

**STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS KURKUMIN SEBAGAI
ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS GALUR WISTAR
JANTAN
SKRIPSI**



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

**STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS KURKUMIN SEBAGAI
ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS GALUR 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 :

ZILFA SHOFI IBRANI

12613345

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

SKRIPSI

**STUDI BIOAVAIBILITAS SNEDDS KURKUMIN SEBAGAI
ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS GALUR WISTAR
JANTAN**

Yang diajukan oleh:



Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Lutfi Chabib'.

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

Pembimbing Pendamping

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Dimas Achi Pradana'.

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

SKRIPSI

**STUDI BIOAVALABILITAS SNEDDS KURKUMIN SEBAGAI ANTI
ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS GALUR WISTAR JANTAN**

Oleh:

ZILFA SHOFI IBRANI

12613345

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: 14 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.

(.....)

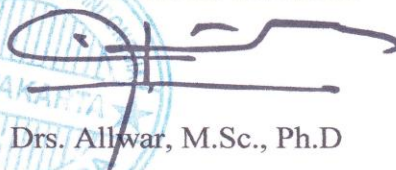
3. Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt.

(.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 29 November 2016



Penulis,

Zilfa Shofi Ibrani



KATA PENGANTAR **Bismillahirrahmanirrahim**

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, dan karunia yang selalu tercurah sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi Bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin sebagai Anti Arthritis Rematoid”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan banyak pihak yang selalu senantiasa bersedia memberikan bantuan dan masukan kepada penulis. Semoga Allah SWT membalas kebaikan mereka dengan sesuatu yang lebih baik. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

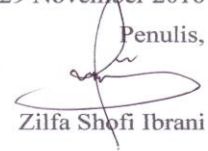
1. Kedua orang tua, kakak, adik, skripsi ini penulis dedikasikan kepada kalian sebagai persembahan kecil atas segala dukungan, pengorbanan, dan kasih sayang yang selalu diberikan kepada penulis.
2. Bapak Lutfi Chabib, S.Farm., M.Sc., Apt dan Bapak Dimas Adhi Pradana, M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing yang selalu senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, masukan, dorongan, dan bantuan kepada penulis selama proses penelitian dan proses penyusunan skripsi ini berlangsung.
3. Ibu Dr. Ika Puspitasari, M.Si., Apt. Dan Ibu Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt. Selaku dosen penguji pada penelitian ini.
4. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
5. Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
6. Mas Bibit Cahya Karunia staf Laboratorium LPOMK, Mas Yusuf selaku operator HPLC Laboratorium Terpadu FMIPA UII, Bapak Sumarna selaku staff Laboratorium Farmakologi, dan Bapak Hartanto selaku staff Laboratorium Teknologi Farmasi yang selalu memberikan bantuan kepada penulis dalam berjalannya penelitian ini.

7. Mba Praptiwi selaku kakak tingkat penulis yang memberikan bimbingan dan saran terhadap jalannya penelitian ini.
8. Tisa Helga Hurimah, Nadya Aqliyah Hayulani, dan Viren Ramadhan selaku teman satu tim dalam pengerjaan skripsi ini. Serta Gandung Winandy, Budy Wijiyanto, Qrio Susanto, Asgar, dan Zul Masri yang membantu dalam jalannya penelitian.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan bagi semua pihak yang membacanya.

Yogyakarta, 29 November 2016

Penulis,



Zilfa Shofi Ibrani



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
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.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
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. Kurkumin.....	6
2.1.4. <i>Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)</i>	7
2.1.5. Parameter Farmakokinetik.....	8
2.1.6. Model Farmakokinetik.....	9
2.1.7. <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	10
2.2. Keterangan Empiris.....	11
2.3. Kerangka Konsep Penelitian.....	11
BAB III METODE PENELITIAN	12

3.1. Alat dan Bahan.....	12
3.2. Sistematika Penelitian.....	14
3.3. Cara Penelitian	15
3.3.1. <i>Ethical Clearence</i>	15
3.3.2. Kondisi HPLC.....	15
3.3.3. Pembuatan SNEDDS Kurkumin.....	15
3.3.4. Pembuatan Fase Gerak.....	15
3.3.5. Pembuatan Larutan Standar SNEDDS Kurkumin.....	16
3.3.6. Uji Pendahuluan.....	16
3.3.7. Uji Bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin.....	20
3.4. Analisis Data.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1. Hasil Uji Pendahuluan.....	23
4.1.1. Penetapan fase gerak.....	23
4.1.2. Penetapan panjang gelombang maksimum.....	24
4.1.3. Penetapan waktu retensi.....	24
4.1.4. Penetapan stabilitas SNEDDS Kurkumin dalam asetonitril.....	25
4.1.5. Optimasi perbandingan plasma dengan asetonitril.....	25
4.1.6. Penetapan persamaan kurva baku baku SNEDDS Kurkumin dalam darah	26
4.1.7. Penetapan kriteria sensitivitas.....	27
4.1.8. Penetapan kriteria akurasi dan presisi.....	29
4.1.9. Penetapan kriteria selektifitas.....	29
4.1.10. Penetapan dosis.....	30
4.1.11. Penetapan waktu sampling.....	30
4.2. Hasil Uji Bioavailabilitas.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur kimia kurkumin.....	7
Gambar 4.1	Spektrum panjang gelombang maksimum kurkumin.....	24
Gambar 4.2	Hasil kromatogram SNEDDS Kurkumin pada panjang gelombang 425 nm.....	25
Gambar 4.3	Hasil kromatogram blanko.....	25
Gambar 4.4	Grafik kurva baku SNEDDS Kurkumin dalam darah pada beberapa seri kadar.....	28
Gambar 4.5	Hasil kromatogram SNEDDS Kurkumin secara invivo.....	33
Gambar 4.6	Grafik rerata SNEDDS Kurkumin dalam darah pada 3 ekor tikus.....	34



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Persentase degradasi SNEDDS Kurkumin dalam asetonitril dengan penyimpanan suhu -20°C.....	26
Tabel 4.2	Luas area kromatogram SNEDDS Kurkumin dalam beberapa perbandingan volume darah tikus dengan asetonitril.....	27
Tabel 4.3	Luas area kromatogram SNEDDS Kurkumin dalam darah pada beberapa seri kadar.....	28
Tabel 4.4	Nilai akurasi dan presisi pada penetapan kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah.....	30
Tabel 4.5	Nilai kesalahan acak pada penetapan kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah.....	31
Tabel 4.6	Data kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah tikus yang telah diberikan SNEDDS Kurkumin secara peroral.....	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	<i>Ethical Clearence</i>	41
Lampiran 2	Penetapan persamaan kurva baku dalam darah dan kriteria sensitivitas..	43
Lampiran 3	Data perhitungan sensitifitas.....	44
Lampiran 4	Perhitungan persen <i>recovery</i>	45
Lampiran 5	Perhitungan dosis SNEDDS Kurkumin.....	47
Lampiran 6	Data perhitungan parameter bioavailabilitas.....	48
Lampiran 7	Perhitungan persen degradasi.....	49
Lampiran 8	Luas kromatogram SNEDDS Kurkumin dalam darah pada setiap waktu sampling.....	50
Lampiran 9	Perhitungan parameter bioavailabilitas.....	51



STUDI BIOAVAILABILITAS SNEDDS KURKUMIN SEBAGAI ANTI ARTRITIS REMATOID PADA TIKUS GALUR WISTAR JANTAN

INTISARI

Kurkumin merupakan senyawa bahan alam dapat menjadi salah satu terapi artritis rematoid. Senyawa ini dapat menghambat adanya nyeri dan inflamasi yang terjadi. Kurkumin memiliki sifat sukar larut dalam air sehingga memiliki pengaruh pada fase absorpsi dalam tubuh. Proses absorpsi yang terjadi tentunya berhubungan dengan ketersediaan hayati yang terjadi di dalam tubuh. Profil bioavailabilitas diperlukan guna memperhitungkan nasib obat di dalam tubuh seperti waktu yang akan diperlukan obat untuk mencapai kadar maksimal yang dapat menimbulkan efek yang diinginkan. Salah satu pengembangan yaitu dengan membuat senyawa kurkumin menjadi sediaan *Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Dengan diaplikasikannya senyawa kurkumin dalam sediaan SNEDDS, diharapkan senyawa kurkumin dapat terdispersi secara cepat dan bentuk nano emulsi yang ada di dalam proses sediaan tersebut dapat mudah terabsorpsi sehingga lebih banyak senyawa aktif kurkumin yang masuk ke dalam sirkulasi. Untuk mendapatkan profil bioavailabilitas tersebut, perlu dilakukan suatu studi bioavailabilitas pada SNEDDS Kurkumin yang belum dilakukan pada penelitian sebelumnya. Sebelum dilakukan uji bioavailabilitas dilakukan validasi metode HPLC yang meliputi parameter akurasi, presisi, selektivitas, dan sensitivitas. Fase gerak yang digunakan pada analisis ini yaitu menggunakan perbandingan asetonitril:metanol:aquabides:asam asetat (49%:20%:30%:1%) dan dengan fase diam kolom C₁₈ detektor Uv-Vis. Pengambilan sampel plasma dari tikus Wistar jantan, yang diekstraksi cair-cair menggunakan asetonitril, dilakukan pada rentan waktu menit ke 5;15;30;45;60;120;180;240. Dihasilkan profil bioavailabilitas meliputi parameter C_{pmax}, t_{max}, dan AUC₍₀₋₁₂₀₎ berturut-turut yaitu 0,72 µg/mL, 85 menit, dan 60,71 µg mL⁻¹.menit.

Kata Kunci: Kurkumin, SNEDDS, HPLC, Studi Bioavailabilitas

BIOAVAILABILITY STUDY OF SNEDDS CURCUMIN AS ANTI REMATOID ARTHRITIS IN MALE RATS WISTAR

ABSTRACT

Curcumin is natural compound that can be therapy for rematoid arthritis. This compound can inhibiting painful and inflamation from the rematoid arthritis. Curcumin can not be soluble with the water so that it have a relation with the absorbtion phase in the body. Absorbtion process have a relation with the bioavalability that happen in people's body. Bioavalability profile is needed to measure about the nature of the drugs in the body like the time that can be reach by drugs in to high concentration with the desired effectivity. One of the drug development is with the make curcumin in to Self Nano Emulsifying Delivery Drug System (SNEDDS). To have that bioavailability profile, need to conducted some bioavailability study of SNEDDS Curcumin that did not conducted yet in the study before. Before the study of bioavailability, need to be conducted some method validation in the use of HPLC include the parameter of accuration, precision, selectivity, and sensitivity. Mobile phase that use was acetonitril:metanol:aquabides:acetat acid and column C₁₈ with the Uv-Vis as detector. Sample plasma preparation from the male rat Wistar, that extracted liquid-liquid by acetonitril, conducted at the 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180; 240 minutes. It produced bioavailability profile include C_{pmax}, t_{max}, dan AUC in a row are 0,72 µg/mL , 85 minutes, dan 60,71 µg mL⁻¹.minutes.

Keywords: Curcumin, SNEDDS, HPLC, Bioavailability

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Arthritis rematoid merupakan penyakit yang terjadi akibat inflamasi sendi sinovial yang berkaitan dengan infiltrasi sel-sel leukosit seperti limfosit T CD4+, makrofag, dan sel plasma yang berperan penting dalam patogenesisnya⁽¹⁾. Terjadinya inflamasi ini akan menyebabkan sulit bergerak, pembengkakan dan kekurangan fungsi dari tiap persendian. Gangguan sendi tersebut tentunya akan mengganggu mobilitas dari pasien penderita arthritis rematoid. Akan tetapi penyakit ini tidak hanya akan mengganggu mobilitas penderita, hal ini juga akan mengganggu alur sistemik sehingga dapat mengganggu fungsi dari suatu organ.

Sejumlah studi telah menjelaskan mengenai epidemiologi arthritis kronik pada anak-anak. Oen dan Cheang telah melakukan kajian komprehensif mengenai uji deskriptif epidemiologi dari arthritis kronik pada anak-anak. Dilakukan juga analisis beberapa faktor yang dapat menjelaskan perbedaan kasus insiden yang terjadi pada tingkat prevalensi yang telah ada. Seperti ilustrasi pada sebuah kajian, mayoritas uji yang telah dilakukan merupakan uji yang berbasis klinis sehingga dapat dimungkinkan terjadinya pembiasan hasil. Pada penelitian Oen dan Chang pada tahun 1996 beberapa populasi menunjukkan bahwa prevalensi arthritis rematoid diperkirakan mencapai angka 1 hingga 2 per 1000 anak dan kasus baru yang terjadi mencapai 11 hingga 14 kasus per anak⁽²⁾.

Kelainan lebih parah akan terjadi apabila penyakit ini tidak cepat diberikan tindakan terapi. Pada usia di bawah 20 tahun memiliki resiko yang lebih kecil dalam mengalami arthritis rematoid karena pada usia tersebut bagian-bagian persendian dan tulang masih mengalami pertumbuhan dan perkembangan sehingga dapat teratasi ketika persendian mengalami degradasi sendi seperti yang terjadi pada penderita arthritis rematoid.

Kurkumin yang merupakan senyawa bahan alam yang banyak terkandung pada kunyit dapat menjadi salah satu terapi arthritis rematoid. Senyawa ini dapat menghambat adanya nyeri dan inflamasi yang terjadi. Sebagai senyawa yang

memiliki khasiat multiseluler, kurkumin mampu mengurangi adanya sekresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α). Kurkumin memiliki nilai kelarutan rendah dalam air. Sehingga kekurangan tersebut dapat mempengaruhi kadar yang dapat terabsorpsi dan masuk ke dalam sirkulasi. Kelarutan dalam air yang kecil akan mengurangi proses absorpsi dari jumlah senyawa aktif yang masuk ke dalam sirkulasi. Jangka waktu pengobatan artritis rematoid yang cukup lama juga akan berpengaruh pada efektifitas terapi. Salah satu pengembangan dapat dilakukan dengan membuat senyawa kurkumin menjadi sediaan *Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System* atau biasa disebut SNEDDS. Dengan diaplikasikannya senyawa kurkumin dalam sediaan SNEDDS, diharapkan senyawa kurkumin dapat terdispersi secara cepat dan bentuk nano emulsi yang ada di dalam proses sediaan tersebut dapat mudah terabsorpsi sehingga lebih banyak senyawa aktif kurkumin yang masuk ke dalam sirkulasi.

Proses absorpsi yang terjadi tentunya berhubungan dengan ketersediaan hayati yang terjadi di dalam tubuh. Parameter absorpsi dapat menggambarkan ketersediaan hayati dari senyawa kurkumin yang diinginkan. Pada penelitian sebelumnya, belum dilakukan uji bioavailabilitas pada sediaan SNEDDS Kurkumin yang memiliki aktivitas sebagai anti artritis rematoid. Profil bioavailabilitas akan diperlukan guna memperhitungkan nasib obat di dalam tubuh seperti waktu yang akan diperlukan obat untuk mencapai kadar maksimal yang dapat menimbulkan efek yang diinginkan. Ataupun untuk memastikan bahwa obat tersebut dapat efektif dan bertahan di dalam darah dengan jangka waktu yang diperlukan.

Obat herbal yang banyak digunakan oleh masyarakat umum dianggap memiliki efek samping yang sedikit dibandingkan dengan obat sintetik yang ada di pasaran. Meskipun dianggap bahan alami, obat herbal memiliki banyak interaksi dengan obat sintetik lain yang dapat berdampak negatif bagi efek yang diberikan. Banyaknya senyawa aktif farmakologi pada obat herbal, berkemungkinan dapat meningkatkan interaksi. Obat herbal dapat berinteraksi dengan obat sintetik dan dapat mempengaruhi sifat farmakokinetik dan farmakodinamik. Pada farmakokinetik, obat herbal dapat memberikan efek peningkatan absorpsi, distribusi,

metabolisme, dan ekskresi obat sintetik sehingga dapat mempengaruhi aksi obat secara kuantitatif dan kualitatif⁽³⁾.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan, maka penelitian ini diharapkan dapat menjawab permasalahan yang peneliti rumuskan sebagai berikut:

Bagaimana nilai parameter bioavailabilitas *SNEDDS* Kurkumin sebagai anti artritis rematoid pada tikus Wistar jantan?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Mengetahui nilai parameter bioavailabilitas *SNEDDS* Kurkumin 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 bioavailabilitas *SNEDDS* Kurkumin sehingga dapat menjadi pertimbangan sebagai obat baru untuk artritis rematoid.
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi bagi tenaga kesehatan terkait kemungkinan khasiat *SNEDDS* kurkumin sebagai anti artritis reumatoid.
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) adalah penyakit autoimun yang berkaitan dengan penyakit yang bersifat progresif, komplikasi sistemik, kematian lebih dini, dan permasalahan sumber ekonomi hidup. Penyakit ini merupakan peradangan sistemik yang paling umum ditandai dengan keterlibatan sendi yang simetris. AR dapat terbentuk karena adanya inflamasi dan hiperplasia dari suatu cairan sinovial, dapat juga terjadi karena produksi autoantibodi yang merupakan *rheumatoid factor* dan *anticitullinated protein antibody* (ACPA). terjadinya kerusakan kartilago dan jaringan tulang juga dapat menyebabkan AR. Walaupun penyakit ini berhubungan dengan jaringan tulang, kondisi saluran sistemik juga dapat memicu AR, termasuk di dalamnya system kardiovaskuler, pernafasan, adanya penyakit psikologi dan rangka⁽⁴⁾.

Penyebab dari terjadinya AR belum diketahui pasti. Akan tetapi sudah banyak perkembangan penelitian mengenai terapi dari penyakit tersebut. Angka kematian yang terjadi cenderung lebih tinggi pada pasien dengan AR dibandingkan dengan pasien sehat atau dengan pasien yang memiliki kondisi kardiovaskuler yang buruk ataupun pasien dengan komplikasi penyakit lainnya⁽¹⁾.

Artritis rematoid memiliki keterkaitan dengan faktor lingkungan dan adanya kemungkinan penyakit (keturunan). Dari penelitian yang dilakukan terhadap pasien AR yang memiliki gen kembar dengan melibatkan faktor genetik pada AR didapatkan dengan tingkat penyesuaian 15% hingga 30% pada kembar monozigot dan 5% pada kembar dizigot⁽⁴⁾. Keterkaitan dengan *Human Leukosit Antigen* yang disebut (HLA)-DRB1 telah dikonfirmasi terdapat pada pasien yang positif memiliki faktor AR ataupun ACPA. Penemuan ini menyatakan bahwa adanya pengaruh *T-cell* atau antigen memiliki peran dalam peningkatan respon adaptif terhadap sistem autoimun⁽⁴⁾.

2.1.2. Terapi Arthritis Rematoid

Pengembangan pada pengobatan arthritis reumatoid merupakan tantangan besar karena penyakit ini termasuk ke dalam penyakit kronis yang memiliki persentase 1% dalam suatu populasi. Dalam pengembangannya, pengobatan arthritis reumatoid memiliki tujuan untuk menurunkan efek inflamasi dan mengobati kerusakan yang terjadi pada kartilago. Pada awal pengobatan pada pasien arthritis reumatoid akan diberikan *metotrexate* dalam dosis adekuat baik dalam monoterapi ataupun dikombinasikan dengan glukokortikoid yang merupakan jenis DMARDs (*Disease-modifying drugs*) lain⁽⁶⁾.

Biaya pengobatan untuk mengobati arthritis reumatoid masih terhitung sangat tinggi. Bahkan pengobatan ini memiliki biaya lebih tinggi dibandingkan dengan pengobatan pada penyakit diabetes melitus ketika pengobatan dikombinasikan dengan pengobatan terapi biologi. Banyak tenaga medis yang merekomendasikan *metotrexate* untuk memulai terapi arthritis reumatoid walaupun hanya 30% pasien yang mengalami penurunan efek penyakit dengan menggunakan monoterapi *metotrexate*. Beberapa agen biologi yang sudah terdaftar dalam FDA (*Food and Drug Administration*) dan beberapa golongan DMARDs konvensional yang lebih efektif dibandingkan dengan placebo yang diberikan hanya dengan *metotrexate* saja. Akan tetapi, banyak tenaga medis yang juga menggunakan inhibitor TNF (*Tumor Necrosis Factor*) dibandingkan dengan penggunaan *metotrexate*⁽⁷⁾.

Beberapa tahun ini, *metotrexate* digunakan sebagai terapi lini pertama bagi pasien arthritis reumatoid. Akan tetapi dengan dosis rendah, terapi ini tidak menimbulkan peningkatan efektifitas. Sehingga efektifitas ini akan lebih meningkat jika *metotrexate* dikombinasikan dengan golongan DMARDs yang lain yang memiliki efektifitas sebaik agen biologi. Sulphasalazine memiliki efek anti inflamasi dan anti mikroba dan dapat digunakan sebagai monoterapi ataupun sebagai kombinasi dengan hidroklorosin ataupun dengan *metotrexate*⁽⁷⁾.

DMARDs memiliki onset terapi yang lambat, sedangkan dalam beberapa hari glukokortikoid dapat menghilangkan tanda maupun gejala dan glukokortikoid dapat juga digunakan sebagai terapi alternatif. Glukokortikoid intraartikuler dapat

digunakan untuk memperoleh aktifitas kontrol yang lebih cepat dengan tingkat toksisitas yang rendah⁽⁸⁾.

2.1.3. Kurkumin

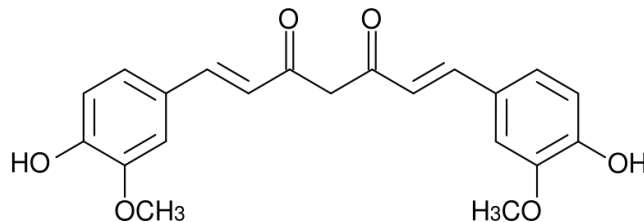
Kurkumin merupakan hasil dari produksi metabolit yang didapatkan di dalam rimpang faili Zingiberaceae antara lain dari tumbuhan kunyit (*Curcuma domestica*) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Klasifikasi dari tumbuhan kunyit dan temulawak dapat diuraikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermathophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monokotil
Orde	: Zingiberales
Gen	: Curcuma

Rumus molekul dari kurkumin yaitu $C_{21}H_{20}O_6$ (BM=368). Sifat kimia dari kurkumin salah satunya yaitu adanya perubahan pH yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pada suasana asam kurkumin dapat berubah warna menjadi kuning jingga dan pada suasana basa dapat berubah warna menjadi merah⁽⁹⁾.

Kurkumin dikenal sebagai senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas biologis yang banyak didapat dari zat kuning yang terkandung. Zat kuning tersebut memiliki banyak fungsi yaitu dapat digunakan sebagai zat penambah warna pada makanan ataupun digunakan sebagai obat-obatan. Kurkumin dalam suasana basa atau pada lingkungan pH 8,5-10,0 dalam waktu yang relatif lama dapat mengalami proses disosiasi, kurkumin mengalami degradasi yang kemudian membentuk asam ferulat dan feruloilmetan. Warna kuning coklat feruloilmetan akan mempengaruhi warna merah pada kurkumin yang seharusnya terjadi. Adanya cahaya dapat menyebabkan terjadinya degradasi fotokimia dari senyawa kurkumin. Hal ini dikarenakan adanya gugus metilen aktif(-CH₂-) diantara dua gugus keton pada senyawa tersebut. Kurkumin memiliki bau khas dan tidak memiliki sifat toksik.

Jumlah kadar kurkumin yang akan dikonsumsi oleh manusia adalah 100 mg/hari sedangkan pada tikus yaitu dengan kadar 5 g/hari⁽⁹⁾.



Gambar 2.1: Struktur kimia kurkumin

2.1.4. *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)*

Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS) didefinisikan sebagai campuran isotropik minyak, surfaktan dan kosurfaktan yang dengan cepat membentuk nanoemulsi pada pencampuran dengan air. Proses self-nano-emulsifikasi terjadi secara spontan karena tidak memerlukan tambahan perlakuan atau energi dari luar. Nanoemulsi yang terbentuk biasanya memiliki distribusi ukuran tetesan yang sempit, yaitu kurang dari 100 nm. Dalam beberapa tahun terakhir, *SNEDDS* sebagai lipid dan surfaktan menunjukkan pencapaian praktis dalam meningkatkan bioavailabilitas oral senyawa obat yang sukar larut dengan menghadirkan dan mempertahankan obat dalam keadaan terlarut, pada tingkat molekuler, dalam tetesan kecil minyak, selama waktu transit melewati transit melalui saluran pencernaan⁽¹⁰⁾.

2.1.5. **Parameter Farmakokinetik**

Farmakokinetik merupakan suatu ilmu yang mempelajari yang mengaitkan antara suatu regimen dosis ataupun perubahan konsentrasi obat dalam darah yang ada di dalam tubuh dalam suatu waktu. Studi pengukuran konsentrasi ini dapat dilakukan dengan menggunakan darah, serum, ataupun plasma sehingga didapatkan suatu persamaan antara konsentrasi dengan waktu. Pada tiap individu dapat memiliki karakter farmakokinetik yang dapat berubah-ubah. Oleh sebab itu

dibutuhkan adanya persamaan profil untuk mendapatkan efektifitas konsentrasi obat yang optimal⁽¹¹⁾.

Darah, plasma, dan serum merupakan cairan hayati yang paling sering digunakan dalam uji farmakokinetika. Karena pada darah merupakan perantara yang paling sering digunakan obat untuk mencapai reseptornya, dan darah juga memiliki tingkat kemudahan yang tinggi untuk dilakukan sebuah uji dibandingkan dengan jaringan tubuh yang lain⁽¹²⁾.

Proses yang dicangkup oleh farmakokinetika yaitu absorpsi, distribusi, dan ekskresi. Metabolisme atau biotransformasi termasuk kedalam proses eliminasi obat⁽¹¹⁾.

1) Absorpsi

Merupakan proses masuknya obat yang diperantarai oleh darah. Saluran yang digunakan bergantung pada target obat yang dituju. Dapat terjadi di saluran cerna, kulit, paru-paru, otot, dan lain-lain.

2) Distribusi

Merupakan proses obat yang telah melalui fase absorpsi kemudian disalurkan merata ke seluruh tubuh khususnya pada sel target yang dituju. Obat yang telah melalui hati akan keluar bersamaan dengan metabolitnya yang kemudian juga akan disalurkan keseluruh jaringan tubuh melalui peredaran darah.

3) Metabolisme

Proses ini terjadi di organ hati. Adapun organ yang dapat memetabolisme obat antara lain dinding usus, ginjal, paru, darah, otak, dan kulit. Pada proses ini terjadi perubahan dari obat yang bersifat non polar menjadi obat yang memiliki sifat polar. Hal ini bertujuan untuk mengeksresikan obat yang sudah tidak aktif lagi melalui ginjal atau empedu.

4) Ekskresi

Obat diekskresi melalui ginjal baik dalam bentuk utuh, maupun dalam bentuk metabolit. Dalam ginjal, ekskresi melibatkan beberapa proses yaitu filtrasi glomerulus, sekresi aktif di tubulus proksimal, dan reabsorpsi pasif di sepanjang tubulus dista. Adapun obat juga dapat diekskresikan melalui kulit, bersamaan dengan keluarnya keringat, paru-paru, empedu, air susu, dan usus.

Secara umum, parameter farmakokinetika dibagi menjadi tiga golongan yaitu parameter primer, parameter sekunder, dan parameter turunan. Parameter primer merupakan parameter yang hanya dipengaruhi langsung oleh variabel biologis. Contohnya yaitu volume distribusi (V_d), klirens (Cl), dan kecepatan absorpsi (K_a).

Parameter sekunder merupakan parameter yang jumlahnya bergantung pada hasil parameter primer. Contoh dari parameter sekunder adalah waktu paruh ($t_{1/2}$) yang merupakan waktu yang dibutuhkan oleh obat meluruh sebanyak 50% dari jumlah obat semula dan kecepatan eliminasi (K_{el}).

Parameter turunan terdiri dari waktu obat dalam mencapai kadar puncak (t_{maks}), kadar puncak ($C_{p_{maks}}$) dan *Area Under Curve* (AUC). Kadar puncak merupakan kadar tertinggi yang dicapai obat dalam darah, serum, ataupun plasma. Sedangkan AUC merupakan permukaan di bawah kurva yang menggambarkan perubahan naik dan turunnya kadar pada plasma bersamaan dengan adanya nilai waktu yang dicapai. Parameter ini dapat digunakan sebagai pembanding kadar masing-masing obat dalam plasma bila penentuan kecepatan eliminasinya tidak mengalami perubahan.

2.1.6. Model Farmakokinetik

Kadar suatu zat aktif dalam spesimen darah belum bisa menjadi acuan dalam menentukan proses ADME yang ada di dalam tubuh. Permodelan farmakokinetik dibutuhkan untuk menyederhanakan bentuk struktur tubuh yang kompleks menjadi bentuk matematis sehingga lebih mudah dalam menjelaskan nasib obat di dalam tubuh⁽¹¹⁾. Ada tiga jenis model kompartemen, yaitu:

1) Model satu kompartemen

Tubuh dianggap memiliki satu keseimbangan cepat dengan suatu kompartemen darah. Dan pada kompartemen ini, konsentrasi obat diseluruh tubuh adalah sama sehingga dalam proses pendistribusiannya merata⁽¹¹⁾.

2) Model dua kompartemen

Pada model ini tubuh dianggap memiliki dua kompartemen yaitu kompartemen sentral dan kompartemen perifer. Kompartemen sentral merupakan bagian atau jaringan tubuh yang banyak dilalui oleh darah seperti jantung, hati, paru-paru. Sementara kompartemen perifer merupakan bagian atau jaringan tubuh yang jarang dilalui oleh darah seperti otot, kulit, dan jaringan lemak. Pada kompartemen perifer obat lebih sulit untuk terdistribusi. Perbedaan model ini dengan model satu kompartemen terdapat pada proses distribusinya karena pada model dua kompartemen memiliki kompartemen perifer. Akan tetapi kedua model ini memiliki kesamaan dalam hal eliminasi karena masih melalui kompartemen sentral⁽¹¹⁾.

3) Model non kompartemen

Pada model ini tidak ada pemberlakuan kompartemen sebagai gambaran tubuh dalam mendistribusi obat. Meskipun beberapa kompartemen dapat menggambarkan nasib obat di dalam tubuh, akan tetapi kondisi satu individu dengan individu yang lain memiliki perbedaan. Sehingga nasib obat di dalam tubuh bisa saja bergantung pada kondisi individu tersebut. Nasib obat di dalam tubuh dihitung secara matematis yaitu dengan menggunakan perhitungan AUC ataupun AUMC (*Area Under Moment Concentration*) yang keduanya diperoleh dari metode trapezoid dan kurva kadar obat dalam darah terhadap waktu⁽¹¹⁾.

2.1.7. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Kromatografi dapat dideskripsikan sebagai proses transfer massa yang melibatkan adsorpsi menggunakan fase diam yang bersifat non polar dan fase gerak bersifat polar yang mentitrasi melewati suatu kolom. Komponen yang aktif dari kolom, fase diam, merupakan partikel granular yang dibuat dari partikel solid (contoh: silica, polimer, dan lain-lain) dengan ukuran sebesar 2-50 μm . komponen dari sebuah campuran sampel memiliki perbedaan antara satu dengan yang lain. Hal ini dimaksudkan sebagai adanya perbedaan interaksi partikel sorben bergantung pada polaritas dari suatu sampel. Pelarut yang digunakan berupa cairan seperti air,

asetonitril dan atau methanol yang komposisi dan temperaturnya memiliki peran penting dalam proses pemisahan dengan mempengaruhi interaksi antara komponen dengan sorben. Interaksi ini terjadi alamiah seperti ikatan hidropobik, dipole-dipole ataupun ikatan ionic⁽¹³⁾.

HPLC merupakan teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan campuran dari komponen di dalam analisis kimia dan biokimia dengan tujuan mengidentifikasi, kuantifikasi, atau pemurnian campuran komponen individual⁽⁹⁾.

2.2. Keterangan Empiris

Dari penelitian ini akan didapatkan nilai farmakokinetik dengan parameter $C_{p_{max}}$, t_{max} serta $AUC_{(0-120)}$ sehingga didapatkan hasil profil bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin pada tikus Wistar jantan.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) *Shimatdzu*, seperangkat alat sentrifugasi, alat *vortex*, neraca analitik kepekaan 0,1 mg, *stopwatch*, timbangan hewan uji kepekaan 0,1 g (Ohaus), alat ultrasonifikasi, mikropipet 10 μ l, 100 μ l dan 1000 μ l, spuit injeksi 1 ml dan 5 ml, jarum suntik dan kanul per oral, serta alat-alat gelas lain yang biasa digunakan di laboratorium.

3.1.2. Bahan

a. Bahan uji

Bahan uji yang digunakan kurkumin, Curcumin *Synthesis* produksi MERCK, yang telah dibuat menjadi sediaan SNEDDS Kurkumin, saringan millipore 0,45 μ m, aquabides, asetonitril 5%, asam asetat, metanol, tabung *eppendorf*, pipa kapiler, *yellow*, dan *blue* tip.

b. Subyek uji

Penelitian ini menggunakan tikus *Wistar* jantan bobot 200-300 gram, sehat dan dewasa (umur 2-3 bulan) sebanyak 5 ekor yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi dan Farmakoterapi Program Studi Farmasi, Universitas Islam Indonesia. Digunakan kriteria penggunaan tikus *Wistar* jantan yaitu sebagai berikut:

a) Kriteria inklusi:

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

b) Kriteria eksklusi

Adanya ketidaksesuaian berat badan, cacat, dan sakit pada saat penerimaan hewan uji sebelum masa penelitian.

c) Kriteria *drop out*:

Adanya penurunan signifikan pada berat badan subjek uji ataupun terjadinya sakit dan kematian pada subjek uji selama masa penelitian berlangsung.

d) Aklimatisasi

Merupakan proses yang dilakukan dpada penelitian dengan tujuan memberikan kondisi hewan uji agar dapat menyesuaikan dengan suasana kondisi laboratorium dan menghilangkan stres akibat transportasi. Aklimatisasi dilakukan selama 10 hari pada kondisi standar laboratorium dengan suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$, diberi makan pelet dan minum *ad libitum*, siklus terang gelap 12/12 jam serta penggantian jerami.

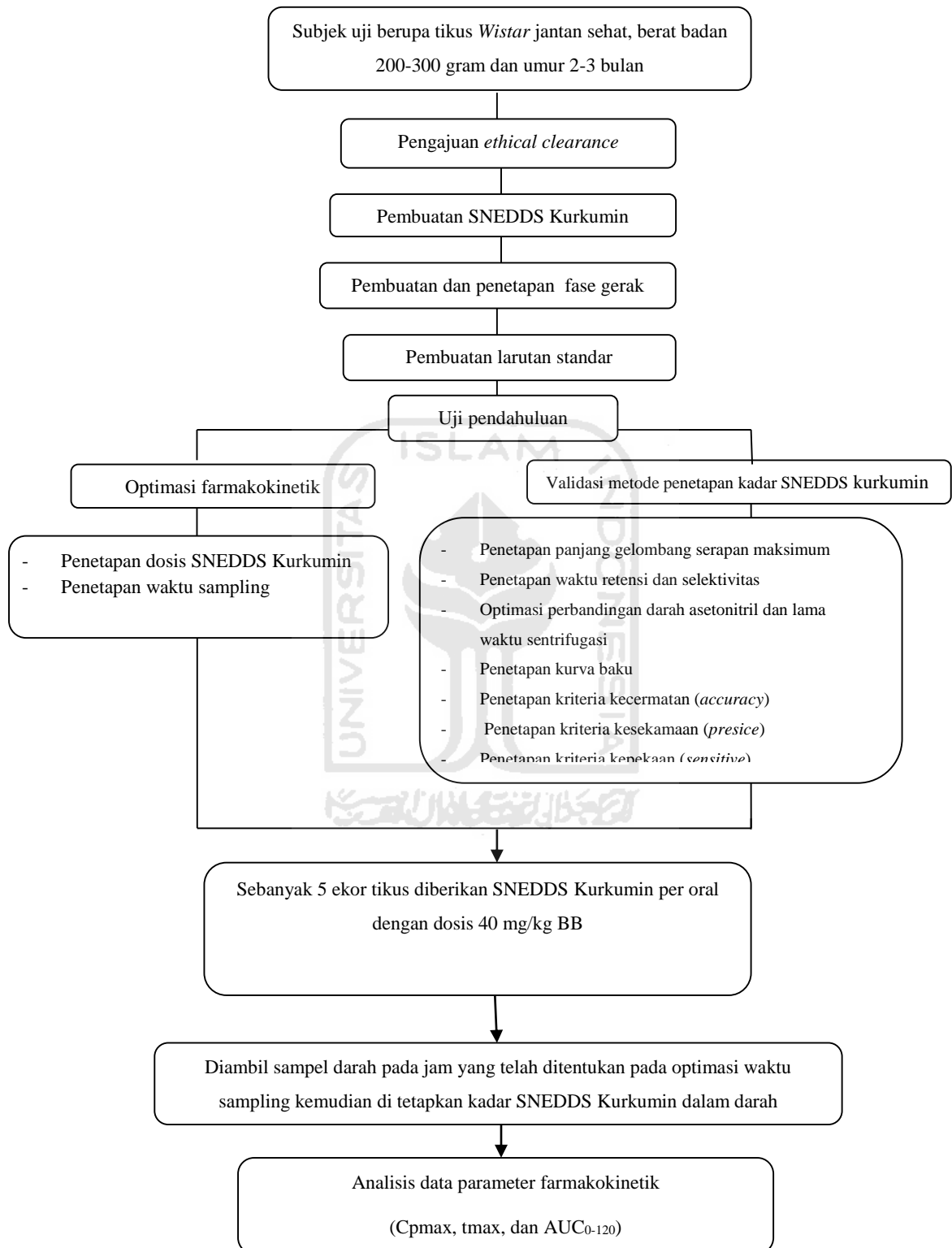
e) Cara pengorbanan

Hewan uji dimusnahkan dengan cara dilakukan dislokasi leher hewan uji.

f) Cara pemusnahan

Hewan uji yang telah dikorbankan, dimusnahkan dengan menggunakan *incenerator* pada laboratorium.

3.2.Sistematika Penelitian



3.3.1. Cara Penelitian

3.3.1. Ethical Clearance

Penelitian diajukan pada Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. *Ethical Clearance* (kelayakan etik) merupakan tanda kelayakan penelitian yang dilakukan berhubungan dengan perlakuan terhadap suatu makhluk hidup sehingga dapat sesuai dengan standar dan etika yang berlaku.

3.3.2. Kondisi High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) fase terbalik yang digunakan adalah seperangkat alat HPLC *Shimadzu* dengan fase diam kolom *reserved phase* C₁₈ dan fase gerak dengan perbandingan asetonitril: metanol: aquabides: asam asetat (49%: 20%: 30%: 1% (b/v)). Laju alir 1,5 mL/min dan elusi diamati dengan detektor UV-vis pada panjang gelombang 425 nm. Volume injeksi yang digunakan yaitu sebanyak 20 µl.

3.3.3. Pembuatan SNEDDS Kurkumin

Pembuatan SNEDDS Kurkumin berdasarkan formula optimasi dari penelitian sebelumnya yaitu formulasi pada sediaan SNEDDS GVT-0 yang merupakan turunan dari senyawa kurkumin⁽²⁾.

3.3.4. Pembuatan fase gerak

Fase gerak untuk analisis kurkumin menggunakan HPLC dibuat dengan campuran asetonitril, metanol, aquabides, dan asam asetat dengan perbandingan 49:20:30:1 (b/v) dalam labu ukur 100 ml⁽¹⁴⁾.

Fase gerak yang akan digunakan terlebih dahulu disaring melalui saringan millipore 0,45 µm dan telah dihilangkan gas didalamnya.

3.3.5. Pembuatan larutan standar SNEDDS Kurkumin

Dibuat dengan melarutkan SNEDDS Kurkumin sebanyak 20 μ L ke dalam 10 mL aquabides sehingga didapat larutan stok 80 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan kadar 25 ppm yaitu dengan melarutkan 1600 μ L larutan stok dalam 5 mL metanol sebagai pelarut.

3.3.6. Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan SNEDDS Kurkumin mengikuti metode penelitian sebelumnya oleh K. Hao, dkk dari penetapan kurkumin dalam plasma anjing dan metode penelitian kurkumin dalam plasma tikus dengan HPLC-MS oleh Anchang Liu, dkk yang dimodifikasi oleh peneliti.

3.3.6.1. Penetapan dosis SNEDDS kurkumin kurkumin

Dosis SNEDDS kurkumin yang digunakan dibagi menjadi 2 kelompok dan diambil berdasarkan dosis SNEDDS kurkumin dari penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa dosis SNEDDS Kurkumin 40 mg/kg BB merupakan dosis optimal dan dosis 80 mg/kg BB mampu menurunkan indeks artritis sebesar 20,06%, kemudian dikonversikan dari dosis manusia ke dosis tikus:

1) Dosis SNEDDS kurkumin 40 mg/kg BB

Dosis konversi = 40 mg/kg BB tikus

= 40 mg/ 1000 g BB tikus

= 8 mg/200 g BB tikus

2) Konsentrasi dalam 1 sediaan SNEDDS Kurkumin yaitu 222,22 mg/5 mL

Konsentrasi dalam 1 mL = 44,46 mg/mL

3) Volume pemejanaan = $\frac{44,46 \text{ mg}}{8 \text{ mg} \times 1 \text{ mL}}$

$$= 0,179 \text{ mL} / 200 \text{ g BB tikus}$$

3.3.6.2. Penetapan kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah

Penetapan kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah dengan HPLC mengikuti penelitian oleh K. Hao, dkk mengenai penetapan kurkumin dalam plasma anjing dan metode penelitian kurkumin dalam plasma tikus dengan HPLC-MS oleh Anchang Liu, dkk yang kemudian dimodifikasi oleh peneliti⁽⁶⁾. Darah sebanyak 1 ml dari vena lateralis ekor ditampung di *eppendorf* yang telah diberikan heparin sebanyak 10 μ l kemudian dihomogenkan. Darah dipindahkan ke tabung reaksi kemudian vortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Beningan yang diambil kemudian ditambahkan asetonitril sebanyak 400 μ L untuk dimasukkan ke vial injektor HPLC sebanyak 20 μ L secara autoinjeksi. Fase gerak dengan perbandingan asetonitril: metanol: aquabides: asam asetat (49%: 20%: 30%: 1% (b/v)) dengan laju alir 1,5 mL/min dan panjang gelombang 425 nm.

3.3.6.3. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum SNEDDS Kurkumin

SNEDDS Kurkumin dilarutkan dalam pelarut metanol dengan kadar 25 μ g/ml kemudian dibaca pada Spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang batas bawah 400 nm dan batas atas 800 nm.

3.3.6.4. Penetapan waktu retensi SNEDDS kurkumin

SNEDDS Kurkumin murni yang semula memiliki konsentrasi 40000 ppm diencerkan terlebih dahulu kemudian dilarutkan dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 25 ppm. Hasil larutan dimasukkan dalam vial injektor, diambil secara autoinjeksi sebanyak 20 μ L ke dalam HPLC

dengan menggunakan fase diam C₁₈, fase gerak campuran asetonitril, metanol, aquabides, dan asam asetat (49:20:30:1, b/v) pada laju alir 1,5 ml/menit dengan panjang gelombang maksimum yang didapatkan sebelumnya. Kemudian ditetapkan waktu retensi dan selektivitas SNEDDS kurkumin.

3.3.6.5. Optimasi perbandingan darah asetonitril

Kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah 25 ppm ditambahkan dengan masing-masing kadar asetonitril dengan tiga macam perbandingan darah dan asetonitril yaitu (1:1), (1:2) dan (1:3). Masing-masing perbandingan tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit Hasil yang diperoleh dibandingkan dan dipilih yang terbaik untuk digunakan pada proses selanjutnya.

3.3.6.6. Penetapan stabilitas SNEDDS Kurkumin dalam asetonitril

Dibuat larutan SNEDDS Kurkumin dengan kadar 6 ppm dalam darah kemudian ditambahkan asetonitril sebanyak 400 µl disimpan dalam suhu 20°C selama 24 jam. Kemudian ditetapkan kadar SNEDDS Kurkumin yang tersisa dengan HPLC. Hasil yang diperoleh dinyatakan sebagai persentase degradasi SNEDDS Kurkumin selama penyimpanan dalam plasma.

3.3.6.7. Penetapan kurva baku SNEDDS Kurkumin

Kurva baku SNEDDS Kurkumin dibuat dalam plasma hewan uji dengan pelarut aquabides. Larutan stok SNEDDS Kurkumin yang tersedia yaitu memiliki konsentrasi sebesar 40000 ppm diencerkan 500 kali menjadi 80 ppm dan kemudian diencerkan kembali menjadi 25 ppm dan 6,5 ppm. yang dibutuhkan adalah 10 ml konsentrasi 25 ppm dan 5 ml konsentrasi 6,5 ppm. Seri kadar dibuat dalam darah adalah 0,1-6,4 ppm

(0,5 ; 1,5 ; 2 ; 3 ; 4,5 ; 6). Dalam eppendorf dimasukkan darah dan stok SNEDDS Kurkumin sesuai perhitungan dan ditambahkan asetonitril kemudian dilakukan vortex dan sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Beningan yang didapat diinjeksikan ke dalam HPLC sebanyak 20 μ l diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yaitu λ 425 nm⁽⁵⁾.

3.3.6.8. Penetapan kriteria kepekaan (*sensitivity*)

Dibuat larutan stok SNEDDS Kurkumin 25 ppm, diambil volume tertentu dari larutan stok sehingga di peroleh konsentrasi 0,5 ; 3; 6 dengan masing-masing 5 kali replikasi. Masing-masing seri kadar ditambahkan asetonitril. Setelah itu divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Diambil beningan atau supernatan dan diinjeksikan sebanyak 20 μ L pada HPLC sebanyak 5 kali replikasi. Kemudian dibuat suatu persamaan regresi linier antara kadar kurkumin dengan luas area dibawah puncak kromatogram.

Kepekaan dapat dihitung menggunakan nilai batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*), batas kuantifikasi (*Limit of Quantification/LOQ*) dan batas bawah kuantifikasi (*Lower Limit of Quantificaion/LLOQ*) dengan rumus:

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

$$LOD = \frac{3 \times S_{y/x}}{\text{slope}}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_{y/x}}{\text{slope}}$$

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

3.3.6.9. Penetapan kriteria keseksamaan (*presice*)

Dibuat larutan SNEDDS Kurkumin dalam darah dengan konsentrasi kadar yang sama yang masih masuk ke dalam rentang kurva baku. Larutan yang telah dibuat diberikan sampel plasma dari asal tube yang berbeda. Dilakukan sebanyak 6 kali replikasi. Setelah itu divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 ppm selama 15 menit. Diambil beningan atau supernatan dan diinjeksikan sebanyak 20 μ L pada HPLC. Presisi dihitung dari parameter kesalahan acak dan HORRAT. HORRAT didapatkan dari perbandingan RSD percobaan dengan RSD yang dihitung.

$$\text{Simpangan baku} = \sqrt{\frac{(\sum(x-y))}{n-1}}$$

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

3.3.6.10. Penetapan kriteria kecermatan (*accuracy*)

Dibuat larutan SNEDDS Kurkumin dalam darah dengan konsentrasi kadar tertinggi, terendah, dan kadar di tengah sesuai dengan kurva baku yang telah ditetapkan cara mengambil volume tertentu dari larutan stok SNEDDS Kurkumin 25 ppm dan 6,5 ppm, diambil volume tertentu dari larutan stok sehingga di peroleh konsentrasi 1,5 ; 3,5 ; 6 ppm dengan masing-masing 3 kali replikasi. Setelah itu divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 ppm selama 15 menit. Diambil beningan atau supernatan dan diinjeksikan sebanyak 20 μ L pada HPLC sebanyak 3 kali replikasi. Nilai *recovery* (perolehan kembali) dan kesalahan sistemik dihitung dengan rumus:

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

3.3.7. Uji bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin pada tikus putih galur *Wistar jantan*

3.3.7.1. Optimasi waktu sampling

Hewan uji ditimbang dan dipuasakan 8 jam, kemudian diberikan SNEDDS kurkumin dan non SNEDDS kurkumin dengan dosis yang telah dikonversikan secara peroral, kemudian darah dicuplik dari vena ekor pada menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180; 240 dilihat dari $t_{1/2}$ kurkumin. Frekuensi pengambilan darah yang digunakan berdasarkan optimasi waktu sampling penelitian sebelumnya. Durasi pengambilan cuplikan darah yang optimal adalah 3-5 kali $t_{1/2}$. Pengambilan sampel darah mewakili 3 titik pada masing-masing fase farmakokinetik yaitu fase absorpsi, distribusi serta eliminasi.

3.3.7.2. Cuplikan atau sampel darah

Sampel darah yang digunakan berupa plasma. Sampel darah diambil kemudian ditambahkan heparin sebagai antikoagulan, divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan dan lama waktu yang telah ditentukan sebelumnya. Sampel plasma diambil 3 ml dan ditambahkan heparin kemudian disimpan di lemari pendingin -20°C hingga dianalisis menggunakan HPLC pada panjang gelombang yang telah ditentukan.

3.3.7.3. Kelompok hewan uji

Hewan uji berupa tikus putih galur *Wistar* jantan dengan BB 200-300 gram umur 2-3 bulan sebanyak 5 ekor. SNEDDS Kurkumin diberikan secara oral dengan dosis yang telah dikonversikan dan BB yang disesuaikan dengan masing-masing tikus dihitung dengan rumus:

$$\text{Volume pemberian} = \frac{\text{BB tikus}}{\text{BB standart tikus}} \times \text{volume pemberian}$$

Sampel diambil secara *series* pada menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180; 240. Sampel yang telah diambil dimasukkan ke dalam eppendorf yang telah diberikan heparin.

3.3.7.4. Penetapan nilai profil bioavailabilitas

Rumus yang digunakan untuk mendapatkan profil pada fase absorpsi adalah sebagai berikut :

AUC dihitung dengan metode trapezoid,

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

C_{maks} , t_{maks} dihitung menggunakan perangkat lunak *PK function for Microsoft Excel* berdasarkan data kadar SNEDDS kurkumin dan non SNEDDS kurkumin tuah dalam darah *versus* waktu yang diperoleh pada masing-masing kelompok

3.4. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menghitung menggunakan *Microsoft Excel*. Parameter farmakokinetik ditetapkan berdasarkan grafik hubungan kadar obat yang diperoleh dengan waktu sampling. Parameter farmakokinetik yang ditetapkan merupakan parameter tersier yaitu $C_{p_{max}}$, t_{max} , dan $AUC_{(0-120)}$ yang termasuk dalam parameter fase absorpsi didapatkan dengan menggunakan *PK Function Microsoft Excel*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui bioavailabilitas kadar kurkumin dalam plasma tikus jantan Wistar. Kurkumin yang dibuat dalam sediaan *Self Nano Emulsifying Delivery Drug System* (SNEDDS) bertujuan agar kadar kurkumin yang terdapat dalam plasma menjadi lebih besar dari kadar kurkumin dalam sediaan lain. SNEDDS Kurkumin diberikan pada tikus secara peroral yang kemudian diambil plasma pada beberapa titik waktu kemudian dianalisis dengan menggunakan instrumen HPLC (*High Performance Liquid Chromatogram*). Hasil analisis tersebut menunjukkan hasil bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin yang dibandingkan dengan data validasi yang dilakukan juga oleh peneliti. Penelitian ini sudah memenuhi syarat secara etik dan mendapat surat kelayakan etik (*ethical clearance*) nomor: 09/Ka.Kom.Et/70/KE/V/2016 dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

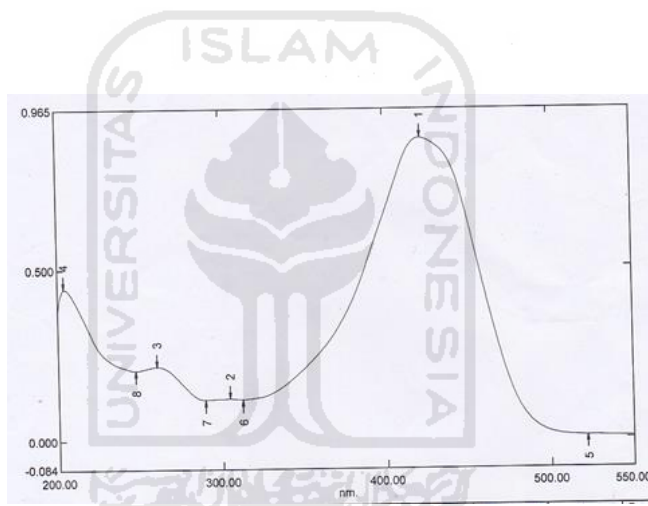
4.1. Hasil Uji Pendahuluan

4.1.1. Penetapan fase gerak

Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini pada awalnya menggunakan fase gerak berupa perbandingan asetonitril : asam asetat (52:48). Akan tetapi dengan menggunakan fase gerak tersebut hasil dari kromatogram kurang baik karena *peak* yang melebar dan pemisahan yang kurang sempurna. Selain dari perbandingan fase gerak tersebut, dilakukan juga optimasi fase gerak dengan menggunakan perbandingan asetonitril : asam asetat (70:30) akan tetapi hasil masih kurang bagus. Pada optimasi fase gerak selanjutnya digunakan perbandingan asetonitril : metanol : aquabides : asam asetat (49 : 20 : 30 : 1). Fase gerak tersebut kemudian menghasilkan hasil yang cukup baik karena pemisahannya yang baik dan menunjukkan stabilitas waktu retensi.

4.1.2. Penetapan panjang gelombang maksimum

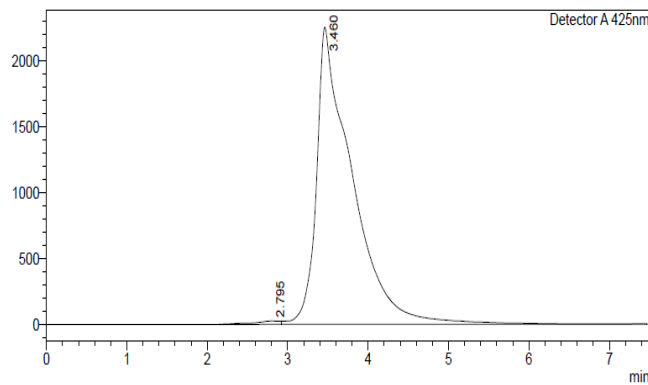
Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan Spektrovotometer UV-Vis. Hasil yang didapatkan dari uji ini yaitu panjang gelombang maksimum kurkumin adalah 425 nm. Pada panjang gelombang maksimum tersebut diartikan bahwa sampel yang terbaca memiliki absorbansi yang maksimal. Oleh karena itu, panjang gelombang maksimum digunakan untuk mendapatkan hasil kepekaan absorbansi yang maksimal. Karena pada absorbansi yang maksimal akan didapatkan satuan konsentrasi lebih besar dibandingkan dengan panjang gelombang lainnya. Sesuai dengan Hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa intensitas cahaya yang diserap akan berbanding lurus dengan konsentrasi yang terbaca⁽¹³⁾.



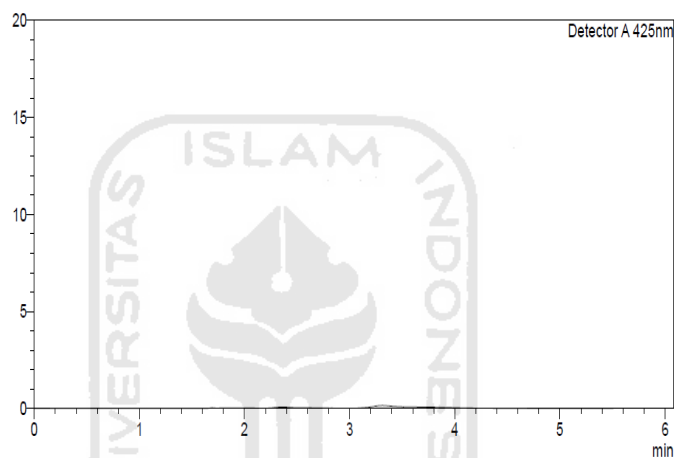
Gambar 4.1 Spektrum panjang gelombang maksimum SNEDDS Kurkumin

4.1.3. Penetapan Waktu Retensi

Hasil didapat dengan melarutkan standar kurkumin dengan pelarut dan dialirkan dengan menggunakan fase gerak. Waktu retensi yang didapat dari standar kurkumin yaitu 3,40 menit, sedangkan senyawa endogen terdekat muncul pada 2,795 menit. Penentuan waktu retensi juga dibuktikan dengan analisis blanko SNEDDS Kurkumin yang terlihat pada Gambar 4.2. Hasil waktu retensi ini digunakan untuk penetapan kadar SNEDDS Kurkumin pada tahap selanjutnya.



Gambar 4.2. Hasil kromatogram SNEDDS Kurkumin pada panjang gelombang 425 nm



Gambar 4.3 Hasil kromatogram blanko pada panjang gelombang 425 nm

4.1.4. Penetapan stabilitas SNEDDS Kurkumin dalam asetonitril

Penetapan stabilitas ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas SNEDDS Kurkumin dalam darah dalam beberapa jangka waktu dalam penyimpanan suhu -20°C . Pada suhu ini spesimen sudah mencapai titik beku. Parameter untuk menilai stabilitas tersebut dapat dilihat dari persen degradasi dari hasil perbandingan luas area SNEDDS Kurkumin pada jam ke-0 dengan luas area SNEDDS Kurkumin pada jam ke-24 jam (*short term stability*).

Tabel 4.1. Persentase degradasi SNEDDS Kurkumin dalam asetonitril dengan penyimpanan pada suhu -20°C .

Jam ke-	Luas Area	Kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	243334	6,035	0
1	222348	5,516	8,602
2	221657	5,499	8,885
24	105588	2,628	56,459

Pemilihan waktu uji selama 1, 2, dan 24 jam memiliki tujuan untuk mengetahui stabilitas sampel dalam waktu preparasi dan penyimpanan sebelum dilakukan analisis dengan menggunakan HPLC. Data luas area yang terbaca menghasilkan %degradasi sangat besar dari sampel 24 jam (lampiran 6). Stabilitas yang baik adalah stabilitas yang memiliki persen degradasi kurang dari 10%. Pada stabilitas jam ke-24 memiliki persen degradasi yang sangat tinggi yaitu 56,459% sehingga pada penelitian ini tidak menggunakan sampel yang sudah melewati waktu 24 jam. Sampel yang telah diberikan perlakuan ekstraksi dalam asetonitril dianalisis langsung dengan menggunakan HPLC dengan lama waktu preparasi yaitu 1 jam.

4.1.5. Optimasi perbandingan plasma dengan asetonitril

Optimasi perbandingan antara plasma dengan asetonitril dilakukan untuk mengetahui komposisi asetonitril optimum dalam mengekstraksi plasma yang akan digunakan untuk menganalisis kadar SNEDDS Kurkumin dalam plasma. Optimasi ini dilakukan dengan menggunakan plasma yang telah diberikan SNEDDS Kurkumin pada konsentrasi tertentu dan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm.

Tabel 4.2. Luas area kromatogram SNEDDS Kurkumin ($25\mu\text{g/mL}$) dalam beberapa perbandingan volume darah tikus dengan asetonitril.

Darah (μL)	Asetonitril (μL)	Luas Area SNEDDS Kurkumin ($25\mu\text{g/mL}$)	Luas area endogen dengan puncak tertinggi	Perbandingan luas area SNEDDS Kurkumin dengan luas area endogen
200	200	1428296	15015	1 : 95
200	400	1742235	30302	1 : 57

200	600	1181687	10872	1 : 109
-----	-----	---------	-------	---------

Hasil dari optimasi menunjukkan bahwa pada perbandingan plasma dengan asetonitril (1:2) memiliki perbandingan antara luas area SNEDDS Kurkumin dengan luas area endogen yang lebih kecil dibandingkan dengan perbandingan plasma dengan asetonitril 1:1 dan 1:3. Oleh sebab itu pada penelitian ini menggunakan perbandingan darah dengan asetonitril 1: 2. Dengan ini diharapkan dapat meminimalisir pengaruh dari senyawa endogen terhadap hasil kromatogram SNEDDS Kurkumin⁽¹⁵⁾.

4.1.6. Penetapan persamaan kurva baku SNEDDS Kurkumin dalam darah

Penetapan kurva baku SNEDDS Kurkumin dalam darah dilakukan dengan membuat beberapa perbedaan seri kadar SNEDDS Kurkumin dalam plasma yang kemudian diukur luas area di bawah puncak kromatogram. Konsentrasi yang dibuat dalam seri kadar ini yaitu 0,5 ; 1,5 ; 2 ; 3 ; 4,5 ; 6.

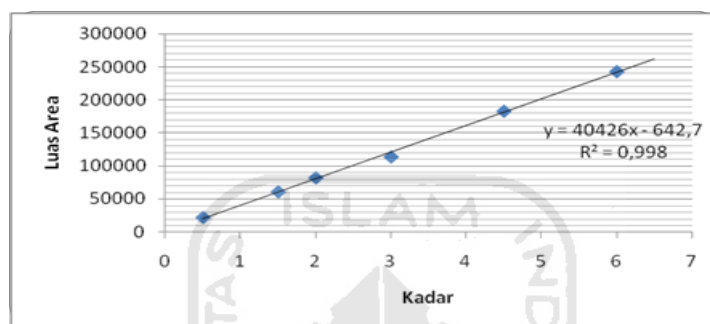
Tabel 4.3. Luas area kromatogram SNEDDS Kurkumin dalam darah pada beberapa seri kadar.

No	Seri Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area
1	0,5	21488
2	1,5	60485
3	2	81702
4	3	113479
5	4,5	183119
6	6	243334

Persamaan kurva baku yang didapatkan dari variasi seri kadar tersebut yaitu $y=40426x-642,7$ dengan nilai $r = 0,998$. Nilai x merupakan kadar SNEDDS Kurkumin yang terbaca pada konsentrasi tertentu, sedangkan y merupakan luas area di bawah puncak kromatogram yang didapat dari hasil pembacaan HPLC.

Persamaan yang didapat dari kurva baku tersebut digunakan untuk mengukur linieritas suatu metode. Hasil linieritas menunjukkan kemampuan

metode untuk menghasilkan hasil uji yang proporsional sesuai dengan kisaran konsentrasi dari analit yang telah dibuat. Nilai r dapat diperoleh dengan rentang $-1 \leq r \leq 1$. Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan nilai $r = 0,998$ yang berarti hasil r memiliki nilai mendekati 1. Nilai r positif menunjukkan bahwa korelasi tersebut bersifat positif yang berarti bahwa titik percobaan berada pada satu garis kemiringan yang positif⁽¹³⁾. Nilai r juga dapat dilihat dengan menggunakan tabel r pada tabel statistika. Kriteria ini menggunakan nilai α dan nilai derajat bebas.



Gambar 4.4. Grafik kurva baku SNEDDS Kurkumin dalam darah pada beberapa seri kadar.

4.1.7. Penetapan kriteria sensitivitas

Sensitivitas merupakan kemampuan suatu metode dalam menganalisis kadar analit dalam jumlah yang kecil. Metode analisis yang digunakan untuk menganalisis obat yang terkandung dalam spesimen darah harus memiliki sensitivitas atau kepekaan yang tinggi. Untuk menilai kriteria tersebut maka perlu digunakan LOD, LOQ, dan LLOQ. LOD merupakan konsentrasi terendah dari analit yang dapat terdeteksi, LOQ merupakan konsentrasi terendah yang dapat diterima secara operasional, sedangkan LLOQ merupakan kadar terendah analit yang dapat dikuantifikasi dengan menggunakan hasil penerimaan akurasi dan presisi⁽¹⁶⁾. Berdasarkan hasil perhitungan (lampiran 2) rumus yang didapat, diperoleh nilai LOD sebesar $0,293 \mu\text{g/mL}$, nilai LOQ sebesar $0,979 \mu\text{g/mL}$, dan nilai LLOQ sebesar $0,489 \mu\text{g/mL}$.

4.1.8. Penetapan kriteria akurasi dan presisi

Akurasi dapat menggambarkan derajat kedekatan antara nilai konsentrasi yang telah ditentukan dengan nilai konsentrasi yang terukur. Presisi merupakan gambaran kedekatan penerimaan antara hasil analit yang terbaca dari hasil replikasi sampel dengan jumlah kadar yang sama dalam suatu metode⁽¹⁶⁾. Parameter dari akurasi adalah nilai perolehan kembali atau bisa disebut %*recovery*, sedangkan parameter dari presisi adalah kesalahan acak (CV) dan HORRAT (*Horwitz Ratio*). Seri kadar yang digunakan dalam penilaian akurasi dan presisi yaitu diambil dari kadar tertinggi, menengah, dan terendah. Dari seri kadar tersebut maka diambil konsentrasi 0,5 , 3, dan 6 µg/mL dengan masing-masing replikasi sebanyak 5 kali. Tabel 4.4. menunjukkan nilai dari perolehan kembali sebagai parameter akurasi serta kesalahan acak dan nilai HORRAT sebagai parameter presisi.

Tabel 4.4. Nilai akurasi dan presisi pada penetapan kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah.

Kadar Diketahui (µg/mL)	Replikasi	Luas Area	Terukur (µg/mL)	%Recovery	%Diff	CV (%)	HORRAT
0,48 (LLOQ)	Rep1	18757	0,47988176	99,97536651	-0,02463	3,13	0,17
	Rep2	18952	0,48470539	100,9802891	0,980289		
	Rep3	20004	0,51072824	106,4017175	6,401718		
	Rep4	20035	0,51149508	106,5614745	6,561474		
	Rep5	19969	0,50986246	106,2213468	6,221347		
	Rata-rata		0,49933459				
	SD		0,0156601				
0,5	Rep1	21488	0,54743729	109,4874586	9,487459	0,98	0,05
	Rep2	21506	0,54788255	109,5765102	9,57651		
	Rep3	22015	0,56047346	112,0946915	12,09469		
	Rep4	21550	0,54897096	109,7941919	9,794192		
	Rep5	21590	0,54996042	109,9920843	9,992084		
	Rata-rata		0,55119107				
	SD		0,00541619				
3	Rep1	113479	2,82297779	94,09925955	-5,90074	0,93	0,06
	Rep2	111801	2,78146985	92,71566154	-7,28434		
	Rep3	112099	2,78884134	92,96137799	-7,03862		
	Rep4	110815	2,7570796	91,90265341	-8,09735		

	Rep5	111061	2,76316479	92,10549316	-7,89451		
	Rata-rata		2,78270667				
	SD		0,02597864				
6	Rep1	243334	6,03514322	100,5857204	0,58572	0,02	0,001
	Rep2	242574	6,01634344	100,2723907	0,272391		
	Rep3	246534	6,1143002	101,9050034	1,905003		
	Rep4	250876	6,22170633	103,6951055	3,695105		
	Rep5	257204	6,37823925	106,3039875	6,303988		
	Rata-rata		6,15314649				
	SD		0,14959619				

Berdasarkan tabel tersebut didapatkan rata-rata dari persen perolehan kembali yang masih memenuhi persyaratan rentan yang memenuhi kriteria. Kriteria yang baik untuk nilai persen perolehan kembali yaitu mendekati nilai 100%⁽²⁶⁾.

Persen perbedaan atau disebut %*Diff* merupakan nilai perbedaan rata-rata kadar yang terbaca dengan kadar sebenarnya. Rentan %*Diff* yang baik yaitu yang memiliki nilai <15%. Kesalahan acak dilihat dari luas area 4 konsentrasi analit yaitu konsentrasi LLOQ, 0,5 ppm, 3 ppm, dan 6 ppm dengan masing-masing terdiri dari 5 kali replikasi. Dihasilkan nilai kesalahan acak yaitu 0,02 – 3,13% yang masih memenuhi syarat penerimaan yaitu <15%. Sementara pada nilai HORRAT didapatkan nilai 0,001 – 0,17 yang masih masuk dalam kriteria penerimaan yaitu <2 yang artinya pada hal ini metode ini dapat memenuhi kriteria presisi⁽¹³⁾.

4.1.9. Penetapan kriteria selektifitas

Selektifitas dapat menggambarkan kadar suatu analit dalam sampel yang berbeda. Nilai selektifitas dapat dilihat dari parameter nilai kesalahan acak dan %*Diff*.

Tabel 4.5. Nilai kesalahan acak pada penetapan kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah.

Plasma	Luas Area	Kadar terukur ($\mu\text{g/mL}$)	α
1	19969	0,51	1,86
2	20035	0,51	1,82

3	20004	0,51	1,82
4	18952	0,48	1,82
5	18757	0,48	1,82
6	19898	0,50	1,82
	Rata-rata	0,50	1,83
	SD	0,01	
	CV	2,89%	

Nilai pada α merupakan nilai perbandingan antara waktu retensi analit dengan waktu retensi endogen terdekat. Nilai tersebut akan menjelaskan pemisahan antara kedua *peak*. Apabila nilai α adalah >1 maka kedua *peak* tersebut terpisah. Dan apabila nilai α adalah >2 maka kedua *peak* tersebut terpisah sempurna. Dari data tabel yang sudah tertera, nilai α yang diperoleh termasuk ke dalam kriteria telah terpisah meskipun tidak sempurna.

4.1.10. Penetapan dosis penelitian

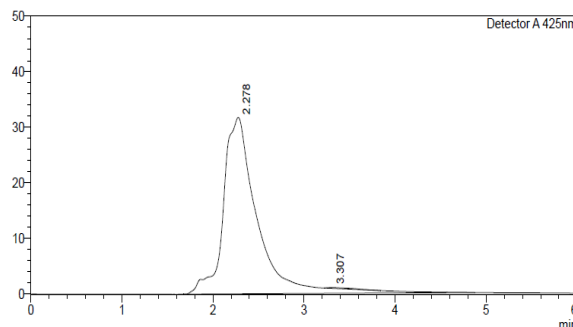
Dosis pemberian SNEDDS Kurkumin diberikan sesuai dengan dosis pada penelitian sebelumnya yaitu 40 mg/kg BB tikus⁽²⁾. Pemberian dosis pada hewan uji pada mulanya mengikuti perhitungan volume pemejanaan yaitu sebesar 0,02 mL pada masing-masing tikus (lampiran 4). Akan tetapi dengan volume pemejanaan tersebut, kromatogram pada HPLC tidak terbaca. Sehingga peneliti meningkatkan volume pemejanaan menjadi 3 mL. Dengan volume pemejanaan sebesar 3 mL tersebut kromatogram masih belum bisa terbaca walaupun membentuk sedikit puncak. Volume pemejanaan ditingkatkan kembali menjadi 5 mL dan pada volume ini kromatogram berhasil muncul terdeteksi pada HPLC.

4.1.9. Penetapan waktu sampling

Penetapan waktu sampling dilihat dari penelitian sebelumnya dan dilihat dari $t_{1/2}$ dari Kurkumin pada literatur yaitu 1,3 jam⁽¹⁴⁾. Waktu sampling diambil dari 3-5 kali $t_{1/2}$ kurkumin sehingga didapatkan waktu sampling yaitu menit ke 5; 15; 30; 45; 60; 120; 180; 240. Pengambilan sampel darah mewakili 3 titik pada masing-masing fase farmakokinetik yaitu fase absorpsi, distribusi serta eliminasi.

4.2. Hasil Uji Farmakokinetik

Data yang dihasilkan pada uji ini adalah nilai-nilai farmakokinetika dari hasil pembacaan luas area kromatogram sampel yang dibaca dengan menggunakan HPLC. Waktu sampling yang digunakan yaitu pada menit ke-5, 15, 30,45, 60, dan 120. Pada awalnya dosis yang digunakan yaitu 40 mg/BB tikus dan didapatkan volume pemejanan sebesar 0,2 mL. Akan tetapi pada volume tersebut kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah tidak terbaca pada hasil kromatogram. Sehingga volume pemejanan dinaikkan menjadi 3 mL. Pada volume pemejanan ini SNEDDS Kurkumin masih belum dapat terdeteksi. Volume pemejanan ditingkatkan menjadi 5 mL dan dihasilkan kromatogram SNEDDS Kurkumin yang terdeteksi pada HPLC. Akan tetapi kromatogram SNEDDS Kurkumin hanya terbaca pada 3 ekor tikus saja. Sehingga jumlah tikus yang awalnya digunakan adalah 5 ekor tikus, pada penelitian ini hanya digunakan 3 ekor tikus untuk pembacaan parameter farmakokinetik SNEDDS Kurkumin dalam darah. Dosis yang digunakan merupakan dosis pada penelitian sebelumnya mengenai uji aktivitas SNEDDS Kurkumin sebagai anti artritis rematoid pada tikus Wistar jantan. Uji aktivitas tersebut menghasilkan data bahwa SNEDDS Kurkumin dengan dosis 8 mg/200 gram BB tikus dapat menurunkan aktivitas inflamasi pada tikus yang telah diberikan induksi artritis rematoid⁽¹⁹⁾. Hasil tersebut tidak berbanding lurus dengan hasil parameter farmakokinetik dari SNEDDS Kurkumin. Karena untuk menghasilkan data kromatogram pada HPLC diperlukan dosis dengan volume pemejanan 25 kali lipat dari dosis yang berefek pada uji aktivitas SNEDDS Kurkumin. Adanya perubahan dosis ini merupakan hal yang tidak lazim ataupun tidak baik dilakukan karena pada dasarnya untuk melihat dapat melihat kadar yang terbaca perlu dilakukan perbaikan pada metode yang digunakan. Penurunan rentan kurva baku dapat diperkecil sehingga akan menghasilkan LOD, LOQ, dan LLOQ yang lebih kecil juga. Selain itu perlu adanya penggantian detektor yang lebih spesifik lagi dibandingkan dengan detektor Uv-Vis.

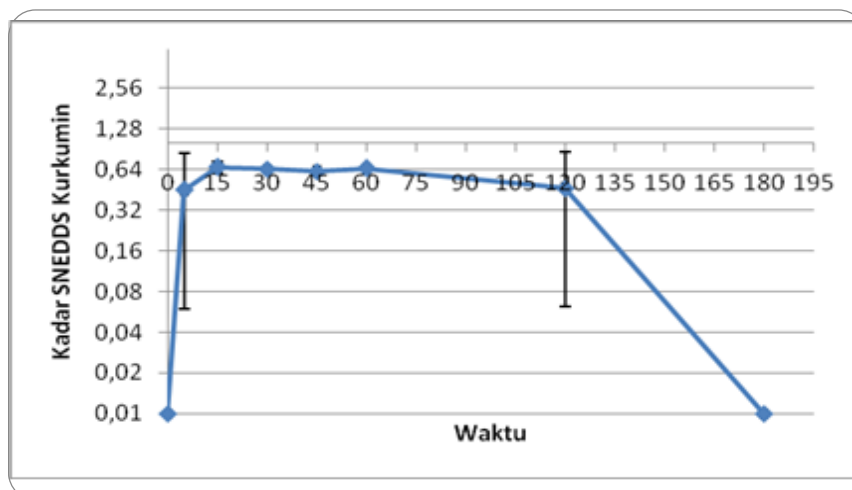


Gambar 4.5 Hasil kromatogram SNEDDS Kurkumin secara invivo

Data kadar yang dihasilkan dari masing-masing tikus tidak berbeda secara signifikan akan tetapi kemunculan pada tiap waktu sampling berbeda-beda. Pada tikus pertama menit ke-5 kromatogram SNEDDS Kurkumin tidak berhasil terbaca. Data kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah ketiga tikus dapat dilihat pada **Tabel 4.5** dan data farmakokinetik dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.5. Data kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah tikus yang telah diberikan SNEDDS Kurkumin secara peroral.

Waktu (menit)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)
	Rata-rata \pm SD
0	0 \pm 0
5	0,67 \pm 0,021
15	0,67 \pm 0,07
30	0,65 \pm 0,02
45	0,62 \pm 0,01
60	0,65 \pm 0,01
120	0,7 \pm 0,04
180	0 \pm 0



Gambar 4.6. Grafik rerata SNEDDS Kurkumin dalam darah pada 3 ekor tikus. Garis simpangan menggambarkan nilai SD dari masing-masing waktu

Grafik di atas menjelaskan keterkaitan kerataan hasil sampel antara tikus satu dengan yang lainnya. Data tersebut diwakilkan dengan nilai SD. Garis simpangan yang terbentuk menggambarkan sebaran dari nilai sampel. Semakin panjang garis simpangan maka data antar sampel semakin menyebar atau bervariasi. Pada menit ke 15 mengalami variasi nilai kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar pada menit yang lain.

Tabel 4.6. Data parameter bioavailabilitas dalam darah tikus.

Parameter	Rata-rata \pm SE
$C_{p_{max}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	$0,72\pm 0,02$
t_{max} (menit)	85 ± 35
$AUC_{(0-120)}$ ($\mu\text{g mL}^{-1}\cdot\text{menit}$)	$60,71\pm 15,73$

Model kompartemen yang dipilih pada penelitian ini yaitu model non kompartemen. Pada teori model non kompartemen suatu kadar obat dianggap terdistribusi secara acak dan pada masing masing molekulnya memiliki perbedaan kemungkinan untuk dieliminasi pada waktu tertentu. Pada dasarnya pemilihan model kompartemen dapat dilihat dari kurva yang terbentuk dari titik absorpsi, distribusi, dan eliminasi. Seperti pada grafik yang sudah disebutkan sebelumnya, grafik tersebut memiliki kadar acak pada waktu yang berbeda beda. Sehingga pada penelitian ini menggunakan model non kompartemen. Beberapa parameter yang

dapat dianalisis dari model non kompartemen ini $C_{p_{max}}$, t_{max} , dan $AUC_{(0-120)}$. Parameter-parameter tersebut merupakan parameter tersier farmakokinetik yang dihitung dengan menggunakan bantuan perangkat lunak *Microsoft Excel* dan untuk mencari $C_{p_{max}}$ dan t_{max} menggunakan *PK Function* pada perangkat *Microsoft Excel*. *PK Function* yang tersebut digunakan karena cara perhitungan yang cenderung mudah dan sederhana, serta penggunaannya sesuai dengan kebutuhan perhitungan parameter pada model non kompartemen⁽¹⁸⁾. Pengertian dari beberapa parameter yang sebelumnya disebutkan yaitu $C_{p_{max}}$ merupakan puncak tertinggi pada grafik yang menjelaskan konsentrasi SNEDDS Kurkumin maksimal yang ada di dalam tubuh, nilai t_{max} merupakan waktu yang diperlukan SNEDDS Kurkumin untuk mencapai nilai $C_{p_{max}}$, sedangkan $AUC_{(0-120)}$ merupakan area di bawah kurva yang dapat menjelaskan jumlah keseluruhan obat yang masuk ke dalam tubuh dalam satuan waktu menit ke-0 hingga menit ke-120. Parameter farmakokinetik merupakan hasil yang akan menerangkan proses dan nasib obat di dalam tubuh. Dalam hal ini termasuk proses absorpsi, distribusi, dan eliminasi diterangkan secara kuantitatif dengan menggunakan rumus sesuai dengan parameter dari masing-masing fase. Perubahan kadar obat dapat terjadi di dalam darah, jaringan dapat menerangkan efektifitas suatu obat, terapi, ataupun toksisitas suatu obat⁽¹²⁾.

Kondisi biologis suatu makhluk hidup dapat menghasilkan nilai farmakokinetika yang berbeda-beda. Dalam hal ini suatu makhluk hidup bisa saja mengikuti model kompartemen yang berbeda antara satu individu dengan individu yang lain. Ketika obat terdistribusi secara sempurna ke seluruh tubuh dan tubuh dianggap menjadi satu kompartemen yang sama maka dapat disebut sebagai model kompartemen 1. Sementara jika distribusi obat pada suatu jaringan lebih besar dibandingkan dengan distribusi pada jaringan yang lain maka dapat disebut sebagai model dua kompartemen. Tubuh juga bisa menjadi multikompartemen ketika obat terdistribusi pada kelompok jaringan yang berbeda dengan kadar yang berbeda. Akan tetapi, ada kemungkinan munculnya kesulitan dalam memilih suatu model kompartemen. Contohnya ketika suatu obat diberikan pada hewan uji menghasilkan model kompartemen 1 akan tetapi pada hewan uji yang lain memiliki kadar yang tidak beraturan sehingga tidak dapat ditentukan titik-titik kepastian waktu yang

dinginkan. Adanya pemilihan model non kompartemen menjadi kemudahan untuk menilai parameter farmakokinetik pada kasus yang lebih rumit ini⁽¹⁶⁾.

Penelitian ini menyebutkan bahwa pengembangan sediaan kurkumin menjadi *Self Nano Emulsifying Delivery Drug System* (SNEDDS) dapat memperbaiki bioavailabilitas kurkumin di dalam tubuh. Pada dasarnya pada suatu perhitungan nilai farmakokinetik pemberian obat secara ekstravaskuler akan memunculkan titik absorpsi, distribusi, dan eliminasi. Grafik yang ada pada penelitian ini tidak dapat dilihat secara pasti pada titik-titik tersebut. Sehingga peneliti mengalami kesulitan untuk menentukan parameter-parameter yang diinginkan. Dari data yang telah dikumpulkan dapat dilihat pada masing-masing nilai $C_{p_{max}}$, t_{max} , dan AUC memiliki nilai yang memiliki banyak perbedaan nilai pada setiap tikus yang berbeda. Perbedaan tersebut dilihat dari nilai *standard error* (SE) yang tertera pada **Tabel 4.6**. Nilai SE akan menjelaskan tingkat sebaran suatu rerata dari hasil yang diperoleh dari beberapa sampel yang berbeda. Pada nilai $C_{p_{max}}$ didapatkan SE yang masih disebut nilai yang bagus karena mendekati nilai 0 (nol). Berbeda dengan nilai C_p , nilai SE yang diperoleh dari data AUC memiliki nilai yang tinggi sehingga kemungkinan kesalahan pada data ini terlalu besar. Hal ini dimungkinkan karena kurangnya data perwakilan dari beberapa hewan uji dan kurangnya waktu sampling yang dapat menggambarkan bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin. Perbedaan kemunculan SNEDDS Kurkumin yang terbaca menyebabkan perbedaan pada hasil AUC yang diperoleh. Kelemahan dari penelitian ini yaitu terletak pada penggunaan metode yang kurang tepat yaitu pada pemilihan instrumen dan penentuan rentan kurva baku. Waktu yang sangat terbatas juga menjadi evaluasi tersendiri untuk kelanjutan dilakukannya penelitian terkait uji bioavailabilitas.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa rata-rata hasil studi bioavailabilitas SNEDDS Kurkumin yaitu pada parameter $C_{p_{max}}$, t_{max} , dan $AUC_{(0-120)}$ berturut-turut yaitu $0,72 \mu\text{g/mL}$, 85 menit, dan $60,71 \mu\text{g mL}^{-1} \cdot \text{menit}$.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, peneliti menyarankan:

1. Perlu dilakukan optimasi dosis lebih lanjut sehingga dapat dihasilkan hasil kromatogram pada HPLC yang lebih maksimal.
2. Perlu dilakukan validasi lebih lanjut terkait analisis SNEDDS Kurkumin dengan menggunakan rentan kurva baku yang lebih rendah
3. Perlu dilakukan penambahan waktu sampling agar dapat mewakili data absorpsi, distribusi dan eliminasi yang lebih terlihat.
4. Perlu dilakukan penggantian hewan uji menjadi kelinci karena lebih mudah dalam pengambilan sampel darah pada waktu sampling yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Aletaha D, Neogi T, Silman Al, et al. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010. **XLIX**:1580-8.
- 2) Bagiana IK. Pengembangan Nanogamavuton-0 dengan Formulasi SNEDDS sebagai Kandidat Obat Analgetik dan Antiinflamasi [*Tesis*]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. 2014.
- 3) Sutanti DW, Wahyuningsih I. Bioavailabilitas Tablet Ibuprofen pada Pemberian Bersamaan dengan Ekstrak Air Herba Air Herba Pegagan (*Cantella asiatica (L) Urban*) pada Kelinci Jantan. *Jurnal Kefarmasian*. 2013. **III**(1)
- 4) Borashan, F.A., Ilkhanipoor, M., Hashemi, M. & Farah, F. Investigation the effects of curcumin on serum hepatic enzymes activity in a rheumatoid arthritis model. *Electronic Journal of Biology*. 2009. **IV**(4). 129-133.
- 5) Hao, K., X. P. Zhao, X.Q.Liu dan G.J. Wong. LC Determination of Curcumin in Dog Plasma for Pharmacokinetic Study. *Chromatographia*. 2006
- 6) O'Dell JR, Leff R, Paulsen G, Haire C, Mallek J, Eckhoff PJ et al. Treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate and hydroxychloroquine, methotrexate and sulfasalazine, or a combination of the three medication: results of two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Arthritis Rheum*. 2002. **XLVI**(5).
- 7) O'Dell JR, Mikuls TR, et al. Therapies for Active Rheumatoid Arthritis after Methotrexate Failure. *The New England Journal of Medicine*. 2013. **CCCLXVIX**(4).
- 8) Proudman SM, Conaghan PG, Richardson C, Griffiths B, Green MJ, McGonagle D et al. Treatment of poor prognosis early rheumatoid arthritis. A Randomized study of treatment with methotrexate, cyclosporin A, an intraarticular corticosteroids compared with sulfasalazine alone. *Arthritis Rheum*. 2000..**XLIII**(8).1809-19.
- 9) Tuba AK, Gülçin I, Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem-Bio Interac*. 2008. **CLXXIV**(1).

- 10) Bo T, Gang C, Jian-Chun G, Cai-Hong X. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. *Drug Discovery Today*. 2008. **XIII**(13).606-612.
- 11) Shargel, Leon, Andrew B.C. YU, and Susanna Wu-Pong, Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 5th Ed. 2007. The Graw-Hill Companies.
- 12) Rowland M and Tozer TN. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, Lea & Febiger. Philadelphia. 1980.
- 13) Gandjar G dan Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.2007.
- 14) Schiborr C, Eckert GP, Rimbach G, Frank J. A Validated Method for the Quantification of Curcumin in Plasma and Brain Tissue by Fast Narrow-Bore High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010.
- 15) Habibah T. Optimasi Pengendapan Protein menggunakan Metanol, Etanol, Asetonitril, dan Aseton pada Analisis Irbesartan dalam Plasma In Vitro secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Fluoresensi [*Skripsi*]. Depok: Universitas Indonesia. 2012. Hal. 24-26.
- 16) Hedaya MA. *Basic Pharmacokinetics*. CRC Press. New York. 2007. Halaman 225-231.
- 17) Guidance for Industry. *Bioanalytical Method Validation*. Rockville: Center for Drug Evaluation and Research. 2013.
- 18) Zhang Y, Huo M, et al. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Elsevier Health*. 2010. **LXL** (24)
- 19) Hayulani NA. Aktivitas Anti-Artritis Rematoid SNEDDS Kurkumin berdasarkan Parameter Penurunan Kadar Sitokin IL- β dan TNF- α pada Jaringan Sendi Tikus Jantan Galur Wistar Terinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA) [*Skripsi*]. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia. 2016.
- 20) De Almeida DE, Ling S, Pi X, Hartmann Scruggs AM, Pumpens P, Holoshitz J. Immune dysregulation by the rheumatoid arthritis shared epitope. *J immunol*. 2010. **CLXXXV**(3). 1927-34.

- 21) Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann Rev Immunol*. 1996. **XIV**:397-440.
- 22) Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid Arthritis. *Cell*. 1996. **LXXXV**(3).307-10.
- 23) Gregezen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis: an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid. *Arthritis Rheum*. 1987. **III**(13).
- 24) Hess A, Axmann R, Rech J, et al. Blockade of TNF- α rapidly inhibits pain responses in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:3731-6.
- 25) McInnes IB, Leung BP, Liew FY. Cell-cell interaction in synovitis interactions between T lymphocytes and synovial cells. *Arthritis Res*. 2000;**II**:374-8.
- 26) Ozminkowski Rj, Burton WN, Goetzet RZ, Maclean R, Wang S. The impact of rheumatoid arthritis on medical expenditures, absenteeism, and short-term disability benefits. *J Occup Environ Med*. 2006. **XLVIII**:135-48.
- 27) Singh JA, Furst DE, Bharat A, et al. 2012 Update 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res*. 2012. **LXIV**(5).625-39.
- 28) International Conference Harmonization. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*. 2005.
- 29) Preetha A, Kunnumakkara AB, et al. Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmaceutics*. 2007. **IV** (6).

Lampiran 1.

Ethical Clearance



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 : 09/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 Kurkumin sebagai Anti Arthritis Rematoid.”

Peneliti Utama : Zilfa Shofi Ibrani

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



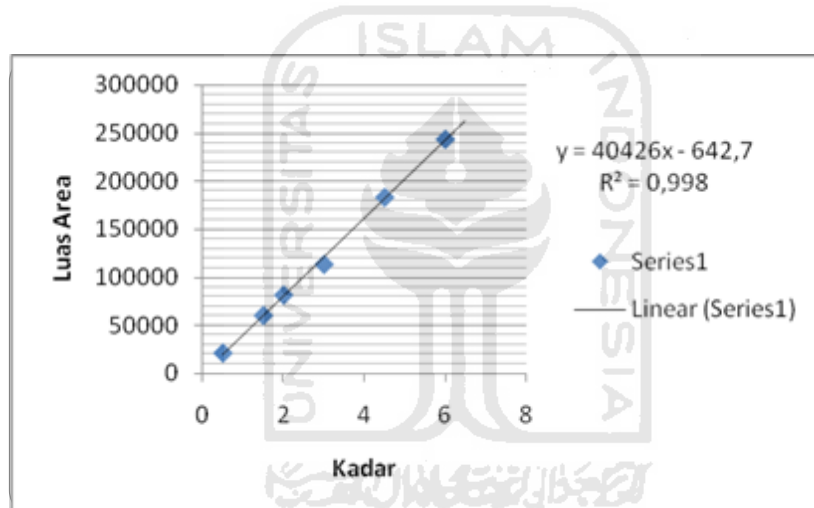
***Ethical Approval** berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan
****Peneliti berkewajiban**

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

Penetapan persamaan kurva baku dalam darah dan kriteria sensitivitas

Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Luas Area
0,5	21488
1,5	60485
2	81702
3	113479
4,5	183119
6	243334
$Y = 40426x - 642,7$	
b	40426
a	-642,7
r	0,998



Lampiran 3

Data perhitungan sensitifitas

X	Y	Yi	(Yr-Yi)	(Yr-Yi) ²
0,54743729	21488	19570,3	1917,7	3677573
1,51208875	60485	59996,3	488,7	238828
2,03692426	81702	80209,3	1492,7	2228153
2,82297779	113479	120635,3	-7156,3	51212630
4,54563152	183119	181274,3	1844,7	3402918
6,03514322	243334	241913,3	1420,7	2018388
TOTAL				62778491
Y=40426x - 642,7				
b	40426			
a	-642			
R	0,998			

$$S(y/x)^2 = \sum \frac{(y-y_i)^2}{n-2} = \frac{62778491}{6-2} = 15694622,64$$

$$S(y/x) = \sqrt{S(y/x)^2} = \sqrt{15694622,64} = 3961,64393$$

$$LOD = \frac{3 \times S(\frac{y}{x})}{B \text{ (slope)}} = \frac{3 \times 3961,64393}{40426} = 0,293992$$

$$LLOQ = \frac{5 \times S(\frac{y}{x})}{B \text{ (slope)}} = \frac{5 \times 3961,64393}{40426} = 0,489987$$

$$LOQ = \frac{10 \times S(\frac{y}{x})}{B \text{ (slope)}} = \frac{10 \times 3961,64393}{40426} = 0,979974$$

Lampiran 4

Contoh perhitungan % recovery :

$$\% \text{ Rec} = \frac{\text{Kadar terukur}}{\text{Kadar diketahui}} \times 100\% = \frac{0,54743729}{0,5} \times 100 = 109,48 \%$$

Contoh perhitungan kesalahan acak :

$$\text{Kesalahan acak} = \frac{SD}{\text{rata-rata}} \times 100\% = \frac{0,0054}{0,5511} \times 100\% = 0,982633 \%$$

Perhitungan RSD (simpangan baku relatif) dan Horwitz Ratio (HORRAT)

Perhitungan RSD dan HORRAT digunakan untuk menilai apakah metode yang digunakan memiliki presisi yang baik atau tidak.

RSD dihitung dengan rumus sebagai berikut :

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

Kadar 5 $\mu\text{g/mL}$

$$RSD = 2^{(1-0,5 \log 0,000005)}$$

Lampiran 4. (lanjutan)

RSD = 12,56%

Kadar 10 $\mu\text{g/mL}$

$$RSD = 2^{(1-0,5 \log 0,000010)}$$

RSD = 11,31%

Kadar 15 $\mu\text{g/mL}$

$$RSD = 2^{(1-0,5 \log 0,000015)}$$

RSD = 10,64%

HORRAT

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

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

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

Kadar 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = \frac{0,074\%}{12,56\%} = 0,01$$

Kadar 10 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = \frac{0,029\%}{11,31\%} = 0,003$$

Kadar 15 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{HORRAT} = \frac{4,728\%}{10,64\%} = 0,44$$

Apabila nilai HORRAT < 2 , maka metode analisis tersebut memiliki presisi yang baik.



Lampiran 5

Perhitungan dosis SNEDDS Kurkumin

Dosis SNEDDS Kurkumin = 40 mg/kg BB tikus

Dosis konversi = 40 mg/ 1000 gram BB tikus
= 8 mg/ 200 gram BB tikus

Konsentrasi sediaan = 44,46 mg/mL

Volume dosis SNEDDS Kurkumin 8 mg/200 gram BB tikus :

$44,46 \text{ mg/mL} \cdot x = 8 \text{ mg/mL}$

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

$$x = 0,179 \text{ mL}$$

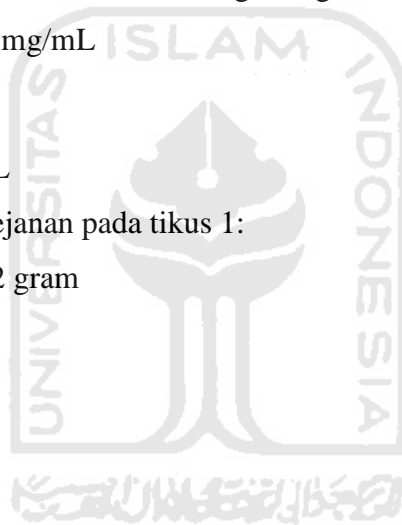
Contoh volume pemejanaan pada tikus 1:

Bobot tikus 1 = 242 gram

$$\frac{200 \text{ gram}}{0,179 \text{ mL}} = \frac{242 \text{ gram}}{x}$$

$$x = \frac{43,318 \text{ gram/mL}}{200 \text{ gram}}$$

$$x = 0,216 \text{ mL}$$



Lampiran 6

Data perhitungan parameter bioavailabilitas

Parameter	Tikus1	Tikus2	Tikus3	Rata-rata	SE
Farmakokinetika					
C _p _{max} (µg/mL)	0,75	0,68	0,74	0,723333	0,021858
T _{max} (menit)	15	120	120	85	35
AUC (µg-m/L)	29,27	75,78	77,1	60,72	15,72795

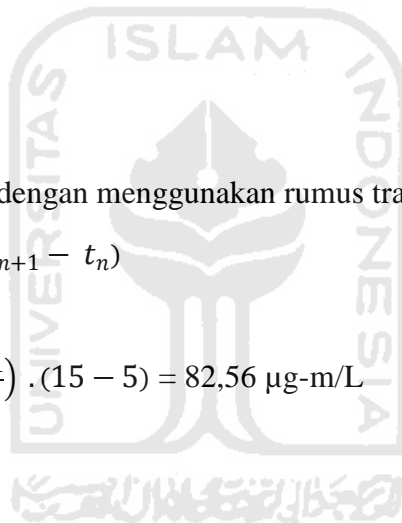
Perhitungan:

AUC dapat dihitung dengan menggunakan rumus trapezoid

$$AUC = \left(\frac{C_n + C_{n+1}}{2} \right) \cdot (t_{n+1} - t_n)$$

Contoh tikus 2.

$$AUC_{(5-15)} = \left(\frac{0,66 + 0,61}{2} \right) \cdot (15 - 5) = 82,56 \mu\text{g-m/L}$$



Lampiran 7

Jam ke-	Luas Area	Kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah ($\mu\text{g/mL}$)	Degradasi (%)
0	243334	6,035	0
1	222348	5,516	8,602
2	221657	5,499	8,885
24	105588	2,628	56,459

Perhitungan % degradasi:

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

$$\% \text{ degradasi jam ke-1} = 100\% - \left(\frac{5,516}{6,035} \times 100\% \right)$$

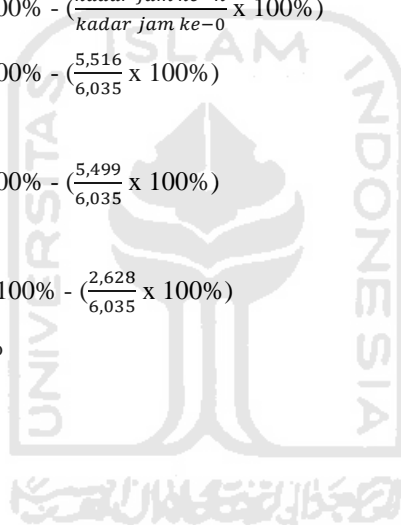
$$= 8,602\%$$

$$\% \text{ degradasi jam ke-2} = 100\% - \left(\frac{5,499}{6,035} \times 100\% \right)$$

$$= 8,885\%$$

$$\% \text{ degradasi jam ke-24} = 100\% - \left(\frac{2,628}{6,035} \times 100\% \right)$$

$$= 56,459\%$$



Lampiran 8

Luas kromatogram SNEDDS Kurkumin dalam darah pada setiap waktu sampling

Luas Area Kromatogram SNEDDS Kurkumin dalam darah						
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Rata-rata	SD	SE
5		4910	7659	6284,5	1943,83654	1122,275
15	11892	1210	3462	5521,333	5630,88992	3250,996
30	2714	5409	3084	3735,667	1460,9101	843,4568
45	840	2596	2454	1963,333	975,422643	563,1605
60	4056	4769	3513	4112,667	629,914544	363,6813
120		5969	10796	8382,5	3413,20443	1970,614

Data kadar SNEDDS Kurkumin dalam darah pada setiap waktu sampling

Waktu (menit)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)			Rata -rata	SD	SE
	tikus 1	tikus 2	tikus 3			
5		0,66	0,69	0,67	0,02	0,01
15	0,75	0,61	0,64	0,66	0,07	0,04
30	0,63	0,67	0,64	0,65	0,02	0,01
45	0,61	0,63	0,63	0,62	0,01	0,006
60	0,65	0,66	0,64	0,65	0,01	0,005
120		0,67	0,73	0,7	0,04	0,02

Lampiran 9

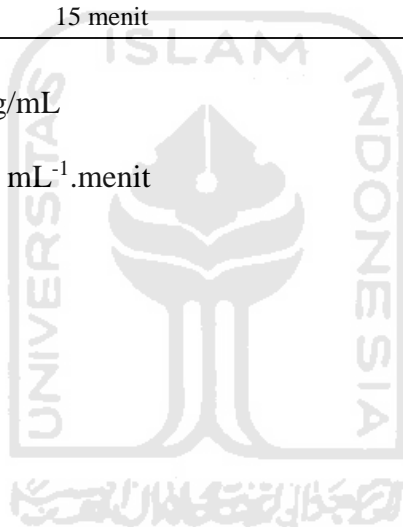
Perhitungan bioavailabilitas pada tikus 1

Waktu (menit)	Luas Area	Cp	AUC_{tn+1}^{tn}
15	11892	0,753931	10,42465
30	2714	0,636023	9,359776
45	840	0,611948	9,48908
60	4056	0,653263	6,53263104
15-60			29,27
$C_{p_{max}}$	0,753931 $\mu\text{g/mL}$		
t_{max}	15 menit		

$$C_{p_{maks}} = 0,753931 \mu\text{g/mL}$$

$$t_{maks} = 15 \text{ menit}$$

$$AUC_{15-60} = 29,27 \mu\text{g mL}^{-1} \cdot \text{menit}$$



Perhitungan bioavailabilitas pada tikus 2

Waktu	Luas Area	Cp	$AUC_{t_n}^{t_{n+1}}$
5	4910	0,664234	6,404676
15	1210	0,616701	9,655094
30	5409	0,670645	9,788637
45	2596	0,634507	9,726972
60	4769	0,662423	40,20786
120	5969	0,677839	
5-120			75,78
$C_{p_{max}}$	0,677839		
T_{max}	120 menit		

$$C_{p_{maks}} = 0,677839 \mu\text{g/mL}$$

$$t_{maks} = 120 \text{ menit}$$

$$AUC_{0-\infty} = 75,78 \mu\text{g mL}^{-1} \cdot \text{menit}$$



Perhitungan bioavailabilitas pada tikus 3

Waktu	Luas Area	Cp	$AUC_{t_n+1}^{t_n}$
5	7659	0,69955	6,725912
15	3462	0,645632	9,64806
30	3084	0,640776	9,550938
45	2454	0,632682	9,592273
60	3513	0,646287	41,58415
120	10796	0,739851	
5-120			77,10
$C_{p_{max}}$	0,739851		
T_{max}	120 menit		

$$C_{p_{maks}} = 0,739851 \mu\text{g/mL}$$

$$t_{maks} = 120 \text{ menit}$$

$$AUC_{5-120} = -292,82 \mu\text{g mL}^{-1} \cdot \text{menit}$$

