For Prod Ind.* 2014;3(3):151–153.
22. Kamarul T, Krishnamurthy G, Salih ND, Ibrahim NS, Raghavendran HRB, Suhaeb AR, et al. Biocompatibility and Toxicity of Poly(vinyl alcohol)/N,O-Carboxymethyl Chitosan Scaffold. *Sci World J.* 2014;2014:1–7.
23. Wangyujun., Xianghua, Wang., Guangsheng, Luo., Youyuan, Dai. Adsorption of bovin serum albumin (BSA) onto the magnetic chitosan nanoparticles prepared by a microemulsion system. *Bioresources Technology.* 2008;99(9):3881–4.
24. Ezhilarasi P.N, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan. Nanoencapsulation Techniques for food Bioactive Components : A Review. *J Food Bioprocess Technol. Food and Bioprocess Technology.* 2012;6(3):628–47.

25. Ikhazuangbe PMO, Oni AB. Reaction rate and rate constant of the hydrolysis of ethyl acetate with sodium hydroxide. 2015 [cited 2016 Nov 16]
26. Rowe RC, Paul JS, Malan EQ. Handbook of Pharmaceutical Excipient. 6th ed. London: The Pharmaceutical press; 2009. 159-161 p.
27. Sau TK, Pal A, Jana NR, Wang ZL, Pal T. Size controlled synthesis of gold nanoparticles using photochemically prepared seed particles. *J Nanoparticle Res.* 2001;3(4):257–261.
28. Anonim. Zetasizer Nano ZS Training Course. UK: Malvern; 2010. 1-120 p.
29. Akbari B, Tavandashti MP, Zandrahimi M. Particle Size Characterization of Nanoparticles—A Practical approach. *Iran J Mater Sci Eng.* 2011;8(2):48–56.
30. Honary S, Zahir F. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 1). *Trop J Pharm Res [Internet].* 2013 May 9 [cited 2016 Nov 16];12(2).
31. Shi B. Transmission Electron Microscope. *Young Sci J.* 2016;(18):33.
32. 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.
33. Martien R, Adhyatmika ID, Farida V, Sari DP. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Maj Farm.* 2012;8(1):133–44.
34. Wissing SA, Kayser O, Müller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004 May 7;56(9):1257–72.
35. Santos P, Watkinson AC, Hadgraft J, Lane ME. Application of Microemulsions in Dermal and Transdermal Drug Delivery. *Skin Pharmacol Physiol.* 2008;21(5):246–59.
36. Low M, Khoo CS, Münch G, Govindaraghavan S, Sucher NJ. An in vitro study of anti-inflammatory activity of standardised *Andrographis paniculata* extracts and pure andrographolide. *BMC Complement Altern Med [Internet].* 2015 Dec [cited 2017 Feb 5];15(1).
37. Sawant KK, Dodiya SS. Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2008;2(2):120–35.
38. Mardiyanto. Preparation and Characterization of Submicron Particles of PLGA Incorporating Rifampin Using Emulsion Solvent Diffusion Method. *Kementrian Ris Dan Teknol.* 2015;13–6.

39. 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.
40. Shi J. Steric Stabilization. *Dep Mater Sci Eng.* 2002;1–43.
41. 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;11(4):44304.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Ukuran Partikel

Formula	Ukuran Partikel (nm)	Nilai Indeks Poldispersitas
I Rep 1	359,3	0,358
I Rep 2	373,5	0,358
I Rep 3	397,7	0,358
II Rep 1	306,1	0,221
II Rep 2	285,8	0,318
II Rep 3	279,7	0,289
III Rep 1	279,3	0,156
III Rep 2	245,3	0,422
III Rep 3	244,2	0,384

Keterangan :

Formula I : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1%

Formula II : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5%

Formula III : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5%

Lampiran 2. Data Nilai Zeta Potensial

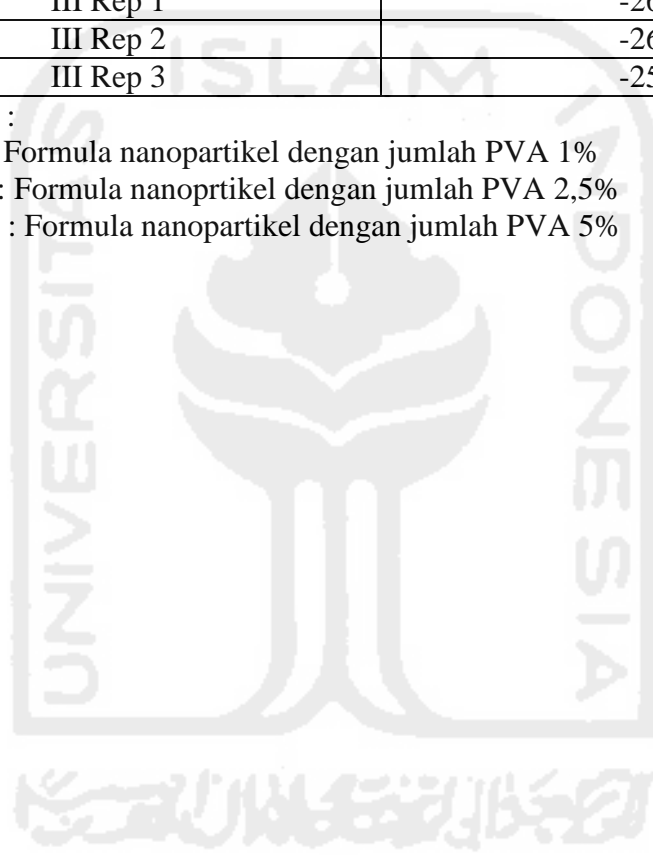
Formula	Nilai Zeta Potensial
I Rep 1	-29,8
I Rep 2	-28,9
I Rep 3	-28,9
II Rep 1	-32
II Rep 2	-28
II Rep 3	-30,9
III Rep 1	-26,4
III Rep 2	-26,9
III Rep 3	-25,2

Keterangan :

Formula I : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1%

Formula II : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5%

Formula III : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5%



Lampiran 3. Perhitungan kurva Baku

1. Perhitungan regresi dan persamaan garis

	kadar (ppm)/ X	Area (y)	XY	XX	YY
	0,5	17249	8624,5	0,25	297528001
	2	88205	176410	4	7780122025
	5	241422	1207110	25	58284582084
	10	492618	4926180	100	2,42672x10 ¹¹
	15	742000	11130000	225	5,50564x10 ¹¹
Jumlah	32,5	1581494	17448324,5	354,25	8,59599x10 ¹¹

$$a = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$= \frac{(1581494)(354,25) - (32,5)(17448324,5)}{5(354,25) - (32,5)^2} = \frac{-6845796,75}{715} = -9574,3$$

$$b = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

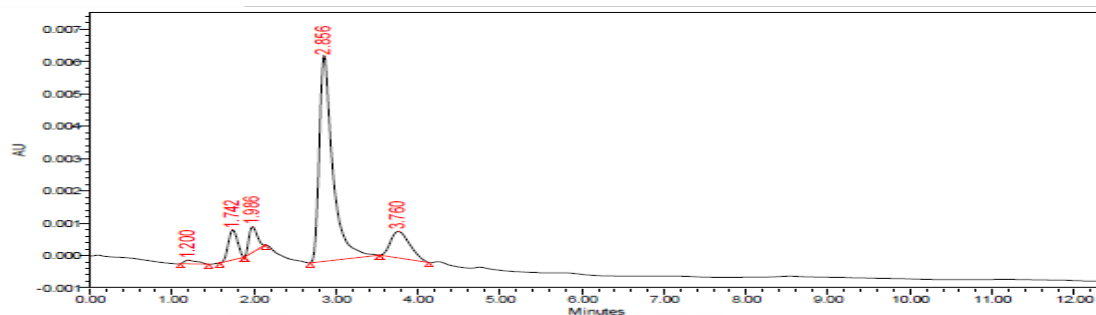
$$= \frac{5(17448324,5) - (32,5)(1581494)}{5(354,25) - (32,5)^2} = \frac{35843067,5}{715} = 50130,16$$

2. Perhitungan koefisien korelasi

$$r = \frac{n\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{\{n\sum x^2 - (\sum x)^2\} \{n\sum y^2 - (\sum y)^2\}}}$$

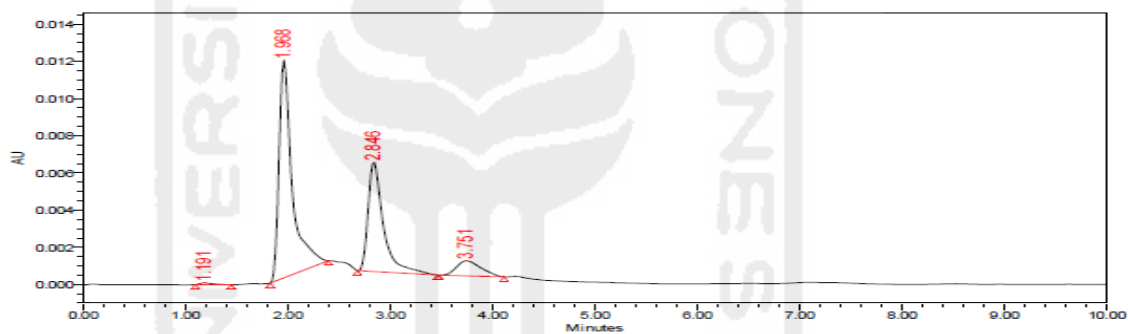
$$= \frac{5(17448324,5) - (32,5)(1581494)}{\sqrt{\{5(354,25) - (32,5)^2\} \{5(8,59599E+11) - (1581494)^2\}}} = \frac{1,48}{1,4803} = 0,9997$$

Kadar sampel 1% R1



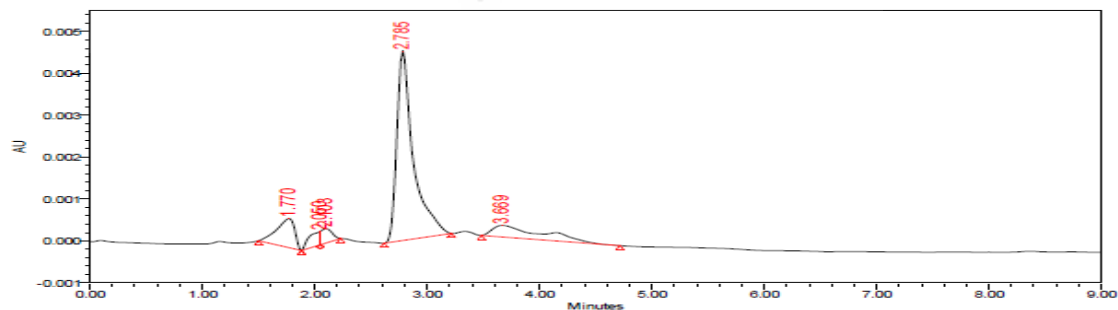
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.200	1259	112	21.000	1.100	1.450
2	1.742	7166	933	18.000	1.583	1.883
3	1.986	5581	795	15.000	1.883	2.133
4	2.856	72505	6399	51.000	2.683	3.533
5	3.760	13350	823	36.000	3.533	4.133

Kadar sampel 1% R2



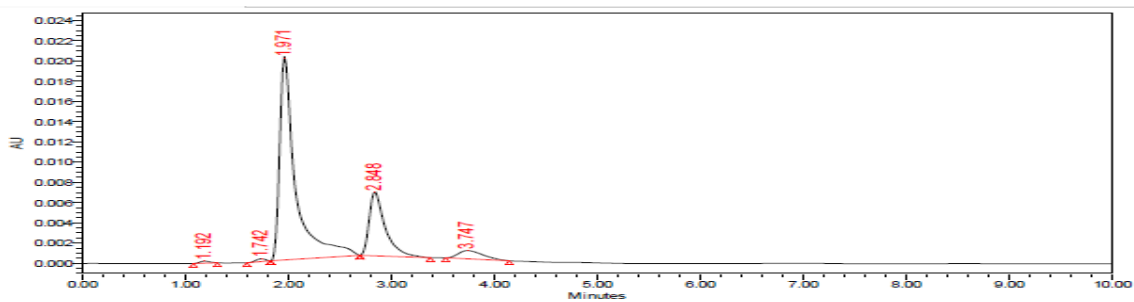
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.191	812	94	21.000	1.100	1.450
2	1.968	104506	11676	34.000	1.833	2.400
3	2.846	61231	5886	47.000	2.683	3.467
4	3.751	13321	804	38.000	3.483	4.117

Kadar sampel 1% R3



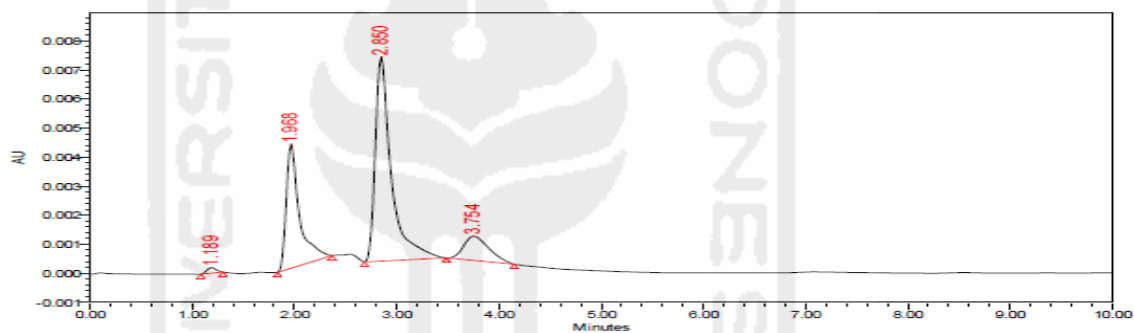
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.770	7615	701	23.000	1.500	1.883
2	2.050	2367	318	10.000	1.883	2.050
3	2.103	2324	343	11.000	2.050	2.233
4	2.785	46172	4522	36.000	2.617	3.217
5	3.669	8934	276	74.000	3.483	4.717

Kadar sampel 2,5% R1



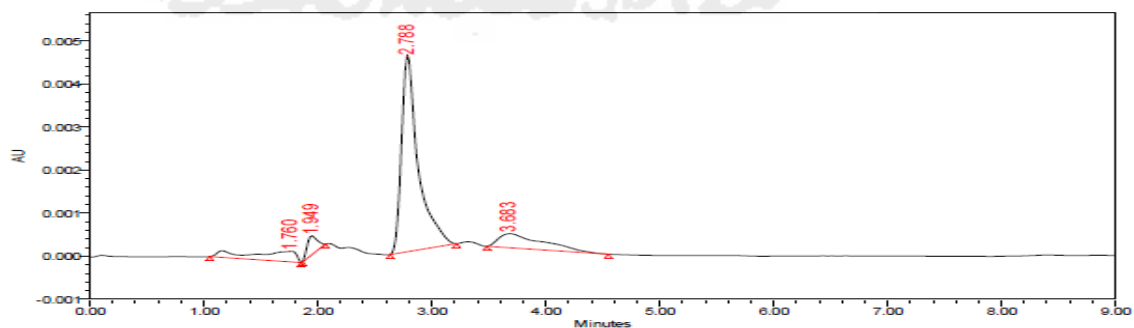
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.192	1329	199	14.000	1.083	1.317
2	1.742	1791	281	14.000	1.600	1.833
3	1.971	215239	20125	52.000	1.833	2.700
4	2.848	67862	6316	41.000	2.700	3.383
5	3.747	13560	820	37.000	3.533	4.150

Kadae sampel 2,5% R2



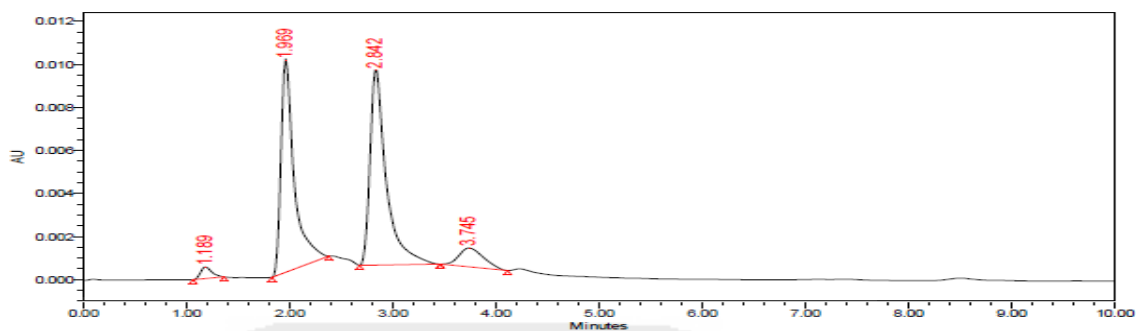
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.189	1192	190	13.000	1.083	1.300
2	1.968	38362	4262	32.000	1.833	2.367
3	2.850	76652	7006	48.000	2.683	3.483
4	3.754	14304	831	40.000	3.483	4.150

Kadar sampel 2,5% R3



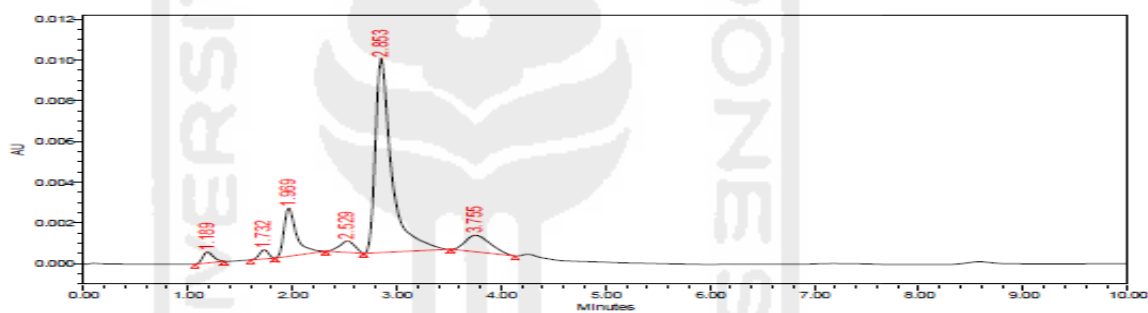
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.760	6414	246	48.000	1.050	1.850
2	1.949	2722	440	12.000	1.867	2.067
3	2.788	46574	4579	35.000	2.633	3.217
4	3.683	9116	327	64.000	3.483	4.550

Kadar sampel 5% R1



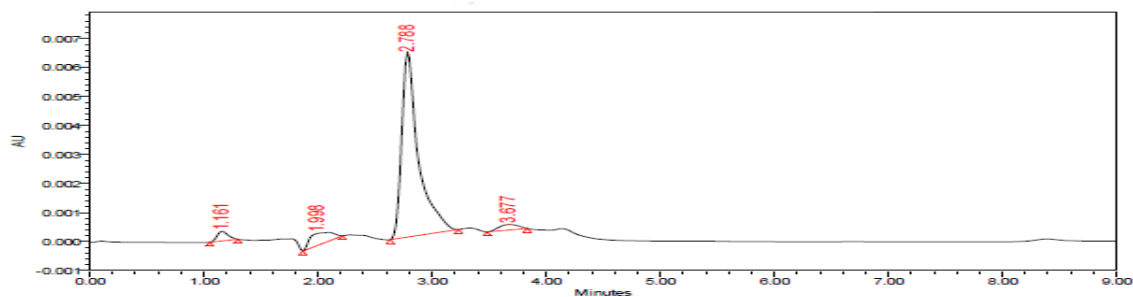
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.189	4066	544	18.000	1.067	1.367
2	1.969	87836	9879	33.000	1.833	2.383
3	2.842	99610	9131	47.000	2.683	3.467
4	3.745	14565	879	39.000	3.467	4.117

Kadar sampel 5% R2



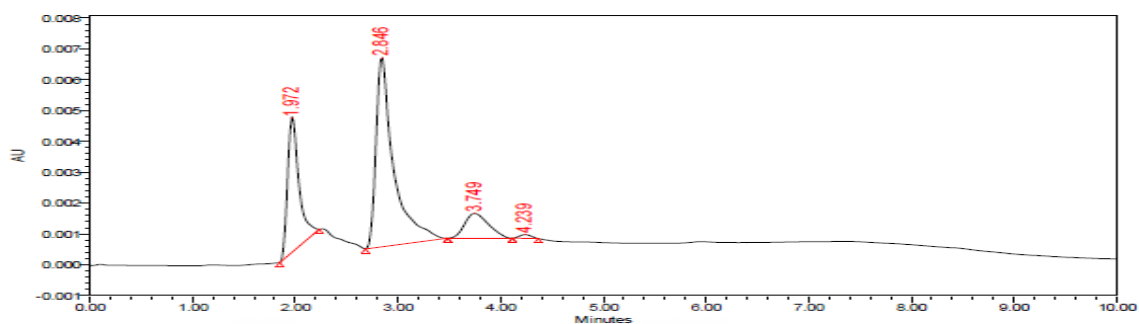
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.189	3761	543	17.000	1.067	1.350
2	1.732	2698	451	14.000	1.600	1.833
3	1.969	19496	2354	29.000	1.833	2.317
4	2.529	5763	599	22.000	2.317	2.693
5	2.853	103726	9557	50.000	2.683	3.517
6	3.755	13766	817	37.000	3.517	4.133

Kadar sampel 5% R3



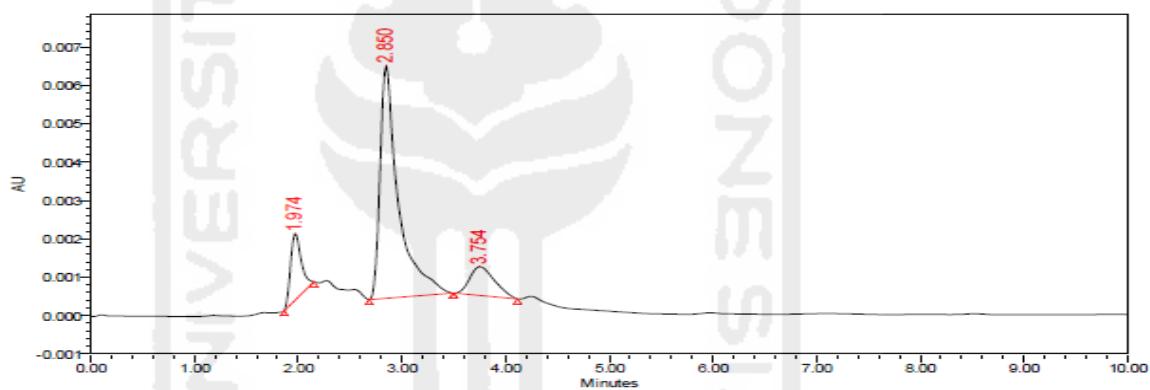
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.161	2228	333	15.000	1.050	1.300
2	1.998	5379	411	21.000	1.867	2.217
3	2.788	64765	6387	36.000	2.633	3.233
4	3.677	2244	189	21.000	3.483	3.833

Kadar supernatan 1% R1



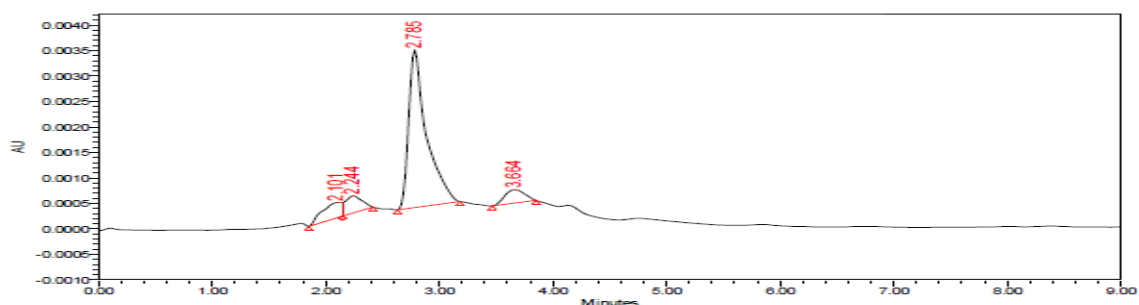
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.972	33675	4395	23.000	1.850	2.233
2	2.846	73503	6142	48.000	2.683	3.483
3	3.749	12989	804	38.000	3.483	4.117
4	4.239	960	122	15.000	4.117	4.367

Kadar supernatan 1% R2



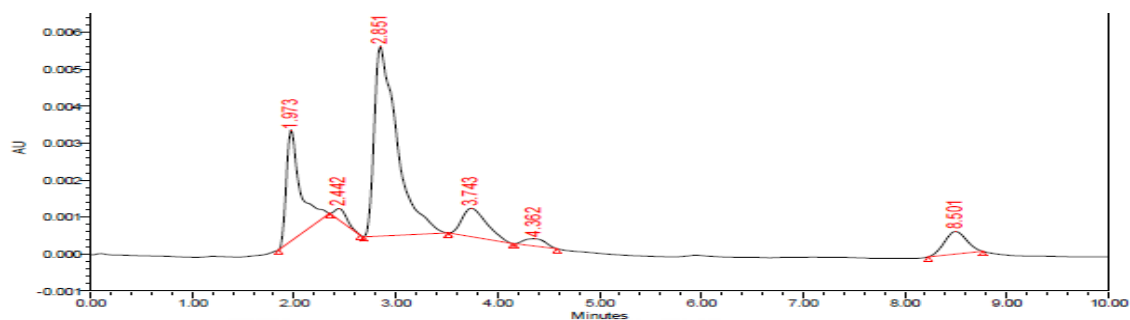
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.974	12349	1746	17.000	1.867	2.150
2	2.850	74686	6061	49.000	2.683	3.500
3	3.754	12495	750	37.000	3.500	4.117

Kadar supernatan 1% R3



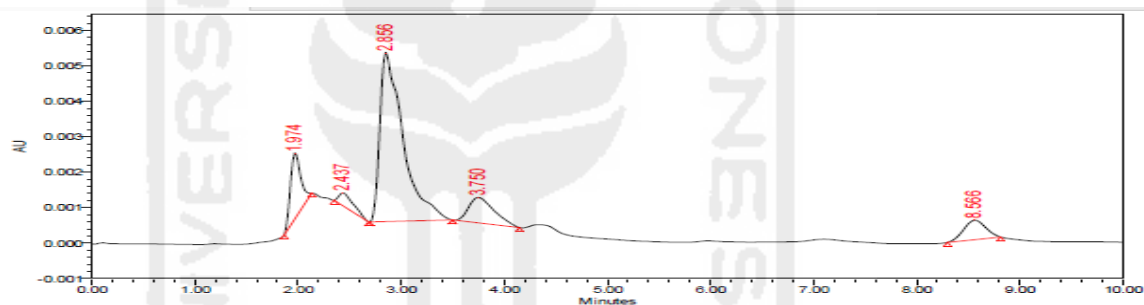
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	2.101	3791	302	18.000	1.850	2.150
2	2.244	3459	335	16.000	2.150	2.417
3	2.785	33792	3089	33.000	2.633	3.183
4	3.664	3151	261	23.000	3.467	3.850

Kadar supernatan 2,5% R1



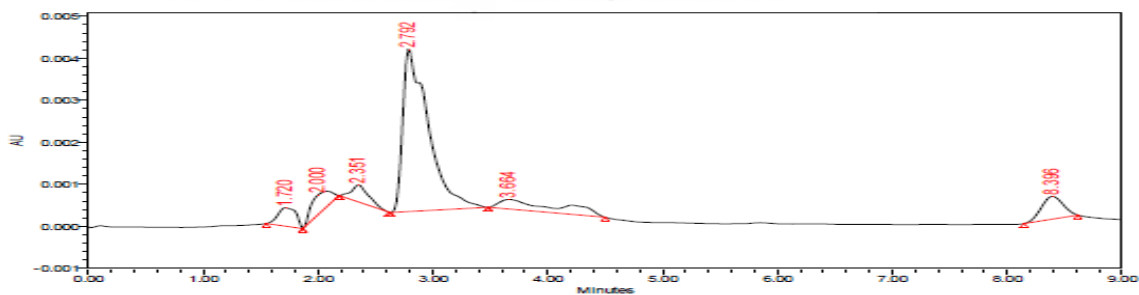
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.973	29105	3018	30.000	1.850	2.350
2	2.442	2575	314	18.000	2.350	2.650
3	2.851	80158	5131	50.000	2.683	3.517
4	3.743	13057	771	38.000	3.517	4.150
5	4.362	2880	196	25.000	4.167	4.583
6	8.501	9294	612	32.000	8.233	8.767

Kadar supernatan 2,5% R2



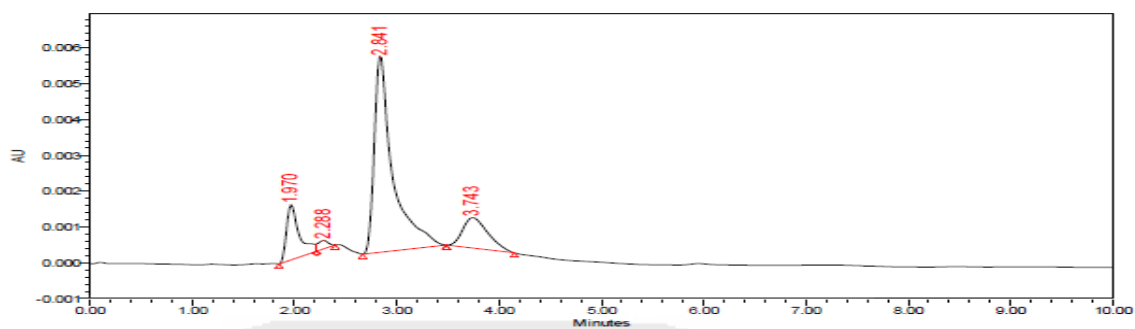
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.974	12778	1855	16.000	1.867	2.133
2	2.437	3735	362	20.000	2.350	2.683
3	2.856	74475	4787	48.000	2.700	3.500
4	3.750	12327	715	39.000	3.500	4.150
5	8.566	8124	547	31.000	8.300	8.817

Kadar supernatan 2,5% R3



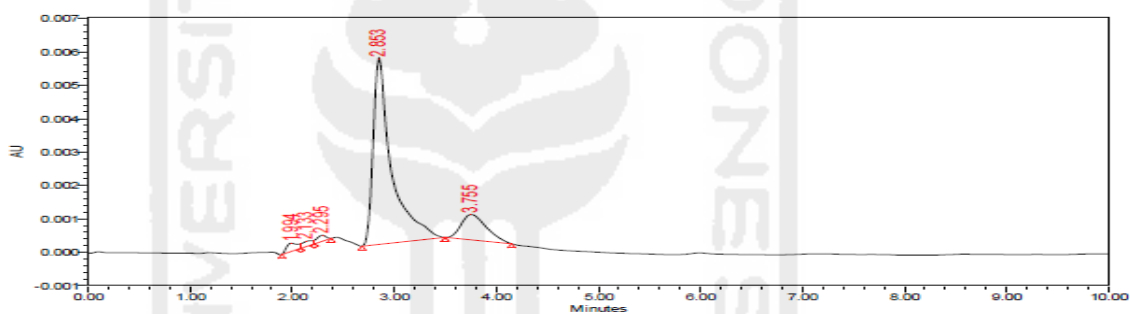
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.720	4890	440	19.000	1.550	1.867
2	2.000	5442	467	19.000	1.867	2.183
3	2.351	4371	408	26.000	2.183	2.617
4	2.792	59841	3901	51.000	2.633	3.483
5	3.664	8866	228	61.000	3.483	4.500
6	8.396	7111	542	28.000	8.150	8.617

Kadar supernatan 5% R1



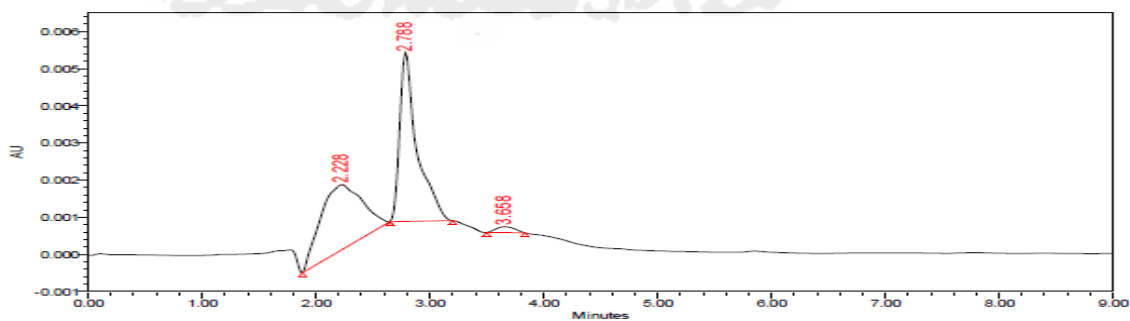
	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.970	13302	1544	22.000	1.850	2.217
2	2.288	1665	235	11.000	2.217	2.400
3	2.841	69022	5506	49.000	2.667	3.483
4	3.743	14658	848	40.000	3.483	4.150

Kadar supernatan 5% R2



	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.994	1835	250	11.000	1.900	2.083
2	2.133	1098	155	8.000	2.083	2.217
3	2.295	1164	180	10.000	2.217	2.383
4	2.853	70191	5589	49.000	2.683	3.500
5	3.755	13166	763	39.000	3.500	4.150

Kadar supernatan 5% R3



	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	2.228	45065	1755	46.000	1.883	2.650
2	2.788	48182	4567	33.000	2.650	3.200
3	3.658	1834	158	20.000	3.500	3.833

Lampiran 4. Perhitungan Kadar sampel

Perhitungan kadar sampel Naopartikel Andrografolida

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$= \text{konsentrasi pembacaan} \times \frac{\text{volume setelah pengenceran}}{\text{volume yang diencerkan}} \times \text{volume sediaan}$$

Formula	luas area / Y	Konsentrasi	kadar (mg)	rata" (mg)
1% r1	72505	1,63679	2,045988	1,905428
1%r2	61231	1,411895	1,764869	
2,5% r1	67862	1,544171	1,930214	2,039804
2,5% r2	76652	1,719515	2,149394	
5% r1	99610	2,177485	2,721856	2,773172
5% r2	103726	2,259591	2,824489	

a. PVA 1%

Replikasi 1

$$\begin{aligned} 72505 &= 50130,16x - 9547,3 \\ 50130x &= 72505 + 9547,3 \\ X &= \frac{82052}{50130} \\ X &= 1,636 \text{ ppm} = 1,636 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,636 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 2,045 \text{ mg}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned} 61231 &= 50130,16x - 9547,3 \\ 50130x &= 61231 + 9547,3 \\ X &= \frac{70778,3}{50130} \\ X &= 1,411 \text{ ppm} = 1,411 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,411 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 1,764 \text{ mg}$$

$$\bar{X} = (\text{Replikasi 1} + \text{replikasi 2})/2$$

$$= (2,045 \text{ mg} + 1,764 \text{ mg})/2$$

$$= 1,905 \text{ mg}$$

b. PVA 2,5 %

Replikasi 1

$$67862 = 50130,16x - 9547,3$$

$$50130x = 67862 + 9547,3$$

$$X = \frac{77409}{50130}$$

$$X = 1,544 \text{ ppm} = 1,544 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,544 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 1,930 \text{ mg}$$

Replikasi 2

$$76652 = 50130,16x - 9547,3$$

$$50130x = 76652 + 9547,3$$

$$X = \frac{86199}{50130}$$

$$X = 1,719 \text{ ppm} = 1,719 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,719 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 2,149 \text{ mg}$$

$$\bar{X} = (\text{Replikasi 1} + \text{replikasi 2})/2$$

$$= (1,930 \text{ mg} + 2,149 \text{ mg})/2$$

$$= 2,039 \text{ mg}$$

c. PVA 5%

Replikasi 1

$$99610 = 50130,16x - 9547,3$$

$$50130x = 99610 + 9547,3$$

$$X = \frac{109157}{50130}$$

$$X = 2,177 \text{ ppm} = 2,177 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$2,177 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 2,721 \text{ mg}$$

Replikasi 2

$$103726 = 50130,16x - 9547,3$$

$$50130x = 103726 + 9547,3$$

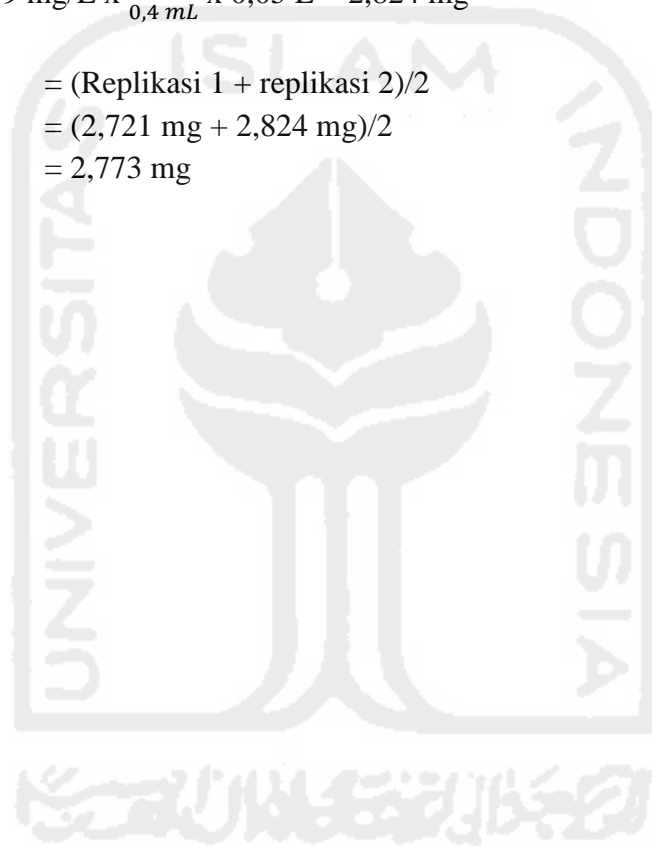
$$X = \frac{113273}{50130}$$

$$X = 2,259 \text{ ppm} = 2,259 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$2,259 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 2,824 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \bar{X} &= (\text{Replikasi 1} + \text{replikasi 2})/2 \\ &= (2,721 \text{ mg} + 2,824 \text{ mg})/2 \\ &= 2,773 \text{ mg} \end{aligned}$$



Lampiran 5. Perhitungan kadar Supernatan Sentrifugasi

Perhitungan kadar sampel sentrifugasi Naopartikel Andrografolida

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$= \text{konsentrasi pembacaan} \times \frac{\text{volume setelah pengenceran}}{\text{volume yang diencerkan}} \times \text{volume sediaan}$$

$$\%EE = \frac{\sum \text{zat aktif dalam sampel} - \sum \text{zat aktif dalam supernatan}}{\sum \text{zat aktif dalam sampel}} \times 100\%$$

formula	luas area	Konsentrasi	kadar (mg)	rata"(mg)
1% r1	73503	1,656699	2,070873	
1%r2	33792	0,864538	1,080673	1,575773
2,5% r1	74475	1,676088	2,09511	
2,5% r2	59841	1,384167	1,730209	1,91266
5% r1	69022	1,567311	1,959139	
5% r2	48182	1,151592	1,43949	1,699314

a. PVA 1%

Replikasi 1

$$\begin{aligned} 73503 &= 50130,16x - 9547,3 \\ 50130x &= 73503 + 9547,3 \\ X &= \frac{83050,3}{50130} \\ X &= 1,656 \text{ ppm} = 1,656 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,656 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 2,070 \text{ mg}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned} 33792 &= 50130,16x - 9547,3 \\ 50130x &= 33792 + 9547,3 \\ X &= \frac{43339,3}{50130} \\ X &= 1,411 \text{ ppm} = 0,864 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$0,864 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 1,080 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned}\bar{X} &= (\text{Replikasi 1} + \text{replikasi 2})/2 \\ &= (2,070 \text{ mg} + 1,080 \text{ mg})/2 \\ &= 1,575 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\% \text{EE} = \frac{1,905 \text{ mg} - 1,575 \text{ mg}}{1,905 \text{ mg}} \times 100\% = 17,3\%$$

b. PVA 2,5 %

Replikasi 1

$$\begin{aligned}74475 &= 50130,16x - 9547,3 \\ 50130x &= 74475 + 9547,3 \\ X &= \frac{84022,3}{50130} \\ X &= 1,676 \text{ ppm} = 1,676 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,676 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 2,095 \text{ mg}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}59841 &= 50130,16x - 9547,3 \\ 50130x &= 59841 + 9547,3 \\ X &= \frac{69388,3}{50130} \\ X &= 1,384 \text{ ppm} = 1,384 \text{ mg/L}\end{aligned}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,384 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 1,730 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned}\bar{X} &= (\text{Replikasi 1} + \text{replikasi 2})/2 \\ &= (2,095 \text{ mg} + 1,730 \text{ mg})/2 \\ &= 1,912 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\% \text{EE} = \frac{2,039 \text{ mg} - 1,912 \text{ mg}}{2,039 \text{ mg}} \times 100\% = 6,23\%$$

c. PVA 5%

Replikasi 1

$$69022 = 50130,16x - 9547,3$$

$$50130x = 69022 + 9547,3$$

$$X = \frac{78569,3}{50130}$$

$$X = 1,567 \text{ ppm} = 1,567 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,567 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 1,959 \text{ mg}$$

Replikasi 2

$$48182 = 50130,16x - 9547,3$$

$$50130x = 48182 + 9547,3$$

$$X = \frac{57729,3}{50130}$$

$$X = 1,151 \text{ ppm} = 1,151 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi kadar dalam sediaan

$$1,151 \text{ mg/L} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,4 \text{ mL}} \times 0,05 \text{ L} = 1,439 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \bar{X} &= (\text{Replikasi 1} + \text{replikasi 2})/2 \\ &= (1,959 \text{ mg} + 1,439 \text{ mg})/2 \\ &= 1,699 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\% \text{EE} = \frac{2,773 \text{ mg} - 1,699 \text{ mg}}{2,773 \text{ mg}} \times 100\% = 38,72\%$$

Lampiran 6. Data uji stabilitas

a. Ukuran partikel

PVA 1%

pH/Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5,6	266,2	275,8	277,1	276,8	277,8	289,2	277,5	280,3	268,6	280,7	282,4	284,3	283,4	283,5
5,8	256	262,6	266,1	277	271,5	277,5	272,1	268,7	267,1	283,1	253,5	266,2	278,5	270,1
6	274,6	277,1	279	280,6	290	283,1	279,1	280,8	284,4	303,8	289,5	278,5	276,5	275,5
6,4	284,4	272,8	280,2	284,	270,1	283,2	277,3	262,7	304	288,4	286,3	277,9	300	289,67
7	273,5	274,9	286,3	294,5	244,4	270,6	271,9	276,1	282,7	293,8	288,1	287,3	290	288,9

PVA 2,5%

pH/Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5,6	290,5	271,2	273,5	266,9	269,2	268,1	277,1	273,3	276	265,4	278,5	276,4	274,6	273,5
5,8	266,1	272,6	273,6	263,3	270,5	274,7	264,5	260,4	284,8	275,2	272,5	275,6	283,7	280,3
6	236,5	253	273,1	288,2	232,8	262	255,5	246,4	262	265,4	263,5	264,5	262,2	263,8
6,4	221	244,9	231,2	265,4	235,4	234,4	217	222	225,3	240,1	235,6	240,9	226,5	224,3
7	230,8	256,7	248,5	231,5	285	250,4	260	241,8	257	248,1	250,7	247,7	245,4	245

PVA 5%

pH/Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5,6	256,3	214,9	219,8	222,7	229,4	226,3	232,9	228	224,2	221,9	221,2	229,6	237,3	284,1
5,8	210,1	220,6	219,3	218,5	227,9	222,7	227,6	223,4	233,6	220,5	218,9	237,2	234,1	230,5
6	220,8	214,7	223,5	255,7	237,6	238,9	241,6	256,9	239,2	254,4	245,3	238,6	271	341,3
6,4	204,2	223,7	218,7	212,3	270,1	209,6	219,5	215,8	222,9	235,7	234	226	222,3	229
7	227,5	223	242,3	222,3	204,5	217,3	235	238,5	233,9	227,3	223,8	225	224,6	221,2

b. Zeta potensial
PVA 1%

Zeta/Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5,6	-1	-1,6	-1,7	-3,7	-2,1	-2,3	-2,8	-2,1	-1,6	-3,5	-2,3	-2,9	-1,2	-1,5
5,8	-1,6	-1	-4,2	-7,7	-2,6	-4,2	-3,3	-2,1	-4	-3,1	-3,5	-3,5	-5,6	-4
6	-9	-3,3	-7,5	-5,2	-7,1	-2,9	-3,1	-5,2	-5,7	-2,5	-3,5	-2,6	-2,8	-3
6,4	-1,9	-2,8	-7,7	-2,4	-5,1	-4,1	-3,7	-6,8	-9,8	-2,3	-3	-3,5	-3	-3,8
7	-4,3	-3	-2,8	-1,6	-3,2	-1,7	-4	-3,6	-5,4	-2,5	-2,7	-3	-4,3	-3

Zeta/Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5,6	-1,5	-2,4	-3,9	-2,2	-4,4	-1,6	-4,1	-1,7	-1,8	-3,4	-2	-3,5	-7,1	-3
5,8	-2,4	-1,6	-6,2	-2,7	-2,5	-4,1	-4,2	-4	-5	-6,1	-2,4	-5,1	-2	-3
6	-3,8	-2,6	-6,3	-5,4	-4,1	-3,6	-5,3	-2,6	-5,2	-5,2	-4,6	-4	-5,1	-4,8
6,4	-4,5	-4,4	-2,7	-3,4	-1,9	-1,8	-5,7	-2,9	-4,9	-1,9	-2	-2,1	-3	-3,5
7	-6,2	-3,4	-5,3	-2,2	-4	-2,2	-4,9	-7	-7,2	-4,2	-0,2	-2,3	-0,5	-1,4

PVA 2,5 %

PVA 5%

Zeta/Hari	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
5,6	-1,6	-1,6	-2,1	-5	-5,5	-3,5	-4,3	-1,7	-1,9	-5,3	-1,7	-3,6	-1,2	-1,8
5,8	-1,9	-3,4	-2,1	-3,6	-3,1	-5,8	-1,2	-6,9	-5,6	-5,1	-5,3	-4,5	-5,4	-0,6
6	-3,8	-2,6	-6,3	-5,4	-4,1	-3,6	-5,3	-2,6	-5,2	-5,2	-4,6	-4	-5,1	-4,8
6,4	-4,8	-2,5	-2,2	-3,5	-2,7	-4,5	-4,4	-4,4	-4,4	-2,3	-3	-2,7	-3,5	-3
7	-3,7	-1,7	-1,6	-3,7	-3,8	-4,8	-4,7	-5,2	-5,4	-3,1	-4	-3,5	-3,3	-4

Lampiran 7. Perhitungan pembuatan larutan buffer fosfat

massa KH_2PO_4 yang ditimbang

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$0,2\text{M} = \frac{\text{massa}}{136,09} \times \frac{1000}{100 \text{ ml}}$$

$$\text{massa} = 2,72 \text{ gram}$$

massa NaOH yang ditimbang

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{ml}}$$

$$0,2\text{M} = \frac{\text{massa}}{40} \times \frac{1000}{100 \text{ ml}}$$

$$\text{massa} = 0,8 \text{ gram}$$

$$\text{mmol KH}_2\text{PO}_4 = 0,2 \times 50 \text{ ml} = 10 \text{ mmol}$$

- pH 5,6

$$5,6 = 7,2 - \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$1,6 = \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 10^{1,6}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 39,81$$

$$g = 0,25$$

Volume NaOH

$$0,2 \text{ M} \times V = 0,25 \text{ mmol}$$

$$V = 1,25 \text{ ml}$$

- pH 5,8

$$5,8 = 7,2 - \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$1,4 = \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 10^{1,4}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 25,12$$

$$g = 0,398$$

Volume NaOH

$$0,2 \text{ M} \times V = 0,398 \text{ mmol}$$

$$V = 1,99 \text{ ml}$$

- pH 6

$$6 = 7,2 - \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$1,2 = \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 10^{1,2}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 15,85$$

$$g = 0,63$$

Volume NaOH

$$0,2 \text{ M} \times V = 0,63 \text{ mmol}$$

$$V = 3,15 \text{ ml}$$

- pH 6,4

$$6,4 = 7,2 - \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$0,8 = \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 10^{0,8}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 6,31$$

$$g = 1,58$$

Volume NaOH

$$0,2 \text{ M} \times V = 1,58 \text{ mmol}$$

$$V = 7,9 \text{ ml}$$

- pH 7

$$\text{pH} = \text{pK}_a - \log \frac{a}{g}$$

$$7 = 7,2 - \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$0,2 = \log \frac{10 \text{ mmol}}{g}$$

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 10^{0,2}$$

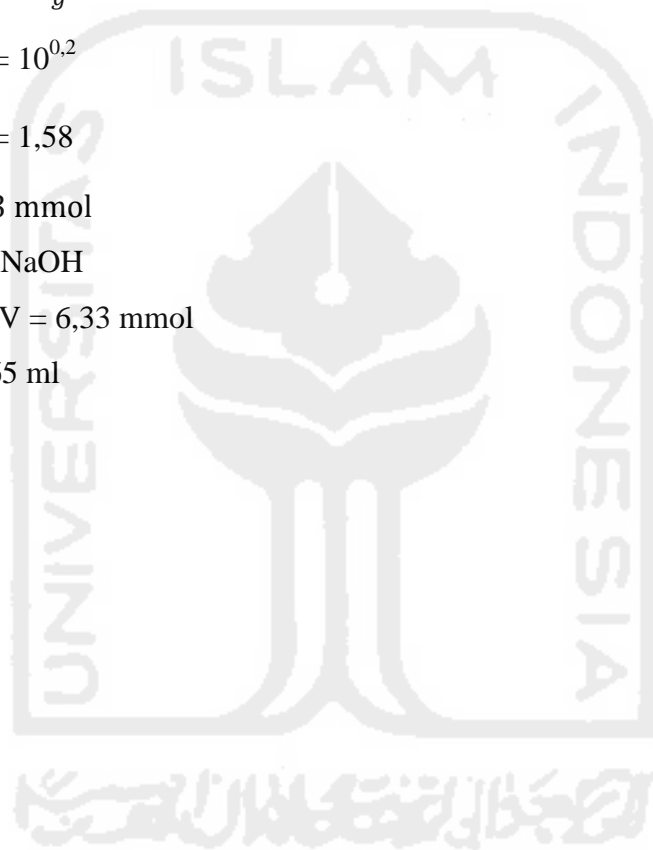
$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 1,58$$

$$g = 6,33 \text{ mmol}$$

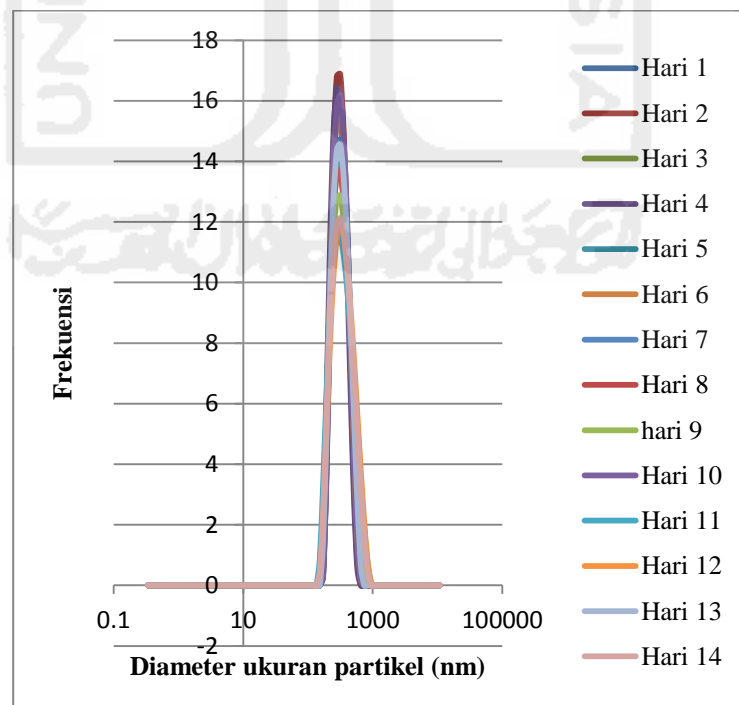
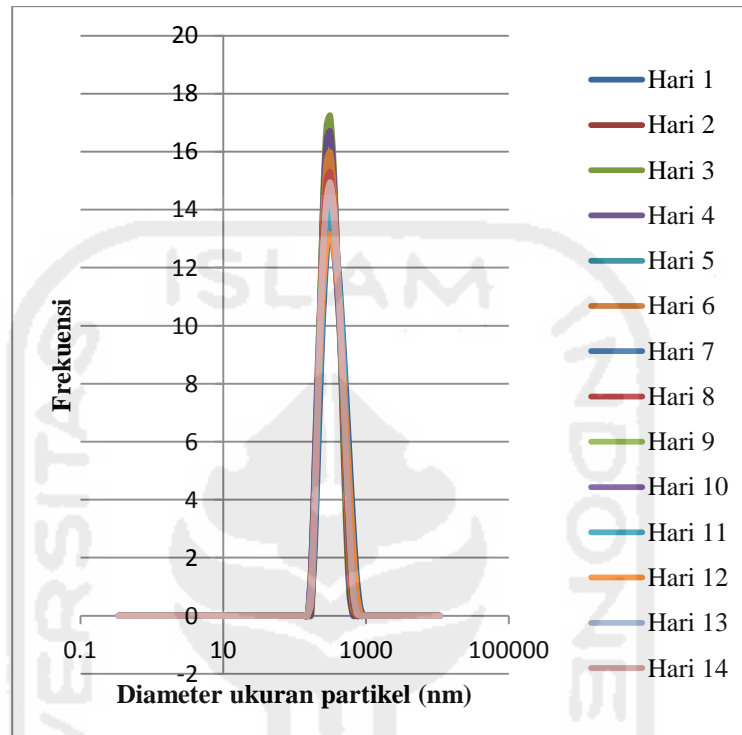
Volume NaOH

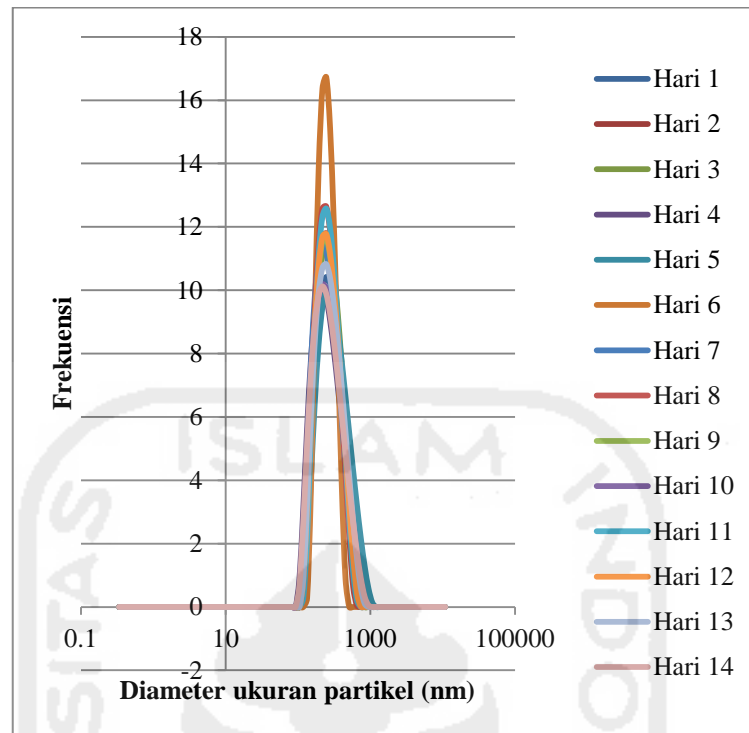
$$0,2 \text{ M} \times V = 6,33 \text{ mmol}$$

$$V = 31,65 \text{ ml}$$

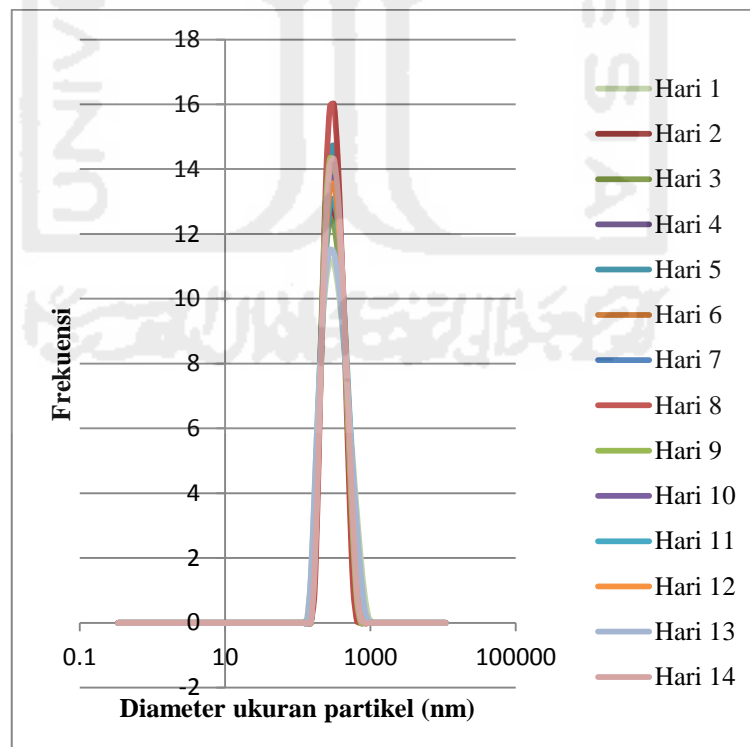


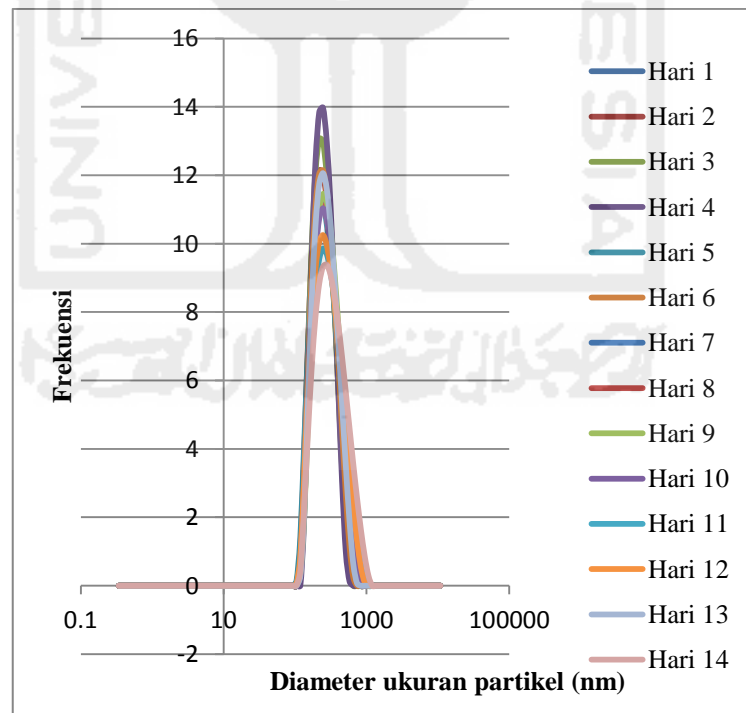
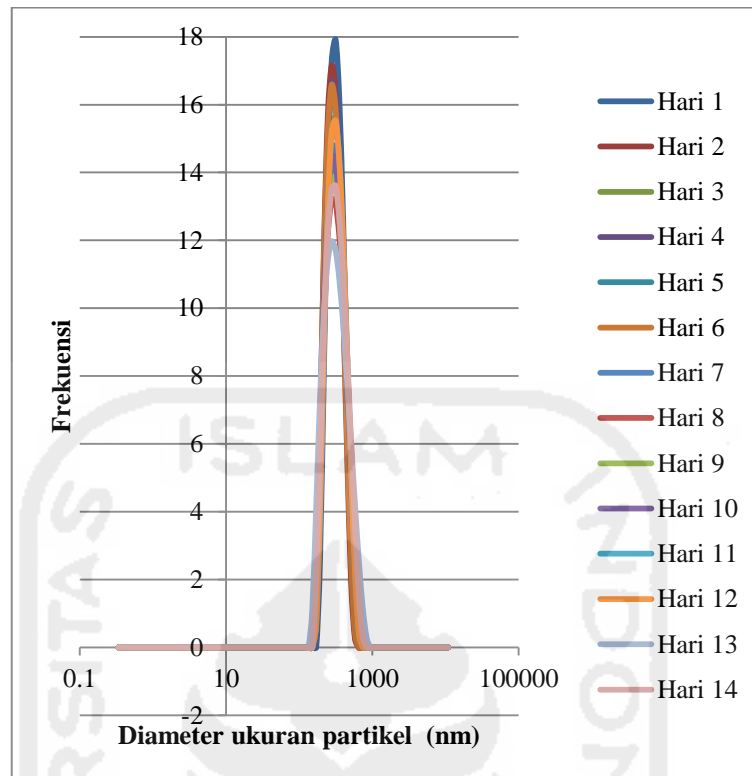
Lampiran 8. Distribusi ukuran partikel
pH 5,6 1%; pH 5,6 2,5% ; pH 5,6 5%



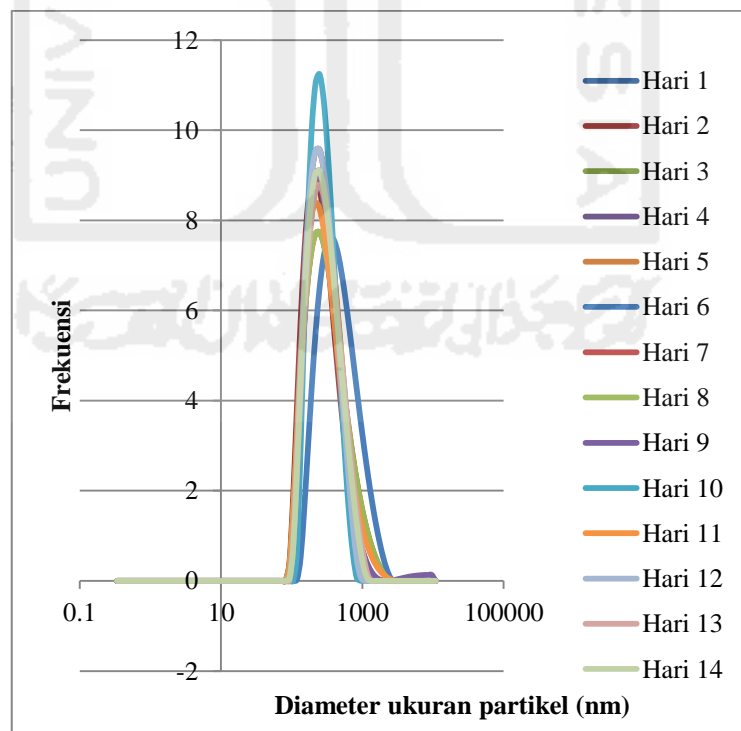
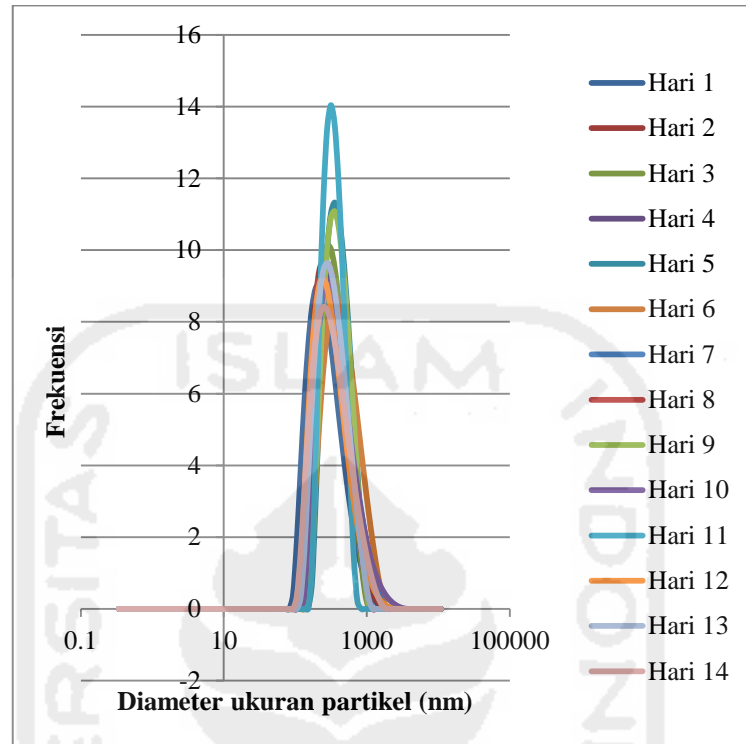


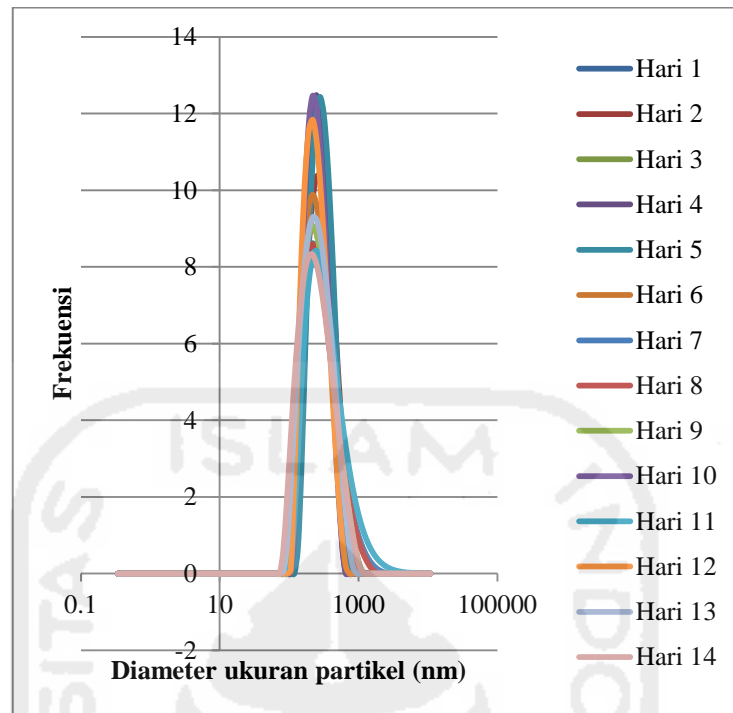
pH 5,8 1%; pH 5,8 2,5% ; pH 5,8 5%



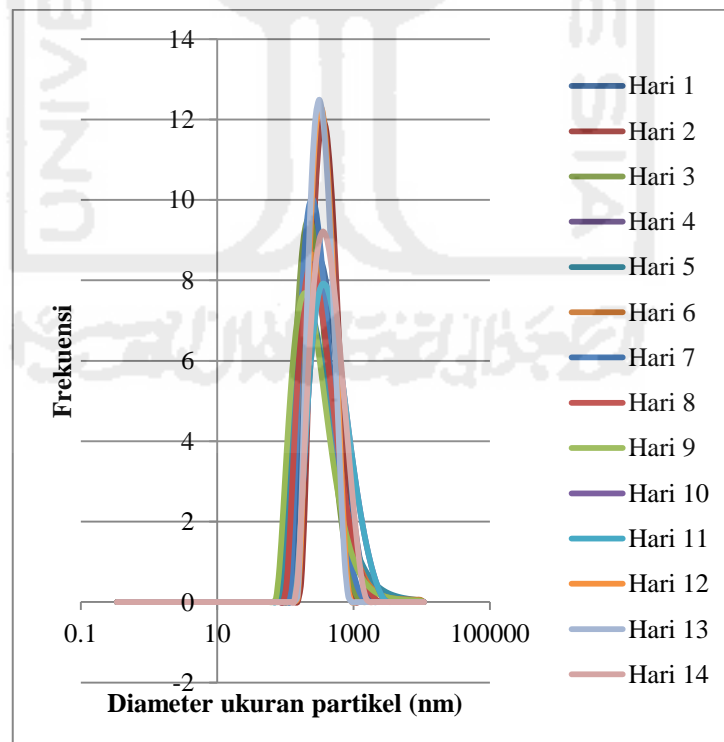


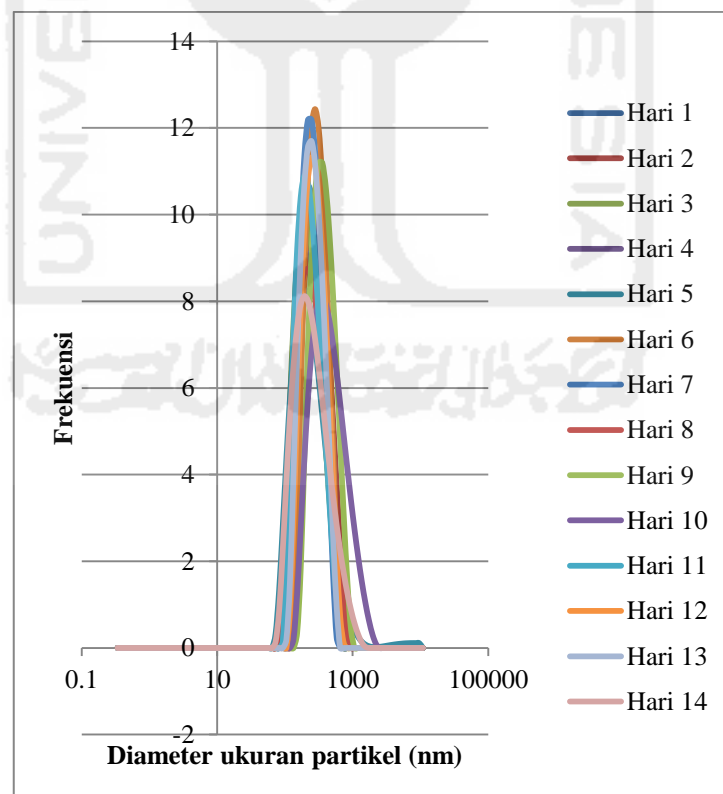
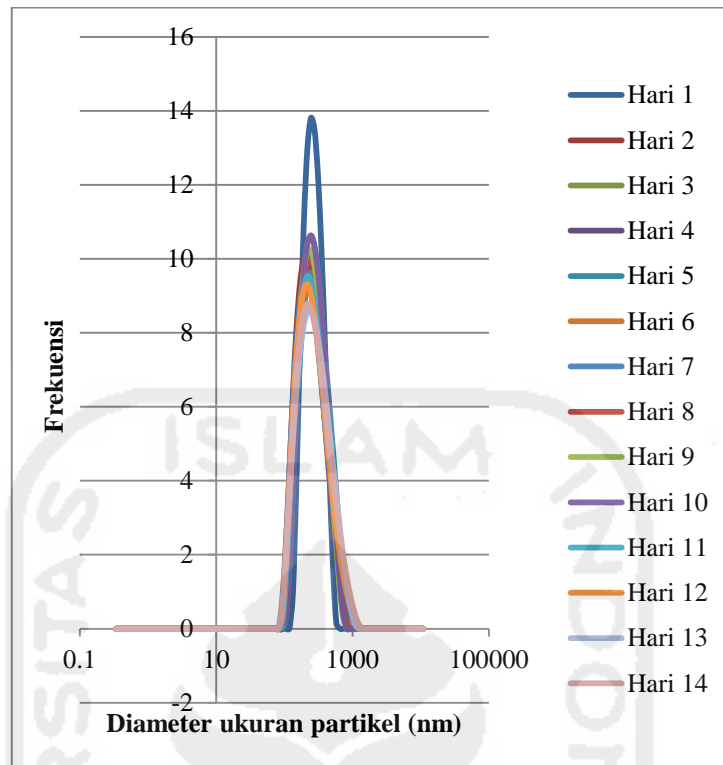
pH 6 1%; pH 6 2,5% ; pH 6 5%





pH 6,4 1%; pH 6,4 2,5% ; pH 6,4 5%





pH 7 1%; pH 7 2,5% ; pH 7 5%

