

**STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS GAMAVUTON-0
SEBAGAI ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS
WISTAR JANTAN**

SKRIPSI



PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

DESEMBER 2016

**STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS GAMAVUTON-0
SEBAGAI ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS
WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

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

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

TISA HELGA HURIMAH

12613271

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
DESEMBER 2016**

SKRIPSI

**STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS GAMAVUTON-0
SEBAGAI ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS
WISTAR JANTAN**

Yang diajukan oleh:

TISA HELGA HURIMAH

12613271

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Lutfi Chabib, S.Farm., M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping



Dimas Adhi Pradana, S.Farm., M.Sc., Apt

SKRIPSI

**STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS GAMAVUTON-0
SEBAGAI ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS
WISTAR JANTAN**

Oleh:

**TISA HELGA HURIMAH
12613271**

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

Tanggal:

19 Desember 2016

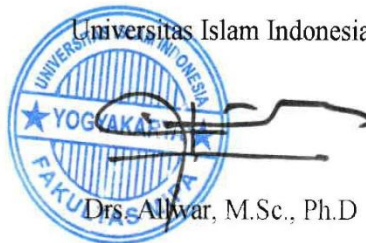
Ketua Penguji : Lutfi Chabib, S.Farm., M.Sc., Apt
Anggota Penguji : 1. Dimas Adhi Pradana, S.Farm., M.Sc., Apt
2. Dr. Ika Puspitasari, M.Si., Apt
3. Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt



Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Drs. Alhwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 13 Desember 2016

Penulis,



Tisa Helga Hurimah



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia yang melimpah sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi Bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 sebagai Anti Artritis Rematoid pada Tikus Wistar Jantan” dalam rangka memenuhi syarat untuk menyelesaikan studi di Universitas Islam Indonesia sehingga mendapatkan gelar Sarjana Farmasi. Sholawat serta salam selalu tercurah pada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat yang telah memperjuangkan agama Allah SWT.

Skripsi ini disusun. Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai kesulitan, namun penulis dapat menyelesaikan dengan baik atas doa, dukungan, bantuan dan nasehat dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kedua orang tua dan kedua kakak, atas segala dukungan, pengorbanan, dan kasih sayang yang senantiasa diberikan kepada penulis.
2. Bapak Lutfi Chabib, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, dorongan, dan saran-saran selama penelitian dan penyusunan skripsi ini berlangsung.
3. Ibu Dr. Ika Puspitasari, M.Si., Apt dan Ibu Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt selaku dosen penguji sidang skripsi yang telah banyak memberikan arahan dan saran-saran sehingga skripsi ini tersusun menjadi lebih baik.
4. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
5. Bapak Pinus Jumaryantno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt selaku ketua Program Studi Farmasi.
6. Prof. Sudibyo yang telah memberikan banyak masukan dan saran untuk penelitian ini.

FMIPA UII yang telah banyak meluangkan waktu dan memberikan bimbingan kepada penulis selama proses penelitian berlangsung.

8. Bapak Sumarna dan Mbak Cahya selaku staf Laboratorium Farmakologi Farmasi FMIPA UII dan Mas Kuswandi selaku staf Laboratorium Kimia Analisis.
9. Seluruh dosen Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan ilmu selama kuliah di Universitas Islam Indonesia.
10. Seluruh staf Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan bantuan selama proses penelitian berlangsung.
11. Mbak Praptiwi yang telah membantu dan memberikan bimbingan serta saran kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini berlangsung.
12. Zilfa Sofi Ibrani, Nadya Aqliyah Hayulani dan Viren Ramadhan selaku teman seperjuangan dalam penelitian ini, yang telah memberikan dorongan, saran, kesabaran dan kerjasama tim yang tak sangat baik sehingga seluruh rangkaian penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.
13. Gandung Winandy, Budy Wijiyanto, Qrio Susanto, Asgar, Zulmasri dan Ipnu S. Widarmo selaku teman yang banyak membantu sehingga seluruh rangkaian penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga semua kebaikan mereka dicatat sebagai amalan yang baik oleh Allah SWT. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, masyarakat pada umumnya serta bagi semua pihak yang membacanya, Amin.

Yogyakarta, 13 Desember 2016

Penulis,

Tisa Helga Hurimah

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Tinjauan Pustaka.....	4
2.1.1. Arthritis Rematoid.....	4
2.1.2. Terapi Arthritis Rematoid.....	5
2.1.3. Gamavuton-0 (GVT-0).....	8
2.1.4. <i>Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)</i>	9
2.1.5. Farmakokinetik.....	10
2.1.6. Model Farmakokinetik.....	12
2.1.7. Parameter Farmakokinetik.....	12
2.1.8. Bioavailabilitas.....	13
2.1.9. <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	14
2.1.10. <i>PK Function</i>	15

2.2. Keterangan Empiris.....	16
2.3. Kerangka Konsep Penelitian.....	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	17
3.1. Alat dan Bahan.....	17
3.1.1. Alat.....	17
3.1.2. Bahan.....	17
3.2. Cara Penelitian.....	18
3.2.1. Pengajuan <i>Ethical Clearence</i>	18
3.2.2. Kondisi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	19
3.2.3. Pembuatan SNEDDS GVT-0.....	19
3.2.4. Pembuatan Larutan Stok SNEDDS GVT-0.....	19
3.2.5. Pembuatan Fase Gerak.....	20
3.2.6. Penetapan Kadar SNEDDS GVT-0 dalam Darah.....	20
3.2.7. Uji Pendahuluan.....	20
3.2.8. Uji Bioavailabilitas SNEDDS GVT-0.....	25
3.3. Penetapan Nilai Profil Bioavailabilitas.....	26
3.4. Analisis Data.....	26
3.5. Skema Penelitian.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1. <i>Ethical Clearence</i>	28
4.2. Pembuatan SNEDDS GVT-0.....	28
4.3. Hasil dan pembahasan uji pendahuluan.....	29
4.3.1. Optimasi fase gerak.....	29
4.3.2. Penetapan panjang gelombang maksimum SNEDDS GVT-0.....	30
4.3.3. Penetapan waktu retensi SNEDDS GVT-0.....	30
4.3.4. Optimasi perbandingan plasma dalam asetonitril.....	32
4.3.5. Penetapan stabilitas SNEDDS GVT-0 dalam asetonitril.....	33
4.3.6. Penetapan kurva baku SNEDDS GVT-0 dalam darah.....	34
4.3.7. Penetapan nilai sensitivitas.....	35

4.3.8. Penetapan nilai selektivitas.....	36
4.1.9. Penetapan kriteria presisi.....	37
4.1.10. Penetapan kriteria akurasi.....	38
4.4. Penetapan dosis SNEDDS GVT-0.....	39
4.5. Penetapan waktu sampling.....	39
4.6. Hasil dan pembahasan uji bioavailabilitas.....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1. Kesimpulan.....	46
5.2. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	52

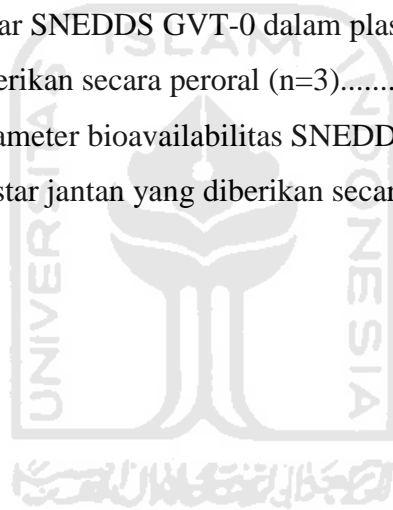


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Sendi Metacarpopalangeal dan proksimal interfalangeal yang bengkak pada penderita artritis reumatoid.....	5
Gambar 2.2	Algoritma terapi untuk artritis rematoid.....	6
Gambar 2.3	Struktur kimia gamavuton-0.....	8
Gambar 2.4	Struktur kimia kurkumin.....	8
Gambar 4.1	SNEDDS GVT-0.....	29
Gambar 4.2	Kromatogram spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang SNEDDS GVT-0.....	30
Gambar 4.3	Kromatogram blanko SNEDDS dalam plasma (<i>in vitro</i>) 6,5 µg/mL dengan asetonitril (1:3), fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v).....	31
Gambar 4.4	Kromatogram SNEDDS GVT-0 murni 25 µg/mL dalam fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v).....	31
Gambar 4.5	Kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam plasma (<i>in vitro</i>) 6,5 µg/mL dengan asetonitril (1:3), fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v).....	32
Gambar 4.6	Kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam plasma (<i>in vivo</i>) 6,5 µg/mL dengan asetonitril (1:3), fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v).....	32
Gambar 4.7	Kurva baku SNEDDS GVT-0 dalam plasma dengan asetonitril 1:3.....	34
Gambar 4.8	Grafik rata-rata kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3) per waktu sampling.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil pengujian rerata ukuran partikel, PDI \pm SD dan hasil uji transmitan (%).....	29
Tabel 4.2	Luas area endogen kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam beberapa perbandingan plasma dengan asetonitril.....	33
Tabel 4.3	Persentase degradasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma kadar 6,5 μ g/mL dengan penambahan asetonitril setelah proses penyimpanan di lemari pendingin -20 $^{\circ}$ C.....	34
Tabel 4.4	Hasil uji selektivitas SNEDDS GVT-0 dalam plasma.....	36
Tabel 4.5	Hasil uji presisi SNEDDS GVT-0 dalam plasma.....	37
Tabel 4.6	Hasil uji akurasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma.....	38
Tabel 4.7	Data kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3).....	41
Tabel 4.8	Data parameter bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3).....	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keterangan Lolos Kaji Etik.....	52
Lampiran 2	Panjang gelombang maksimum.....	53
Lampiran 3	Penetapan stabilitas SNEDDS GVT-0 dalam asetonitril.....	54
Lampiran 4	Penetapan persamaan kurva baku dan penetapan nilai sensitivitas.....	55
Lampiran 5	Perhitungan nilai selektivitas.....	57
Lampiran 6	Perhitungan penetapan kriteria presisi.....	58
Lampiran 7	Perhitungan penetapan kriteria akurasi.....	60
Lampiran 8	Perhitungan volume pemejanaan SNEDDS GV-0 pada tikus Wistar jantan.....	61
Lampiran 9	Data pengujian bioavailabilitas SNEDDS GVT-0.....	62
Lampiran 10	Luas area SNEDDS GVT-0 pada masing-masing tikus (n=3).....	63
Lampiran 11	Kadar SNEDDS GVT-0 pada masing-masing tikus (n=3).....	64
Lampiran 12	Perhitungan masing-masing uji bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 pada masing-masing tikus (n=3).....	65

Studi Bioavailabilitas SNEDDS Gamavuton-0 sebagai Anti Arthritis Rematoid Pada Tikus Wistar Jantan

Tisa Helga Hurimah

Program Studi Farmasi

INTISARI

Arthritis Rematoid (AR) adalah penyakit kronis yang menyebabkan kekakuan, pembengkakan dan keterbatasan gerak sendi. Terapi AR memerlukan jangka waktu panjang dan memiliki risiko efek samping yang lebih besar. Gamavuton-0 (GVT-0) merupakan senyawa baru analog kurkumin dengan khasiat sebagai antiinflamasi dan analgetika diharapkan menjadi alternatif pengobatan AR. Sifat kelarutan GVT-0 praktis tidak larut di dalam air, sehingga untuk meningkatkan kelarutan serta meningkatkan ketersediaan hayatinya dibuat sediaan dalam bentuk nanopartikel berupa SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*). SNEDDS merupakan campuran minyak, surfaktan dan ko-surfaktan berukuran 20-200 nm. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 dengan parameter $C_{p_{maks}}$, T_{maks} dan $AUC_{0-\infty}$. Sebanyak 3 hewan uji berupa tikus Wistar jantan diberikan SNEDDS GVT-0 secara oral. Sampel berupa plasma diambil dari vena ekor tikus pada menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180 dan 240 kemudian dianalisis dengan menggunakan HPLC. Kromatogram yang dihasilkan kemudian dihitung dengan bantuan perangkat lunak *Microsoft Excel 2007* untuk mendapatkan profil bioavailabilitas. Berdasarkan hasil penelitian ini, rata-rata kadar SNEDDS GVT-0 maksimum di dalam darah yang diberikan secara oral ($C_{p_{maks}}$) 1,89 $\mu\text{g/mL} \pm 0,28$, rata-rata waktu maksimum (T_{maks}) pada menit ke 61,67 menit $\pm 25,72$, serta rata-rata luas area di bawah kurva konsentrasi terhadap waktu ($AUC_{0-\infty}$) diperoleh 150,61 $\mu\text{g}\cdot\text{menit/mL} \pm 54,78$.

Kata kunci: Gamavuton-0 (GVT-0), SNEDDS, bioavailabilitas, arthritis rematoid

Bioavailability Studies of SNEDDS Gamavuton-0 as Anti Rheumatoid Arthritis In Male Wistar Rats

Tisa Helga Hurimah

Departement of Pharmacy

ABSTRACT

Rheumatoid Arthritis (RA) is a chronic disease that causes stiffness, swelling and limitation of joint movement. RA therapy requires a long period of time and the side effects give a worse risk. Gamavuton-0 (GVT-0) is an analog of curcumin with the new compounds as anti-inflammatory and analgesic efficacy is expected to be an alternative treatment of RA. GVT-0 solubility practically insoluble in water, so as to improve the solubility and enhance the bioavailability made preparations in the form of nanoparticles such as SNEDDS (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System). SNEDDS is a mixture of oils, surfactants and cosurfactant with size 20-200 nm. This study was conducted to determine the bioavailability profile SNEDDS GVT-0 with the parameter $C_{p_{max}}$, T_{max} and $AUC_{0-\infty}$. As many as 3 test animals in the form of male Wistar rats given SNEDDS GVT-0 orally. A sample of plasma taken from the tail vein of rats at minute 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180 and 240 was analyzed using HPLC. The chromatogram is then calculated with the help of software Microsoft Excel 2007 to obtain the bioavailability profile. Based on these results, the average maximum concentration of SNEDDS GVT-0 is given orally in the plasma ($C_{p_{max}}$) is 1,89 ug mL \pm 0,28, the average time to reach maximum concentration (T_{max}) at 61,67 minutes \pm 25,72, and the average area under the concentration vs time curve ($AUC_{0-\infty}$) is 150,61 μ g.menit / mL \pm 54,78.

Keywords: Gamavuton-0 (GVT-0), SNEDDS, bioavailability, rheumatoid arthritis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Artritis Rematoid (AR) merupakan penyakit persendian dengan angka prevalensi berkisar antara 0,5-1% di seluruh dunia⁽¹⁾. Masyarakat asli Ameika, Yakima, Pima, dan suku-suku Chippewa di Amerika Utara dilaporkan memiliki rasio prevalensi tertinggi dari berbagai studi yaitu sebesar 7%⁽²⁾. Profil kesehatan di dinas kesehatan kota Bandar Lampung sejak tahun 2007-2011 menunjukkan penyakit AR muncul menjadi salah satu dari 10 penyakit terbesar, pada tahun 2009 diurutan keempat dengan presentase sebesar 5,99%, tahun 2010 menjadi urutan ketiga sebesar 7,2% dan tahun 2011 pada urutan keempat dengan persentase sebesar 7,11%⁽³⁾.

AR adalah penyakit kronis bersifat progresif yang menyebabkan nyeri, kekakuan, pembengkakan dan keterbatasan gerak serta fungsi dari sendi. AR dapat mempengaruhi sendi apapun, sendi-sendi kecil di tangan dan kaki cenderung paling sering terlibat. Pada artritis rematoid kekakuan terburuk sering dijumpai pada pagi hari⁽⁴⁾. Tujuan umum terapi AR adalah menghilangkan nyeri dan kekakuan, mempertahankan kapasitas fungsional, dan mempercepat penyembuhan⁽⁵⁾. Terapi farmakologi yang digunakan untuk AR diantaranya Obat Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan *Disease Modifying Antirheumatic Drugs* (DMARDs) diketahui memiliki efek samping yang cukup besar, AINS dapat menyebabkan iritasi saluran cerna dan DMARDs merupakan jenis obat-obatan immunosupresan. Terapi AR merupakan terapi pengobatan jangka panjang, sehingga dapat meningkatkan risiko efek samping yang lebih berbahaya bagi pasien. Besarnya risiko efek samping pengobatan AR dan tingginya angka prevalensi AR, *Curcumin Research Center* (CRC) Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM) berhasil mensintesis senyawa analog kurkumin yaitu Gamavuton-0 (GVT-0).

Kurkumin berkhasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi. GVT-0 memiliki keunggulan berupa potensi dan stabilitas fisika kimia yang lebih baik daripada kurkumin akibat penghilangan gugus metilen aktif dari kerangka dasar

kurkumin⁽⁶⁾. Pada penelitian sebelumnya, GVT-0 dilaporkan memiliki berbagai efek farmakologis, antara lain adalah antiinflamasi dan analgetika dengan cara menghambat aktivitas enzim COX-1 dan COX-2⁽⁷⁾. Namun GVT-0 masih memiliki kekurangan pada sifat kelarutannya yang praktis tidak larut di dalam air⁽⁸⁾. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan serta meningkatkan ketersediaan hayati GVT-0 adalah dengan membuat sediaan GVT-0 dalam bentuk nanopartikel berupa sediaan *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems* (SNEDDS). SNEDDS merupakan campuran isotropik minyak, surfaktan dan ko-surfaktan yang dengan spontan membentuk nanoemulsi (biasanya berukuran 20-200 nm) pada pencampuran dengan air⁽⁹⁾. GVT-0 yang dibuat dalam bentuk SNEDDS diharapkan dapat meningkatkan kelarutan sehingga dapat meningkatkan ketersediaan hayati. Penelitian lain terkait obat dengan ukuran nanopartikel telah banyak disebutkan dapat meningkatkan ketersediaan hayati obat dalam sirkulasi sistemik⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾. Peningkatan penghantaran obat dengan ukuran nanopartikel dapat terjadi diberbagai rute pemberian seperti oral, intravena, pulmonar maupun transdermal oral, intravena, pulmonar, dan transdermal⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾.

Penelitian terkait uji aktivitas farmakologi GVT-0 telah dilakukan diantaranya penelitian yang menyatakan GVT-0 memiliki efek anti artritis yang dimanifestasikan dengan penghambatan inflamasi dan penurunan indeks artritis, penghambatan destruksi kartilago dan penekanan kadar sitokin jaringan yaitu TNF- α dan IL-1 β pada hewan uji model artritis rematoid⁽¹⁷⁾. Namun SNEDDS GVT-0 belum dilakukan uji bioavailabilitas, hal ini mendasari pentingnya penelitian dan pengembangan GVT-0 guna mengetahui profil bioavailabilitasnya yakni $C_{p_{maks}}$, T_{maks} dan $AUC_{0-\infty}$ yang menggambarkan kadar SNEDDS GVT-0 di dalam darah. $C_{p_{maks}}$ atau konsentrasi plasma puncak menunjukkan konsentrasi obat maksimum dalam sirkulasi sistemik setelah pemberian obat. T_{maks} atau waktu puncak menunjukkan waktu yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi obat maksimum di dalam sistemik setelah pemberian obat dan $AUC_{0-\infty}$ (*Area Under Curve*) adalah luas area di bawah kurva konsentrasi terhadap waktu atau dengan kata lain menunjukkan sejumlah obat aktif (obat bebas) yang berada dalam

sirkulasi sistemik. $AUC_{0-\infty}$ juga menggambarkan tingkat ketersediaan hayati obat dalam tubuh⁽¹⁸⁾.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan, rumusan masalah penelitian ini adalah:

Bagaimana profil bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 sebagai anti artritis rematoid pada tikus Wistar jantan?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

Mengetahui profil bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 sebagai anti artritis rematoid pada tikus Wistar jantan.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat memberikan informasi tentang nilai bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 sehingga dapat menjadi pertimbangan sebagai obat baru untuk artritis rematoid.
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi bagi tenaga kesehatan terkait khasiat SNEDDS GVT-0 sebagai anti artritis rematoid.
3. Sebagai saran dan pertimbangan bagi peneliti lainnya khususnya bidang industri farmasi dan klinis untuk dapat melakukan pengujian lebih lanjut.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Arthritis Rematoid

Arthritis Reumatoid (AR) atau *Rheumatoid arthritis* (RA) adalah penyakit kronis, autoimun sistemik yang bermanifestasi klinik berupa nyeri, kekakuan dan pembengkakan⁽¹⁹⁾. Sendi-sendi yang memiliki angka kejadian tinggi terkena AR meliputi pada tangan dan kaki, pergelangan tangan dan kaki, siku, bahu, serta lutut⁽²⁰⁾.

Faktor risiko dalam peningkatan terjadinya RA antara lain jenis kelamin perempuan, adanya riwayat keluarga yang menderita RA, umur yang lebih tua dan merokok. Risiko lain yang juga dapat meningkatkan kejadian RA adalah obesitas serta konsumsi kopi lebih dari tiga cangkir sehari⁽¹⁾. Beberapa etiologi yang mungkin seseorang terkena RA diantaranya genetik, faktor infeksi dengan beberapa virus dan bakteri yang dapat merubah reaktivitas atau respon sel T dan diimplikasikan menjadi agen penyebab AR, seperti virus *Epstein-Barr* serta faktor lingkungan contohnya merokok⁽¹⁾⁽²⁾.

Arthritis diawali dengan inflamasi pada sendi akibat pelepasan sitokin proinflamasi TNF- α dan interleukin-1 α dan enzim proinflamasi yang memproduksi prostaglandin (siklooksigenase-2) dan leukotrien (lipooksigenase) bersama dengan ekspresi molekul adhesi dan matriks metalloproteinase dan hiperproliferasi fibroblast synovial⁽²¹⁾. Gejala utamanya berat badan menurun, artritis, malaise, panas, lemas serta kekakuan sendi dipagi hari⁽⁴⁾⁽²²⁾.

Penyakit ini berkembang secara progresif di jaringan sinovial. Perkembangan artritis rematoid terjadi dalam 3 tahap, sebagai berikut⁽²²⁾:

1. Tahap pertama yaitu terjadi pembengkakan lapisan sinovial, menyebabkan nyeri, demam, kekakuan, kemerahan serta pembengkakan di sekeliling sendi.
2. Tahap kedua yaitu terjadi pembelahan dan pertumbuhan yang cepat sel atau pannus yang menyebabkan penebalan sinovium.

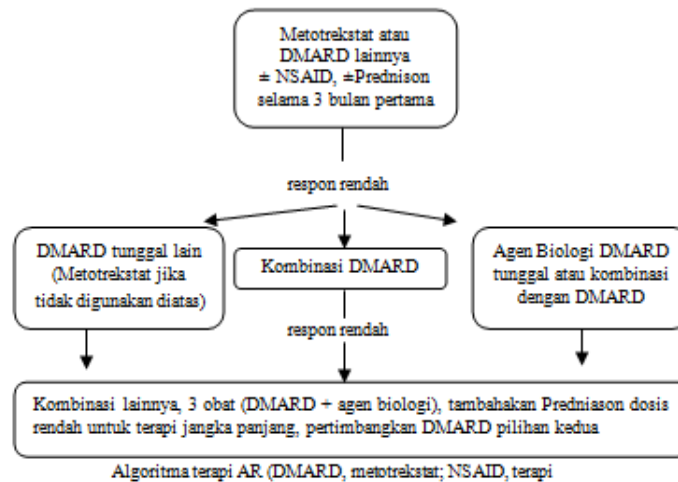
3. Tahap ketiga yaitu sel inflamasi melepaskan enzim yang dapat mendestruksi tulang dan kartilago, sehingga menyebabkan penyatuan sendi, nyeri, dan tidak dapat bergerak. Pannus merusak kartilago dan tulang.



Gambar 2.1. Sendi Metacarpopalangeal dan proksimal interfalangeal yang bengkak pada penderita artritis rematoid⁽²⁾

2.1.2. Terapi Artritis Rematoid

Tujuan utama pengobatan RA untuk mempercepat penyembuhan total meskipun sulit dicapai, mengurangi pembengkakan sendi, kekakuan dan nyeri, memelihara lingkup gerak sendi dan fungsi sendi, meningkatkan kualitas hidup, mencegah komplikasi sistemik dan memperlambat perubahan dan destruktif. Terapi lini pertama untuk penyakit RA adalah obat golongan DMARDs, NSAID, maupun prednison yang dijelaskan dalam algoritma dibawah ini⁽⁵⁾.



Gambar 2.2. Algoritma terapi untuk artritis rematoid⁽⁵⁾

Golongan obat yang digunakan sebagai terapi AR, sebagai berikut⁽²³⁾:

1. Obat-obat anti inflamasi nonsteroid (OAINS) dan analgesik

OAINS dan analgesik merupakan golongan obat-obatan penghambat sintesis prostaglandin, digunakan sebagai pengontrol rasa sakit dan kekakuan pada penderita AR⁽²³⁾. Obat golongan ini dapat mengiritasi lambung dan memiliki pengaruh sistemik pada mukosa lambung yang menimbulkan kenaikan permeabilitas membran terhadap asam lambung. Efek samping utama obat-obat ini adalah toksisitas lambung dan ginjal yang sudah cukup dikenal dyspepsia, nausea (cemas) dan yang jarang terjadi yaitu sakit kepala, tinnitus, kepala terasa melayang, dan perasaan bingung⁽²⁴⁾. Analgesik yang biasa digunakan parasetamol dan tramadol⁽²³⁾.

2. Kortikosteroid

Kortikosteroid mampu mereduksi sintesis interleukin dan mempengaruhi sintesis asam arakidonat dari fosfolipid membran⁽²⁵⁾. Penggunaan kortikosteroid penting untuk mempertimbangkan risiko dan keefektifannya serta digunakan sebagai terapi jangka pendek. Prednison biasa digunakan sebagai terapi kombinasi bersamaan dengan DMARDs⁽²³⁾.

3. *Disease Modifying Antirheumatic Drugs* (DMARDs) atau obat-obat anti reumatik pemodifikasi penyakit

Obat ini dengan kemampuan daya anti-erosifnya dapat menghentikan atau memperlambat progres kerusakan kartilago dan memiliki daya antiradang yang kuat⁽²⁶⁾. Rekomendasi penggunaan DMARDs sebaiknya digunakan dalam waktu 3 bulan sejak timbulnya gejala. DMARDs yang lazim digunakan dalam pengobatan AR, antara lain metotreksat, sulfasalazin serta leflunomid⁽²⁷⁾. DMARDs menimbulkan toksik terhadap gastrointestinal, ulserasi oral, dan abnormalitas fungsi hati⁽²⁸⁾.

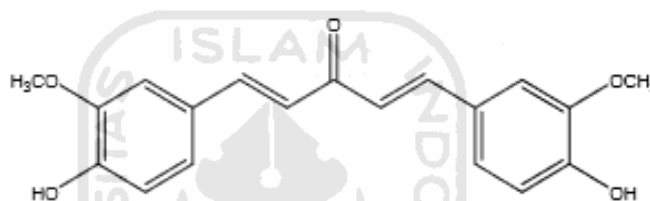
4. Obat- obat *biological agent*

TNF- α dan sitokin merupakan penyampai pesan untuk inflamasi, sehingga ketika dihambat dapat mencegah terbentuknya jalur inflamasi⁽²³⁾. Tipe *biological agent* dibedakan atas targetnya terhadap penyembuhan RA, yaitu⁽²⁹⁾:

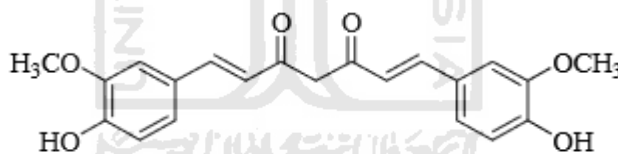
- a. Pengeblok *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), yang dapat menetralkan TNF- α seperti etanercept (Enbrel) yang akan mengikat TNF- α , infliximab (Remicade) yang merupakan antibodi tikus atau manusia terhadap TNF- α , adalimumab (Humira) yang sepenuhnya merupakan antibodi manusia terhadap TNF- α
- b. Pengeblok IL-1 seperti Anakinra yang merupakan antagonis reseptor interleukin
- c. Antibodi anti sel B (CD-20) seperti rituximab (Rituxan)
- d. Pengeblok aktivasi sel T seperti abatacept (Orencia).

2.1.3. Gamavuton-0 (GVT-0)

Gamavuton-0 (GVT-0) memiliki nama IUPAC 1,5-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on merupakan senyawa analog kurkumin yang disintesis dengan mengubah gugus diketon pada kurkumin menjadi monoketon⁽³⁰⁾. Perbedaan antara kurkumin dengan GVT-0 adalah pada struktur rantai tengah. Kurkumin memiliki rantai tengah hepta-1,6-dien-3,5-dion, sedangkan rantai tengah GVT-0 merupakan penta-1,4-dien-3-on⁽³¹⁾. GVT-0 memiliki struktur dasar diena yang simetris pada bagian tengah yang menghubungkan dua cincin aromatik⁽³⁰⁾. Kelarutan GVT-0 sama halnya dengan kurkumin yaitu praktis tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik seperti aseton, dimetil sulfoksida, etanol, etil asetat⁽⁸⁾.



Gambar 2.3. Struktur kimia gamavuton-0⁽³⁰⁾



Gambar 2.4. Struktur kimia kurkumin⁽³⁰⁾

Reaksi kondensasi Claisen-Schmidt digunakan untuk mensintesis GVT-0 melalui kondensasi karbonil yang dimodifikasi. Vanilin sebanyak 0,1 mol atau 15,4 g yang direaksikan dengan aseton sebanyak 0,1 mol menggunakan katalis HCl pekat sebanyak 4,0 ml menghasilkan GVT-0 dengan rendemen 89% pada titik lebur 98-99°C⁽³⁰⁾. Gugus metilen dan karbonil yang hilang pada struktur kurkumin membentuk struktur 1,4 pentadien-3-on pada GVT-0 menjadikan senyawa GVT-0 lebih stabil daripada kurkumin dengan tetap memiliki sifat sebagai antioksidatif. Kurkumin mengalami distabilitas pada pH diatas 6,5 dikarenakan adanya gugus metilen aktif⁽⁶⁾.

Penelitian Sardjiman (2000) menyatakan bahwa daya antiinflamasi GVT-0 pada dosis 20 dan 40 mg/kg BB terhadap aktivitas udem berturut turut sebesar $40 \pm 2,8\%$ dan $52 \pm 3,9\%$. Aktivitas GVT-0 sebagai antiinflamasi (yang diinduksi karagenin) dilaporkan dengan ED_{50} sebesar 36,6 mg/kg BB. Angka tersebut hampir sama dengan kurkumin yang memiliki ED_{50} sebesar 36 mg/kg BB⁽³⁰⁾. Dilaporkan pula pada penelitian Hardini (2008) bahwa hasil uji antiinflamasi dengan kontrol positif metotreksat, menunjukkan bahwa GVT-0 dapat menekan volume udem akibat induksi Complete Freund's Adjuvant (CFA) pada tikus Wistar betina. GVT-0 dosis 80 mg/kgBB memberikan daya antiinflamasi (dalam %) paling tinggi yaitu sebesar 50,04%, sedangkan metotreksat hanya sebesar 46,68%⁽³²⁾. Hal ini menunjukkan bahwa GVT-0 dapat menjadi kandidat obat alternatif untuk terapi artritis rematoid.

2.1.4. Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)

Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS) merupakan campuran isotropik minyak, surfaktan dan ko-surfaktan yang dengan spontan membentuk nanoemulsi pada pencampuran dengan air (biasanya berukuran 20-200 nm)⁽⁹⁾. SNEDDS secara biofarmasetik meningkatkan bioavailabilitas obat lipofilik. Terjadinya peningkatan bioavailabilitas yang disebabkan oleh lipid, antara lain⁽³³⁾:

- a. Penurunan kecepatan pengosongan obat di lambung sehingga memperlama penghantaran obat ke tempat absorpsi serta meningkatkan waktu disolusi.
- b. Menstimulasi transpor limfatik intestinal. Sediaan yang mengandung lipid lebih mudah terabsorpsi melalui sistem limfatik dalam usus serta mengurangi metabolisme lintas pertama di hati.
- c. Perubahan fungsi barrier biokimia pada saluran gastrointestinal. Lipid dan surfaktan tertentu dapat menurunkan aktivitas efluks transporter intestinal yaitu pompa efluks glikoprotein p sehingga obat mudah terabsorpsi ke dalam sel.

2.1.5. Farmakokinetika

Farmakokinetika merupakan ilmu yang mempelajari kinetika absorpsi, distribusi dan eliminasi (eksresi dan eliminasi) obat. Studi farmakokinetika meliputi pendekatan eksperimental dan teoritis. Fase farmakokinetika yang berlangsung pada pengambilan suatu obat ke dalam organisme (tubuh) yaitu⁽¹⁸⁾:

1. Absorpsi

Absorpsi obat merupakan proses senyawa obat dipindahkan dari tempat absorpsinya ke dalam sirkulasi sistemik, proses ini tergantung pada karakteristik tempat absorpsi, aliran darah di tempat absorpsi, sifat fisiko-kimia serta karakteristik sediaan⁽³⁴⁾. Beberapa faktor yang mempengaruhi percepatan atau perlambatan perpindahan obat dari tempat absorpsi ke dalam sirkulasi sistemik, diantaranya kecepatan pengosongan lambung, bentuk dan cara pemberian, pergerakan saluran cerna serta sifat fisika kimia obat⁽¹⁸⁾.

Sebagian besar model farmakokinetika menganggap absorpsi mengikuti orde kesatu, kecuali apabila anggapan absorpsi orde nol memperbaiki model secara bermakna atau telah teruji dengan percobaan. Parameter farmakokinetika yang menggambarkan laju absorpsi adalah K_a , $C_{p_{maks}}$ dan T_{maks} . Sedangkan parameter yang menggambarkan besarnya obat yang mencapai sirkulasi sistemik adalah AUC obat dalam plasma. Waktu yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi maksimum tidak tergantung pada dosis, namun tergantung pada K_a dan K_e ⁽¹⁸⁾.

2. Distribusi

Distribusi obat merupakan fase farmakokinetika setelah fase absorpsi obat mencapai sirkulasi sistemik. Obat didistribusikan ke berbagai bagian tubuh melalui aliran darah. Beberapa faktor yang mempengaruhi distribusi obat, diantaranya karakteristik jaringan (aliran darah, koefisien partisi, kelarutannya dalam lemak), dalam jaringan yang perfusinya baik, kadar obat naik dengan cepat dan mencapai keseimbangan antara darah dan letaknya, status penyakit yang dapat mempengaruhi fisiologi dan ikatan obat-protein⁽³⁴⁾

3. Eliminasi

Proses eliminasi obat dari tubuh terjadi di dalam ginjal, paru, hati, dan organ lainnya. Lokasi utama eliminasi obat adalah kedua ginjal dan hati. Di dalam hati, eliminasi obat terjadi melalui biotransformasi obat induk pada satu metabolit atau lebih, atau ekskresi obat yang tidak berubah ke dalam empedu, atau kedua-duanya⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾.

Ekskresi obat merupakan eliminasi terakhir obat atau metabolit dari sirkulasi sistemik yang dapat terjadi melalui ginjal bersama urine, melalui empedu ke dalam usus bersama tinja, melalui kulit dan air susu ibu⁽³⁴⁾. Berkurangnya kadar obat dalam plasma dan lamanya efek tergantung pada kecepatan metabolisme dan ekskresi. Kecepatan eliminasi obat yang dinyatakan dalam plasma *half-life* eliminasi (waktu paruh ($t_{1/2}$)) yaitu waktu yang dibutuhkan untuk mengubah jumlah obat di dalam tubuh menjadi setengahnya selama proses eliminasi.

Orde reaksi menunjukkan konsentrasi obat atau pereaksi mempengaruhi laju suatu reaksi kimia. Orde reaksi ditentukan oleh kemungkinan suatu unit yang terjadi pada populasi tertentu. Dalam farmakokinetika hanya orde reaksi 0 dan orde reaksi 1 lebih sering digunakan. Laju reaksi ditentukan melalui percobaan dengan mengukur obat A dalam jarak waktu yang ditetapkan⁽¹⁸⁾.

2.1.6. Model Farmakokinetik

Penyederhanaan model farmakokinetik dibuat untuk menggambarkan suatu sistem biologis kompleks berkaitan dengan pergerakan obat dalam tubuh. Model-model matematika dapat direncanakan untuk menstimulasi proses laju absorpsi, distribusi dan eliminasi obat untuk menggambarkan dan meramalkan konsentrasi. Model farmakokinetika bertujuan untuk⁽¹⁸⁾:

1. Memprediksi kadar obat dalam plasma, jaringan dan urin dengan berbagai pengaturan dosis.
2. Menghubungkan konsentrasi obat dengan aktivitas farmakologik atau toksikologi.
3. Menghitung pengaturan dosis optimum untuk setiap individual

4. Memperkirakan kemungkinan akumulasi obat dan/ata metabolitnya.

Model kompartemen digunakan dalam menggambarkan distribusi obat pada hewan, karena cuplikan jaringan tersedia dengan mudah untuk penetapan kadar. Kompartemen bukan merupakan daerah fisiologis atau anatomis nyata namun dianggap sebagai suatu jaringan atau kelompok jaringan yang memiliki aliran arah dan afinitas obat yang sama. Model Mammillary merupakan model kompartemen yang paling umum digunakan dalam farmakokinetika, terdiri atas satu atau lebih kompartemen perifer yang dihubungkan ke suatu kompartemen sentral⁽¹⁸⁾.

Kompartemen satu mewakili plasma atau kompartemen sentral sedangkan kompartemen dua mewakili kompartemen jaringan⁽¹⁸⁾. Kompartemen sentral meliputi darah, cairan ekstraseluler, dan jaringan-jaringan dengan perfusi tinggi seperti paru-paru, hati dan ginjal. Kompartemen perifer terdiri dari organ dan jaringan tubuh yang sifat perfusinya rendah misalnya otot, kulit, dan jaringan lemak sehingga obat lambat masuk kedalamnya⁽³⁶⁾.

Model kompartemen satu terbuka menerangkan bahwa berbagai perubahan sebanding dengan kadar obat dalam jaringan⁽¹⁸⁾. Model kompartemen dua terbuka, menerangkan bahwa obat terdistribusi ke dalam dua kompartemen, yaitu kompartemen sentral dan kompartemen perifer. Perbedaannya dengan model kompartemen satu terdapat pada proses distribusi karena adanya kompartemen perifer; eliminasi tetap dari kompartemen sentral⁽³⁶⁾.

Model lain yang digunakan untuk mengatasi permasalahan perbedaan yang signifikan terkait disposisi obat antar individu, meskipun telah diberikan dosis dan jalur pemberian yang sama, adalah model non kompartemen. Model kompartemen menganggap tubuh hanya memiliki satu atau dua ruang, sehingga menyebabkan model matematikanya tidak relevan jika dikaitkan dengan fenomena faal⁽³⁷⁾.

2.1.7. Parameter Farmakokinetik

Parameter farmakokinetika berfungsi untuk memperoleh gambaran yang dapat dipergunakan dalam mengkaji kinetika absorpsi, distribusi dan eliminasi obat di dalam tubuh⁽³⁸⁾. Parameter farmakokinetika terbagi menjadi 3 yaitu parameter primer, parameter sekunder dan parameter turunan. Parameter primer

merupakan parameter farmakokinetik yang harganya dipengaruhi oleh perubahan salah satu atau lebih variabel fisiologi terkait, yang termasuk parameter primer adalah K_a , F_a , V_d , CL_t dan CL_r ⁽³⁸⁾. Parameter sekunder merupakan parameter farmakokinetik yang harganya tergantung pada harga parameter farmakokinetik primer, yang termasuk parameter sekunder yaitu $t_{1/2\text{ el}}$, K_e dan F_e . Sedangkan parameter turunan merupakan parameter farmakokinetik yang harganya semata-mata tidak tergantung dari harga parameter farmakokinetika primer tetapi tergantung dari dosis atau kecepatan pemberian obat terkait, yang termasuk parameter farmakokinetik turunan yaitu $AUC_{0-\infty}$, $AUMC$, $C_{p\text{ maks}}$, dan MRT ⁽¹⁸⁾⁽³⁸⁾.

$AUC_{0-\infty}$ (*Area Under the Curve*) atau luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu menggambarkan besarnya bioavailabilitas suatu obat oral atau obat oral tersebut dibandingkan dengan $AUC_{0-\infty}$ nya pada pemberian *iv*⁽³⁹⁾. Waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$) adalah waktu yang diperlukan untuk turunnya kadar obat dalam plasma atau serum pada fase eliminasi (setelah fase absorpsi dan distribusi) menjadi separuhnya. Obat-obat dengan kinetika orde satu, $t_{1/2}$ ini merupakan bilangan konstan, tidak tergantung dari besarnya dosis, interval pemberian, kadar plasma maupun cara pemberian⁽³⁹⁾. Parameter yang berhubungan dengan proses absorpsi yaitu konstanta obat area dibawah kurva, proses distribusi yaitu volume distribusi. Sedangkan proses eliminasi meliputi klirens, konstanta obat tereliminasi dan waktu paruh.

2.1.8. Bioavailabilitas

Bioavailabilitas atau ketersediaan hayati menggambarkan fraksi dari dosis obat yang mencapai sirkulasi sistemik. Gambaran tersebut diartikan bahwa obat yang diberikan melalui rute intravena (*iv*) bioavailabilitasnya 100%, namun jika diberikan melalui rute lain, seperti oral, bioavailabilitasnya akan berkurang karena absorpsi yang tidak sempurna dan melewati metabolisme lintas pertama. Bioavailabilitas merupakan studi yang dilakukan baik terhadap bahan obat aktif yang telah disetujui maupun terhadap obat dengan efek terapeutik yang belum disetujui⁽¹⁸⁾.

Bioavailabilitas yang membandingkan suatu sediaan yang diberikan secara ekstrasvaskular dengan pemberian intravena disebut bioavailabilitas absolut,

sedangkan bioavailabilitas yang membandingkan ketersediaan dalam sistemik suatu produk obat terhadap suatu standar yang diketahui merupakan bioavailabilitas relatif. Ketersediaan obat di dalam sirkulasi sistemik dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya sifat fisikokimia obat, bentuk sediaan obat, waktu pengosongan lambung, pergerakan usus serta cara pemberian⁽¹⁸⁾.

Parameter yang digunakan untuk mengetahui bioavailabilitas suatu obat yaitu $C_{p_{maks}}$, T_{maks} , serta $AUC_{0-\infty}$. $C_{p_{maks}}$ atau konsentrasi obat puncak menunjukkan konsentrasi obat maksimum di dalam sirkulasi sistemik setelah pemberian oral. Adanya hubungan antara efek farmakologi suatu obat dan konsentrasi obat dalam sirkulasi terdapat pada beberapa obat. T_{maks} adalah waktu yang diperlukan obat untuk mencapai konsentrasi maksimum setelah pemberian. Absorpsi obat masih terus berjalan meski T_{maks} tercapai, namun dengan laju yang lebih lambat. $AUC_{0-\infty}$ merupakan luas area dibawah kurva yang menggambarkan naik turunnya kadar terhadap waktu. $AUC_{0-\infty}$ digunakan sebagai ukuran bioavailabilitas obat serta dapat digunakan untuk membandingkan masing-masing kadar obat⁽⁴⁰⁾.

2.1.9. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau biasa juga disebut HPLC (High Performance Liquid Chromatography) merupakan teknik pemisahan untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel. Kebanyakan digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-amino, protein-protein dalam cairan fisiologi, menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat serta produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi. KCKT adalah metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif⁽⁴¹⁾.

Prinsip kerja KCKT adalah teknik pemisahan dimana solut atau zat terlarut terpisah karena adanya perbedaan kecepatan elusi, solut-solut tersebut melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut tersebut diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam. Instrumen KCKT terdiri atas: wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukkan sampel, kolom,

detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung, dan suatu komputer atau ntregator atau perekam. Kromatografi akan menghasilkan suatu informasi yang disebut kromatogram⁽⁴¹⁾.

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas berkumpul akan mengacaukan analisis. Fase gerak terdiri dari fase normal (*normal phase*) dan fase terbalik (*reverse phase*). Detektor KCKT haruslah mempunyai respon terhadap solut yang cepat, mempunyai sensitifitas yang tinggi, stabil dalam pengoperasian. Detektor spektrofotometri UV-vis didasarkan adanya penyerapan radiasi ultraviolet (UV) dan sinar tampak (vis) pada kisaran panjang gelombang 190-800 nm oleh spesies solut yang mempunyai struktur atau gugus-gugus kromoforik⁽⁴¹⁾.

2.1.10. PK *function*

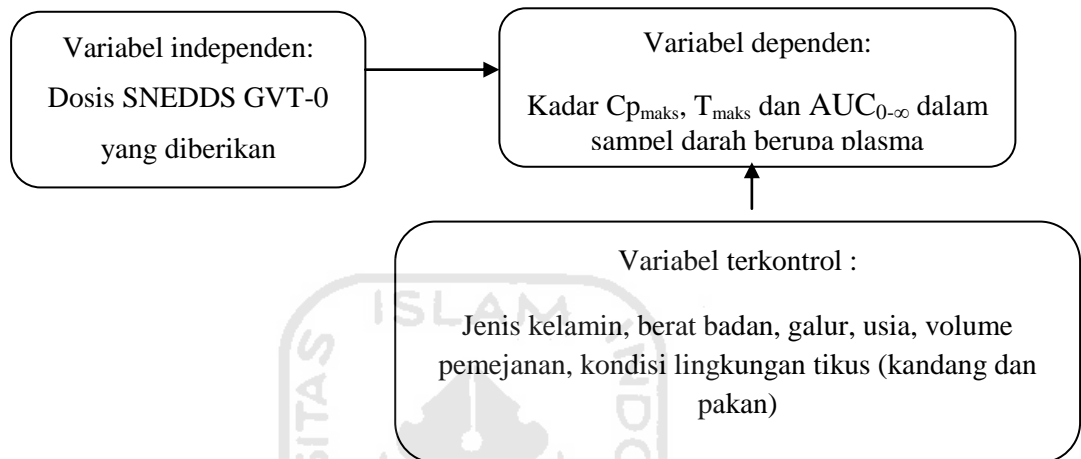
Analisis konsentrasi obat di dalam tubuh merupakan salah satu inti dari farmakokinetik. Penyederhanan anggapan model farmakokinetik digunakan untuk menggambarkan sistem biologis yang kompleks terhadap pergerakan obat di dalam tubuh. Suatu model menggunakan istilah matematika untuk menggambarkan hubungan kuantitatif secara ringkas. Model-model matematika digunakan untuk mensimulasi proses laju absorpsi, distribusi, dan eliminasi obat untuk meramalkan dan menggambarkan konsentrasi obat dalam tubuh sebagai fungsi waktu⁽¹⁸⁾. *Microsoft Excel* telah digunakan secara luas untuk analisis pengumpulan, perhitungan dan analisis data.

Pengembangan terhadap analisis data farmakokinetik dengan *Excel* pun telah banyak dilakukan, seperti *software* WinNonlin, Kinetica, dan SAAM namun *software-software* tersebut sangat mahal, sehingga tidak mudah untuk didapatkan dan beberapa diantaranya memiliki keterbatasan untuk *function* model non-kompartemen⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾. PK *function* merupakan *software* farmakokinetik yang dapat diunduh dan ditambahkan pada *Microsoft Excel* dengan cara *Add-Ins* dimenu *Microsoft Excel*. PK *function* dapat digunakan untuk setiap *worksheet* di *Microsoft Excel* serta dapat menghitung parameter untuk model non kompartemen yang dikembangkan agar dapat digunakan untuk model non kompartemen⁽⁴⁴⁾.

2.2. Keterangan Empiris

Diperoleh nilai profil bioavailabilitas dengan parameter absorpsi $C_{p_{maks}}$, T_{maks} serta $AUC_{0-\infty}$ SNEDDS GVT-0 pada tikus Wistar jantan.

2.3. Kerangka Konsep Penelitian



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat KCKT merk Shimadzu LC-2030 dengan detektor UV-Vis 200-800nm, kolom Phenomenex® Bondclone 10 μ C18 300x3,90mm, seperangkat alat spektrofotometer Shimadzu UV-Vis 1800, alat sentrifugasi, alat *vortex*, alat ultrasonifikasi, neraca analitik, *stopwatch*, timbangan hewan uji, mikropipet, spuit injeksi 1-5 mL, jarum per oral, serta alat-alat gelas lain yang biasa digunakan di laboratorium.

3.1.2. Bahan

a. Bahan uji

Bahan uji yang digunakan GVT-0 yang diperoleh dari hasil sintesis CRC (*Curcumin Research Centre*) Fakultas Farmasi UGM⁽⁴⁵⁾ yang dibuat menjadi sediaan SNEDDS GVT-0, saringan Millipore 0,45 μ m, asetonitril, heparin, aquabides, etil asetat, alkohol 70%, tabung *ependorf*, pipa kapiler, *yellow* dan *blue* tip.

b. Subyek uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa tikus Wistar jantan sebanyak 5 ekor yang diberi perlakuan per oral. Kriteria tikus Wistar jantan yang digunakan sebagai berikut:

a. Kriteria inklusi:

1. Sehat, tidak ada abnormalitas yang tampak dan bergerak aktif,
2. Berat badan (BB) 200-300 gram, serta
3. Umur 2-3 bulan

b. Kriteria eksklusi:

Hewan uji mengalami penurunan berat badan yang signifikan, sakit serta mati dalam masa penelitian.

c. Kriteria tikus sehat:

Tikus sehat memiliki ciri-ciri tidak terdapat luka atau cacat tubuh, mata bersinar, bulu tidak berdiri dan tingkah laku normal dengan gerakan-gerakan tikus seperti makan, minum.

d. Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan bertujuan untuk mengkondisikan hewan dengan suasana laboratorium dan untuk menghilangkan stres akibat transportasi⁽⁴⁶⁾. Semua hewan uji diaklimatisasi selama 10 hari dalam kandang hewan penelitian Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia selama seminggu pada kondisi standar laboratorium dengan temperatur $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, diberi makan pelet dan minum *ad libitum*, siklus terang gelap 12/12 jam serta penggantian jerami.

e. Cara pemusnahan

Hewan uji dimusnahkan dengan cara memberikan anastesi over dosis atau inhalasi menggunakan kloroform, nitorgen, eter dan sebagainya dalam wadah tertutup rapat kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik, dibungkus kembali dengan plastik dan dapat langsung diabukan.

3.2. Cara Penelitian

3.2.1. Pengajuan *Ethical Clearence*

Ethical Clearence penelitian ini diajukan pada Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan cara menyerahkan surat permohonan dan proposal penelitian. *Ethical Clearence* (kelayakan etik) merupakan suatu keterangan tertulis yang diperoleh dari komisi etik penelitian, ditujukan untuk penelitian yang melibatkan makhluk hidup (manusia, hewan dan tumbuhan), pernyataan berisi tentang pernyataan bahwa penelitian yang dirancang layak untuk dilakukan setelah memenuhi persyaratan tertentu⁽⁴⁷⁾.

3.2.2. Kondisi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) yang digunakan adalah seperangkat alat HPLC Shimadzu LC-2030 dengan menggunakan metode *reserved phase*, kolom Phenomenex[®] Bondclone 10 μ C₁₈ 300x3,90mm, fase gerak campuran asetonitril: aquabides: etil asetat dengan perbandingan (69%:30% v/v) dan etil asetat (1% b/v). Laju alir 1,5 mL/menit dan elusi diamati dengan detektor UV-vis pada panjang gelombang 369 nm. Volume injeksi adalah 20 μ l.

3.2.3. Pembuatan SNEDDS GVT-0

Pembuatan sediaan SNEDDS GVT-0 berdasarkan formula optimasi dari penelitian Bagiana (2014). Formulasi dibuat dengan beberapa pembawa yaitu minyak myritol, ko-surfaktan propilenglikol dan kombinasi surfaktan Tween 20:Cremophor (3:1). Sebanyak 222,28 mg GVT-0 dilarutkan dalam 5 mL pembawa⁽⁴⁸⁾. Pencampuran GVT-0 dengan pembawa dilakukan dengan ultrasonifikasi. SNEDDS GVT-0 kemudian diuji ukuran partikel (nm), harga *Polydispersity Index* (PDI) dan persentase transmattan (%) dengan pengenceran 250 kali dalam aquabides menggunakan instrumen yang tersedia di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

3.2.4. Pembuatan larutan stok SNEDDS GVT-0

Pembuatan larutan stok SNEDDS GVT-0 digunakan untuk optimasi metode analisis. Kadar sediaan SNEDDS GVT-0 sebanyak 222,28mg/5mL adalah 40.000 μ g/mL. Kemudian dibuat larutan stok dengan pengenceran sebanyak 500 kali sehingga diperoleh kadar 80 μ g/mL. Larutan stok SNEDDS GVT-0 dengan kadar 80 μ g/mL kemudian diencerkan kembali dalam labu 5 mL menjadi 25 μ g/mL. Kemudian dari kadar 25 μ g/mL dipipet dan diencerkan kembali sehingga kadar akhir diperoleh 6,5 μ g/mL. Pengenceran semua larutan stok di ad dengan aquabides hingga tanda batas.

3.2.5. Pembuatan fase gerak

Fase gerak untuk analisis SNEDDS GVT-0 menggunakan HPLC dibuat dengan campuran asetonitril (69% v/v), aquabides (30% v/v) dan etil asetat(1%b/v)⁽⁴⁹⁾. Fase gerak berupa asetonitril : aquabides : etil asetat dengan perbandingan 69%:30% v/v dan etil asetat 1% (b/v) sebelum digunakan terlebih dahulu disaring melalui saringan Millipore 0,45 µm dan dihilangkan gas dengan menggunakan ultrasonifikasi.

3.2.6. Penetapan kadar SNEDDS GVT-0 dalam darah

Penetapan kadar SNEDDS GVT-0 dalam darah dengan HPLC mengikuti penelitian oleh K. Hao, dkk (2006) penetapan kurkumin dalam plasma anjing dan metode penelitian kurkumin dalam plasma tikus dengan HPLC-MS oleh Anchang Liu, dkk (2005) dengan beberapa modifikasi dari peneliti⁽⁵⁰⁾. Darah sebanyak 200 µl dari vena lateralis ekor ditampung di *eppendrorf* yang telah ditetesi heparin kemudian dihomogenkan. Darah kemudian divortex dan disentrifugasi selama 15 menit. Beningan diambil sebanyak 100 µL kemudian ditambahkan asetonitril dengan perbandingan (1:3) dan disentrifugasi kembali selama 15 menit. Beningan diambil untuk dimasukkan ke vial dan dianalisis dengan HPLC sebanyak 20 µL secara autoinjeksi. Fase gerak berupa campuran asetonitril (69% v/v), aquabides (30% v/v) dan etil asetat(1%b/v) dengan laju alir 1,5 mL/menit dan panjang gelombang 369 nm.

3.2.7. Uji pendahuluan

Uji pendahuluan SNEDDS GVT-0 mengikuti metode penelitian sebelumnya oleh K. Hao, dkk (2006) penetapan kurkumin dalam plasma anjing, metode penelitian kurkumin dalam plasma tikus dengan HPLC-MS oleh Anchang Liu, dkk (2005) dan metode validasi kurkumin dalam darah dan jaringan tikus dengan HPLC (2010)⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾.

1. Optimasi metode analisis

a. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum SNEDDS GVT-0

SNEDDS GVT-0 dilarutkan dalam fase gerak campuran asetonitril (69% v/v), aquabides (30% v/v) dan etil asetat(1%b/v) dengan kadar 25µg/mL kemudian dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang pada range 200-400 nm.

b. Penetapan waktu retensi SNEDDS GVT-0

SNEDDS GVT-0 dilarutkan dalam pelarut asetonitril dengan konsentrasi 25 µg/mL. Hasil larutan dimasukkan dalam vial injektor, diambil secara autoinjeksi sebanyak 20 µL ke dalam HPLC dengan menggunakan kolom C₁₈, fase gerak berupa campuran asetonitril (69% v/v), aquabides (30% v/v) dan etil asetat(1%b/v) pada laju alir 1,5 mL/menit dengan panjang gelombang 369 nm. Kemudian ditetapkan waktu retensi dari SNEDDS GVT-0.

c. Optimasi perbandingan plasma dalam asetonitril

Kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma 25 µg/mL ditambahkan asetonitril dengan tiga macam perbandingan plasma dan asetonitril yaitu (1:1), (1:2) dan (1:3). Masing-masing perbandingan tersebut disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Beningan diambil kemudian dimasukkan ke vial dan dianalisis dengan HPLC sebanyak 20 µL secara autoinjeksi. Hasil yang diperoleh dibandingkan dan dipilih yang terbaik untuk digunakan pada proses selanjutnya.

d. Penetapan stabilitas SNEDDS GVT-0 dalam asetonitril

Larutan SNEDDS GVT-0 6,5 µg/mL dalam plasma dibuat sebanyak 200 µL dan ditambahkan 600 µL asetonitril. Kemudian divortex dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Beningan diambil dan disimpan dalam suhu -20°C selama 24 jam. Kadar SNEDDS GVT-0 ditetapkan pada jam ke-0 dan 24 dengan HPLC sebanyak 20 µL secara autoinjeksi. Hasil yang diperoleh dinyatakan

sebagai persentase degradasi SNEDDS GVT-0 selama penyimpanan dalam asetonitril.

e. Penetapan kurva baku SNEDDS GVT-0

Kurva baku SNEDDS GVT-0 dalam 200 μL plasma dibuat dengan penambahan perbandingan asetonitril (1:3). Larutan stok SNEDDS GVT-0 dengan kadar 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sesuai perhitungan kurva baku dengan rentang 0,1-6,5 $\mu\text{g/mL}$ (0,5; 2,5; 3; 4,5; 6 dan 6,5 $\mu\text{g/mL}$) dalam 200 μL plasma dan ditambahkan 600 μL asetonitril. Setelah itu divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Beningan diambil dan dianalisis dengan HPLC sebanyak 20 μL secara autoinjeksi. Regresi linear ditetapkan dengan analisis kurva konsentrasi terhadap luas area kromatogram. Linieritas ditentukan dengan menghitung koefisien korelasi (r).

f. Penetapan kriteria sensitivitas

Larutan SNEDDS GVT-0 dalam plasma dengan konsentrasi 0,5; 2,5; 3; 4,5; 6 dan 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dari kurva baku ditetapkan sensitivitasnya dengan menghitung nilai batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*), batas kuantifikasi (*Limit of Quantification/LOQ*) dan batas bawah kuantifikasi (*Lower Limit of Quantification/LLOQ*) dengan rumus:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(Y-Y_1)}{n-2}}$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \frac{S_y}{x}}{\text{slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \frac{S_y}{x}}{\text{slope}}$$

$$\text{LLOQ} = \frac{5 \times \frac{S_y}{x}}{\text{slope}}$$

g. Penetapan nilai selektivitas

Larutan SNEDDS GVT-0 dalam plasma dengan konsentrasi 1,6 µg/mL dibuat dalam 200 µL sebanyak 6 replikasi dan ditambahkan asetonitril 600 µL. Penambahan enam plasma menggunakan plasma dari enam tikus yang berbeda. Larutan kemudian *divortex* dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Beningan diambil dan dianalisis dengan HPLC sebanyak 20 µL secara autoinjeksi dengan panjang gelombang 369nm. Nilai selektivitas dihitung dengan rumus % *coefficient of variation* (CV) dan nilai α . Rumus perhitungannya:

$$\%CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \%$$

h. Penetapan kriteria keseksamaan (*precise*)

Larutan SNEDDS GVT-0 dalam plasma sebanyak 200 µL dibuat dengan 4 konsentrasi yang berbeda, yaitu konsentrasi LLOQ (0,3 µg/mL), konsentrasi kadar rendah (0,5 µg/mL), konsentrasi kadar sedang (3 µg/mL) dan konsentrasi kadar tinggi (6,5 µg/mL) yang merupakan kadar dari linearitas kurva baku dengan masing-masing 5 replikasi. Kemudian ditambahkan 600 µL asetonitril. *Vortex* dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Beningan diambil dan dimasukkan ke vial kemudian dianalisis dengan HPLC sebanyak 20 µL secara autoinjeksi.

Presisi dihitung dengan parameter %CV dan %*diff* <15% kecuali untuk kadar LLOQ <20% serta HORRAT (*Horwitz Ratio*) <2. HORRAT diperoleh dengan membandingkan RSD dari percobaan terhadap RSD yang dihitung. Rumus perhitungannya:

$$\text{Simpangan baku} = \sqrt{\frac{\sum_1^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

$$\text{Kesalahan acak} = \frac{\text{Simpangan baku}}{x} \times 100\%$$

$$\text{HORRAT} = \frac{RSD\ obs}{RSD\ calc}$$

i. Penetapan kriteria kecermatan (*accuracy*)

Larutan SNEDDS GVT-0 dalam plasma sebanyak 200 μL dibuat dengan 4 konsentrasi yang berbeda, yaitu konsentrasi LLOQ (0,3 $\mu\text{g/mL}$), konsentrasi kadar rendah (0,5 $\mu\text{g/mL}$), konsentrasi kadar sedang (3 $\mu\text{g/mL}$) dan konsentrasi kadar tinggi (6,5 $\mu\text{g/mL}$) yang merupakan kadar dari linearitas kurva baku dengan masing-masing 5 replikasi. Kemudian ditambahkan 600 μL asetonitril. *Vortex* dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Beningan diambil dan dimasukkan ke vial kemudian dianalisis dengan HPLC sebanyak 20 μL secara autoinjeksi.

Akurasi dinilai dari parameter *%recovery* (perolehan kembali) 80-120% dan *%diff* <15% kecuali untuk kadar LLOQ <20%. Rumus perhitungannya:

$$\text{Perolehan kembali (P\%)} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar diketahui}} \times 100\%$$

2. Penetapan dosis SNEDDS GVT-0

Dosis SNEDDS GVT-0 yang digunakan diambil berdasarkan dosis SNEDDS GVT-0 dari penelitian sebelumnya kemudian dihitung untuk dosis tikus:

$$\begin{aligned} \text{SNEDDS GVT-0 dalam 1 sediaan} &= 222,28 \text{ mg}/5 \text{ mL}^{(48)} \\ &= 44,46 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

$$\text{Dosis SNEDDS GVT-0 } 40 \text{ mg/kgBB tikus}^{(48)}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis konversi} &= 40 \text{ mg/kg BB tikus} \\ &= 40 \text{ mg}/1000 \text{ g BB tikus} \\ &= 8 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemejanaan} =$$

$$\frac{44,46 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = \frac{8 \text{ mg}}{x \text{ mL}}$$

$$\begin{aligned}
 44,46 \text{ mg} \cdot x \text{ mL} &= 8 \text{ mg/mL} \\
 x \text{ mL} &= \frac{8 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}}{44,46 \text{ mg}} \\
 x \text{ mL} &= 0,179 \text{ mL}/200 \text{ gram tikus}
 \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{200 \text{ gram}}{0,179 \text{ mL}} = \frac{\text{BB tikus}}{x \text{ mL}}$$

3. Penetapan waktu sampling

Penetapan waktu sampling pada penelitian ini mengikuti penelitian sebelumnya dengan $t_{1/2}$ 1,39 jam⁽⁵⁰⁾. Darah tikus dicuplik dari vena ekor pada menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180 dan 240. Durasi pengambilan cuplikan darah yang optimal adalah 3-5 kali $t_{1/2}$.

3.2.8. Uji bioavailabilitas SNEDDS GVT-0

1. Kelompok hewan uji

Sebanyak 5 ekor hewan uji berupa tikus putih galur Wistar jantan dengan BB 200-300 gram umur 2-3 bulan diberikan SNEDDS GVT-0 dosis 40 mg/kg BB tikus yang telah dikonversikan sesuai dengan BB masing-masing tikus.

2. Pemberian SNEDDS GVT-0

Hewan uji dipuaskan 8 jam dan ditimbang, kemudian diberikan SNEDDS GVT-0 peroral dengan dosis yang telah dikonversikan, kemudian darah dicuplik dari vena ekor pada menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180 dan 240. Sampel darah ditetesi heparin dan *divortex*. Kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Beningan atau plasma diambil dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -20°C hingga dilakukan analisis kadar SNEDDS GVT-0 menggunakan HPLC.

3. Cuplikan atau sampel darah

Sampel darah diambil dari vena ekor tikus dan ditambahkan heparin sebagai antikoagulan, *divortex* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit menghasilkan sampel berupa plasma. Sampel plasma diambil 200 μ l dan ditambahkan asetonitril dengan perbandingan plasma : asetonitril (1:3) kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Sampel kemudian dianalisis menggunakan HPLC pada panjang gelombang 369 nm.

3.3. Penetapan nilai profil bioavailabilitas

Parameter bioavailabilitas didapat dengan perhitungan menggunakan rumus :

$AUC_{0-\infty}$ dihitung dengan metode trapezoid,

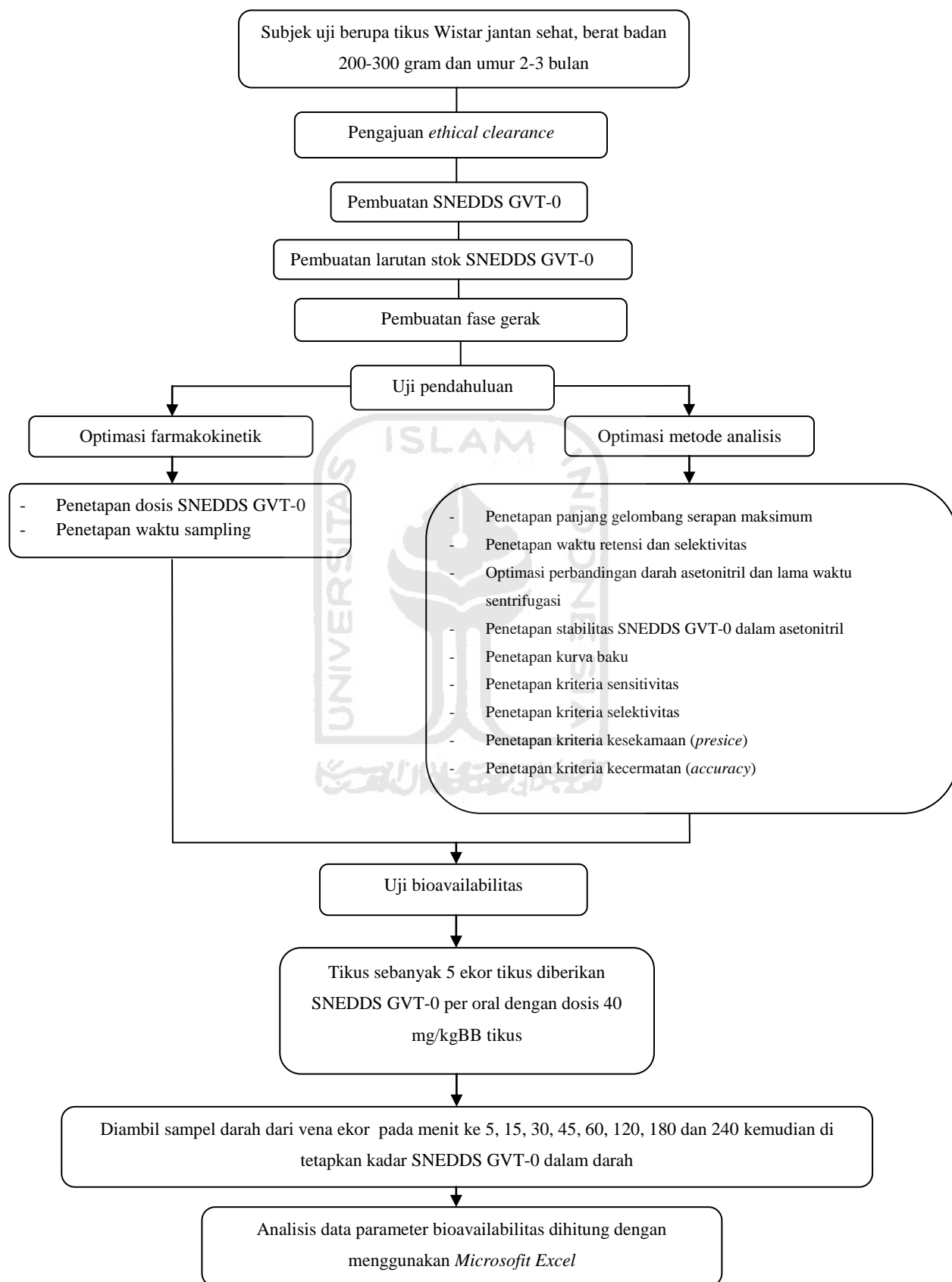
$$AUC_{0-\infty} = \sum_{t=0}^{t=\infty} \frac{(Cp_1 + Cp_2) \times (t_2 - t_1)}{2}$$

Cp_{maks} dan T_{maks} dihitung menggunakan perangkat lunak PK *function for Microsoft Excel* berdasarkan data kadar SNEDDS GVT-0 dari masing-masing tikus.

3.4. Analisis Data

Parameter bioavailabilitas yang ditetapkan adalah Cp_{maks} , T_{maks} , dan $AUC_{0-\infty}$. Analisis data dihitung dengan menggunakan *Microsoft Excel*. Analisis data ditetapkan berdasarkan grafik yang diperoleh dari hubungan kadar obat dengan waktu sampling.

3.5. Skema Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 pada tikus Wistar jantan yang diberikan secara oral. Penelitian ini dimaksudkan untuk melengkapi data farmakokinetika obat yang dilihat lebih spesifik dari nilai parameter bioavailabilitas obat.

4.1. *Ethical Clearence*

Penelitian ini telah memenuhi syarat secara etik dan dinyatakan layak untuk dilaksanakan serta dilakukan perlakuan pada hewan uji tikus putih jantan galur Wistar sesuai dengan disetujuinya *Ethical Clearance* (Keterangan Lolos Kaji Etik) oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, dengan nomor surat 08/Ka.Kom.Et/70/KE/V/2016 (lampiran 1).

4.2. Pembuatan SNEDDS GVT-0

SNEDDS merupakan sediaan dengan campuran isotropik antara minyak, surfaktan dan ko-surfaktan. Formulasi SNEEDS yang dibuat dipilih dari formulasi terbaik pada penelitian sebelumnya. Pembentukan nanoemulsi akan terjadi secara spontan setelah SNEDDS bertemu dengan air. Pengujian ukuran partikel dilakukan untuk memastikan proses emulsifikasi dari SNEDDS GVT-0 membentuk ukuran nano. Sedangkan nilai PDI untuk menggambarkan nilai sebaran normal distribusi ukuran partikel atau dengan kata lain nilai PDI menggambarkan keseragaman ukuran partikel yang terukur dari suatu emulsi. Sedangkan %transmitan menggambarkan kemampuan emulsifikasi dari surfaktan. Berikut hasil pengujian yang diperoleh:

Tabel 4.1. Hasil pengujian rerata ukuran partikel, PDI±SD dan hasil uji Transmitan (%)

Pengenceran	Ukuran partikel (nm)	PDI	Transmitan (%)
250x	101,4±2,33	0,43±0,04	96,37 %

Keterangan : Kriteria SNEDDS:
Ukuran partikel < 200 nm
PDI 0,2- 0,7

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 4.1 ukuran partikel yang diperoleh sebesar 101,4±2,33 dan nilai PDI sebesar 0,43±0,04, nilai tersebut menunjukkan bahwa sediaan SNEDDS yang dibuat telah memenuhi syarat ukuran nanoemulsi. Nilai ideal dari ukuran partikel adalah ≤ 200 nm dan nilai PDI berkisar 0,20-0,70⁽⁵²⁾. Nilai %transmitan yang diperoleh adalah 96,37%, semakin tinggi nilai %transmitan maka semakin baik pula kemampuan proses emulsifikasi surfaktannya⁽⁵³⁾.



Gambar 4.1. SNEDDS GVT-0

4.3. Hasil dan pembahasan uji pendahuluan

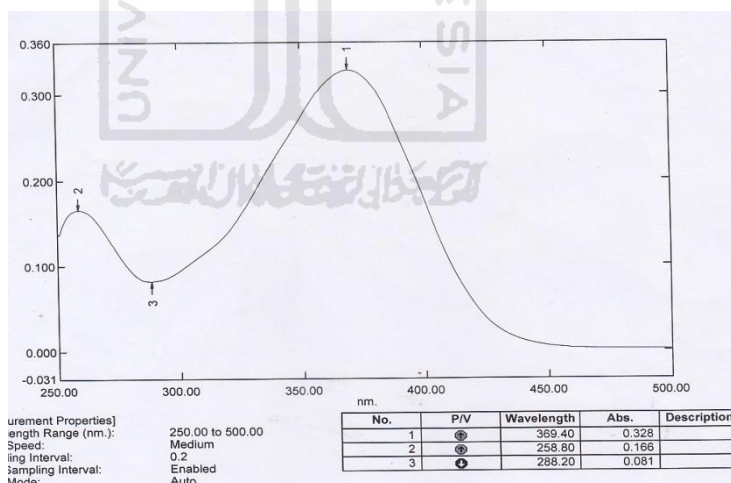
4.3.1. Optimasi fase gerak

Penggunaan fase gerak untuk SNEDDS GVT-0 pada awal penelitian ini telah mencoba 3 fase gerak yang berbeda, yaitu asetonitril : etil asetat 5% (52:48 v/v), asetonitril : asam asetat 5% (70:30 v/v) dan asetonitril : metanol : aquabides : etil asetat ((49%:20%:30%(v/v):1%(b/v))). Kromatogram SNEDDS GVT-0 yang dihasilkan dari 2 fase gerak awal terdapat *tailing* dan melebar dibagian bawah kromatogram, hal ini menandakan bahwa kromatogram SNEDDS GVT-0 tidak terpisah dengan sempurna. Fase gerak ke-3 menghasilkan kromatogram SNEDDS GVT-0 yang memiliki 2 puncak. Hal ini pula menunjukkan kromatogram

SNEDDS GVT-0 masih belum sempurna namun kromatogram sudah lebih ramping, sehingga dilakukan modifikasi perbandingan dari fase gerak ini. Perbandingan yang digunakan yaitu asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v). Kromatogram yang dihasilkan dari fase gerak ini ramping dan hanya memiliki satu puncak, sehingga fase gerak berupa campuran asetonitril (69%v/v) : aquabides (30%v/v) : etil asetat (1%b/v) digunakan dalam penelitian ini.

4.3.2. Penetapan panjang gelombang maksimum SNEDDS GVT-0

Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) SNEDDS GVT-0 ditetapkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari pembacaan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang maksimum SNEDDS GVT-0 terdapat pada panjang gelombang 369 nm (lampiran 2). Pemilihan penggunaan panjang gelombang maksimum untuk proses penetapan kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma pada penelitian ini karena pada panjang gelombang maksimum kepekaan juga akan maksimum dan bentuk kurva absorbansi datar dan memenuhi hukum Lambert-Beer⁽⁴¹⁾

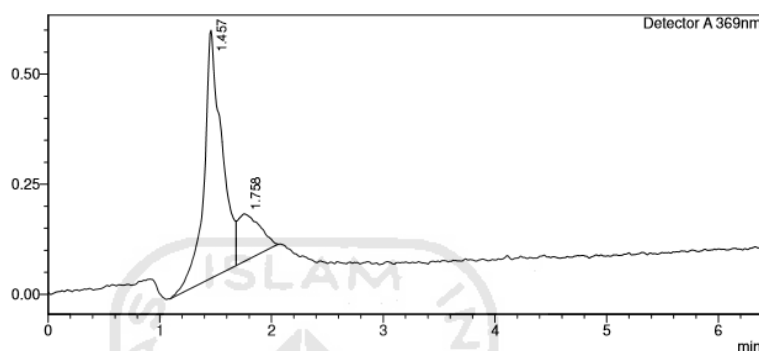


Gambar 4.2. Kromatogram spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang SNEDDS GVT-0

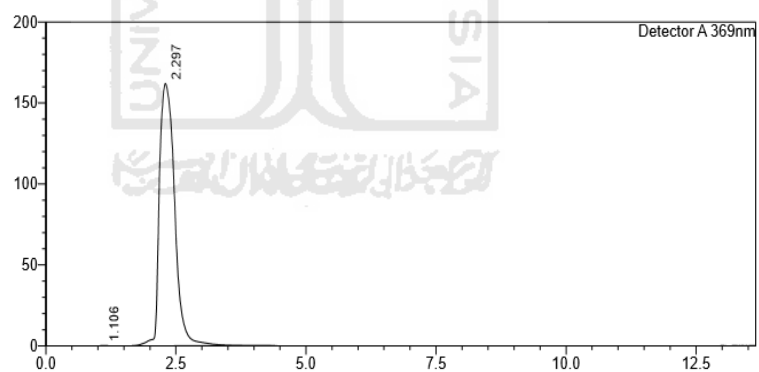
4.3.3. Penetapan waktu retensi SNEDDS GVT-0

Berdasarkan hasil yang diperoleh, waktu retensi SNEDDS GVT-0 murni adalah 2,297 menit (gambar 4.3). Kromatogram blanko SNEDDS dalam plasma dengan perbandingan asetonitril (1:3) secara *in vitro* tidak menunjukkan adanya

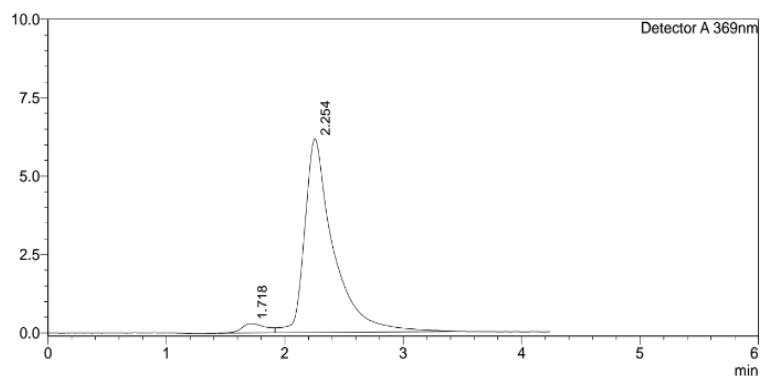
kromatogram yang muncul pada menit ke 2,2, sedangkan pada kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam plasma dengan perbandingan asetonitril (1:3) secara *in vitro* muncul pada menit ke 2,254 dan senyawa endogen terdekat dengan waktu retensi 1,718 menit. Secara *in vivo* kromatogram SNEDDS GVT-0 memiliki waktu retensi yang tidak jauh berbeda dengan kromatogram sebelumnya yaitu pada menit ke 2,223.



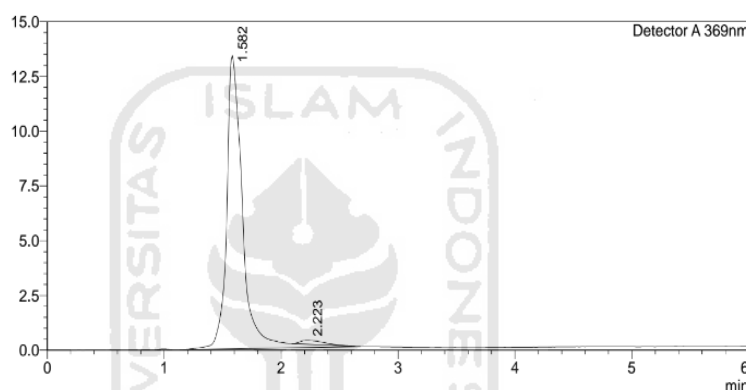
Gambar 4.3. Kromatogram blanko SNEDDS dalam plasma tikus (*in vitro*) 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dengan asetonitril (1:3), fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v)



Gambar 4.4. Kromatogram SNEDDS GVT-0 murni 25 $\mu\text{g/mL}$ dalam fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v)



Gambar 4.5. Kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus (*in vitro*) 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dengan asetonitril (1:3), fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v)



Gambar 4.6. Kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus (*in vivo*) 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dengan asetonitril (1:3), fase gerak asetonitril (69% v/v) : aquabides (30% v/v) : etil asetat (1% b/v)

4.3.4. Optimasi perbandingan plasma dalam asetonitril

Penentuan optimasi perbandingan plasma dengan asetonitril dilakukan untuk mengetahui perbandingan yang paling optimum untuk plasma dengan asetonitril. Masing-masing perbandingan disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Perbandingan yang paling optimum kemudian digunakan untuk proses penetapan kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma pada penelitian ini. Perbandingan plasma dengan asetonitril disajikan pada tabel sebagai berikut:

Tabel 4.2. Luas area endogen kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam beberapa perbandingan plasma dengan asetonitril

Perbandingan plasma:asetonitril yang dioptimasi	Plasma (μL)	Asetonitril (μL)	Luas area SNEDDS GVT-0 (25 $\mu\text{g/mL}$)	Luas area endogen dengan puncak tertinggi	Perbandingan luas area SNEDDS GVT-0 dengan endogen
1:1	200	200	876819	24665	1:36
1:2	200	400	649316	24073	1:27
1:3	200	600	92289	11010	1:8

Berdasarkan hasil optimasi perbandingan yang dilakukan menunjukkan bahwa perbandingan plasma dengan asetonitril (1:3) memiliki luas area endogen paling kecil, hal ini menunjukkan bahwa senyawa pengotor yang ada lebih sedikit, sehingga perbandingan (1:3) digunakan untuk penelitian ini⁽⁵⁴⁾. Penambahan asetonitril bertujuan untuk mengendapkan protein-protein dalam plasma yang dapat mengganggu pembacaan analisis kadar obat. Obat terikat kuat dengan protein, sehingga untuk menganalisis obat dalam plasma dibutuhkan pemisahan obat dengan protein untuk memperoleh obat dalam bentuk bebas. Asetonitril akan menurunkan solubilitas protein sehingga protein akan mengendap⁽⁵⁵⁾.

4.3.5. Penetapan stabilitas SNEDDS GVT-0 dalam asetonitril

Pengujian stabilitas SNEDDS GVT-0 dilakukan dalam waktu 1, 2 dan 24 jam atau *short-term temperature stability*. Tujuan dilakukan pengujian ini untuk mengetahui kestabilan SNEDDS GVT-0 di dalam spesimen biologis jika disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -20°C . Hal ini dilakukan karena SNEDDS GVT-0 dalam sampel plasma yang telah diproses belum tentu dapat langsung dianalisis dengan HPLC. Namun kestabilan obat di dalam cairan biologis tidak terlepas dari pengaruh sifat-sifat kimia obat, kondisi penyimpanan, matrik serta wadah yang digunakan⁽⁵⁶⁾. Parameter yang digunakan untuk menentukan stabilitas kadar SNEDDS GVT-0 selama proses penyimpanan adalah persentasi degradasi yang kurang dari 10%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari pembacaan kromatogram SNEDDS GVT-0 dalam plasma pada jam ke 1 dan 2 jam diperoleh persen degradasi kadar SNEDDS GVT-0 yang masih kurang dari 10%, yaitu sebesar 0,95% dan 2,24%,

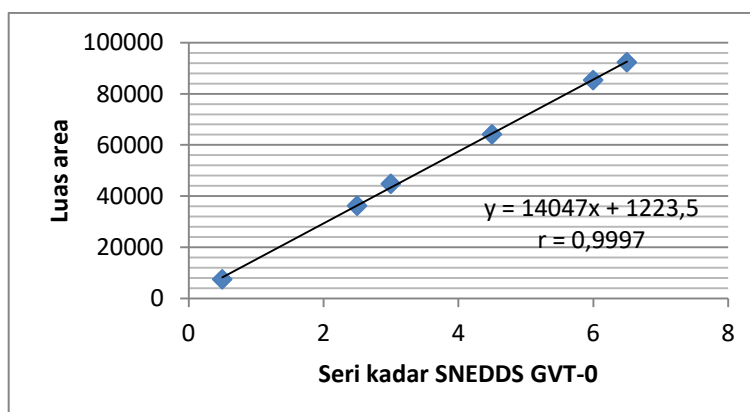
hal ini menunjukkan bahwa SNEDDS GVT-0 selama proses analisis masih dalam keadaan stabil. Persen degradasi pada jam ke 24 sebesar 14,82% (lampiran 3), hal ini menunjukkan bahwa sampel berupa SNEDDS GVT-0 dalam plasma yang disimpan selama 24 jam pada suhu -20°C tidak stabil karena persen degradasi lebih dari 10%, dengan demikian sampel tidak dapat dianalisis lebih dari 24 jam. Berikut adalah tabel dari persentase degradasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma setelah proses penyimpanan:

Tabel 4.3. Persentase degradasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma kadar 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dengan penambahan asetonitril 1:3 setelah proses penyimpanan di lemari pendingin -20°C

Jam ke-	Luas area	Kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	103142	7,26	0
1	104114	7,33	0,95
2	105424	7,41	2,24
24	118248	8,33	14,82

4.3.6. Penetapan kurva baku SNEDDS GVT-0

Kurva baku SNEDDS GVT-0 dalam plasma dengan penambahan asetonitril (1:3) dibuat dalam seri kadar yang berbeda-beda dengan rentang dari 0,5 $\mu\text{g/mL}$ hingga 6,5 $\mu\text{g/mL}$. Hasil persamaan kurva baku persamaan disajikan pada gambar 4.7 berikut:



Gambar 4.7. Kurva baku SNEDDS GVT-0 dalam plasma dengan asetonitril 1:3

Berdasarkan seri kadar yang diujikan, persamaan kurva baku yang diperoleh adalah $y = 14047x + 1223,5$; dan linearitas dengan koefisien korelasi (r) = 0,9997 ; dimana x adalah kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma dan y adalah luas area di bawah puncak kromatogram SNEDDS GVT-0. Hubungan antara respon instrumen (y) dengan konsentrasi (x) dinyatakan dengan linearitas (lampiran 4). Harga r memiliki nilai antara $-1 \leq r \leq 1$, jika $r =$ positif 1 maka menunjukkan korelasi yang positif sempurna⁽⁴¹⁾. Harga r yang didapat pada persamaan kurva baku penelitian ini mendekati 1, sehingga dapat dikatakan bahwa korelasi dari x dan y hampir sempurna. Pernyataan lain dari FDA bahwa nilai linearitas yang baik untuk biovalidasi sebesar 0,998, dengan demikian nilai linearitas yang didapat telah memenuhi persyaratan untuk biovalidasi⁽⁵⁶⁾.

4.3.7. Penetapan nilai sensitivitas

Sensitivitas didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah yang dapat diukur⁽⁵⁶⁾. Parameter pengukuran sensitivitas dapat dihitung dengan LOD, LOQ dan LLOQ. Batas deteksi atau LOD merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi. Respon dari kadar analit untuk batas deteksi sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ($3S_b$). Batas kuantifikasi atau LOQ merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi pada kondisi operasional metode yang digunakan⁽⁴¹⁾. Batas kuantifikasi terendah atau LLOQ merupakan konsentrasi analit terendah yang memberikan respon lima kali dari respon blanko⁽⁵⁶⁾. Batas deteksi dan kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi⁽⁵⁷⁾.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari perhitungan persamaan kurva baku, nilai LOD yang didapat sebesar 0,179 $\mu\text{g/mL}$, nilai LOQ sebesar 0,598 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai LLOQ sebesar 0,328 $\mu\text{g/mL}$ (lampiran 4). Perolehan hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi adalah 0,179 $\mu\text{g/mL}$. Konsentrasi analit terendah yang masih dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi pada kondisi operasional adalah sebesar 0,598 $\mu\text{g/mL}$ dan konsentrasi analit terendah yang dapat dikuantifikasi adalah 0,328 $\mu\text{g/mL}$.

4.3.8. Penetapan nilai selektivitas

Selektivitas didefinisikan sebagai kemampuan metode analisis untuk dapat membedakan dan menghitung perbedaan komposisi sampel ⁽⁵⁶⁾. Parameter nilai selektivitas juga ditentukan dengan nilai α dan %CV. Hasil uji selektivitas ditampilkan dalam tabel 4.4 berikut:

Tabel 4.4 Hasil uji selektivitas SNEDDS GVT-0 dalam plasma

Plasma	Luas area	Kadar terukur (($\mu\text{g/mL}$))	Rerata kadar (($\mu\text{g/mL}$))	SD	CV (%)	Nilai α	Rerata α
A	103142	7,26				1,31	
B	95283	6,69				1	
C	104673	7,36				1,19	
D	103906	7,31	7,21	0,26	3,55	1,19	1,21
E	104250	7,33				1,28	
F	104114	7,32				1,31	

Berdasarkan hasil uji selektivitas didapat nilai CV sebesar 3,55%, hasil tersebut telah memenuhi persyaratan bahwa nilai yang diperoleh tidak melebihi 15% ⁽⁵⁶⁾. Nilai α menunjukkan pemisahan antara kromatogram senyawa yang diuji dengan kromatogram endogen. Nilai $\alpha > 1$ berarti kromatogram terpisah antara satu dengan yang lain. Nilai rata-rata α yang dihasilkan pada penelitian ini 1,21, hal ini menunjukkan bahwa kromatogram SNEDDS GVT-0 terpisah dengan kromatogram endogen lainnya.

4.3.9. Penetapan kriteria presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan menyatakan kedekatan hasil analisis yang didapat dari beberapa macam replikasi dan dinyatakan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan ⁽⁴¹⁾. Presisi menyatakan kedekatan hasil analisis yang didapat dari masing-masing sampel yang direplikasi. Parameter dari presisi dapat dilihat dari %CV dan %diff yang tidak melebihi 15% untuk masing-masing konsentrasi, kecuali pada kadar LLOQ syarat untuk %CV dan %diff tidak melebihi 20% ⁽⁵⁶⁾. Hasil uji presisi dapat dilihat pada tabel 4.5 berikut ini:

Tabel 4.5. Hasil uji presisi SNEDDS GVT-0 dalam plasma

Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas area	Kadar terukur ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata kadar ($\mu\text{g/mL}$)	SD	CV(%)	Diff(%)	Rerata diff(%)	HORRAT
0,3	5261	0,29	0,29	0,006	2,04	-4,19	-2,37	0,11
	5303	0,29				-3,19		
	5288	0,29				-3,54		
	5472	0,30				0,82		
	5363	0,29				-1,77		
0,5	7542	0,45	0,47	0,030	6,54	-10,03	-7,77	0,37
	7362	0,44				-12,60		
	7459	0,44				-12,60		
	8081	0,49				-2,36		
	8335	0,51				-1,25		
3	44227	3,06	3,05	0,039	1,30	2,05	1,57	0,09
	43172	2,97				-0,46		
	43851	3,03				1,15		
	44231	3,06				2,06		
	44657	3,09				3,07		
6,5	103142	7,26	7,32	0,043	0,59	11,62	12,54	0,05
	104673	7,36				13,30		
	104245	7,33				12,83		
	103603	7,29				12,13		
	105424	7,33				12,83		

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari perhitungan pada tabel 4.4, nilai %CV dan %diff memiliki nilai keterulangan yang memenuhi persyaratan biovalidasi. Nilai %CV pada kadar 0,3 $\mu\text{g/mL}$ yaitu kadar LLOQ sebesar 2,04%, pada kadar terendah yaitu 0,5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 6,54%, pada kadar sedang yaitu 3 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,30% serta pada kadar tinggi yaitu 6,5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 0,59%, nilai ini telah memenuhi persyaratan %CV dari FDA. Hasil rata-rata %diff pada kadar LLOQ hingga kadar tertinggi secara berurutan adalah -2,37%, -7,77%, 1,57% serta 12,54%, perolehan nilai telah memenuhi persyaratan %diff yang baik dari FDA. Persyaratan nilai HORRAT yang baik adalah < 2 , pada kadar 0,3 $\mu\text{g/mL}$ nilai HORRAT sebesar 0,11, pada kadar 0,5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 0,37, pada kadar 3 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 0,09 dan pada kadar 6,5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 0,05, dengan demikian nilai HORRAT dari masing-masing kadar telah memenuhi persyaratan yaitu < 2 .

4.3.10. Penetapan kriteria akurasi

Akurasi didefinisikan sebagai kedekatan antara nilai terukur dengan nilai sebenarnya, akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali dari suatu pengukuran sampel⁽⁴¹⁾. Parameter akurasi dinilai dari %perolehan kembali (%*recovery*) 80-120% dan %*diff* tidak melebihi 15% kecuali untuk kadar LLOQ tidak melebihi 20%⁽⁵⁶⁾. Hasil dari akurasi dapat dilihat pada tabel 4.6 berikut ini:

Tabel 4.6 Hasil uji akurasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma

Kadar (µg/mL)	Luas area	Kadar terukur (µg/mL)	Diff(%)	Rerata %diff	%Recovery	Rerata %recovery
0,3	5261	0,29	-4,19	-2,37	95,81	97,62
	5303	0,29	-3,19		96,80	
	5288	0,29	-3,54		96,45	
	5472	0,30	0,82		100,81	
	5363	0,29	-1,77		98,23	
0,5	7542	0,45	-10,03	-7,77	89,96	93,00
	7362	0,44	-12,60		87,39	
	7459	0,44	-12,60		88,78	
	8081	0,49	-2,36		97,63	
	8335	0,51	-1,25		101,26	
3	44227	3,06	-2,05	-1,57	102,05	101,57
	43172	2,97	0,46		99,54	
	43851	3,03	-1,15		101,15	
	44231	3,06	-2,06		102,06	
	44657	3,09	-3,07		103,07	
6,5	103142	7,26	-11,62	-12,51	111,62	112,51
	104114	7,32	-12,68		112,69	
	104673	7,36	-13,30		113,30	
	103603	7,29	-12,12		112,13	
	104245	7,33	-12,83		112,83	

Berdasarkan hasil dari perolehan perhitungan, %perolehan kembali berkisar antara 87,39%-113,30%. Hal ini menunjukkan perolehan kembali dari SNEDDS GVT-0 dalam plasma telah memenuhi persyaratan. Nilai %*diff* yang dihasilkan dari perhitungan kadar pada tabel 4.6 juga telah memenuhi syarat.

4.4. Penetapan dosis SNEDDS GVT-0

Dosis SNEDDS GVT-0 yang digunakan pada penelitian ini yaitu 40 mg/kgBB tikus sesuai dengan penelitian sebelumnya⁽⁴⁸⁾. Perhitungan dosis pemejanaan dihitung dengan kadar SNEDDS GVT-0 yang terkandung dalam satu sediaan. GVT-0 sebanyak 222,28 mg dalam 5 mL SNEDDS mengandung 44,46 mg per mL nya⁽⁴⁸⁾. Berdasarkan hasil perhitungan yang diperoleh dosis konversi

untuk tikus sebesar 8mg/200g BB tikus dan volume pemejanan untuk tikus sebanyak 0,179mL/200gram BB tikus. Volume pemejanan rata-rata untuk tikusnya adalah 0,2 mL yang dihitung dari BB masing-masing tikus (lampiran 8).

4.5. Penetapan waktu sampling

Waktu sampling darah tikus yang digunakan pada penelitian ini mengikuti penelitian sebelumnya yaitu pada menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180; dan 240⁽⁵⁰⁾. Penetapan ini ditentukan dari nilai $t_{1/2}$ eliminasi, pengambilan cuplikan darah dilakukan sebanyak 3-5 kali $t_{1/2}$ eliminasi obat. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa $t_{1/2}$ eliminasinya adalah 1,39 jam, dengan demikian frekuensi pengambilan cuplikan darah pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan pengambilan cuplikan darah.

4.6. Hasil dan pembahasan uji bioavailabilitas

Bioavaibilitas menyatakan kecepatan dan jumlah obat aktif yang mencapai sirkulasi sistemik⁽¹⁸⁾. Pengujian bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 pada penelitian ini dilihat dari parameter bioavailabilitas yaitu $C_{p_{maks}}$, T_{maks} dan $AUC_{0-\infty}$. Pemberian dosis atau volume pemejanan pada tikus SNEDDS GVT-0 dari hasil perhitungan adalah 0,179 mL/200 gram BB tikus, dan rata-rata pemberian per tikus dengan BB 200-300 gram adalah 0,2 mL. Namun setelah dianalisis dengan HPLC, plasma tikus yang mengandung volume pemejanan SNEDDS GVT-0 sebanyak 0,2 mL tidak terdeteksi kromatogramnya. Hal ini ditandai dengan tidak munculnya kromatogram SNEDDS GVT-0 pada menit ke 2,2 sesuai waktu retensinya, sehingga dosis SNEDDS GVT-0 dinaikkan agar kromatogram dapat terdeteksi. Volume pemejanan dinaikkan menjadi 1 mL, namun kromatogram SNEDDS GVT-0 masih belum muncul pada menit ke 2,2 sesuai waktu retensinya, kemudian dosis dinaikkan menjadi 3 mL. Plasma tikus dengan volume pemejanan SNEDDS GVT-0 3 mL yang dianalisis dengan HPLC menunjukkan adanya kromatogram yang sangat kecil pada menit ke 2,2 namun tidak terdeteksi sebagai kromatogram oleh HPLC, sehingga dosis dinaikkan menjadi 5 mL. Pemberian SNEDDS GVT-0 5 mL secara oral menghasilkan kromatogram SNEDDS GVT-0 sesuai waktu retensinya yaitu 2,2 menit, sehingga volume 5 mL ini digunakan

sebagai volume pemejanan untuk tikus pada penelitian ini. Idealnya dari sebuah penelitian bioavailabilitas maupun farmakokinetik kenaikan dosis yang cukup tinggi tidak seharusnya dilakukan, akan tetapi dibutuhkan penetapan dosis yang lebih akurat terlebih dahulu atau penelitian lebih lanjut terkait penetapan kadar senyawa obat tersebut di dalam darah. Namun jika ditinjau dari ketoksikan GVT-0, penelitian terkait toksisitas nanopartikel GVT-0 pada mencit diperoleh LD₅₀ sebesar 2000 mg/kg BB mencit. Konversi dosis 2500 mg/kg BB mencit untuk tikus diperoleh dosis sebesar 350 mg/200 gram BB tikus⁽⁵⁸⁾. Perhitungan volume pemejanan dari dosis 350 mg/200 gram BB tikus pada SNEDDS GVT-0 dengan konsentrasi 44,46 mg/ml diperoleh sebesar 7,87mL, dengan demikian pemberian volume pemejanan 5 mL pada penelitian ini masih dibawah dosis LD₅₀ untuk GVT-0 dengan ukuran nanopartikel.

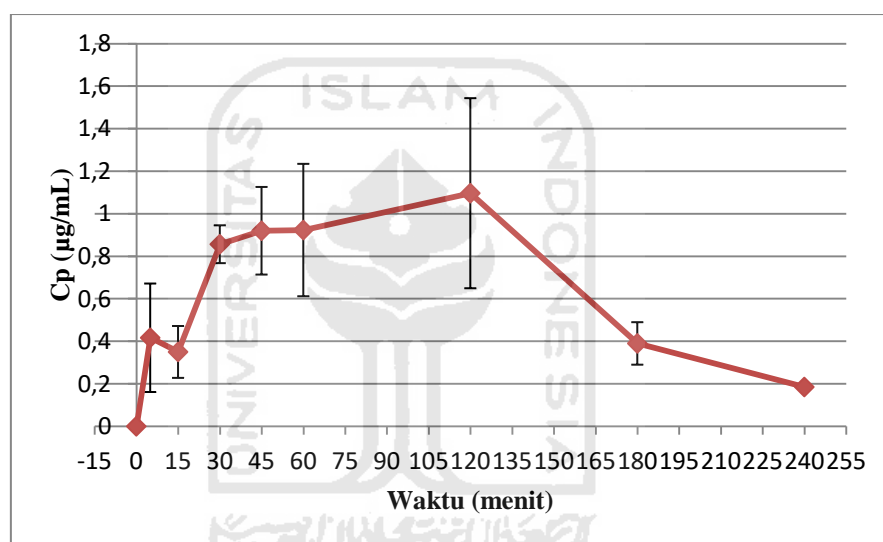
Pemberian oral SNEDDS GVT-0 pada penelitian ini dilakukan pada 5 ekor tikus, namun dari hasil analisis kadar yang dilakukan, sebanyak 2 ekor tikus memiliki kadar SNEDDS GVT-0 dibawah LOD hampir pada semua titik waktu sampling. Kadar SNEDDS GVT-0 yang berada dibawah LOD tersebut tidak dapat dilakukan perhitungan dikarenakan batas kadar analit terendah yang dapat dideteksi pada uji pendahuluan telah ditetapkan, sehingga data yang digunakan hanya menggunakan 3 ekor tikus lainnya. Nilai LOD dapat diturunkan dengan cara menurunkan seri kadar pada kurva baku, dengan demikian kadar SNEDDS GVT-0 pada uji *in vivo* dapat dihitung. Hal ini berarti perlu dilakukan uji pendahuluan kembali dengan kadar kurva baku yang lebih rendah untuk memperoleh LOD yang lebih rendah. Selain itu, penggantian detektor yang lebih spesifik dari UV-Vis pada HPLC disarankan pula agar deteksi GVT-0 lebih baik. Data hasil pengujian bioavailabilitas terdapat pada lampiran 6. Data hasil perhitungan kadar SNEDDS GVT-0 yang diberikan secara oral pada tikus Wistar jantan disajikan pada tabel 4.7 berikut:

Tabel 4.7. Data kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3)

Waktu sampling (menit ke-)	Rerata kadar SNEDDS GVT-0 ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD
15	0,35 \pm 0,324
30	0,86 \pm 0,25
45	0,92 \pm 0,58
60	0,92 \pm 0,88
120	1,09 \pm 1,26
180	0,39 \pm 0,28
240	0,19* \pm 0,005

Keterangan:

1. Perhitungan kadar SNEDDS GVT-0 menggunakan persamaan kurva baku $y = 14047x + 1223,5$
2. *kadar yang berada di bawah nilai LLOQ (0,328 $\mu\text{g/mL}$).



Gambar 4.8. Grafik rata-rata kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3) per waktu sampling

Keterangan: Garis simpangan yang terbentuk merupakan nilai dari sebaran sampel (SE)

Berdasarkan grafik pada gambar 4.8 pemberian SNEDDS GVT-0 pada tikus Wistar jantan secara oral pada penelitian ini terlihat adanya fase absorpsi, distribusi dan eliminasi. Konsentrasi pada kadar puncak hingga ke fase eliminasi mengalami penurunan yang cukup signifikan, hal ini dimungkinkan dapat terjadi karena GVT-0 dimetabolisme dengan cepat. GVT-0 merupakan senyawa analog kurkumin dengan perbedaan pada rantai tengah⁽³¹⁾. Pengujian bioavailabilitas kurkumin telah banyak dilakukan, namun disebutkan bahwa kurkumin mengalami metabolisme yang cepat dan memiliki bioavailabilitas yang rendah pula⁽⁵¹⁾⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾.

Data hasil parameter bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 sebanyak 5 mL per oral disajikan dalam tabel 4.8 berikut:

Tabel 4.8. Nilai parameter bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3)

Parameter bioavailabilitas	Rerata \pm SE
Cp _{maks} (μ g/mL)	1,89 \pm 0,28
T _{maks} (menit)	61,67 \pm 25,72
AUC _{0-∞} (μ g.menit/mL)	150,61 \pm 54,78

Parameter dari bioavailabilitas adalah Cp_{maks}, T_{maks} dan AUC_{0- ∞} . Cp_{maks} atau konsentrasi plasma puncak menggambarkan konsentrasi obat maksimum dalam plasma setelah pemberian obat, T_{maks} menggambarkan waktu yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi obat maksimum setelah pemberian obat dan AUC_{0- ∞} (*Area Under Curve*) merupakan luas area di bawah kurva konsentrasi terhadap waktu dengan kata lain yang menggambarkan jumlah obat yang terabsorpsi ke dalam sistemik⁽¹⁸⁾⁽⁵⁹⁾. Parameter-parameter tersebut dihitung menggunakan bantuan perangkat lunak pada *Microsoft Excel 2007*.

Bioavailabilitas merupakan salah satu bagian dari aspek farmakokinetik obat, bioavailabilitas atau ketersediaan hayati obat menggambarkan fraksi dari dosis obat yang mencapai sirkulasi sistemik. Penggambaran ini diartikan bahwa obat yang diberikan secara intravena bioavailabilitasnya 100%, namun jika obat diberikan melalui rute pemberian lain (seperti melalui oral) bioavailabilitasnya berkurang karena melewati metabolisme lintas pertama⁽¹⁸⁾. Efek metabolisme lintas pertama akan mengurangi jumlah obat utuh yang masuk ke sistemik, sehingga kadar obat di dalam darah juga akan berkurang⁽⁶⁰⁾.

Penelitian ini mengikuti metode penelitian lain terhadap kurkumin dikarenakan belum dilakukan penelitian terkait bioavailabilitas standar GVT-0 dan strukturnya yang hanya berbeda pada rantai tengah. Kurkumin merupakan senyawa dengan kandungan diantaranya *diferuloylmethane*, *tetrahydrocurcumin*, *demethoxycurcumin* dan *bisdemethoxycurcumin*⁽⁵¹⁾⁽⁶¹⁾. *Hexahydrocurcumin* and *hexahydrocurcuminol* merupakan metabolit yang banyak ditemukan pada

pengujian *in vivo* baik pada manusia maupun tikus. Penelitian lain menyatakan bahwa pada plasma tikus dengan dosis 40mg/kg pemberian i.v kurkumin tidak terdeteksi setelah pemberian 1 jam dan dengan dosis 500 mg/kg pemberian oral kurkumin terdeteksi pada kadar hampir mendekati LOD⁽⁶³⁾. Namun, pada penelitian uji aktivitas SNEDDS kurkumin dan SNEDDS GVT-0 dalam menurunkan IL-1 β dan TNF- α dengan induksi CFA pada tikus volume pemejangan 0,2 mL telah mampu menurunkan kadar IL-1 β sebesar 65,8% dan kadar TNF- α sebesar 61,5% untuk SNEDDS GVT-0 dan SNEDDS kurkumin sebesar 30,83% pada kadar IL-1 β dan sebesar 30,34% pada kadar TNF- α ⁽⁶⁴⁾⁽⁶⁵⁾. Penelitian pengaruh GVT-0 terhadap dektruksi kartilago pada tikus yang diinduksi CFA menyatakan bahwa GVT-0 dengan dosis 80mg/kgBB mampu memberikan penghambatan 80% pada dektruksi kartilago⁽⁶⁶⁾. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, dimungkinkan bahwa senyawa yang berefek tersebut adalah metabolit dari GVT-0.

Penelitian ini memiliki kekurangan yang dikarenakan adanya keterbatasan dalam proses penelitian, diantaranya belum dilakukan penelitian terkait bioavailabilitas maupun farmakokinetika standar GVT-0 serta terdapat hasil kadar yang masih berada di bawah kadar LOD dan LLOQ, hal ini dimungkinkan terjadi karena kadar SNEDDS GVT-0 yang ada di dalam plasma tikus sangat kecil. Sehingga perlu dilakukan pengambilan cuplikan darah dengan titik-titik waktu sampling yang lebih banyak agar fase-fase farmakokinetik yang ada tidak terlewatkan.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Parameter bioavailabilitas adalah $C_{p_{maks}}$, T_{maks} dan $AUC_{0-\infty}$. Berdasarkan hasil penelitian ini, kadar SNEDDS GVT-0 yang diberikan secara oral diperoleh rata-rata kadar maksimum di dalam darah ($C_{p_{maks}}$) adalah $1,89 \mu\text{g/mL} \pm 0,28$, rata-rata waktu yang diperlukan untuk mencapai kadar maksimum (T_{maks}) pada menit ke- $61,67 \pm 25,72$ dan rata-rata jumlah obat bebas yang berada di sistemik ($AUC_{0-\infty}$) adalah $150,6178 \mu\text{g}\cdot\text{menit/mL} \pm 54,78 \mu\text{g}\cdot\text{menit/mL} \pm 48,54$.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, peneliti menyarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian terkait bioavailabilitas maupun farmakokinetika standar GVT-0 murni.
2. Perlu dilakukan optimasi dosis lebih lanjut untuk memperoleh bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 yang lebih baik.
3. Perlu dilakukan penurunan kurva baku sehingga diperoleh LOD dan LLOQ yang lebih rendah dan kadar SNEDDS GVT-0 pada tikus (*in vivo*) dapat dihitung.
4. Perlu penggantian detektor yang lebih spesifik dari detektor UV-Vis.
5. Perlu dilakukan pengambilan cuplikan darah tikus dengan jarak waktu yang lebih dekat dan waktu pengambilan yang lebih panjang, sehingga parameter bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 yang dihasilkan lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suarjana, I Nyoman, Sudoyo, A.W, Setiyohadi, B, Alwi, Idrus, 2009, *Arthritis Reumatoid Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V*, Interna Publishing, Jakarta.
2. Longo, Dan L. Md., Kasper, Dennis L. Md., Et Al. 2012. *Harrison's Principle Of Internal Medicine Ed.18 Chapter 231: Rheumatoid Arthritis*. Mcgraw-Hill Companies, Inc. USA.
3. Anonim, 2011, *Profil Data Kesehatan Kota Bandar Lampung Tahun 2011*, Dinas Kesehatan Provinsi Lampung, Lampung.
4. American College Of Rheumatology, *Osteoarthritis*, Lake Boulevard Ne, Atlanta, 2012.
5. Dipiro, J.T., Et.Al. 2008, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Seventh Edition. Mc-Graw Hill.
6. Sardjiman, Samhoedi, M., Hakim, L., Van Der Goot, H., Dan Timmerman, H., *Recent Development In Current Pharmacochemistry Proceedings Of The International Symposium On Curcumin Pharmacochemistry (Iscp) August 29-31*, Edited By Suwijiyo Pramono, Et Al, 1-5-Diphenil-1,4-Pentadien-3-On And Cyclic Analogues As Antioxydative Agent, Synthesis And Structure-Activity Relationship, 175-186, Aditya Media, Yogyakarta, 1997.
7. Ikawati, Z., Yuniarti, N., Margono, Sa., The analgesic effect of a curcumin analouge 1,5-bis (4'-hydroxy-3'-methoxyphenil)-1,4-pentadien-3-on (gamavuton-0) in acute and persistent pain, *J. Pharm. Sci.* 2014;**4** (08):048-051.
8. Sharma, R. A., Gescher, A. J. and Steward, W. P. (2005), Curcumin: The story so far, *European Journal of Cancer*. 2005; **41**; 1955–1968.
9. Guitierrez, J.M, Gonzalez, C., Maestro, A., Sole, I., Pey, C.M., And Nolla, B. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation, *Curr. Opin. In Colloid In.*, 2008;**13**:245–251.
10. Bhatia, A., Shard, P., Chopra, D., and Mishra, T., Chitosan nanoparticles as carrier of immunorestoratory plant extract: Synthesis, characterization and

- immunorestoratory efficacy, *International Journal of Drug Delivery*, 2011;**3** 381-385.
11. Wu Y., Yang W., Wang C., Hu J., and Fu S., Chitosan Nanoparticle As A Novel Delivery System For Ammonium Glycyrrhizinate, *International Journal of Pharmaceutics*. 2005;**295**:235-245.
 12. Martien R., Loretz B., Bernkop-Schnürch A., Oral Gene Delivery: Design of polymeric carrier systems shielding toward intestinal enzymatic attack, *Biopolymers*. 2006;**83**:327-336.
 13. Li F., Li J., Wen X., Zhou S., Tong X., Su P., Li H., Shi D., Anti-tumor activity of paclitaxel-loaded chitosan nanoparticles: An in vitro study, *Mater. Sci. Eng. C*. 2009;**doi**:10.1016/j.msec.2009.07.001.
 14. Tonnis W. F., Kersten G. F., Frijlink H. W., Hinrichs W. L. J., de Boer A. H., Amorij J. P., Pulmonary Vaccine Delivery: A Realistic Approach. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*. 2012;**25**(5): 249-260.
 15. Muttill P., Prego C., Garcia-Contreras L., Pulliam B., Fallon J. K., Wang C., Hickey A. J., dan Edwards D., Immunization of guinea pigs with novel hepatitis B antigen as nanoparticle aggregate powders administered by the pulmonary route, *AAPS J*. 2010;**12**:330–337
 16. Ravichandran R., Nanoparticles in drug delivery: Potensial green nanobiomedicine applications, *Int. J. Green Nanotech. Biomed*. 2009;**1**:B108-B130
 17. Hardini, I., Yuniarti, N., Ikawati, Z., 2009, Activity Of Gamavuton-0 on Inflammation and Arthritic Index In Arthritis Rats Induced By Complete Freund's Adjuvant, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2009
 18. Shargel, Leon, B.C.Yu, Andrew, 2005, *Biofarmasetika Dan Farmakokinetika Terapan*, Universitas Airlangga, Surabaya
 19. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2001;**358**(9285): 903-11
 20. Anonim, 2015, Rheumatoid Arthritis: Causes, Symptoms and Treatment, 2015, <http://arthritis.ca/getmedia/6c39edce-5b2d-498d-bd60->

28d33f3e1850/Rheumatoid-Arthritis-Causes-Symptoms-and-Treatments.pdf,

diakses pada tanggal 22 Februari 2015

21. Khanna, D., Sethi G., Ahn, K.S., Pandey, M.K., Kunnumakkara, A.B., Sung, B., Aggarwal, A., Aggarwal, B.B., Natural Products As A Gold Mine For Arthritis Treatment, *Current Opinion In Pharmacology*, 2007;**7**:344-351
22. Kim, K.S., Lee, S.D., Kim, K.H., Kil, S.Y., Chung, K.H., Kim, C.H., Suppressive Effects Of A Water Extract Of Ulmus Davidiana Planch (Ulmaceae) On Collagen-Induced Arthritis in Mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 2005;**97**:65-71.
23. Home, Diane., Maggie Car, Rheumatoid Arthritis : The Role of Early Intervention and Self-management, *British Journal of Community Nursing*, 2009;**14**(10)
24. Woodley, M.D. Dan Wheelan, L., 1995, *Pedoman Pengobatan*, Penerbit Yayasan Essentia Medika & Penerbit Andi Offset, Yogyakarta
25. Balsa A, Cabezón A, Orozco G, Et Al. Influence Of Hla Drb1 Alleles in The Susceptibility of Rheumatoid Arthritis and The Regulation of Antibodies Against Citrullinated Proteins and Rheumatoid Factor. *Arthritis Res Ther*. 2010;**12**(2):R62
26. Tjay, T.H. Dan Rasardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, Dan Efek-Efek Sampingnya*, Elex Media Komputindo, Jakarta
27. National Institute for Health and Clinical Excellence, *Rheumatoid Arthritis: The Management of Rheumatoid Arthritis in Adults*, NICE, London, 2009
28. Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, et al, Recommendations for The Management of Rheumatoid Arthritis with Synthetic and Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, *Ann Rheum Dis*. 2010;**69**:964-75
29. Agarwel, Sandeep K, Biologic Agents in Rheumatoid Arthritis: An Update for Managed Care Professionals, *Supplement to Journal of Managed Care Pharmacy*, 2011;**17**(9-b)
30. Sardjiman, Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Antioksidative, Antiinflamatory, Antibacterial Activity Relationship, [disertasi], Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada; 2000

31. Yuniarti, N., Aktivitas Antiinflamasi In vivo dan In vitro 1,5-Bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on Indometasin dan Turunannya, [tesis], Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada; 2006
32. Hardini, Indri, Pengaruh Gamavuton-0-0 Terhadap Inflamasi Dan Indeks Arthritis Pada Tikus Wistar Betina Arthritis Rematoid Diinduksi Complete Freund's Adjuvant, [skripsi], Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada; 2008
33. Anand U. Kyatanwar, Kisan R. Jadhav, Vilasrao J.Kadam, Self Microemulsifying Drug Delivery System (SMEDDS), *Review Journal of Pharmacy Research*. 2010:75-83.
34. Aslam, M., Tan, C. K., Prayitno, A, 2003, *Farmasi Klinis (Clinical Pharmacy) Menuju Pengobatan Rasional dan Penghargaan Pilihan Pasien*, Elex Media Komputindo, Jakarta
35. Katzung, Bertram G, 2001, *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi Pertama*. Salemba Medika. Jakarta
36. Gibaldi, M., dan Perrier, D., 1982, *Pharmacokinetics*, 2nd ed., Marcel Dekker, New York
37. Hakim, Lukman., 2002, *Farmakokinetika*, Bursa Buku, Yogyakarta
38. Donatus, I.A., 2005, *Toksikologi Dasar*, Edisi II, 117-149, 187-197, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
39. Setiawati, A., Suyatna, F.D., dan Gan, Sulistia, 2007, *Farmakologi dan Terapi*, Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
40. Waldon, D.J., 2008, *Pharmacokinetics and Drug Metabolism*, Cambridge:Amgen, Inc., One Kendall Square, Building 1000, USA
41. Gandjar, Ibnu Ghalib., Abdul, Rahman., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
42. Zhang, Yong., Huo, Meirong., Zhou, Jianping., Xie, Shaofei.,, PKSolver: An Add-In Program For Pharmacokinetic And Pharmacodynamic Data Analysis In Microsoft Excel, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2010:99(3):306-14

43. Wu, Baojian., Hu, Ming., A Useful Microsoft Excel Add-in Program for Pharmacokinetic Analysis, *Pharmaceutica Analytica Acta*. 2011; 2153-2435
44. Usansky, Joel I., Desai, Atul., Tang-Liu, Diane., *PK Function for Microsoft Excel*, Department of Pharmacokinetics and Drug Metabolism, Allergan, Irvine, CA 92606, U.S.A
45. Nugroho, A.E., Hakim, L., Istyastono, E.P., Supardjan, A.M., Yuniarti, N., Sintesis dan Uji Aktivitas Biologis Senyawa-Senyawa Baru Turunan 1,5bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2004
46. Ginting, Paham dan Syafrizal Helmi Situmorang, 2008. *Filosafat Ilmu dan Metode Riset*, Universitas Sumatera Utara, Medan
47. Bauer. L. A, 2008, *Applied Clinical Pharmacokinetics*, Mc Graw Hill, New York
48. Bagiana, I Kadek, Pengembangan Nanogamavuton-0 dengan Formulasi SNEDDS Sebagai Kandidat Obat Analgetik dan Antiinflamasi, [*Tesis*], Yogyakarta; Universitas Gadjah Mada; 2014
49. Schibbor, Christina., Gunter P. Eckert., Gerald Rimbach and Jank Frank, A Validated Method For Quantification Of Curcumin In Plasma and Brain Tissue By Fast Narrow-Bore-High-Performance Liquid Chromatography With Fluorescence Detection. *Anal BioChem*. 2010; 397:1917
50. Hao, K., X. P. Zhao, X.Q.Liu dan G.J. Wong, LC Determination of Curcumin in Dog Plasma for a Phamacokinetic Study, *Chromatographia*, 2006;**64**(9-10)
51. Liu, Anchang., Hongxiang, Lou, dan Lixia, Zhao, Validated LC/MS/MS Assay for Curcumin and Tetrahydrocurcumin in Rat Plasma and Application to Pharmacokinetic Study of Phospholipid Complex of Curcumin, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005;**40**:720-727
52. Mao L, Duoxia X, Jia Y, Fang Y, Yanxiang G, Jian Z. Effects of Small and Large Molecule Emulsifiers on The Characteristics Of B-Carotene Nanoemulsions Prepared By High Pressure Homogenization. *Food Technology Biotechnology*, 2009;**47** (3); 336-342

53. Makadia H, Bhatt A, Parmar R, Paun J and Tank H. Self-nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS): Future Aspect, *Asian J. Pharm. Res.* 2013; **3**(1); 21-27
54. Habibah, Triisnaini. Optimasi Pengendapan Protein Menggunakan Metanol, Etanol, Asetoniril dan Aseton pada Analisis Irbesartan dalam Plasma *In Vitro* Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi – Fluoresensi. [skripsi]. Depok: Universitas Indonesia; 2012
55. Evans, G, 2004, *A Handbook of Bioanalysis and Drug Metabolism*, CRC Press, United Stated of America
56. Food and Drug Administration. *Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation*, 2001
57. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2004: **1**; 119, 122
58. Fatmah, Asri. Uji toksisitas akut nanopartikel Gamavuton-0 (GVT-0) kitosan pada mencit betina strain balb/c [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2016
59. Hedaya, Mohsen A., 2007, *Basic Pharmacokinetics*, CRC Press, United Stated of America.
60. Benet LZ, Massound N, Gambertoglio JG, 1984, *Pharmacokinetic Basic for Drug Treatment*, Raven Press, New York
61. Preetha Anand, Ajaikumar B. Kunnumakkara, Robert A. Newman, and Bharat B. Aggarwal, Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises, *Mol. Pharmaceutics*, 2007: **4**(6); 807-818
62. Dutta, Asish K., Elizabeth Ikiki., Novel Drug Delivery Systems to Improve Bioavailability of Curcumin, *J Bioequiv Availab*, 2013: **6**(1); 001-009
63. Ireson ,Christopher., Samantha, Orr., Don J. L. Jones., et al., Characterization of Metabolites of the Chemopreventive Agent Curcumin in Human and Rat Hepatocytes and in the Rat in Vivo, and Evaluation of Their Ability to Inhibit Phorbol Ester-induced Prostaglandin E₂ Production, *Cancer Research*, 2001: **61**; 1058–1064
64. Ramadhan, Viren. Aktivitas SNEDDS Gamavuton-0 sebagai anti Arthritis Rematoid dengan parameter penurunan kadar sitokin IL-1 β dan TNF- α pada

- jaringan sendi tikus Wistar jantan terinduksi *Complete Freund's Adjuvant*. [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia; 2016
65. Hayulani, Nadya Aqliyah., Aktivitas anti-Artritis Rematoid SNEDDS Kurkumin berdasarkan parameter penurunan kadar sitokin IL-1 β dan TNF- α pada jaringan sendi tikus jantan galur Wistar terinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia; 2016
66. Pratiwi, Riyona Desvy., Pengaruh Gamavuton-0 terhadap destruksi kartilago pada tikus betina artritis rematoid galur Wistar diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2008



Lampran 1. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



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 : 08/Ka.Kom.Et/70/KE/V/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 Bioavailabilitas SNEDDS Gamavuton sebagai Anti Arthritis Rematoid.”

Peneliti Utama : Tisa Helga Hurimah

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

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

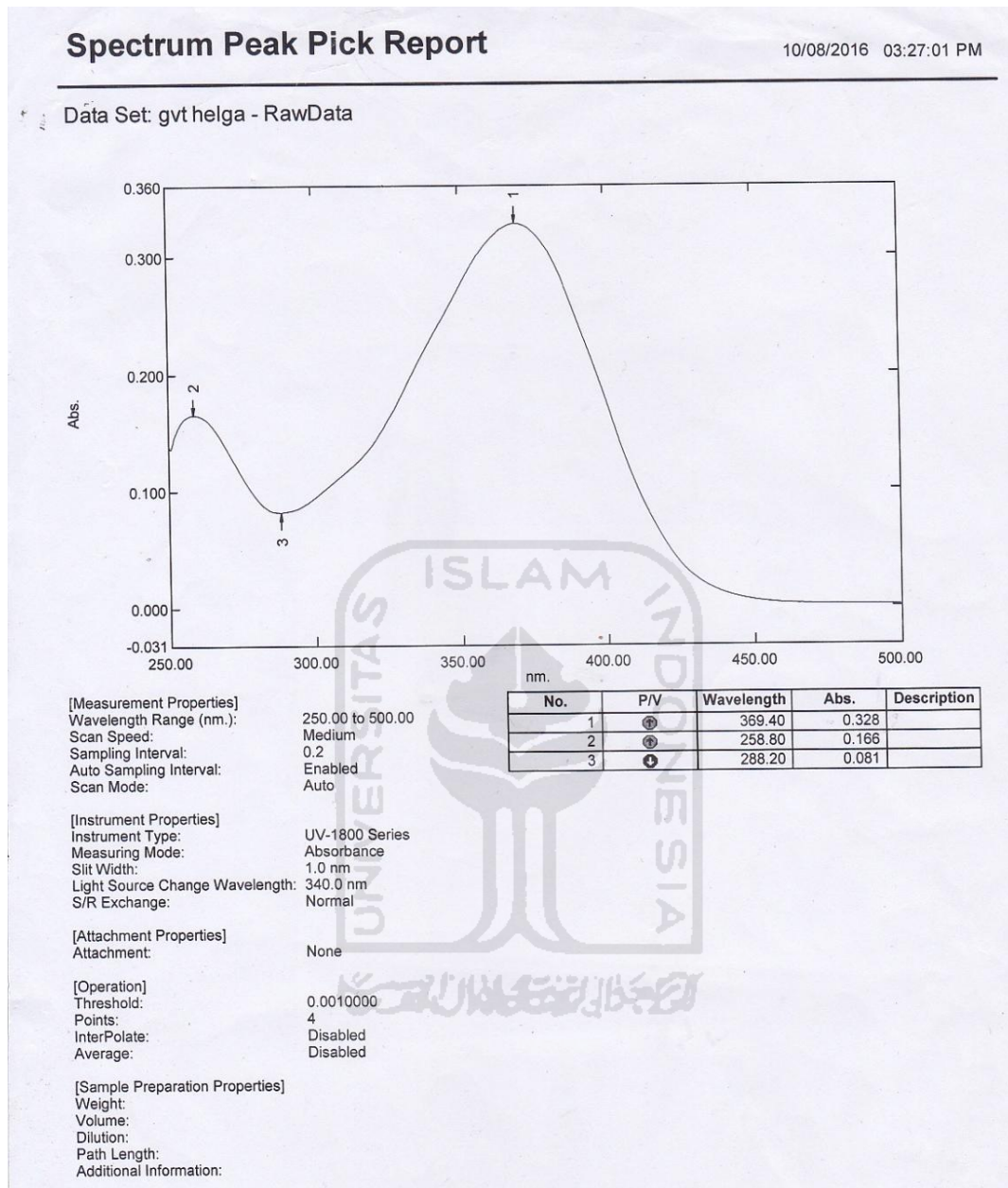


Yogyakarta, 10 Mei 2016
 Ketua
 Chairman
 Prof. Dr. Dra. Wiryatun Lestariyana, Apt

***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*

Lampiran 2. Panjang gelombang maksimum



Lampiran 3. Penetapan stabilitas SNEDDS GVT-0 dalam asetonitril

Tabel 4.3. Persentase degradasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma kadar 6,5 $\mu\text{g/mL}$ dengan penambahan asetonitril 1:3 setelah proses penyimpanan di lemari pendingin -20°C

Jam ke-	Luas area	Kadar SNEDDS GVT-0 dalam plasma ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	103142	7,26	0
1	104114	7,33	0,95
2	105424	7,41	2,24
24	118248	8,33	14,82

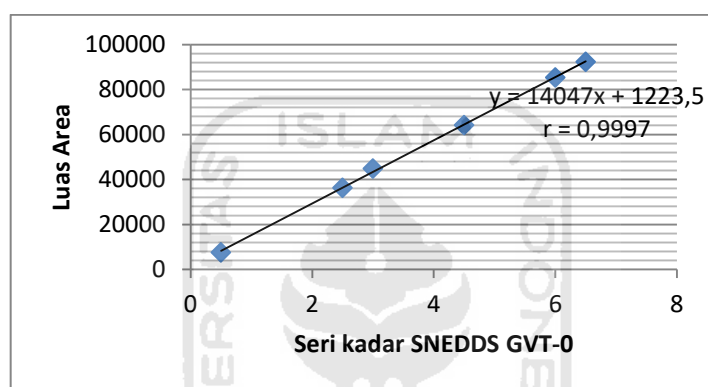
Perhitungan persen degradasi:

$$\% \text{ degradasi (jam ke-24)} = 100\% - \left(\frac{\text{kadar jam ke-24}}{\text{kadar jam ke-0}} \times 100\% \right)$$



Lampiran 4. Penetapan persamaan kurva baku dan penetapan kriteria sensitivitas

Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas area
0,5	7544
2,5	36272
3	44832
4,5	64153
6	85324
6,5	92289
a	1223,5
b	14047
r	0,9996
y	$14047x + 1223,5$



X	Y	Yi	(y-yi)	(y-yi) ²
0,50	7544,00	8247	-703	494209
2,50	36272,00	36341	-69	4761
3,00	44832,00	43364,5	1467,5	2153556,25
4,50	64153,00	64435	-282	79524
6,00	85324,00	85505,5	-181,5	32942,25
6,50	92289,00	92529	-240	57600
Jumlah				2822592,5
<hr/>				
a = 1223,5				
<hr/>				
b = 14047				
<hr/>				
r = 0,9996				
<hr/>				
y = 14047x + 1223,5				
<hr/>				
S(y/x) = 840,03 $\mu\text{g/mL}$				

Lampiran 4. (lanjutan)

$$S(y/x)^2 = \frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2} = \frac{2822592,5}{5-2} = 705648,125 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$S(y/x) = \sqrt{S\left(\frac{y}{x}\right)^2} = \sqrt{705648,13} = 840,0286453 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Hitungan untuk penetapan kriteria sensitivitas

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S\left(\frac{y}{x}\right)}{B \text{ (slope)}} = \frac{3 \times 840,0286453}{14047} = 0,179 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{LLOQ} = \frac{5 \times S\left(\frac{y}{x}\right)}{B \text{ (slope)}} = \frac{5 \times 840,0286453}{14047} = 0,328 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times S\left(\frac{y}{x}\right)}{B \text{ (slope)}} = \frac{10 \times 840,0286453}{14047} = 0,598 \text{ } \mu\text{g/mL}$$



Lampiran 5. Perhitungan nilai selektivias

Tabel 4.4 Hasil uji selektivitas SNEDDS GVT-0 dalam plasma

Plasma	Luas area	Kadar terukur (($\mu\text{g/mL}$))	Rerata kadar ($\mu\text{g/mL}$)	SD	CV (%)	Nilai α	Rerata α
A	103142	7,26				1,31	
B	95283	6,69				1	
C	104673	7,36				1,19	
D	103906	7,31	7,21	0,26	3,55	1,19	1,21
E	104250	7,33				1,28	
F	104114	7,32				1,31	

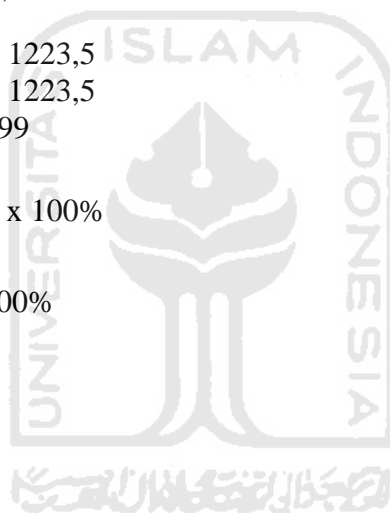
Contoh perhitungan:

Kadar terukur plasma A (x)

$$\begin{aligned}
 y &= 14047x + 1223,5 \\
 103142 &= 14047x + 1223,5 \\
 x &= 7,25553499
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \%CV &= \frac{SD}{Rata-rata} \times 100\% \\
 &= \frac{0,2670}{7,2141} \times 100\% \\
 &= 3,5535\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Nilai } \alpha &= \frac{tR2}{tR1} \\
 &= \frac{2,261}{1,723} \\
 &= 1,3122
 \end{aligned}$$



Lampiran 6. Perhitungan penetapan kriteria presisi

Tabel 4.5. Hasil uji presisi SNEDDS GVT-0 dalam plasma

Kadar (µg/mL)	Luas area	Kadar terukur (µg/mL)	Rerata kadar (µg/mL)	SD	CV(%)	Diff(%)	Rerata diff(%)	HORRAT
0,3	5261	0,29	0,29	0,006	2,04	-4,19	-2,37	0,11
	5303	0,29				-3,19		
	5288	0,29				-3,54		
	5472	0,30				0,82		
	5363	0,29				-1,77		
0,5	7542	0,45	0,47	0,030	6,54	-10,03	-7,77	0,37
	7362	0,44				-12,60		
	7459	0,44				-12,60		
	8081	0,49				-2,36		
	8335	0,51				-1,25		
3	44227	3,06	3,05	0,039	1,30	2,05	1,57	0,09
	43172	2,97				-0,46		
	43851	3,03				1,15		
	44231	3,06				2,06		
	44657	3,09				3,07		
6,5	103142	7,26	7,32	0,043	0,59	11,62	12,54	0,05
	104673	7,36				13,30		
	104245	7,33				12,83		
	103603	7,29				12,13		
	105424	7,33				12,83		

Contoh perhitungan:

Kadar terukur 0,3 µg/mL Replikasi 1 (x):

$$y = 14047x + 1223,5$$

$$5261 = 14047x + 1223,5$$

$$x = 0,28742$$

$$\%CV = \frac{SD}{Rata-rata} \times 100\%$$

$$= \frac{0,00598}{0,2928} \times 100\%$$

$$= 2,0421\%$$

$$\%diff = \frac{0,2874 - 0,3}{0,3} \times 100\%$$

$$= -4,19$$

$$HORRAT = \frac{RSD\ obs}{RSD\ calc}$$

RSD observasi (RSD_{obs}) adalah hasil perhitungan CV (kesalahan acak).

RSD kalkulasi (RSD_{calc}) adalah hasil perhitungan RSD.

Rumus perhitungan RSD:

$$RSD = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad C = \text{konsentrasi analit sebagai fraksi desimal \%}$$

Kadar 0,3 $\mu\text{g/mL}$

$$RSD = 2^{(1-0,5 \log 0,0000003)}$$

$$= 19,178$$

$$\text{HORRAT} = \frac{2,0421}{19,178}$$

$$= 0,1064$$



Lampiran 7. Perhitungan penetapan kriteria akurasi

Tabel 4.6 Hasil uji akurasi SNEDDS GVT-0 dalam plasma

Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas area	Kadar terukur ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Diff</i> (%)	Rerata <i>%diff</i>	<i>%Recovery</i>	Rerata <i>%recovery</i>
0,3	5261	0,29	-4,19	-2,37	95,81	97,62
	5303	0,29	-3,19			
	5288	0,29	-3,54			
	5472	0,30	0,82			
	5363	0,29	-1,77			
0,5	7542	0,45	-10,03	-7,77	89,96	93,00
	7362	0,44	-12,60			
	7459	0,44	-12,60			
	8081	0,49	-2,36			
	8335	0,51	-1,25			
3	44227	3,06	2,05	1,57	102,05	101,57
	43172	2,97	-0,46			
	43851	3,03	1,15			
	44231	3,06	2,06			
	44657	3,09	3,07			
6,5	103142	7,26	-11,62	12,51	111,62	112,51
	104114	7,32	-12,68			
	104673	7,36	-13,30			
	103603	7,29	-12,12			
	104245	7,33	-12,83			

Contoh perhitungan:

%Recovery kadar 0,3 $\mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rec} &= \frac{\text{Kadar terukur}}{\text{Kadar diketahui}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2874}{0,3} \times 100\% = 95,8093 \% \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan volume pelepasan SNEDDS GV-0 pada tikus Wistar jantan

SNEDDS GVT-0 222,28 mg/5 ml

Konsentrasi GVT-0 per ml SNEDDS 44,46 mg/ml

Dosis SNEDDS GVT-0 yang diberikan 40 mg/kgBB tikus

Dosis konversi = 40 mg/kg BB tikus

= 40 mg/1000 g BB tikus

= 8 mg/200 g BB tikus

Volume pelepasan = $\frac{44,46 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = \frac{8 \text{ mg}}{x \text{ ml}}$

44,46 mg . x ml = 8 mg/ml

x ml = $\frac{8 \text{ mg/ml}}{44,46 \text{ mg}}$

x ml = 0,179 ml/200 gram tikus

Volume pemberian = $\frac{200 \text{ gram}}{0,179 \text{ ml}} = \frac{\text{BB tikus}}{x \text{ ml}}$

Tikus dengan BB 256gram

Volume pemberian =

$$\frac{200 \text{ gram}}{0,179 \text{ ml}} = \frac{256 \text{ gram}}{x \text{ ml}}$$

200 gram . x ml = 45,824 gram.ml

x ml = 0,229 ml

Volume SNEDDS GVT-0 yangdiberikan pada tikus dengan BB 256 gram adalah 0,229 ml

Lampiran 9. Data pengujian bioavailabilitas SNEDDS GVT-0

Tabel 4.8. Nilai parameter bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 dalam plasma tikus Wistar jantan yang diberikan secara peroral (n=3)

	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Rerata±SE
$C_{p_{max}}$ (µg/ml)	1,94	2,48	1,25	1,89±0,28
T_{max} (menit)	60	120	5	61,67±25,72
$AUC_{0-\infty}$ (µg.menit/ml)	221,21	221,46	9,17	150,61±5478

Rumus AUC menggunakan metode trapezoid:

$$AUC_{\frac{tn}{tn+1}} = \left(\frac{C_n + C_{n+1}}{2} \right) \times (t_{n+1} - t_n)$$

$$AUC_{0-\infty} = AUC1 + AUC2 + AUC3 + \dots + dst$$

Contoh tikus 1

$$\begin{aligned} AUC(5-15) &= \left(\frac{0,000747491 + 0,136078878}{2} \right) \times (15 - 5) \\ &= 0,684131843 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} AUC_{0-\infty} &= 0,6841 + 9,2261 + 19,9184 + 26,2855 + 82,7066 + 42,2887 + 23,7210 + 16,38 \\ &= 221,2133 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Luas area SNEDDS GVT-0 pada masing-masing tikus (n=3)

Waktu (menit)	Luas area dibawah kromatogram			Rerata±SD
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	
5	1234	1241	18772	7082,33±10123,55
15	3135	10910	6336	6793,67±3907,65
30	16592	13810	9503	13301,67±3571,73
45	23161	12237	7186	14194,67±8165,45
60	28517	6718	7367	14200,67±12402,55
120	12656	36000	1582	16746±17569,74
180	9592	3837		6714,5±4069,39
240	3962	3691		3826,5±191,62



Lampiran 11. Kadar SNEDDS GVT-0 pada masing-masing tikus (n=3)

Waktu (menit)	Kadar SNEDDS GVT-0 (μg)			Rerata \pm SD
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	
5	0	0	1,25	0,42 \pm 0,72
15	0	0,69	0,36	0,35 \pm 0,35
30	1,09	0,89	0,59	0,86 \pm 0,25
45	1,56	0,78	0,42	0,92 \pm 0,58
60	1,94	0,39	0,44	0,92 \pm 0,88
120	0,81	2,48	0	1,09 \pm 1,26
180	0,59	0,19		0,39 \pm 0,28
240	0,19	0,18		0,185 \pm 0,005



Lampiran 12. Perhitungan masing-masing uji bioavailabilitas SNEDDS GVT-0 pada masing-masing tikus (n=3)

a. Tikus 1

Waktu (menit)	Luas area	Cp	Ln cp	$AUC \frac{t_n}{t_{n+1}}$
5	1234	0,000747491	-7,198789	0,684131843
15	3135	0,136078878	-1,994521	9,226169289
30	16592	1,094077027	0,0899111	19,91848793
45	23161	1,561721364	0,4457887	26,2855058
60	28517	1,943012743	0,6642397	82,70662775
120	12656	0,813874849	-0,205949	42,28874493
180	9592	0,595749982	-0,517934	23,72107923
240	3962	0,194952659	-1,634999	16,38257638

Tmax	60
cp max	1,9430
a	1,3572
b	-0,0119
r	-0,9509
k=-b	0,0119
$AUC_{0-\infty}$	221,2133232

b. Tikus 2

Waktu (menit)	Luas area	Cp	Ln cp	$AUC \frac{t_n}{t_{n+1}}$
5	1241	0,001245818	-6,687963	3,454118317
15	10910	0,689577846	-0,371676	11,89204101
30	13810	0,896027622	-0,109784	12,60055528
45	12237	0,784046416	-0,243287	8,813981633
60	6718	0,391151135	-0,938661	86,00626468
120	36000	2,475724354	0,906533	79,85334947
180	3837	0,186053962	-1,681719	10,85142735
240	3691	0,175660283	-1,739203	7,984558333

Tmax	120
cp max	2,4757
a	3,1282
b	-0,022
r	-0,8735
k=-b	0,022
AUC _{0-∞}	221,4562

c. Tikus 3

Waktu (menit)	Luas area	Cp	Ln cp	$AUC_{\frac{tn}{tn+1}}$
5	18772	1,249270307	0,2225596	8,066135118
15	6336	0,363956717	-1,01072	7,150281199
30	9503	0,58941411	-0,528626	7,604114758
45	7186	0,424467858	-0,856919	6,463657721
60	7367	0,437353171	-0,827014	13,88623905
120	1582	0,025521464	-3,668235	4,430809663

Tmax	5
cp max	1,2492
a	0,7279
b	-0,00576
r	-0,9764
k=-b	0,00576
AUC _{0-∞}	47,6012