

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Andrografolida merupakan komponen utama dari tanaman sambiloto banyak digunakan sebagai terapi medis salah satunya yaitu antiinflamasi⁽¹⁾. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Low M, (2015) pada dosis 1-2 mg/hari andrografolida memiliki efek antiinflamasi tanpa menimbulkan efek samping yang serius⁽²⁾. Namun, salah satu permasalahan utama pada senyawa ini adalah memiliki kelarutan rendah dalam air sehingga dapat menyebabkan efek terapi yang minimal setelah pemberian oral⁽³⁾. Dengan adanya perkembangan teknologi, telah terciptanya nanopartikel sebagai solusi yang baik dalam peningkatan efektifitas terapi obat.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, Isolat Andrografolida telah dibuat dalam bentuk sediaan *Self-Microemulsifying Drug Delivery System* (SMEDDS)⁽⁴⁾. Oleh karena itu, dalam penelitian ini isolat andrografolida akan dibuat dalam sediaan nanopartikel berbasis polimer. Nanopartikel berbasis polimer yang memiliki sifat *biocompatible* dan *biodegradable* seperti PLGA (*Poly Lactic-co-glycolic acid*) merupakan salah satu pengembangan teknologi yang baik sebagai media penghantar obat karena nanopartikel dapat langsung terdegradasi dan diserap secara utuh kedalam saluran gastrointestinal⁽⁵⁾.

Kemampuan pelepasan obat dari suatu polimer merupakan hal yang sangat mempengaruhi efektifitas terapi dari sediaan nanopartikel berbasis polimer. Pelepasan nanopartikel yang dienkapsulasi dengan polimer dapat dikontrol dari difusi yang akan melewati suatu membran⁽⁵⁾. Menurut penelitian sebelumnya, sediaan nanopartikel andrografolida telah dilakukan studi pelepasan menggunakan PLGA sebagai polimer dan TPGS (*d- alpha tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate*) sebagai stabilizer dalam waktu 10 jam menghasilkan jumlah pelepasan <20%⁽⁶⁾. Selain itu, berdasarkan hasil penelitian Budhian A. *et al* yang menggunakan haloperidol sebagai zat aktif dan PVA sebagai stabilizer dan PLGA sebagai polimer menunjukkan bahwa pelepasan secara *in vitro* terjadi pelepasan

yang terkendali dan menghasilkan profil yang meningkat selama 8 jam⁽⁷⁾. Oleh karena itu, pembuatan nanopartikel andrografolida menggunakan PVA sebagai stabilizer diharapkan dapat meningkatkan jumlah pelepasan andrografolida.

Selain itu, dalam membuat suatu formulasi juga perlu dilakukan studi penetrasi. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat kemampuan terjadinya proses adhesif nanopolimer pada mukosa usus⁽⁸⁾. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Chun Gwon Park *et al* yang menggunakan bromidin sebagai zat aktif, PLGA sebagai polimer dan PVA sebagai stabilisator menunjukkan bahwa hasil uji mukoadhesif secara *in vivo* bromidin yang dienkapsulasi oleh polimer tersebut dapat berinteraksi baik dengan lapisan mukus okular dan memperpanjang waktu retensi obat dalam lapisan okular⁽⁹⁾. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dalam penelitian ini akan dilakukan studi pelepasan dan studi penetrasi nanopolimer andrografolida menggunakan polimer PLGA dan PVA diharapkan dapat mengontrol pelepasan dan secara konstan dan terjadi proses penetrasi nanopolimer yang baik di dalam lapisan mukus.

1.2. Perumusan Masalah

Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi PVA terhadap profil pelepasan dan sifat penetrasi formulasi nanopolimer PLGA sebagai pembawa andrografolida yang dihasilkan?

1.3. Tujuan Penelitian

Mengkaji pengaruh variasi konsentrasi PVA terhadap profil pelepasan dan sifat penetrasi dari formulasi nanopolimer PLGA sebagai pembawa andrografolida yang dihasilkan.

1.4. Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Bagi perusahaan farmasi khususnya dalam bidang industri, penelitian ini diharapkan dapat dijadikan inovasi baru dalam pengembangan sediaan berupa formulasi nanopolimer andrografolida dengan polimer PLGA (*poly lactide-co-glycolide acid*).
- 1.4.2 Bagi masyarakat khususnya dalam bidang kesehatan, penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan mengenai studi pelepasan dan

penetrasi formulasi nanopolimer PLGA (*poly lactide-co-glycolide acid*) sebagai pembawa andrografolida dengan variasi PVA (*polyvinyl alcohol*).

- 1.4.3 Bagi mahasiswa khususnya dalam bidang teknologi, penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam pengembangan penelitian mengenai studi pelepasan dan penetrasi formulasi nanopolimer PLGA (*poly lactide-co-glycolide acid*) sebagai pembawa andrografolida dengan variasi PVA (*polyvinyl alcohol*).



BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Nanopartikel

Perkembangan nanopartikel saat ini telah menjadi kemajuan baru dalam sistem penghantaran obat. Banyak para ilmuwan khususnya dalam bidang industri farmasi melakukan pengembangan studi penelitian mengenai nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat yang tertarget. Penghantaran nanopartikel didefinisikan sebagai formulasi suatu globul atau partikel yang terdispersi pada ukuran nanometer atau skala per seribu mikron. Beberapa kelebihan dari nanopartikel antara lain memiliki kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel yang relatif kecil, adanya peningkatan afinitas, dan kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi⁽¹⁰⁾.

Dari berbagai macam rute pemberian nanopartikel, intravena merupakan rute yang paling banyak digunakan sebagai pemberian obat nanopartikel, karena rute intravena memiliki salah satu kelebihan dimana akan langsung beredar ke pembuluh darah sehingga kadar obat didalam darah akan diperoleh dengan cepat dan akan mempengaruhi efektifitas obat itu sendiri. Nanopartikel yang terenkapsulasi dapat diaplikasikan secara intravena tanpa kekhawatiran terjadinya emboli; dapat diabsorpsi dan didistribusikan melalui jaringan yang berbeda; dapat berikatan dengan reseptor permukaan sel; dan dapat menghantarkan obat ke dalam sel target melalui jalur intraselluler⁽¹¹⁾.

Nanopartikel polimer didefinisikan sebagai molekul dengan pembawa polimer yang bersifat *biodegradable* dan *biokompatibilitas* pada sistem biologis yang mempengaruhi penghantaran obat menuju sirkulasi sistemik⁽¹²⁾. Dengan menggunakan sistem polimer memungkinkan pelepasan obat yang terkontrol dan dapat membuat obat berada pada keadaan stabil. Nanopartikel polimer terdiri dari dua sediaan berupa *nanospheres* atau *nanocapsules*. Nanokapsul terdiri dari polimer yang membentuk dinding yang melingkupi inti dimana senyawa obat dijerat, sedangkan nanosfer dibuat dari matrik polimer padat dan di dalamnya terdispersi

senyawa obat⁽¹³⁾. Bahan polimer memiliki beberapa sifat seperti; biokompatibilitas, biodegradabilitas, dapat memodifikasi permukaan dan fungsi yang dapat disesuaikan dengan keinginan. Dengan menggunakan sistem polimer memungkinkan pelepasan obat yang terkontrol dan dapat membuat obat berada pada keadaan stabil⁽¹⁴⁾.



Gambar 2.1 Ilustrasi nanokapsul (A) dan nanosfer (B)⁽¹⁵⁾.

Penggunaan polimer sebagai pembawa obat karena memiliki beberapa alasan yaitu inert terhadap bahan aktif, memiliki kemampuan membentuk jaringan berupa matriks partikel. Misalnya PLGA, PVA, kitosan, dan memiliki gugus fungsi yang melimpah sehingga memiliki efisiensi penjerapan yang tinggi. Xie dan Smith (2010) melaporkan telah menghasilkan sistem nanopartikel berbasis *poly (lactic co-glycolic acid)* (PLGA) dengan distribusi ukuran partikel yang homogen. Senyawa PLGA telah dilaporkan dapat dimanfaatkan untuk fabrikasi nanopartikel sebagai penghantaran obat dengan metode evaporasi difusi emulsi, menghasilkan suatu nanosfer dengan *polivinil alkohol* (PVA) sebagai stabilisator⁽¹⁶⁾. Terdapat Beberapa metode yang telah dikembangkan dalam pembuatan nanopartikel dengan menggunakan polimer PLA, PGA, dan PLGA dengan metode dispersi polimer antara lain :

a. Metode penguapan pelarut /*solvent evaporation*

Metode ini dilakukan dengan polimer dilarutkan dalam pelarut organik, misalnya diklorometan, kloroform atau etil asetat. Zat aktif dilarutkan atau didispersikan dalam fase organik tersebut, dan campuran ini kemudian diemulsikan dalam air untuk membentuk emulsi fase organik dalam fase air, misalnya emulsi dengan menggunakan surfaktan atau emulgator seperti PVA dan polisorbit-80. Setelah terbentuk emulsi yang stabil, pelarut organik diuapkan baik dengan meningkatkan temperatur atau dengan pengadukan yang kontinu⁽¹⁷⁾.

b. Metode emulsifikasi spontan/difusi pelarut

Pada metode ini digunakan campuran dari dua pelarut organik yang dapat larut dalam air seperti etanol dengan aseton atau metanol dengan aseton. Hal ini bertujuan untuk mencegah agregasi partikel dalam fase organik dengan konsentrasi polimer yang tinggi, sehingga dapat meningkatkan stabilitas⁽¹⁷⁾.

c. Metode polimerisasi

Metode ini dilakukan dengan polimerisasi monomer-monomer, sehingga membentuk nanopartikel dalam larutan encer. Suspensi nanopartikel yang terbentuk kemudian dimurnikan dengan ultrasentrifugasi dan mensuspensi ulang partikel dalam surfaktan isotonik⁽¹⁷⁾.

d. Metode gelasi ionik

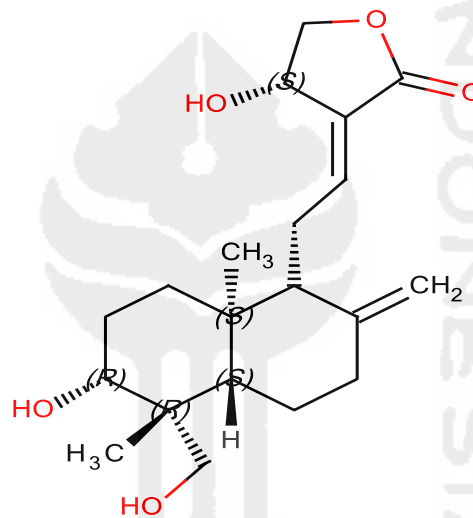
Pada metode ini menggunakan polimer hidrofilik yang bersifat *biodegradable* seperti kitosan, gelatin, dan natrium alginat. Metode ini melibatkan 2 fase air, gugus amino yang bermuatan positif akan berinteraksi dengan muatan negatif membentuk endapan dengan ukuran nano⁽⁵⁾.

Sediaan nanopartikel dapat mencapai tempat target pengobatan dengan konsentrasi yang lebih tinggi karena memiliki ukuran partikel yang relatif kecil. Meskipun banyak keuntungan dari sediaan nanopartikel polimer namun, nanopartikel polimer juga memiliki beberapa kekurangan terutama terjadinya toksisitas, akibat dari internalisasi oleh sel-sel makrofag dan degradasi di dalam sel. Sehingga masih perlu dilakukan sintesis polimer baru untuk mencocokkan sifat hidrofilik dan hidrofobik obat dengan formulasi efektif⁽¹⁸⁾.

2.1.2 Isolat Andrografolida

Andrografolida merupakan komponen bioaktif utama dari tanaman obat sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) yang dapat ditentukan dengan metode gravimetrik atau dengan high performance liquid chromatography [HPLC]. Andrografolida merupakan senyawa diterpen lakton yang mudah larut dalam methanol, ethanol, pyridine, asam asetat, dan acetone, tetapi sedikit larut dalam ether dan air⁽¹⁹⁾.

Andrografolida merupakan senyawa senyawa fitokimia yang memiliki berbagai fungsi dalam bidang kesehatan salah satunya sebagai antiinflamasi. Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Mitchell Low dkk, pada dosis 2mg/hari andrografolida memiliki efek sebagai antiinflamasi tanpa menimbulkan efek samping yang serius⁽²⁾. Kandungan andrografolida paling banyak ditemukan pada bagian daun, di bagian daun kaadar senyawa andrografolida sebesar 2,5-4,8% dari berat keringnya⁽²⁰⁾. Andrografolida yang merupakan senyawa yang masuk dalam grup trihidrosilakton memiliki rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$. Struktur molekul andrografolida disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 struktur kimia Andrografolida (Marvin Sketch)

Farmakodinamik andrografolida yang sangat luas di jaringan dan organ tubuh merupakan hal yang mempengaruhi khasiat dan peningkatan sistem imun dalam mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Menurut Penelitian P,Atmaram, (2016) melaporkan bahwa bioavailabilitas oral andrografolid sangat rendah yakni hanya 2,67 %, sehingga dapat menyebabkan efek terapi yang minimal⁽²²⁾.

Keuntungan dari senyawa andrografolida ini yaitu memiliki toksisitas yang rendah. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa uji toksisitas dari andrografolida yang dicobakan pada mencit dan manusia memiliki toksisitas yang sangat rendah, Pada mencit yang diberi ekstrak sambiloto secara oral (10 g/kg BB) sekali sehari selama 7 hari, tidak ada seekorpun tikus yang

mati dan keadaan jantung, ginjal, hati dan limfa dijumpai dalam keadaan normal. Ketika andrografolida dengan dosis 500 mg/kg berat badan diberikan selama 10 hari setiap hari pada mencit, Hewan coba tersebut tetap energik dan hasil jumlah darah lengkapnya berada pada batas normal⁽²³⁾.

2.1.3 *Poly Lactide-Co-Glycolide Acid (PLGA)*

Bahan polimer sintesis ataupun alami dapat terdegradasi secara *in vivo*, baik enzimatik, non enzimatik; bersifat biokompatibel; tidak toksik; dan dapat tereliminasi melalui metabolisme normal tubuh. Bahan polimer yang bersifat *biodegradable* tersebut telah banyak dikembangkan sebagai pembawa ataupun zat tambahan dalam pelepasan obat yang terkontrol⁽²⁴⁾. *Poly Lactide-Co-Glycolide Acid (PLGA)* merupakan kopolimer dari asam poli laktat (PLA) dan asam poli glikolat (PGA). PLGA merupakan golongan polidiester yang sering digunakan sebagai molekul pembawa pelepasan obat secara terkontrol. PLGA juga digunakan sebagai biomaterial untuk aplikasi dibidang medis (benang bedah, pembuatan film untuk enkapsulasi dan penyalut obat). PLGA banyak digunakan karena memiliki sifat *biocompatible* dan *biodegradable*⁽²⁵⁾.

Rantai polimer PLGA bersifat hidrofobik. Hal ini mengakibatkan molekul biologi tidak dapat mengikat pada rantai polimer. Karena itu perlu dilakukan modifikasi pada permukaan PLGA untuk meningkatkan sifat hidrofiliknya. Contohnya modifikasi yang dilakukan oleh Yeh, M.K dkk. yaitu mencampurkan PLGA dengan kopolimer poli (etilen oksida)-poli(propilen oksida). Modifikasi ini dapat meningkatkan efektivitas penghantaran protein. PLGA dapat larut dalam pelarut umum seperti aseton, etil asetat, klorin, maupun tetrahidrofur⁽²⁵⁾.

Dalam meningkatkan aktivitas dari PLGA sebagai pembawa obat ataupun zat lainnya, terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi degradasi PLGA, antara lain⁽²⁴⁾:

a. Pengaruh komposisi polimer

Komposisi polimer merupakan faktor yang paling penting untuk menentukan hidrofilisitas dan laju degradasi matriks pengiriman obat ataupun zat pembawa lainnya. Pada beberapa studi yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa persentase asam glikolat pada oligomer dapat mempercepat penurunan

bobot polimer. PLGA 50:50 (PLA/PGA) memiliki laju degradasi yang cepat dibandingkan PLGA 65:35 karena proporsi asam glikolat yang lebih besar, sehingga dapat meningkatkan hidrofilitas.

b. Pengaruh tipe/jenis obat

Obat dapat mempengaruhi atau mengubah mekanisme degradasi dari erosi dalam jumlah besar (*bulk erosion*) menjadi degradasi pada permukaan, serta mempengaruhi laju degradasi matriks. Profil pelepasan obat seperti waktu yang dibutuhkan untuk obat lepas 100% dan kecepatan obat mencapai keadaan *steady-state* juga bervariasi. Sehingga perlu mempertimbangkan sifat kimia obat untuk mengetahui mekanisme pelepasan obat menggunakan polimer yang *biodegradable*.

c. Pengaruh bentuk dan ukuran matriks

Rasio luas permukaan terhadap volume telah terbukti menjadi faktor yang signifikan terhadap degradasi dari suatu matriks. Rasio luas permukaan yang tinggi menyebabkan degradasi dari matriks juga tinggi. Telah dibuktikan bahwa degradasi dalam jumlah besar (*bulk degradation*) lebih cepat dibandingkan degradasi pada permukaan pada PLGA, yang membuat pelepasan obat lebih cepat dari matriks dengan luas permukaan yang tinggi terhadap volume.

d. Pengaruh pH

Pada penelitian secara *in vitro*, biodegradasi atau hidrolisis PLGA menunjukkan bahwa degradasi polimer PLGA dapat dipercepat dengan melarutkan PLGA dalam media dengan pH asam kuat dan basa kuat. Namun pada media dengan pH yang sedikit asam atau netral, degradasinya masih belum jelas karena adanya *autocatalysis* pada gugus akhir karboksilat PLGA.

e. Pengaruh enzim

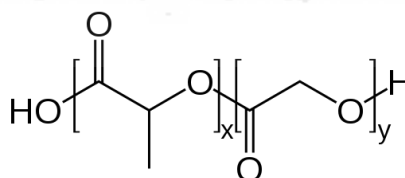
Pengaruh enzim tidak terlalu berperan penting penuh terhadap faktor yang mempengaruhi sifat dari PLGA. Banyak penelitian yang berbeda pendapat terhadap pengaruh enzim dengan mekanisme degradasi (hidrolitik dibandingkan dengan enzimatik) karena pengamatan degradasi secara *in vivo* tidak dapat sepenuhnya berkorelasi dengan pengamatan secara *in vitro*.

f. Pengaruh *drug loading*

Jumlah *drug loading* dalam matriks penghantaran obat dapat mempengaruhi kecepatan dan durasi pelepasan obat. Kandungan obat dalam matrik yang tinggi dapat menyebabkan pelepasan obat yang langsung dalam konsentrasi tinggi karena polimer yang sedikit terhadap rasio obat.

Beberapa literatur menyebutkan bahwa di dalam air, PLGA mengalami biodegradasi oleh reaksi hidrolisis pada ikatan esternya dan tidak melibatkan aktivitas enzimatik. Hal ini telah dibuktikan melalui studi secara *in vivo* maupun *in vitro* pada berbagai jenis obat dan protein pada rasio polimer yang berbeda. Polimer PLGA mengalami biodegradasi menjadi asam laktat dan glikolat. Asam laktat akan masuk ke dalam siklus asam trikarboksilat dan dieliminasi dalam bentuk karbon dioksida dan air⁽²⁴⁾.

PLGA telah disetujui FDA (*Food and Drug Administration*) sebagai polimer *biodegradable* yang memiliki sifat fisik kuat, 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. PLGA juga banyak digunakan sebagai material pendukung pada organ atau sebagai suspensi nanopartikel yang dapat diinjeksikan ke dalam tubuh manusia⁽²⁶⁾. Dalam penelitian terbaru menunjukkan bahwa degradasi PLGA dapat digunakan untuk pelepasan obat yang lama dengan dosis yang diinginkan pada implantasi tanpa prosedur bedah⁽²⁷⁾.



Gambar 2.3 struktur kimia *Poly Lactide-Co-Glycolide Acid* (PLGA)⁽²⁸⁾.

Keterangan:

x = asam laktat, dan y = asam glikolat

2.1.4 *Polivinil Alkohol* (PVA)

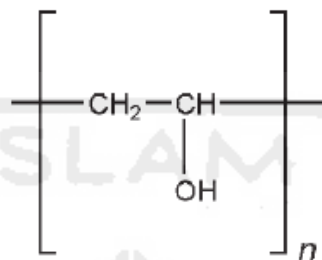
Polivinil alkohol (PVA) memiliki struktur kimia yang relatif sederhana dengan sekelompok gugus hidroksil. Sifat dari Polivinil alkohol tidak berwarna, padatan termoplastik yang tidak larut pada sebagian besar pelarut organik dan minyak, tetapi larut dalam air jika memiliki jumlah gugus hidroksil dari polimer tersebut cukup tinggi. Polivinil alkohol (PVA) diproduksi dengan cara polimerisasi bentuk radikal bebas dan proses hidrolisis, sehingga distribusi berat molekul PVA menjadi lebih luas. Distribusi berat molekul merupakan karakteristik penting dari PVA karena dapat mempengaruhi *crystallizability*, adhesi, kekuatan mekanik, dan difusivitas⁽²⁹⁾.

Polivinil alkohol (PVA) telah banyak digunakan untuk berbagai aplikasi biomedis dan aplikasi farmasetik. PVA memiliki beberapa keuntungan yang membuat PVA dipilih sebagai biomaterial. Beberapa keuntungan tersebut yaitu: tidak toksik, tidak bersifat karsinogenik, bioadhesif, dan mudah dalam pengolahannya. PVA dapat mengembang di dalam air, bersifat seperti karet, dan elastis. Karena sifat ini, PVA mampu mensimulasikan jaringan secara alami dan dapat dengan mudah diterima oleh tubuh. PVA dapat diaplikasikan untuk penggantian jaringan lunak, tulang rawan artikular, kateter, kulit buatan, pankreas buatan, dan membran hemodialisis⁽²⁹⁾.

PVA dalam sediaan nanopartikel biasa digunakan sebagai agen penstabil pada metode *solvent evaporation*. Pada penelitian Turk *et al*, dalam pembuatan nanopartikel yang menggunakan PVA sebagai agen penstabil didapatkan hasil bahwa konsentrasi PVA optimum yang dapat digunakan sebagai agen penstabil yaitu sebesar 2% dengan ukuran nanopartikel sebesar $167,9 \pm 0,939$ dan distribusi ukurannya (PDI) = $0,132 \pm 0,006$. Pada penelitian lainnya yang dilakukan oleh Apriandanu *et al*, didapatkan hasil bahwa penambahan PVA pada konsentrasi 3% koloid nanopartikel perak yang terbentuk relatif stabil dengan struktur kristal *Face Centered Cubic* (FCC) dan ukuran terkecilnya yaitu 10,15 nm. Selain itu PVA juga pernah digunakan untuk beberapa zat aktif sebagai agen stabilisator dalam sediaan nanopartikel, seperti rifampisin, ramipril, diazepam, dan kuersetin⁽³⁰⁾.

PVA bisa terjadi reaksi khas pada senyawa dengan gugus hidroksi sekunder seperti esterifikasi. PVA juga bisa terurai dalam asam kuat atau larut di asam lemah

maupun basa lemah. PVA inkompatibel pada konsentrasi tinggi garam anorganik, terutama sulfat dan fosfat, serta pengendapan dapat terjadi disebabkan oleh fosfat. PVA memiliki sifat 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⁽³¹⁾.



Gambar 2.4 struktur kimia polivinil alkohol (PVA)⁽³²⁾.

2.1.5 Etil Asetat

Dalam formulasi obat, etil asetat biasanya berfungsi sebagai senyawa tambahan yang biasanya digunakan sebagai pelarut dalam sediaan oral maupun topikal. WHO telah menetapkan penggunaan etil asetat yang aman untuk digunakan yaitu 25 mg/kg berat badan. Etil asetat merupakan zat pelarut yang bersifat semipolar dan mudah menguap (volatil), tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat dapat larut dalam air hingga 8% pada suhu kamar. Kelarutan etil asetat dapat meningkat jika berada pada suhu yang lebih tinggi, sehingga senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung asam atau basa⁽³³⁾.

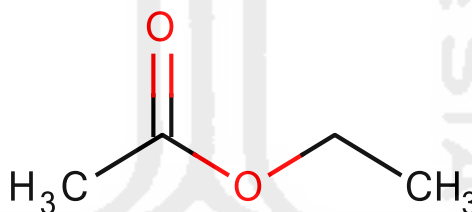
Etil asetat disintesis melalui reaksi esterifikasi Fischer dari asam asetat dan etanol dan hasilnya beraroma jeruk (perisa sintesis), biasanya dalam sintesis disertai katalis asam seperti asam sulfat. Katalis asam sulfat dapat menghambat hidrolisis karena berlangsungnya reaksi kebalikan hidrolisis yaitu esterifikasi Fischer. Selain itu, sintesis etil asetat dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu mereaksikan garam perak karboksilat dengan alkil halida, mereaksikan alkohol dengan anhidrida asam alkanolat, dan mereaksikan halogen asam alkanolat dengan alkohol⁽³⁴⁾.

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus molekul $\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$. Etil asetat juga merupakan cairan tidak berwarna dengan bau yang mirip dengan lem atau cat kuku yang biasa digunakan di industri juga sebagai pelarut organik.

Etil asetat dapat dihidrolisis pada keadaan asam atau basa yang menghasilkan asam asetat dan etanol kembali. Etil asetat memiliki titik didih 77,1°C, densitas 0,89 g/cm³ berat molekul 88,12 g/mol, tidak higroskopis dan tidak berwarna⁽³⁵⁾.

Etil asetat biasa digunakan pada produk seperti pengaroma atau parfum karena sifatnya yang mudah menguap dengan cepat tetapi aroma parfum tetap ada di kulit, selain itu etil asetat juga bisa digunakan sebagai pemberi rasa dalam produk makanan seperti kue, es krim, kopi dan teh. Namun, etil asetat juga biasa digunakan sebagai racun yang efektif untuk membunuh serangga tanpa merusak lingkungan sekitar⁽³³⁾.

Etil asetat diabsorpsi secara baik dengan cara dihirup (inhalasi) dan secara cepat akan terhidrolisis secara *in vitro* maupun *in vivo* menjadi etanol dan asam asetat, yang kemudian akan dimetabolisme lebih lanjut dan diekskresikan. Toksisitas akut yang rendah mungkin terjadi saat terhirup etil asetat. Tetapi paparan jangka panjang etil asetat pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan depresi pada sistem saraf pusat⁽³⁶⁾.



Gambar 2.5 Struktur kimia etil asetat (Marvin Sketch)

2.1.6 Studi Pelepasan Nanopartikel

Dalam sediaan nanopartikel, studi pelepasan merupakan faktor pertimbangan yang sangat penting. Ada 3 hal yang mempengaruhi studi pelepasan obat, yaitu : kelarutan obat; desorpsi pada permukaan atau obat teradsorpsi; difusi obat melalui matriks nanopartikel; erosi atau degradasi matriks nanopartikel; dan kombinasi dari proses erosi dan difusi. Pelepasan nanopartikel yang dienkapsulasi dengan polimer dapat dikontrol melalui proses difusi dari inti melewati membran polimer⁽³⁸⁾.

Nanopartikel yang dienkapsulasi dengan suatu polimer, pelepasannya akan dikontrol dengan difusi obat dari inti melewati membran polimer dan lapisan membran dapat menghalangi pelepasan obat. Oleh karena itu, kelarutan dan sifat difusi obat dalam polimer membran menjadi faktor penentu dalam pelepasan obat. Ketika obat dilibatkan dalam interaksi dengan bahan pembantu untuk membentuk kompleks yang sedikit larut dalam air, pelepasan obat dapat menjadi lebih lambat ataupun tidak terjadi pelepasan, sedangkan jika penambahan bahan pembantu seperti penambahan PLGA dapat meningkatkan pelepasan obat karena interaksi kompetitif elektrostatik⁽⁵⁾.

Pada uji pelepasan nanopartikel dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*. Prinsip dari uji *in vivo* yaitu menggunakan binatang mamalia seperti tikus, kelinci, marmut atau kera. Penelitian *in vitro* mensyaratkan adanya kontak antara bahan atau suatu komponen bahan dengan sel, enzim, atau isolasi dari suatu sistem biologik⁽³⁹⁾. Metode yang dapat dilakukan untuk studi pelepasan secara *in vitro*, yaitu: sel *difusi franz* dengan membran cellophane; teknik *dialysis bag diffusion*; teknik *reverse dialysis bag*; agitasi diikuti dengan ultrasentrifugasi atau sentrifugasi; dan teknik ultrafiltrasi atau ultrafiltrasi sentrifugasi. Biasanya studi pelepasan dimulai dari agitasi terkontrol, dilanjutkan dengan sentrifugasi⁽⁴⁰⁾.

2.1.7 Studi Penetrasi Nanopartikel

Studi penetrasi dari nanopartikel dianggap sebagai terobosan baru sebagai sediaan lepas lambat dan meningkatkan sistem penghantaran obat secara lokal. Uji penetrasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: konsentrasi molekul dari polimer, interaksi antara polimer dan mukosa, dan membran biologi yang digunakan. Studi penetrasi diawali dengan proses interaksi antara polimer dengan musin yang terdapat dalam lapisan mukus, dengan adanya interaksi antara polimer dengan musin tersebut diharapkan terjadi proses penyerapan yang baik di dalam sel epitel jaringan⁽⁴¹⁾.

Dengan dilakukannya studi penetrasi ini diharapkan nanopartikel dapat berpenetrasi baik di dalam jaringan usus, karena penetrasi yang baik akan dapat memperpanjang waktu tinggal obat di dalam tubuh. Sistem penetrasi akan meningkatkan kontak antara sediaan dengan jaringan tempat terjadinya absorpsi

sehingga konsentrasi andrografolida terabsorpsi lebih banyak dan diharapkan akan terjadi aliran andrografolida yang tinggi melalui jaringan tersebut, yang nantinya akan meningkatkan kinerja andrografolida sehingga dapat meningkatkan efektifitas terapi obat. Sifat penetrasi dievaluasi secara *in vivo* dengan menggunakan usus tikus, dimana nanopartikel akan berpenetrasi melalui kelenjar usus tikus secara perlahan-lahan⁽⁴²⁾.

Nanopartikel akan menembus pada lapisan mukus tergantung dari kemampuan partikel yang akan berinteraksi dengan glikoprotein mucin atau komponen mukus lain yang bergerak dalam lapisan mukus. Proses penetrasi antara polimer dan membran mukosa secara garis besar terdiri dari dua tahap yaitu proses pembasahan agar terjadi kontak dengan mukosa dan proses penggabungan melalui interaksi secara fisik. Interaksi bisa melalui ikatan ionik, ikatan hidrogen, atau ikatan Van der Waals. Bahan yang digunakan akan dapat menempel, berinteraksi dan berpenetrasi terhadap lapisan mukus⁽⁴³⁾.

2.2 Landasan Teori

Dalam proses pembuatan nanopartikel andrografolida dengan pembawa polimer diperlukan bahan-bahan yang tepat dalam proses pembuatannya agar dapat menghasilkan profil pelepasan yang terkontrol dan sifat penetrasi yang baik dan optimal. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan sediaan nanopartikel andrografolida dengan menggunakan polimer sebagai bahan pembawa, seperti PLGA (*Poly Lactide-Co-Glycolide Acid*) dan agen stabilizer seperti PVA (*Polyvinil Alcohol*). Dalam penelitian Budhian A. *et al*, (2008) yang menggunakan haloperidol sebagai zat aktif, PVA dan PLGA sebagai polimer menunjukkan bahwa pelepasan secara *in vitro* terjadi pelepasan yang terkontrol dan menghasilkan profil yang berkelanjutan selama 8 jam, pelepasan yang dihasilkan memiliki profil kecepatan yang meningkat tiap waktunya⁽⁷⁾. Selain itu, dalam penelitian yang dilakukan Yang *et al* menunjukkan bahwa sifat penetrasi menggunakan polimer PLGA dapat melewati mucin sel target yang terkontrol⁽⁴¹⁾.

Polimer PLGA telah disetujui oleh FDA sebagai polimer yang *biocompatible* dan *biodegradable*. PLGA sering digunakan sebagai pembawa obat

pada sediaan nanopartikel. Penelitian yang telah dilakukan Allison *et al*, menunjukkan bahwa PLGA sering digunakan sebagai polimer *biodegradable* karena memiliki karakteristik degradasi yang menguntungkan dan dapat mempertahankan terapi obat di lokasi target dalam waktu yang lama. Penelitian ini juga menggunakan PVA sebagai agen stabilizer dalam pembuatan nanopartikel. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Priya Vashisth *et al*, (2017) menggunakan ofloxacin dengan stabilisator PVA menunjukkan hasil uji mukoadhesif secara *in vivo* menghasilkan penyerapan ofloxain dalam gastrointestinal yang tinggi dan dapat memperbaiki bioavaibilitas dalam rute oral⁽⁴⁴⁾.

Oleh karena itu, dalam penelitian ini diharapkan dengan menggunakan bahan-bahan seperti andrografolida sebagai zat aktif, PLGA sebagai polimer *biodegradable* dan biokompatibel yang dapat mengontrol pelepasan obat, serta PVA sebagai agen stabilizer dapat menghasilkan profil pelepasan yang terkontrol dan sifat penetrasi yang baik dari sediaan nanopartikel andrografolida dengan menggunakan variasi PVA.

2.3 Hipotesis

Variasi PVA pada formulasi nanopartikel isolat andrografolida yang dihasilkan memiliki profil kecepatan yang terkontrol dan meningkat tiap waktunya dan memiliki sifat penetrasi yang baik dan dapat masuk ke dalam jaringan usus yang terkontrol.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan utama pada penelitian ini adalah isolat andrografolida (Universitas Islam Indonesia, Nanopharmacy), dan sebagai bahan tambahan adalah PLGA (*Poly Lactic-co-Glycolic Acid*) p.a (Aldrich), PVA (*Polyvinyl Alcohol*) p.a (diperoleh dari Brataco), kalium dihidrogen fosfat p.a (diperoleh dari Brataco), natrium hidroksida p.a (diperoleh dari Brataco), Natrium Klorida (diperoleh dari Brataco) etil asetat p.a (Merck), aquadest (Lab. Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia), *fluoroescinamine*, *4-dimethylamino benzaldehyde* (DMAB), formalin 10%, aqua pro injeksi p.a (Ikapharmindo), alumunium foil, *microfilter* 0,45 μm , membran *cellophane*, dan tikus galur wistar BB 300-400 gram (Lab Farmakologi Farmasi Universitas Islam Indonesia).

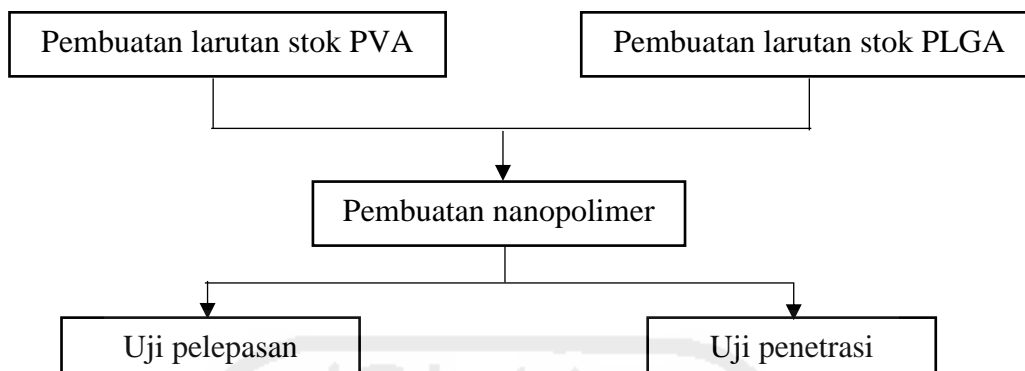
3.1.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *magnetic stirrer* (Ika werke), mikropipet (Thermoscientific FinnpiPETTE), High Performance Liquid Chromatography (Hitachi), seperangkat alat *franz diffusion cell* (PermeGear®), timbangan analitik (Metler Toledo), *ultrathurax* (Ika T25), *microtome*, viva spin, spuit, mikroskop fluoroesen (Olympus Mikroskop fluoroesen BX 53) seperangkat alat bedah tikus dan seperangkat alat gelas.

3.2 Cara Penelitian

3.2.1 Sistematika Kerja Penelitian

Sistematika kerja pada penelitian ini dilakukan secara berurutan. Dimulai dari proses pembuatan larutan PVA, pembuatan larutan stok PLGA, pembuatan nanopartikel, uji pelepasan dan uji penetrasi. Untuk proses yang lebih rinci dapat dilihat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema kerja penelitian diawali dari pembuatan PVA, pembuatan PLGA, uji pelepasan dan uji penetrasi

3.2.2 Pembuatan Larutan PVA 1%; 2,5 %; dan 5%

Ditimbang masing-masing 1 g, 2,5 g, dan 5 g PVA dalam gelas beker 100 ml, kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquadest. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 2000 rpm sampai PVA larut sempurna.

3.2.3 Pembuatan Larutan Stok PLGA

Ditimbang 1 g PLGA dalam gelas beaker 50 ml, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etil asetat. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan *stirrer* selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm.

3.2.4 Pembuatan Nanopartikel Andrografolida

Nanopartikel dibuat dengan metode *solvent evaporation*. Disiapkan fase air yang terdiri dari PVA 2,5 ml konsentrasi PVA 1%, 2,5% dan 5%. Disiapkan fase organik yang terdiri dari larutan stok PLGA 500 μ L, etil asetat 2 ml dan andrografolida 2 mg. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Low, M (2015), pada dosis 2mg/hari andrografolida memiliki efek antiinflamasi tanpa menimbulkan efek samping yang serius⁽²⁾. Fase organik diteteskan secara perlahan (1 tetes tiap 20 detik) kedalam fase air diatas *stirrer* dengan kecepatan 200 rpm selama 1 jam. Setelah itu campuran dihomogenkan dengan *ultrasonix* 12.500 rpm selama 2 menit dalam *ice bath*. Campuran yang terbentuk diencerkan dengan 50 ml

akuades. Selanjutnya, pelarut etil asetat diuapkan 24 jam dengan pengadukan menggunakan *stirrer* pada kecepatan 2000 rpm.

Tabel 3.1 formulasi nanopartikel isolat andrografolida

Nama Bahan	Formula I	Formula II	Formula III
Andrografolida	2 mg	2 mg	2 mg
PLGA	500 μ L	500 μ L	500 μ L
PVA 1%	2,5ml	-	-
PVA 2,5%	-	2,5ml	-
PVA 5%	-	-	2,5ml
Etil asetat	2 ml	2 ml	2 ml
Aquabidest	50 ml	50 ml	50 ml

Keterangan:

*Penambahan PVA dalam bentuk larutan sebanyak 2,5 ml untuk masing-masing formula

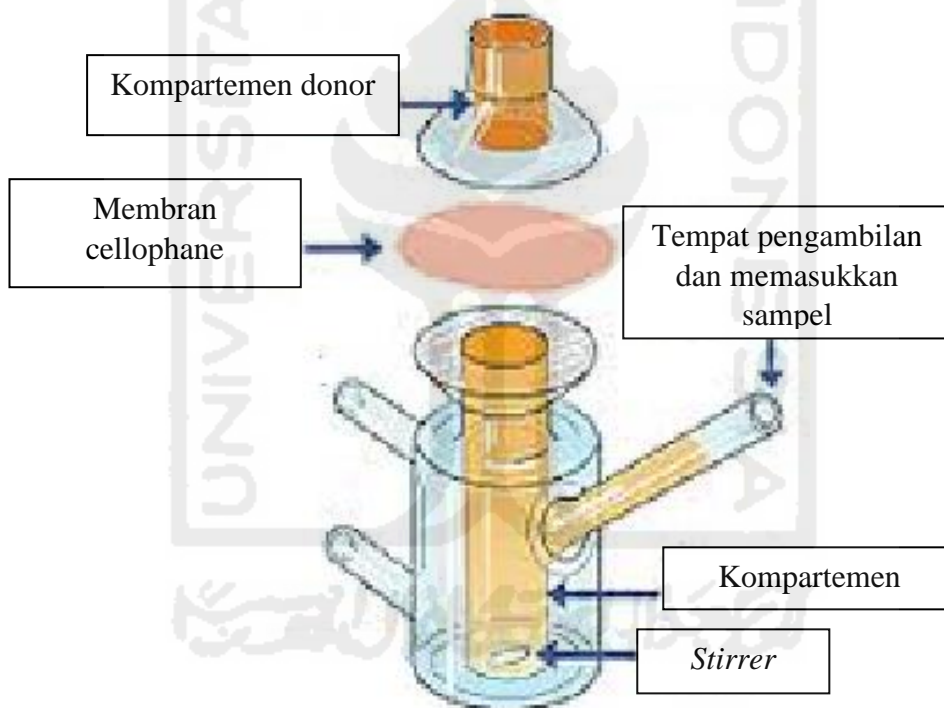
3.2.5 Studi Pelepasan Nanopartikel Andrografolida menggunakan Sel Difusi Franz

3.2.5.1 Pembuatan buffer fosfat pH 7,4

Buffer fosfat pH 7,4 dibuat dengan mencampurkan larutan NaOH dan KH_2PO_4 . Ditimbang masing-masing NaOH dan KH_2PO_4 secara seksama sebanyak 0,8 g dan 2,72 g. Kemudian, dilarutkan dengan akuades secukupnya dalam gelas beker ditempat yang berbeda. Larutan kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas. Dipipet 39,1 mL larutan NaOH dalam labu ukur 100 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 200 mL. Dipipet juga 50 mL larutan KH_2PO_4 dalam labu ukur 100 mL kemudian dicampurkan dengan larutan NaOH dalam labu ukur 200 mL yang sama. Diukur larutan menggunakan pH meter. Apabila pH terlalu asam ditambahkan dengan NaOH dan bila pH terlalu basa maka dapat ditambahkan KH_2PO_4 hingga pH mencapai 7,4.

3.2.5.2 Studi pelepasan nanopartikel andrografolida

Sel difusi *franz* terdiri dari 2 bagian, bagian atas terdiri dari kompartemen donor, yaitu bahan aktif dan pembawa andrografolid. Pada bagian bawah terdapat kompartemen reseptor dan tempat sampling, suhu diatur pada $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Medium reseptor terdiri dari buffer fosfat pH 7,4. Secara periodik cairan reseptor dipipet sebanyak 1 mL dan digantikan dengan cairan buffer yang sama dengan volume yang sama. Jumlah andrografolida yang dilepas, ditentukan dengan HPLC dengan panjang gelombang maksimum 229 nm (Syukri, Y (unpublished)). Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing sampel dengan variasi PVA 1%; 2,5%; dan 5% yang dilakukan selama 8 jam.



Gambar 3.2. Sel difusi *franz* (permagear.com)

3.2.6 Studi Penetrasi Nanopartikel Andrographolia menggunakan Jaringan Usus Tikus

Penelitian ini telah lolos kaji etik dari komite etik penelitian kedokteran dan kesehatan fakultas kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor protokol 14/A/IX/16. Penelitian ini dilakukan studi penetrasi menggunakan tikus *Sprague*

Dawley dengan berat 300-400 gram. Tikus dikorbakan terlebih dahulu dengan pemberian larutan kloroform. Selanjutnya tikus dibedah dan diambil jaringan ususnya dengan kisaran panjang 1-2 cm. Usus tikus segar (jejunum) diambil dan dibilas hati-hati dengan garam fisiologis (NaCl 0,9%) untuk menghapus semua residu. Jaringan dipotong dengan panjang 2 cm. Setiap segmen diisi dengan 0,1 ml *fluorescent* yang telah diberi nanopartikel (5 mg / ml di air pada pH 6.5) dengan menggunakan jarum suntik dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C. Jaringan dibilas secara menyeluruh dengan NaCl untuk menghilangkan semua partikel yang tidak terserap sebelum dibuka melalui pertengahan garis sayatan. Bagian jaringan diawetkan dalam formalin. Jaringan diiris dengan ketebalan 10µM kemudian dibaca dengan mikroskop *fluorescence*.

3.3. Analisis Hasil

Analisis hasil dilakukan secara deskriptif. Dengan cara membandingkan data yang diperoleh dari hasil penelitian seperti uji pelepasan andrografolida dengan variasi PVA 1%, 2,5%, dan 5% dibandingkan dengan data penelitian sebelumnya yang diperoleh dari jurnal. Sedangkan uji penetrasi diamati menggunakan mikroskop *fluorescence* untuk melihat kemampuan nanopartikel yang terserap dalam jaringan usus.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Organoleptis Nanopartikel Andrografolida

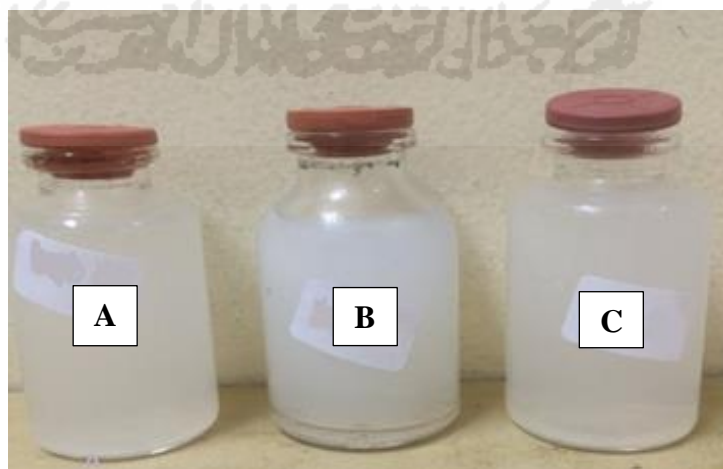
Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna dan bau dari sediaan nanopartikel andrografolida yang telah dihasilkan. Uji organoleptis merupakan cara pengujian dengan menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk mengukur daya mutu terhadap suatu formula atau produk. Hasil pengamatan organoleptis sediaan nanopartikel andrografolida dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.1 berikut ini:

Tabel. 4.1 Organoleptis nanopartikel andrografolida

Organoleptis	Formula I	Formula II	Formula III
Bentuk	Berbentuk suspensi	Berbentuk suspensi	Berbentuk suspensi
Warna	Putih keruh	Putih keruh	Putih keruh
Bau	Tidak berbau khas	Tidak berbau khas	Tidak berbau khas

*keterangan :

- F I : konsentrasi PVA 1%
- F II : konsentrasi PVA 2,5%
- F III : konsentrasi PVA 5%

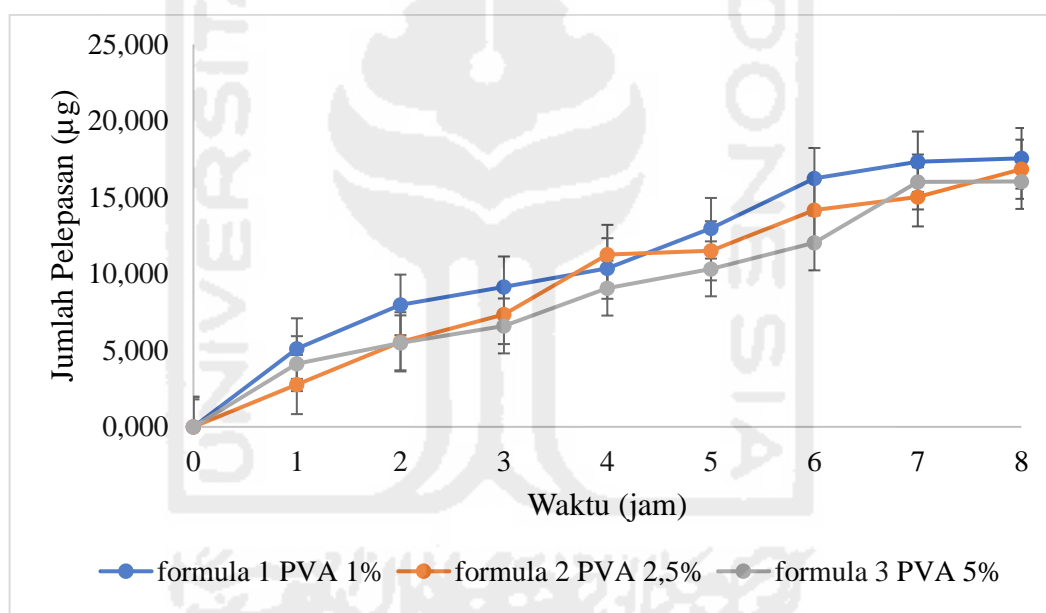


Gambar 4.1 Hasil formulasi nanopartikel andrografolida konsentrasi PVA 1% (A) PVA 2,5% (B) PVA 5% (C)

4.2. Studi Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopartikel Andrografolida

Studi pelepasan secara *in vitro* memiliki peran penting dalam pengembangan nanopartikel dari suatu obat, karena dengan dilakukan studi pelepasan secara *in vitro* ini dapat memprediksi jumlah obat yang dapat berpermeasi atau terabsorpsi dalam tubuh manusia sehingga akan menghasilkan efektivitas yang baik. Studi pelepasan secara *in vitro* nanopartikel andrografolida bertujuan untuk menghasilkan jumlah dan profil kecepatan pelepasan andrografolida yang baik dari sediaan nanopartikel dengan menggunakan PLGA dan variasi PVA 1%; 2,5%; dan 5% sebagai polimer yang mengenkapsulasi andrografolida tersebut.

Hasil pelepasan nanopartikel andrografolida dapat dilihat pada grafik 4.2.



Gambar 4.2. Grafik hasil uji pelepasan andrografolida pada ketiga formula memiliki profil pelepasan mengikuti kinetika orde 0 ($n : 3$).

Keterangan :

*hasil pelepasan menunjukkan pelepasan rata-rata setiap formula yang dilakukan sebanyak 3 replikasi pada masing-masing formula.

Pada grafik **gambar 4.2** dapat dilihat pelepasan obat dimulai dari jam ke 1 dan pelepasannya meningkat secara konstan. Pada formula 1 dengan jumlah PVA 1% memiliki pelepasan yang paling cepat dan jumlah terbanyak dibandingkan dengan formula 2 dengan jumlah PVA 2,5% dan formula 3 dengan jumlah PVA

5%. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi PVA 1% memiliki viskositas atau kekentalan yang paling rendah sehingga cepat untuk berpemeasi ke dalam medium reseptor.

Pada masing-masing formula, diperoleh hasil pelepasan nanopartikel andrografolida menggunakan sel difusi *franz* dalam waktu 8 jam. Pada formula 1, 2 dan 3 yang mengandung PVA masing-masing 1%; 2,5%; dan 5% didapatkan hasil kumulatif pelepasan obat selama 8 jam berturut-turut yaitu 17,558 μg (43,895%); 16,843 μg (42,108%); dan 16,045 μg (40,113%). Semakin banyak jumlah yang terlepas semakin banyak kadar zat aktif yang bertahan di dalam tubuh sehingga dapat meningkatkan efektivitas terapi dari andrografolida.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pelepasan nanopartikel andrografolida menggunakan polimer PLGA dan stabilizer TPGS (*d- alpha tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate*) dalam waktu 10 jam menghasilkan jumlah pelepasan <20%⁽⁶⁾. Oleh karena itu, pembuatan nanopartikel andrografolida menggunakan PVA sebagai stabilizer dapat meningkatkan jumlah pelepasan andrografolida. Hal ini dikarenakan PVA bersifat hidrogel yang memiliki permeabilitas air yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai matriks untuk pengontrolan pelepasan obat. Menurut Mu *et al*, didapatkan bahwa pelepasan obat *paclitaxel* secara *in vitro* dengan menggunakan PVA memiliki pelepasan yang lebih baik dibandingkan menggunakan TPGS (*d- alpha tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate*)⁽⁴⁵⁾.

Nilai fluks yang diperoleh dari sediaan nanopartikel andrografolida pada formula 1, 2 dan 3 yang mengandung PVA masing-masing 1%, 2,5% dan 5% yaitu 1,669 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$, 1,296 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$, dan 0,698 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$. Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa pada formula 1 yang mengandung PVA 1% memiliki nilai fluks yang paling tinggi yaitu 1,669 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$. Hal ini dikarenakan PVA 1% memiliki viskositas atau kekentalan yang rendah sehingga mudah untuk berpemeasi ke dalam medium reseptor. Semakin cepat pelepasan obat, maka efek yang ditimbulkan juga semakin cepat, namun pelepasannya tetap konstan dan terkontrol. Ini dibuktikan dengan grafik yang didapatkan mengikuti kinetika orde 0 dengan kadar obat dalam darah tetap konstan selama periode

pelepasan. Penggunaan PLGA dan PVA dalam sediaan nanopartikel mampu mengontrol pelepasan obat secara konstan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Budhian A. *et al* menggunakan haloperidol sebagai zat aktif, PLGA dan PVA sebagai polimer menunjukkan bahwa pelepasan secara *in vitro* dapat terkontrol secara konstan selama 8 jam⁽⁷⁾.

Selain itu, berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh R. Manavalan, didapatkan waktu paruh untuk andrografolida yaitu 2 jam⁽⁴⁶⁾. Pada penelitian ini, didapatkan hasil bahwa total kumulatif jumlah obat terlepas pada jam ke 8 untuk formula 1; 2; dan 3 yang mengandung PVA masing-masing 1%; 2,5%; dan 5% yaitu 17,558 μ g (43,895%); 16,843 μ g (42,108%); dan 16,045 μ g (40,113%). Pada ketiga formula tersebut, obat baru terlepas sebagian pada kompartemen reseptor. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa andrografolida yang dibuat dalam sediaan nanopartikel dapat meningkatkan atau memperpanjang waktu paruh dari obat dengan pelepasan yang terkontrol. Waktu paruh yang panjang dapat mengurangi frekuensi pemberian dari obat dan diharapkan dapat meningkatkan kepatuhan pasien.

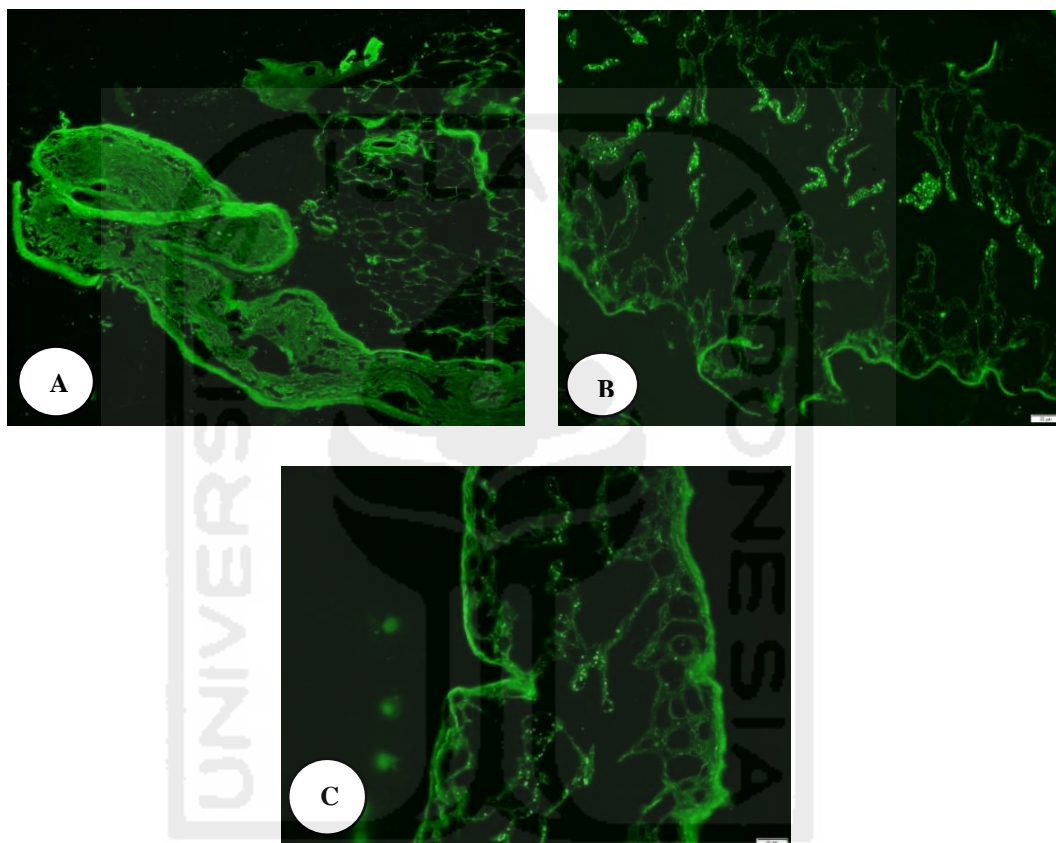
4.3. Studi Penetrasi Nanopartikel Andrografolida menggunakan Jaringan Usus Tikus

Studi penetrasi nanopartikel andrografolida menggunakan jaringan usus tikus bertujuan untuk melihat kemampuan nanopartikel andrografolida berpenetrasi pada jaringan mukus. Studi penetrasi diawali dengan interaksi antara polimer dengan musin yang terdapat dalam lapisan mukus. Mukus merupakan sekret jernih dan kental, membentuk lapisan tipis yang beradhesi pada permukaan epitel mukosa. Di dalam mukus terdapat musin yang mengandung glikoprotein dengan berat molekul yang memungkinkan untuk polimer dapat menempel dan mengalami penetrasi.

Dengan adanya interaksi antara polimer dengan musin tersebut diharapkan terjadi proses penyerapan yang baik di dalam sel epitel jaringan. Proses penetrasi yang baik akan dapat memperpanjang waktu tinggal obat di dalam tubuh. Sistem penetrasi akan meningkatkan kontak antara sediaan dengan jaringan tempat terjadinya absorpsi sehingga konsentrasi andrografolida terabsorpsi lebih banyak

dan diharapkan akan terjadi aliran andrografolida yang tinggi melalui jaringan tersebut, yang nantinya akan meningkatkan kinerja andrografolida sehingga dapat meningkatkan efektifitas terapi obat.

Hasil studi penetrasi sediaan nanopartikel andrografolida dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil pembacaan mikroskop *fluorescence* menggunakan filter biru formulasi nanopartikel andrografolida dengan konsentrasi PVA 1% (A), PVA 2,5% (B) dan PVA 5% (C).

Berdasarkan hasil penetrasi yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 4.2-4.4. Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa pada sediaan nanopartikel andrografolida dengan konsentrasi PVA 1%, 2,5%, dan 5% terdapat penyebaran nanopartikel di dalam jaringan usus, namun tidak ada perbedaan yang signifikan dari formulasi 1, 2 dan 3 dengan konsentrasi PVA 1%, 2,5%, dan 5%. Hal ini dapat dikatakan bahwa sediaan nanopolimer andrografolida dengan variasi konsentrasi PVA (1%, 2,5%, dan 5%), sama-sama terjadi proses penetrasi atau penyerapan nanopartikel

andrografolida yang baik di dalam jaringan usus, sehingga akan memperpanjang waktu tinggal andrografolida di dalam tubuh yang akhirnya dapat meningkatkan efektifitas terapi andrografolida.

Hasil penetrasi yang baik diawali dengan adanya proses mukoadhesif, dimana terjadi interaksi antara polimer dengan lapisan mukus melalui ikatan hidrogen antara polivinil alkohol (PVA) dengan lapisan mukus. Lapisan mukus terdiri dari air 95 %, glikoprotein dan lemak 0,5-5,0%, garam-garam mineral 1% dan protein bebas 0,5-1%. Sedangkan PVA memiliki sifat hidrofilik dan mudah larut dalam air, dengan adanya sifat hidrofilik melalui ikatan hidrogen akan melekat pada membran mukus.

Hal ini didukung dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Priya Vashisth *et al* yang menggunakan ofloxain sebagai zat aktif dengan stabilisator PVA menunjukkan bahwa hasil uji mukoadhesif secara *in vivo* yang menghasilkan penetrasi atau penyerapan ofloxain dalam gastrointestinal yang tinggi yang akan memperbaiki bioavailabilitas dalam rute oral⁽⁴⁴⁾. Berdasarkan hasil penelitian lainnya yang dilakukan oleh Chun Gwon Park *et al* yang menggunakan bromidin sebagai zat aktif, PLGA sebagai polimer dan PVA sebagai stabilisator menunjukkan bahwa hasil uji mukoadhesif secara *in vivo*, bromidin yang dienkapsulasi oleh PLGA dan PVA dapat berinteraksi baik dengan lapisan mukus okular dan memperpanjang waktu retensi obat dalam lapisan okular⁽⁹⁾.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Pada studi pelepasan yang telah dilakukan, didapatkan adanya pengaruh penambahan PVA terhadap pelepasan nanopartikel yang dibuat. Formula 1 yang mengandung PVA 1% memiliki jumlah pelepasan terbanyak dan pelepasan yang paling cepat, dan diikuti dengan PVA 2,5% dan PVA 5%. Sedangkan pada studi penetrasi yang telah dilakukan, didapatkan adanya pengaruh penambahan PVA terhadap penetrasi nanopartikel andrografolida. Pada ketiga formula terjadi penetrasi yang baik ditandai dengan tersebarnya nanopartikel di dalam jaringan usus.

5.2. Saran

- 5.2.1.** Perlu dilakukan studi pelepasan andrografolida menggunakan sampel hasil sentrifugasi untuk membandingkan data kadar andrografolida yang terlepas dari matriks.
- 5.2.2.** Perlu dilakukan studi pelepasan andrografolida secara *in vivo* yang menggunakan hewan uji untuk membandingkan data pelepasan dengan pelepasan andrografolida secara *in vitro*.
- 5.2.3.** Perlu dilakukan studi penetrasi dengan membandingkan usus yang diberi nanopartikel dengan usus blanko untuk membandingkan hasil penetrasi dari keduanya.
- 5.3.4.** Perlu dilakukan uji efektifitas pada hewan uji untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari andrografolida yang dibuat dalam bentuk nanopartikel.

DAFTAR PUSTAKA

- (1). Zou W, Xiao Z, Wen X, Luo J, Chen S, Cheng Z, et al. The anti-inflammatory effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees on pelvic inflammatory disease in rats through down-regulation of the NF- κ B pathway. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16:483.
- (2). 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 2016 Dec 16];15(1).
- (3). Suresh K, Goud NR, Nangia A. Andrographolide: Solving Chemical Instability and Poor Solubility by Means of Cocrystals. *Chem - Asian J*. 2013 Dec;8(12):3032–41.
- (4). N Sermkaew, Ketjinda W. Liquid and solid self-microemulsifying drug delivery systems for improving the oral bioavailability of andrographolide from a crude extract of *Andrographis paniculata*. *Eur J Pharm Sci*. 2013 Nov 20;50(3-4):459-66.
- (5). Mohanraj VJ, Chen Y, others. Nanoparticles—a review. *Trop J Pharm Res*. 2006;5(1):561–573.
- (6). Mondal S, Roy P, Das S, Halder A, Mukherjee A, Bera T. In Vitro Susceptibilities of Wild and Drug Resistant *Leishmania donovani* Amastigote Stages to Andrographolide Nanoparticle: Role of Vitamin E Derivative TPGS for Nanoparticle Efficacy. Satoskar AR, editor. *PLoS ONE*. 2013 Dec 10;8(12):e81492.
- (7). Budhian A, Siegel SJ, Winey KI. Controlling the in vitro release profiles for a system of haloperidol-loaded PLGA nanoparticles. *Int J Pharm*. 2008 Jan 4;346(1–2):151–9.
- (8). Khom T, Yadav H, Raizaday A, Manne N, Kumar H, Kumar S. Development of Mucoadhesive Nanoparticulate System of Ebastine for Nasal Drug Delivery. *Trop J Pharm Res*. 2014 Sep 16;13(7):1013.
- (9). Park CG, Kim YK, Kim MJ, Park M, Kim MH, Lee SH, et al. Mucoadhesive microparticles with a nanostructured surface for enhanced bioavailability of glaucoma drug. *J Controlled Release*. 2015 Dec;220:180–8.
- (10). Pal SL, Jana U, Manna PK, Mohanta GP, Manavalan R. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization (2000-2010). 2011 [cited 2016 Sep 15].

- (11). Hickey JW, Santos JL, Williford J-M, Mao H-Q. Control of polymeric nanoparticle size to improve therapeutic delivery. *J Controlled Release*. 2015 Dec;219:536–47.
- (12). Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2010 Jan;75(1):1–18.
- (13). Ajay Vidyasagar KS. Polymer Nanoparticles: Newer Strategies towards Targeted Cancer Therapy. *J Phys Chem Biophys* [Internet]. 2013 [cited 2016 Jul 26];03(04).
- (14). Reddy PD, Swarnalatha D. Recent advances in novel drug delivery systems. *Int J PharmTech Res*. 2010;2(3):2025–2027.
- (15). Ojea-Jimenez I, Comenge J, Garcia-Fernandez L, Megson Z, Casals E, Puentes V. Engineered Inorganic Nanoparticles for Drug Delivery Applications. *Curr Drug Metab*. 2013 Jun 1;14(5):518–30.
- (16). Ansary RH, Awang MB, Rahman MM. Biodegradable Poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)-Based Micro/Nanoparticles for Sustained Release of Protein Drugs - A Review. *Trop J Pharm Res*. 2014 Sep 18;13(7):1179.
- (17). Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *J Controlled Release*. 2001 Jan;70(1–2):1–20.
- (18). Mansour HM, Sohn M, Al-Ghananeem A, DeLuca PP. Materials for Pharmaceutical Dosage Forms: Molecular Pharmaceutics and Controlled Release Drug Delivery Aspects. *Int J Mol Sci*. 2010 Sep 15;11(9):3298–322.
- (19). Sajeeb BK, Kumar U, Halder S, Bachar SC. Identification and quantification of Andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees by RP-HPLC method and standardization of its market preparations. *Dhaka Univ J Pharm Sci*. 2015;14(1):71–78.
- (20). NK W, IN K W. Penetapan Kadar Andrografolid dalam Isolat dari Sambiloto dengan KLT-Spektrofotodensitometri. *J Farm Udayana* [Internet]. 2014 [cited 2017 Feb 12].
- (21). Xu J, Huang S, Luo H, Li G, Bao J, Cai S, et al. QSAR Studies on Andrographolide Derivatives as α -Glucosidase Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2010 Mar 2;11(3):880–95.
- (22). P, Atmaram, S. Rajalakshmi. Strategies for formulation development of andrographolide. *An international journal to further the chemical sciences*. 2016,6, 69282-69300 [Internet]. [cited 2017 Mar 12].

- (23). Widyawati T. Aspek farmakologi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Maj Kedokt Nusant.* 2007;40(3):216–222.
- (24). Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers.* 2011 Aug 26;3(4):1377–97.
- (25). Gentile P, Chiono V, Carmagnola I, Hatton P. An Overview of Poly(lactic-co-glycolic) Acid (PLGA)-Based Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2014 Feb 28;15(3):3640–59.
- (26). Abdollahi S, Lotfipour F. PLGA-and PLA-based polymeric nanoparticles for antimicrobial drug delivery. *Biomed Int [Internet].* 2015 [cited 2016 Jul 26];3(1).
- (27). Nkabinde LA, Shoba-Zikhali LNN, Semete-Makokotlela B, Kalombo L, Swai H, Grobler A, et al. Poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles: Uptake by epithelial cells and cytotoxicity. *Express Polym Lett.* 2014;8(3):197–206.
- (28). St M D, Major-Gabryś K. Strength properties of moulding sands with chosen biopolymer binders. *Arch Foundry [Internet].* 2010 [cited 2016 Jul 26].
- (29). Hassan CM, Peppas NA. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. In: *Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites [Internet].* Springer Berlin Heidelberg; 2000 [cited 2016 Sep 16]. p. 37–65. (Advances in Polymer Science).
- (30). Apriandanu DOB, Wahyuni S, Hadisaputro S, others. SINTESIS Nanopartikel Perak Menggunakan Metode Poliol Dengan Agen Stabilisator Polivinilalkohol (PVA). *J MIPA [Internet].* 2013 [cited 2016 Sep 16];36(2).
- (31). Rowe RC, editor. *Handbook of pharmaceutical excipients.* 6. ed. London: APhA, (PhP) Pharmaceutical Press; 2009. 888 p.
- (32). Hassan CM, Peppas NA. Structure and Morphology of Freeze/Thawed PVA Hydrogels. *Macromolecules.* 2000 Apr;33(7):2472–9.
- (33). KIRBAŞLAR Şİ, BAYKAL ZB, Dramur U. Esterification of acetic acid with ethanol catalysed by an acidic ion-exchange resin. *Turk J Eng Environ Sci.* 2001;25(6):569–578.
- (34). Csanádi Z, Kurdi R, Bélafi-Bakó K. Ethyl-Acetate Synthesis in Gas Phase by Immobilised Lipase. *Hung J Ind Chem.* 2012;40(1):39–44.

- (35). Chidi O, Ifedi Peter O. Kinetics and Mechanism of Ethyl Acetate Production Using Eco-Benign Solid Catalyst. *J Phys Chem Biophys* [Internet]. 2016 [cited 2017 Feb 13];6(3).
- (36). Cavalcante AM, Torres LG, Coelho GLV. Adsorption of ethyl acetate onto modified clays and its regeneration with supercritical CO₂. *Braz J Chem Eng*. 2005;22(1):75–82.
- (37). Zhang B, Lin L, Zhuang J, Liu Y, Peng L, Jiang L. Hydrogenation of Ethyl Acetate to Ethanol over Ni-Based Catalysts Obtained from Ni/Al Hydrotalcite-Like Compounds. *Molecules*. 2010 Jul 29;15(8):5139–52.
- (38). Chronopoulou L, Massimi M, Giardi MF, Cametti C, Devirgiliis LC, Dentini M, et al. Chitosan-coated PLGA nanoparticles: A sustained drug release strategy for cell cultures. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013 Mar;103:310–7.
- (39). Ahammad T, Begum M, Towheedur Rahman AFM, Hasan M, Paul SR, Eamen S, et al. Formulation and *in-Vitro* Release Pattern Study of Gliclazide Matrix Tablet. *Pharmacol Amp Pharm*. 2015;06(03):125–31.
- (40). Dodda SR, B PR. Development and *in Vitro-in Vivo* Evaluation of Controlled Release Matrix Tablets of Desvenlafaxine. *Pharmacol Amp Pharm*. 2012;03(01):15–9.
- (41). Dünnhaupt S, Barthelmes J, Hombach J, Sakloetsakun D, Arkhipova V, Bernkop-Schnürch A. Distribution of thiolated mucoadhesive nanoparticles on intestinal mucosa. *Int J Pharm*. 2011 Apr;408(1–2):191–9.
- (42). Ensign LM, Tang BC, Wang Y-Y, Tse TA, Hoen T, Cone R, et al. Mucus-Penetrating Nanoparticles for Vaginal Drug Delivery Protect Against Herpes Simplex Virus. *Sci Transl Med*. 2012 Jun 13;4(138):138ra79-138ra79.
- (43). Sosnik A, das Neves J, Sarmiento B. Mucoadhesive polymers in the design of nano-drug delivery systems for administration by non-parenteral routes: A review. *Prog Polym Sci*. 2014 Dec;39(12):2030–75.
- (44). Vashisth P, Raghuwanshi N, Srivastava AK, Singh H, Nagar H, Pruthi V. Ofloxacin loaded gellan/PVA nanofibers - Synthesis, characterization and evaluation of their gastroretentive/mucoadhesive drug delivery potential. *Mater Sci Eng C*. 2017 Feb;71:611–9.
- (45). Mu L, Chan-Park MB-E, Yue CY, Feng SS. Pharmaceutical properties of nanoparticulate formulation composed of TPGS and PLGA for controlled delivery of anticancer drug. 2004 [cited 2017 Feb 15].

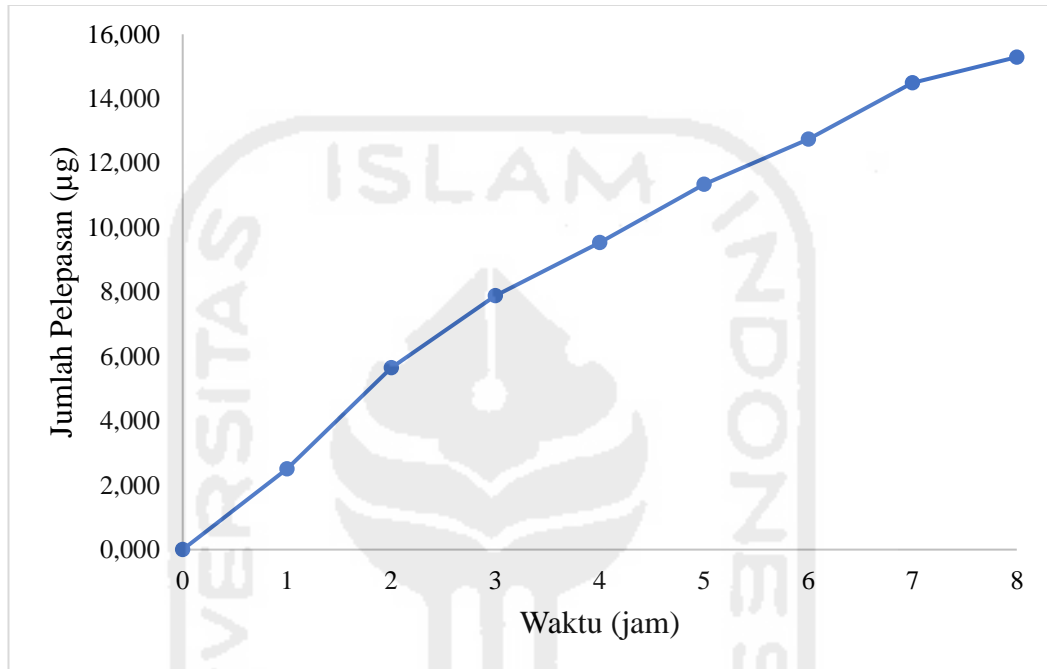
- (46). PRAKASH SEL, Manavalan R. Development, Characterisation And/Toxicity Evaluation Of Nanoparticles Of Andrographolide. Int J Pharm Pharm Sci. 2012;4:497–501.



LAMPIRAN

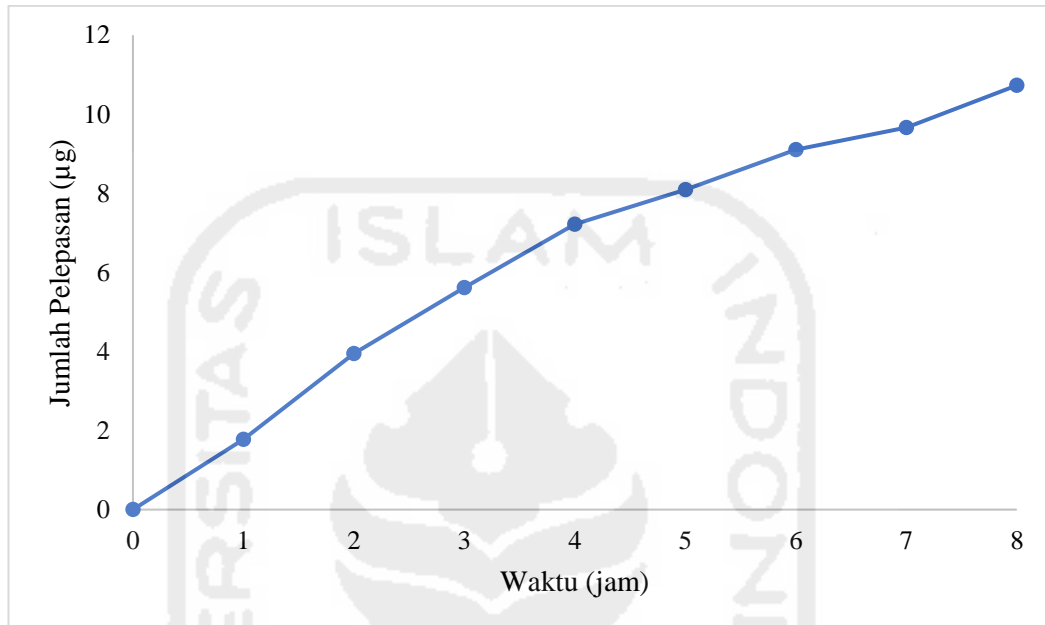
Lampiran 1. Grafik Hasil Studi Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 1%

Formula 1 Replikasi 3 dengan Konsentrasi PVA 1%



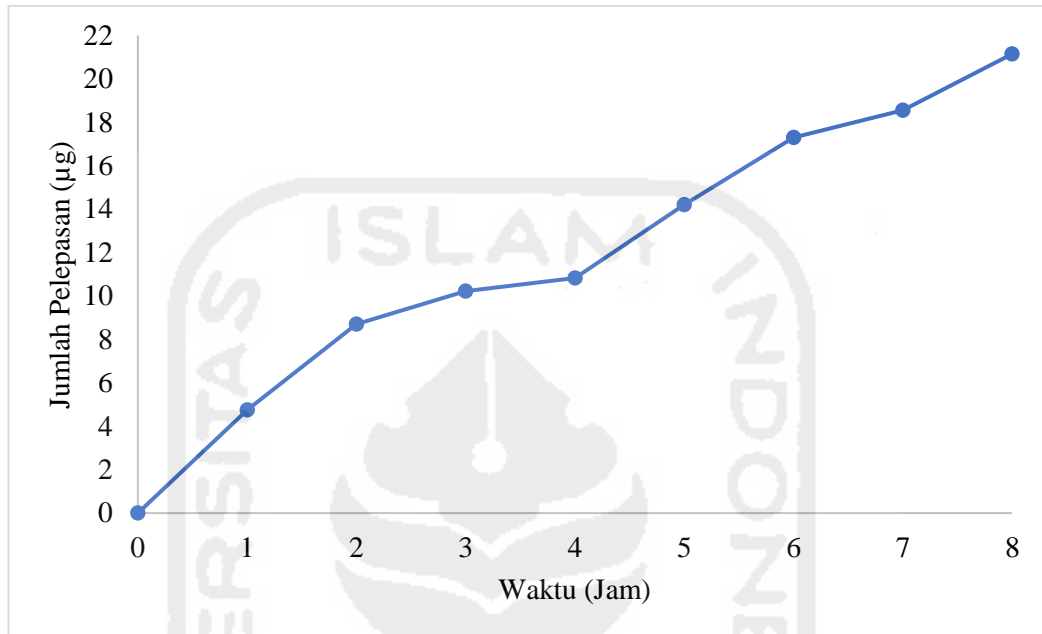
Lampiran 2. Grafik Hasil Studi Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 2,5%

Formula 2 Replikasi 2 dengan Konsentrasi PVA 2,5%



Lampiran 3. Grafik Hasil Studi Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 5%

Formula 3 Replikasi 2 dengan Konsentrasi PVA 5%



Lampiran 4. Tabel Perhitungan Hasil Uji Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 1%

Formula 1 Replikasi 3 dengan Konsentrasi PVA 1%

F1 R3	Waktu (menit)	Area (y)	Kadar terukur ($\mu\text{g/ml}$)	jumlah terukur (μg) dalam 1 ml	jumlah terukur (μg) dlm 12 ml	faktor koreksi volume	bobot terkoreksi (μg)
	0	4013	0,271	0,271	3,246	0,000	0,000
	1	13333	0,456	0,456	5,477	0,271	2,502
	2	24553	0,680	0,680	8,163	0,727	5,644
	3	31053	0,810	0,810	9,719	1,407	7,880
	4	34573	0,880	0,880	10,561	2,217	9,532
	5	38467	0,958	0,958	11,494	3,097	11,345
	6	40314	0,995	0,995	11,936	4,055	12,745
	7	43451	1,057	1,057	12,687	5,050	14,490
	8	42374	1,036	1,036	12,429	6,107	15,290

Lampiran 5. Tabel Perhitungan Hasil Uji Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 2,5%

Formula 2 Replikasi 2 dengan Konsentrasi PVA 2,5%

F2 R2	Waktu (menit)	Area (y)	Kadar terukur ($\mu\text{g/ml}$)	jumlah terukur (μg) dalam 1 ml	jumlah terukur (μg) dlm 12 ml	faktor koreksi volume	bobot terkoreksi (μg)
	0	0	0,190	0,190	2,285	0,000	0
	1	6641	0,323	0,323	3,875	0,190	1,780
	2	14348	0,477	0,477	5,720	0,513	3,948
	3	19306	0,576	0,576	6,907	0,990	5,611
	4	23604	0,661	0,661	7,936	1,566	7,216
	5	24505	0,679	0,679	8,151	2,227	8,093
	6	25902	0,707	0,707	8,486	2,906	9,106
	7	25261	0,694	0,694	8,332	3,613	9,660
	8	26827	0,726	0,726	8,707	4,308	10,729

Lampiran 6. Tabel Perhitungan Hasil Uji Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 5%

Formula 3 Replikasi 2 dengan Konsentrasi PVA 5%

F3 R2	Waktu (menit)	Area (y)	Kadar terukur ($\mu\text{g/ml}$)	jumlah terukur (μg) dalam 1 ml	jumlah terukur (μg) dlm 12 ml	faktor koreksi volume	bobot terkoreksi (μg)
	0	24865	0,686	0,686	8,238	0,000	0
	1	41874	1,026	1,026	12,309	0,686	4,758
	2	54075	1,269	1,269	15,230	1,712	8,704
	3	55084	1,289	1,289	15,471	2,981	10,215
	4	52266	1,233	1,233	14,797	4,271	10,829
	5	61184	1,411	1,411	16,931	5,504	14,198
	6	68221	1,551	1,551	18,616	6,915	17,293
	7	66988	1,527	1,527	18,321	8,466	18,549
	8	71454	1,616	1,616	19,390	9,993	21,145

Lampiran 7. Tabel Perhitungan Hasil Rata-Rata Uji Pelepasan Secara *In Vitro* Nanopolimer Andrografolida dengan Konsentrasi PVA 1%; 2,5%; dan 5%

F1	Waktu (menit)	bobot terkoreksi rata-rata (μg)	F2	bobot terkoreksi rata-rata (μg)	F3	bobot terkoreksi rata-rata (μg)
	0	0		0		0
	1	5,117		2,767		4,133
	2	7,973		5,558		5,493
	3	9,159		7,348		6,599
	4	10,355		11,275		9,073
	5	12,984		11,511		10,331
	6	16,251		14,176		12,029
	7	17,327		15,039		16,009
	8	17,558		16,843		16,045

Lampiran 8. Perhitungan Jumlah Pelepasan Nanopolimer Andrografolida dari Formula 1 Replikasi 3 (Mengandung konsentrasi PVA 1%) Pada Jam ke-8

$$\text{Luas area (y)} = 42374$$

$$y = 50130x - 9547,3$$

$$x = 1,036 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Kadar terukur} = 1,036 \mu\text{g/ml}$$

Jumlah terukur (μg) dalam 12 mL = kadar terukur \times volume kompartemen reseptor

$$\text{Jumlah terukur } (\mu\text{g}) \text{ dalam 12 mL} = 1,036 \times 12 = 12,429 \mu\text{g}$$

Rumus mencari Faktor Koreksi Volume :

(Σ jumlah terukur (μg) dalam 1 mL pada 0 menit sampai 7 jam)

$$\text{Faktor koreksi} = 6,107$$

Bobot terkoreksi = jumlah terukur (μg) dalam 12 mL + Faktor koreksi volume

$$\text{Bobot terkoreksi} = 12,429 + 6,107 = 18,536 \mu\text{g}$$

Jumlah andrografolida yang terlepas = bobot terkoreksi – bobot terkoreksi pada jam ke 0

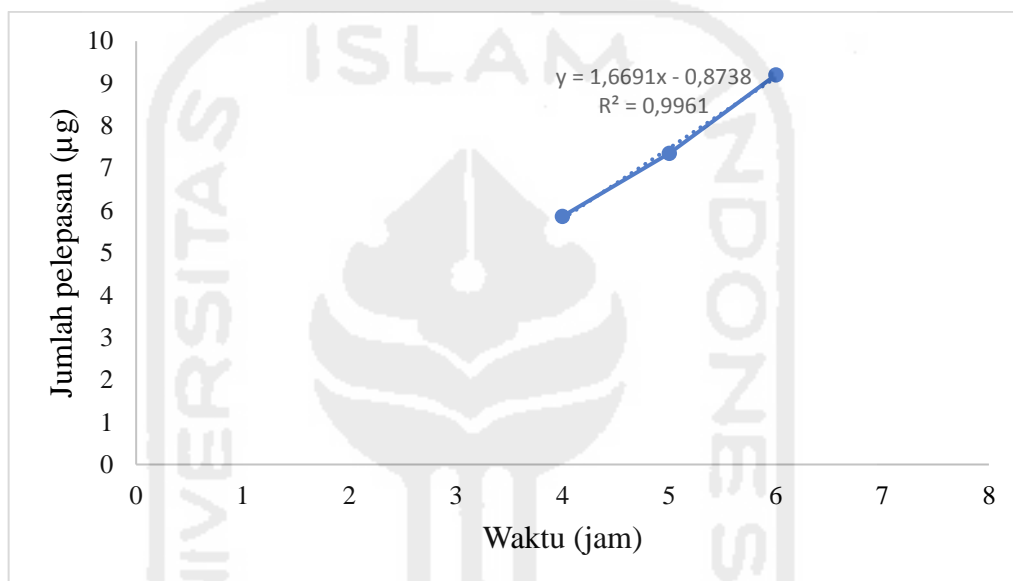
$$= 18,536 \mu\text{g} - 3,246 \mu\text{g}$$

$$= 15,290 \mu\text{g}$$

Lampiran 9. Perhitungan Nilai Fluks dan Lag Time Pelepasan Nanopolimer Andrografolida dari Formula 1 (Mengandung konsentrasi PVA 1%)

Fluks dapat dihitung dengan menarik 3 garis linier dari kurva jumlah kumulatif rata-rata zat aktif yang berpemeasi terhadap waktu sehingga didapatkan persamaan $y = a + bx$ atau kemiringan garis (b) yang menyatakan nilai fluks.

Garis linier yang diambil yaitu pada jam ke 4, 5, 6.



Jadi, nilai fluks yang diperoleh dari formula 1 dengan konsentrasi PVA 1% yaitu $1,669 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{Jam}^{-1}$

Lampiran 10. Instrumen Alat yang digunakan

Mikropipet

HPLC

*mikroskop fluorescence**Ultrathurax*

Lampiran 10. (Sambungan)

Timbangan Analitik



Magnetic Stirrer



Sel difusi *Franz*

Lampiran 11. Perhitungan buffer pH 7,4

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

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

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

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

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

Perhitungan mmol NaOH

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

- pH 7,4

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

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

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

$$\frac{10 \text{ mmol}}{g} = 0,63$$

$$g = 15,87 \text{ mmol}$$

Lampiran 11. (sambungan)

Volume NaOH

$$0,2 \text{ M} \times V = 15,87 \text{ mmol}$$

$$V = 79,35 \text{ ml}$$

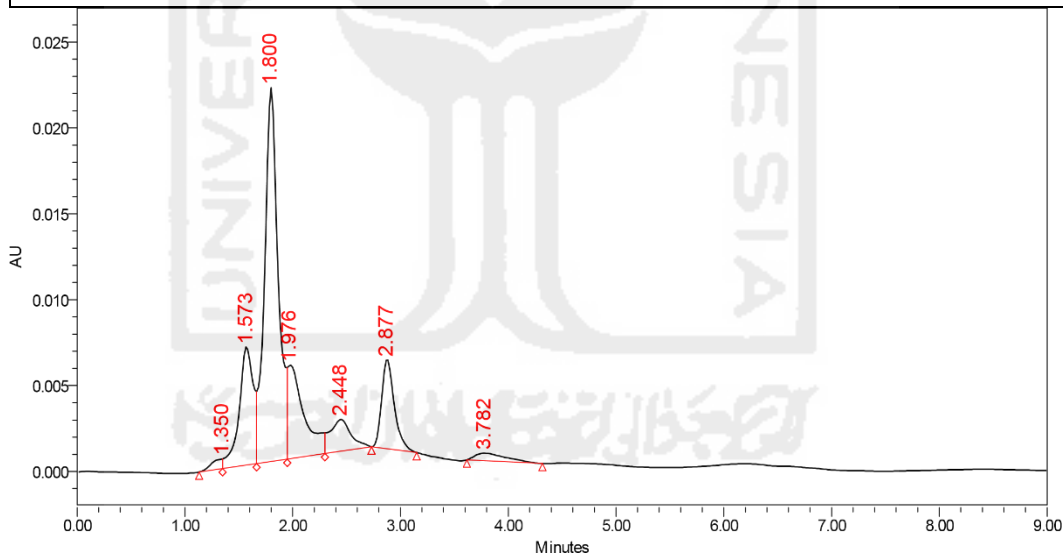


Lampiran 12. Hasil Kromatogram Pelepasan Andrografolida dalam Instrument HPLC Formula 1 Replikasi 3 Jam ke-8



Default Individual

SAMPLE INFORMATION		
Sample Name:	andro F 1% R3 480'	Acquired By: System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name andro
Vial:	105	Acq. Method Set:
Andrographolide		
Injection #:	1	Processing Method 20 50 vtov 28 34
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name: W2489
ChA		
Run Time:	9.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.: W2489
ChA 229nm		
Date Acquired:	6/17/2016 1:28:21 PM WIT	
Date Processed:	11/8/2016 2:23:37 PM WIT	



	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.350	4198	568	13.000	1.133	1.350
2	1.573	64071	6891	19.000	1.350	1.667
3	1.800	191210	21656	17.000	1.667	1.950
4	1.976	57519	5457	21.000	1.950	2.300

5	2.448	24986	1855	26.000	2.300	2.733
6	2.877	42374	5188	25.000	2.733	3.150
7	3.782	8850	439	42.000	3.617	4.317

Reported by User: System

Report Method: Default Individual Report

Report Method ID5424

Page: 1 of 1

Project Name: Analisis
Obat

Date Printed:

12/6/2016

11:42:32 AM

Asia/Jakarta

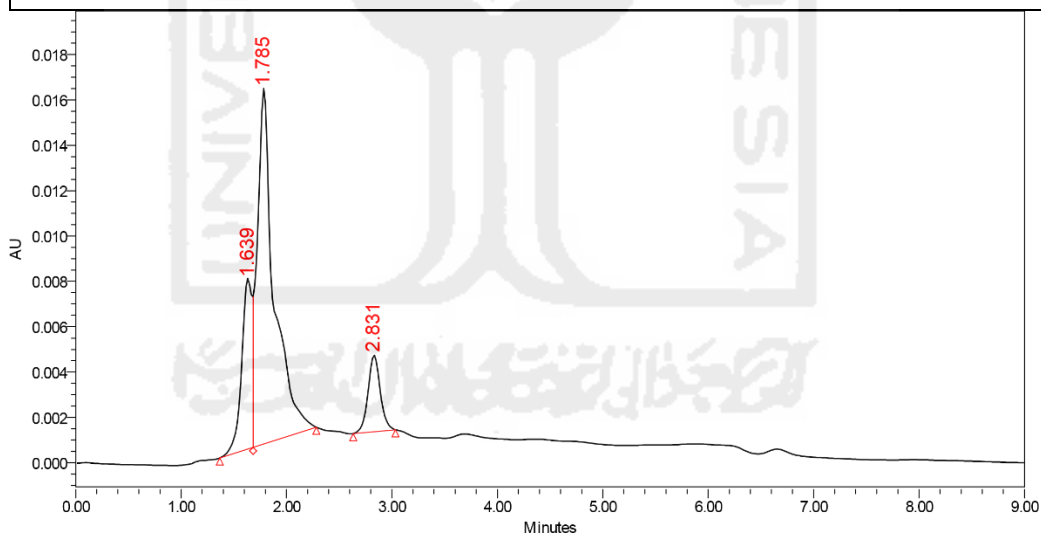


Lampiran 13. Hasil Kromatogram Pelepasan Andrografolida dalam Instrument HPLC Formula 2 Replikasi 2 Jam ke-8



Default Individual Report

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	andro F 2,5% R2 480'	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name	andro
Vial:	94	Acq. Method Set:	
Andrographolide			
Injection #:	1	Processing Method	20 50 vtov 29 4
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	W2489
ChA		Proc. Chnl. Descr.:	W2489
Run Time:	9.0 Minutes		
ChA 229nm			
Date Acquired:	6/21/2016 1:30:33 PM WIT		
Date Processed:	11/7/2016 12:00:11 PM WIT		



	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.639	51691	7507	19.000	1.367	1.683
2	1.785	175405	15619	36.000	1.683	2.283
3	2.831	26827	3367	24.000	2.633	3.033

Reported by User: System

Project Name: Analisis
Obat

Report Method: Default Individual Report

Date Printed:

Report Method ID5424

12/6/2016

Page: 1 of 1

11:55:26 AM
Asia/Jakarta

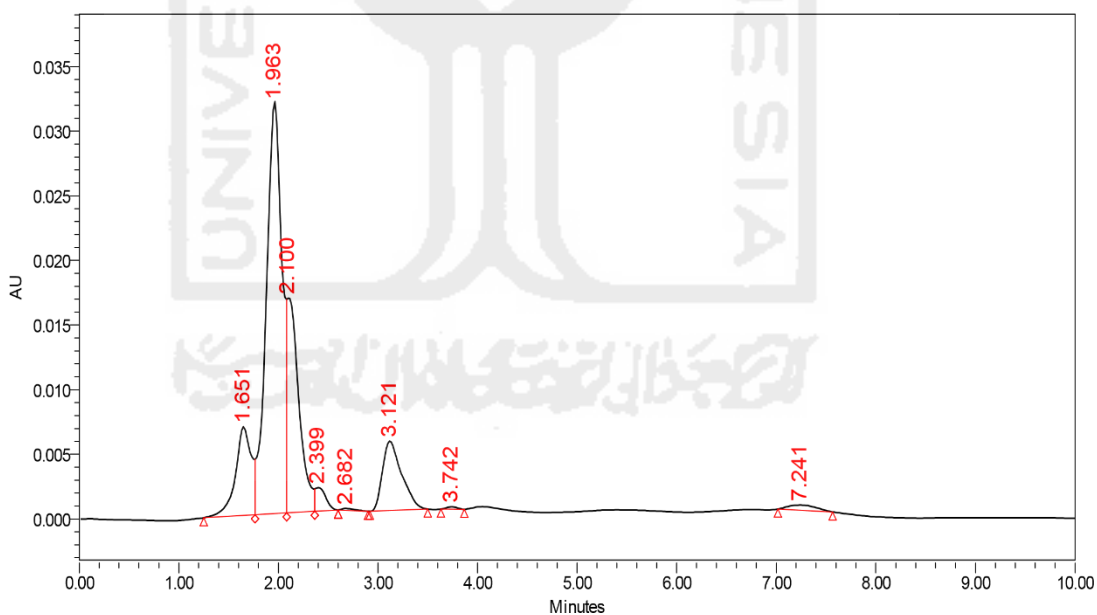


Lampiran 14. Hasil Kromatogram Pelepasan Andrografolida dalam Instrument HPLC Formula 3 Replikasi 2 Jam ke-8



Default Individual Report

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	andrografolida F 5% R2 480'	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name	andro
Vial:	46	Acq. Method Set:	
Andrographolide			
Injection #:	1	Processing Method	20 30 vtov 27 34
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489
ChA 229nm			
Date Acquired:	9/24/2016 10:51:07 AM WIT		
Date Processed:	11/7/2016 11:22:02 AM WIT		



	RT	Area	Height	Width (sec)	Start Time (min)	End Time (min)
1	1.651	76492	6841	31.000	1.250	1.767
2	1.963	348747	31866	19.000	1.767	2.083
3	2.100	139751	16619	17.000	2.083	2.367
4	2.399	13059	1814	14.000	2.367	2.600
5	2.682	1334	136	18.000	2.600	2.900
6	3.121	71454	5377	35.000	2.917	3.500
7	3.742	1289	181	14.000	3.633	3.867
8	7.241	7858	400	33.000	7.017	7.567

Reported by User: System

Report Method: Default Individual Report

Report Method ID5424

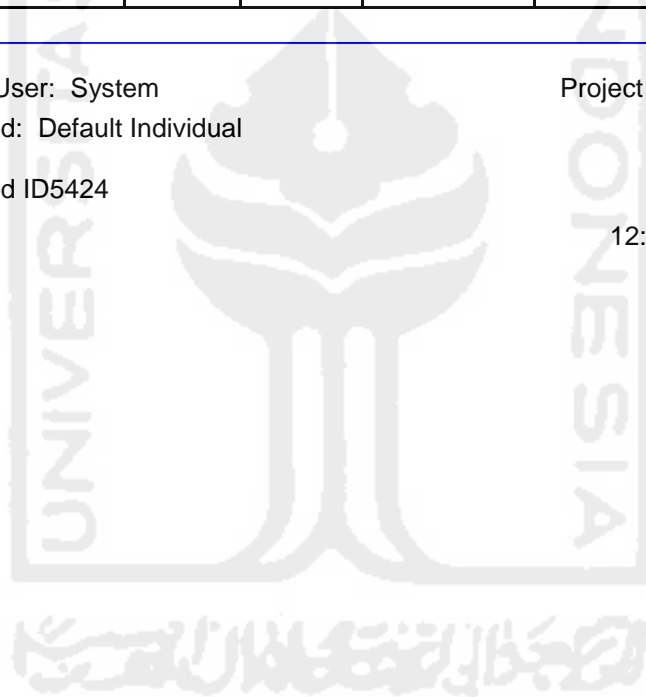
Page: 2 of 2

Project Name: Analisis Obat

Date Printed:

12/6/2016

12:07:14 PM Asia/Jakarta



Lampiran 15. Etichal Clearance untuk Studi Penetrasi menggunakan Hewan Uji Tikus



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMITE ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN DAN KESEHATAN
 Sekretariat : Jl. Kaliurang Km. 14,5 YOGYAKARTA 55584
 Telp. (0274) 898444 ext. 2060 Fax. (0274) 898444 ext. 2007; E-mail : ke.fkuii@yahoo.co.id

Nomor : 13/Ka.Kom.Et/70/KE/XI/2016

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

“Studi Pelepasan dan Penetrasi Formulasi Nanopolimer PLGA (Poly Lactide-Co-Glycolide Acid) Sebagai Pembawa Andrografolida dengan Variasi PVA (Polyvinyl Alcohol).”

Peneliti Utama : Faradilla Suci Prameswari

Nama Institusi : Program Studi Farmasi FMIPA UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 5 November 2016
 Ketua
 Chairman

 Prof. Dr. Dra. Wuryatun Lestariyana, Apt

*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan
 **Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tangan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*