

**FORMULASI LIPOSOM BETAKAROTEN DENGAN  
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN  
PERBEDAAN WAKTU SONIKASI**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

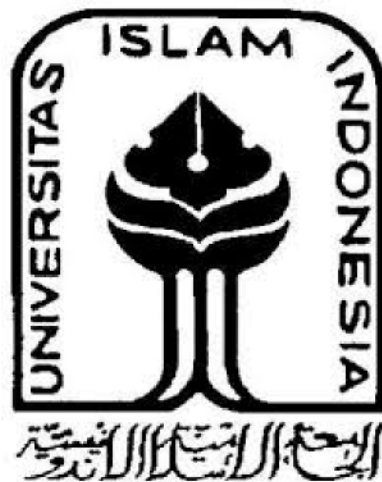
**VIRA ANGGRAINI**

**18613162**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
NOVEMBER 2022**

**FORMULASI LIPOSOM BETAKAROTEN DENGAN  
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN  
PERBEDAAN WAKTU SONIKASI  
SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Sarjana  
Farmasi (S.Farm) Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu  
Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

**VIRA ANGGRAINI**

**18613162**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
NOVEMBER 2022**

**SKRIPSI**  
**FORMULASI LIPOSOM BETAKAROTEN DENGAN**  
**METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN**  
**PERBEDAAN WAKTU SONIKASI**



Yang diajukan oleh :

**Vira Anggraini**

**18613162**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama



apt. Bambang Hernawan N, M.Sc.

Pembimbing Pendamping



Dr. apt. Lutfi Chabib, S.Farm., M.Sc.





SKRIPSI  
**FORMULASI LIPOSOM BETAKAROTEN DENGAN  
METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN  
PERBEDAAN WAKTU SONIKASI**

Oleh :



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 : 21 November 2022

Ketua Penguji	: Prof. Dr. apt. Yandi Syukri, M.Si.	(  )
Anggota Penguji	: 1. apt. Bambang Hernawan Nugroho, M.Sc.	(  )
	2. Dr. apt. Lutfi Chabib, M.Sc.	(  )
	3. Dr. apt. Asih Triastuti, M.Pharm	(  )

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia



## 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, 21 November 2022

Penulis,

A handwritten signature in black ink is written over a rectangular stamp. The stamp contains the text 'METALABEL' and 'TEMBEL' along with a small emblem and some numbers.

Vira Anggraini

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh.*

*Alhamdulillahirobbil'alamin*, puji syukur senantiasa penulis haturkan kepada Allah SWT, atas izin-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Formulasi Liposom Betakaroten Dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis Menggunakan Perbedaan Waktu Sonikasi”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat bagi mahasiswa agar memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Islam Indonesia. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak baik berupa moril maupun materil. Penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak apt. Bambang Hernawan N., M.Sc. selaku dosen pembimbing utama sekaligus Koordinator Kepala Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan Bapak Dr. apt. Lutfi Chabib, M.Sc. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah berjasa dan bersedia memberikan ilmu serta waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, dukungan, dan kemudahan kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. apt. Yandi Syukri, M.Si. dan ibu Dr. apt. Asih Triastuti, M.Pharm selaku dosen penguji yang bersedia memberikan waktunya untuk menguji dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis demi terselesaikannya naskah skripsi yang baik.
3. Bapak apt. Saepudin, M.Si., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan Bapak Prof. Riyanto., S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan fasilitas sebagai penunjang pembelajaran serta tugas akhir ini.

4. Ibu apt. Mutiara Herawati, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik yang telah berjasa memberikan bantuan dan dukungan selama proses perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini.
5. Bapak Hartanto, mas Angga Kurniawan, A.Md, Bapak Yon Haryanto, STP. dan Bapak Riyanto, A.Md. serta seluruh laboran dan staf pengajar Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia yang telah memberi dukungan berupa fasilitas selama penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Kedua orangtua Bapak Wasim dan Ibu Sukaida yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan. Abang saya Angga Presetiyo atas dukungan dan semangat yang selalu diberikan.
7. Dalila Hafizhah, Luthfiannisa Khodijah, Mita Andela, dan Arifa Wakhidya Rohma selalu menjadi support sistem dan teman berkeluh kesah selama masa perkuliahan.
8. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak memberikan bantuan selama proses penelirian dan pembuatan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, dengan senang hati penulis menerima kritik serta saran perbaikan. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT berkenan membalas kebaikan seluruh pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi agama, bangsa, dan pengembangan ilmu pengetahuan alam.

*Wassalamu 'alaikum Warohmatullahi Wabarokatuh.*

Yogyakarta, 21 November 2022

Penulis,



Vira Anggraini

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xi</b>
<b>INTISARI .....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Luaran Penelitian.....	3
<b>BAB II STUDI PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Liposom.....	4
2.1.1 Karakteristik Liposom .....	5
2.2 Betakaroten .....	6
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>8</b>
3.1 Alat dan Bahan .....	8
3.1.1 Alat.....	8
3.1.2 Bahan .....	8
3.2 Skema Penelitian .....	8
3.3 Tahapan Penelitian .....	9
3.3.1 Pembuatan liposom dengan metode hidrasi lapis tipis .....	9
3.3.2 Uji morfologi liposom .....	10
3.3.3 Pembacaan ukuran partikel dan pengujian zeta potensial .....	10
3.3.4 Pengujian efisiensi enkapsulasi .....	10



3.3.5 Uji stabilitas sediaan .....	11
3.4 Analisis Hasil .....	12
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>13</b>
4.1 Preparasi Nanoliposom.....	13
4.2 Karakterisasi Nanoliposom .....	13
4.2.1 Ukuran partikel dan distribusi partikel .....	14
4.2.2 Zeta potensial .....	16
4.2.3 Efisiensi enkapsulasi.....	17
4.2.4 Morfologi liposom .....	17
4.3 Pengujian Antioksidan .....	19
4.4 Uji Stabilitas .....	20
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>22</b>
5.1 Kesimpulan.....	22
5.2 Saran .....	22
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>23</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>27</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Ilustrasi struktur formulasi liposom .....	4
<b>Gambar 2.2</b> Mekanisme absorpsi liposom melalui perkutan .....	5
<b>Gambar 2. 3</b> Struktur Kimia Betakaroten .....	7
<b>Gambar 3.1</b> Skema Penelitian .....	8
<b>Gambar 4.1</b> Preparasi nanoliposom.....	13
<b>Gambar 4.2</b> Distribusi ukuran partikel nanoliposom terhadap optimasi waktu ..	15
<b>Gambar 4.3</b> Indeks poidispersitas dan ukuran partikel terhadap waktu sonikasi	16
<b>Gambar 4.4</b> Zeta potensial dan ukuran partikel terhadap variasi waktu sonikasi	17
<b>Gambar 4.5</b> Morfologi liposom betakaroten .....	18
<b>Gambar 4.6</b> Distribusi partikel liposom betakaroten.....	21

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 3. 1</b> Formulasi Nanoliposom Betakaroten .....	10
<b>Tabel 4. 1</b> Data optimasi nanoliposom betakaroten (n=3) ± SD .....	14
<b>Tabel 4. 2</b> Hasil uji aktivitas antioksidan liposom betakaroten.....	19
<b>Tabel 4. 3</b> Hasil uji stabilitas liposom betakaroten selama 30 hari .....	20

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 2 menit (replikasi 1).....	27
<b>Lampiran 2</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 2 menit (replikasi 2).....	28
<b>Lampiran 3</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 2 menit (replikasi 3).....	29
<b>Lampiran 4</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 4 menit (replikasi 1).....	30
<b>Lampiran 5</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 4 menit (replikasi 2).....	31
<b>Lampiran 6</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 4 menit (replikasi 3).....	32
<b>Lampiran 7</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 6 menit (replikasi 1).....	33
<b>Lampiran 8</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 6 menit (replikasi 2).....	34
<b>Lampiran 9</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 6 menit (replikasi 3).....	35
<b>Lampiran 10</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 8 menit (replikasi 1).....	36
<b>Lampiran 11</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 8 menit (replikasi 2).....	37
<b>Lampiran 12</b>	Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 8 menit (replikasi 3).....	38
<b>Lampiran 13</b>	Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 2 menit (replikasi 1).....	39
<b>Lampiran 14</b>	Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 2 menit (replikasi 2).....	40
<b>Lampiran 15</b>	Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 2 menit (replikasi 3).....	41

<b>Lampiran 16</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 4 menit (replikasi 1).....	42
<b>Lampiran 17</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 4 menit (replikasi 2).....	43
<b>Lampiran 18</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 4 menit (replikasi 3).....	44
<b>Lampiran 19</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 6 menit (replikasi 1).....	45
<b>Lampiran 20</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 6 menit (replikasi 2).....	46
<b>Lampiran 21</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 6 menit (replikasi 3).....	47
<b>Lampiran 22</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 8 menit (replikasi 1).....	48
<b>Lampiran 23</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 8 menit (replikasi 2).....	49
<b>Lampiran 24</b> Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 8 menit (replikasi 3).....	50
<b>Lampiran 25</b> Perhitungan nilai efisiensi enkapsulasi.....	51
<b>Lampiran 26</b> Kurva regresi uji antioksidan liposom betakaroten .....	51
<b>Lampiran 27</b> Perhitungan nilai IC <sub>50</sub> liposom betakaroten.....	51
<b>Lampiran 28</b> Kurva regresi uji antioksidan vitamin C.....	52
<b>Lampiran 29</b> Perhitungan nilai IC <sub>50</sub> vitamin C .....	52
<b>Lampiran 30</b> Perhitungan hasil PSA ukuran partikel uji stabilitas sonikasi 4 menit .....	53
<b>Lampiran 31</b> Perhitungan hasil PSA indeks polidispersitas uji stabilitas sonikasi 4 menit .....	54
<b>Lampiran 32</b> Perhitungan hasil PSA zeta potensial uji stabilitas sonikasi 4 menit .....	54
<b>Lampiran 33</b> Certificate of Analysis Betakaroten.....	54
<b>Lampiran 34</b> Larutan sampel uji DPPH.....	55

# FORMULASI LIPOSOM BETAKAROTEN DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN PERBEDAAN WAKTU SONIKASI

Vira Anggraini

Program Studi Farmasi

## INTISARI

**Latar belakang:** Betakaroten adalah karetenoid yang terdapat dalam buah dan sayuran berwarna kuning-oranye yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan merupakan prekursor vitamin A. Betakaroten dibuat dalam bentuk sediaan nanoliposom agar dapat meningkatkan efikasi dan indeks terapi obat serta meningkatkan stabilitas dengan sistem enkapsulasi. Liposom betakaroten dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis, metode tersebut dipilih karena merupakan metode yang mudah dan cepat untuk dilakukan serta peralatannya yang sederhana.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk melakukan formulasi dan karakterisasi liposom menggunakan senyawa betakaroten dengan variasi waktu sonikasi.

**Metode:** Metode yang digunakan untuk pembuatan sediaan liposom betakaroten yaitu metode hidrasi lapis tipis kemudian dilakukan pengecilan ukuran partikel menggunakan sonikator dengan variasi waktu 2; 4; 6; dan 8 menit. Hasil dari pembacaan ukuran partikel, zeta potensial, efisiensi enkapsulasi, dan nilai aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan pada jurnal-jurnal penelitian sebelumnya.

**Hasil:** Hasil preparasi nanoliposom selama 2 menit menghasilkan ukuran partikel  $175,6 \pm 3,71$  nm, indeks polidispersitas  $0,47 \pm 0,10$  Đ, zeta potensial  $-26,7 \pm 0,26$  mV. Sonikasi 4 menit menghasilkan ukuran partikel  $159,5 \pm 2,12$  nm, indeks polidispersitas  $0,52 \pm 0,06$  Đ dan zeta potensial  $-32,4 \pm 0,36$  mV. Sonikasi 6 menit mendapatkan hasil ukuran partikel  $177,0 \pm 5,17$  nm, indeks polidispersitas  $0,57 \pm 0,02$  Đ, dan zeta potensial  $-27,8 \pm 0,21$  mV. Sedangkan sonikasi 8 menit mendapatkan hasil ukuran partikel  $181,4 \pm 8,34$  nm, indeks polidispersitas  $0,65 \pm 0,05$  Đ, dan zeta potensial  $-23,3 \pm 1,40$  mV. Nilai efisiensi enkapsulasi yang didapatkan yaitu  $99,18\% \pm 0,22$  dan bentuk partikel mendekati sferis.

**Kesimpulan:** Preparasi nanoliposom betakaroten dengan metode hidrasi lapis tipis optimal pada waktu sonikasi 4 menit.

**Kata kunci:** Betakaroten, Liposom, Hidrasi lapis tipis, Sonikasi

# FORMULATION OF BETACAROTENE LIPOSOMES WITH THIN LAYER HYDRATION METHOD USING DIFFERENCES OF SONICATION TIME

Vira Anggraini

Department of Pharmacy

## ABSTRACT

**Background:** Beta-carotene can be found in yellow-orange fruits and vegetables that has activity as an antioxidant and is a precursor of vitamin A. Beta-carotene is made in the form of nanoliposomes in order to increase the efficacy and index of drug therapy and increase stability with the encapsulation system. Beta-carotene liposomes were prepared using the thin layer hydration method, this method was chosen because it is an easy and fast method to perform and simple equipment.

**Objective:** This study aims to formulate and characterize liposomes using beta-carotene compounds.

**Method:** The method used for the manufacture of beta-carotene liposome preparations is the thin layer hydration method and then the particle size reduction is carried out using a sonicator with a time variation of 2; 4; 6; and 8 minutes. The results of reading particle size, zeta potential, encapsulation efficiency, and antioxidant activity values were analyzed descriptively by comparing with previous research journals.

**Result:** The results of the preparation of nanoliposomes for 2 minutes resulted in a particle size of  $175.6 \pm 3.71$  nm, polydispersity index  $0.47 \pm 0.10$  Đ, zeta potential  $-26.7 \pm 0.26$  mV. 4 minutes of sonication resulted in a particle size of  $159.5 \pm 2.12$  nm, polydispersity index of  $0.52 \pm 0.06$  Đ and zeta potential of  $-32.4 \pm 0.36$  mV. Sonication for 6 minutes resulted in particle size of  $177.0 \pm 5.17$  nm, polydispersity index of  $0.57 \pm 0.02$  Đ, and zeta potential of  $-27.8 \pm 0.21$  mV. Meanwhile, 8 minutes of sonication resulted in particle size of  $181.4 \pm 8.34$  nm, polydispersity index  $0.65 \pm 0.05$  Đ, and zeta potential  $-23.3 \pm 1.40$  mV. The encapsulation efficiency value obtained is  $99.18\% \pm 0.22$  and the particle shape is close to spherical.

**Conclusion:** Preparation of beta-carotene nanoliposomes using the thin layer hydration method is optimal at a sonication time of 4 minutes.

**Keyword:** Betacaroten, Thin Layer Hydration, Sonication

**BAB 1**  
**PENDAHULUAN**  
**1.1 Latar Belakang Masalah**

Betakaroten adalah karetenoid yang terdapat dalam buah dan sayuran berwarna kuning-oranye yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan prekursor vitamin A (Rocha *et al.*, 2018). Aktivitas antioksidan dari betakaroten memiliki fungsi untuk mencegah berbagai penyakit seperti penyakit kanker, paru-paru, penyakit kardiovaskular, dan penyakit mata. Betakaroten merupakan senyawa hidrofobik dengan titik leleh tinggi, stabilitas kimia rendah dan bioavailabilitas rendah (Hudiyanti *et al.*, 2018). Pasar karatenoid masih didominasi oleh produk kimia sintetik (80-90%). Pada tahun 2026 pasar global karatenoid diperkirakan akan mencapai 2 miliar dollar AS, termasuk makanan dan minuman (26,1%), obat-obatan (9,2%), kosmetik (6,5%), dan suplemen makanan (23,5%) (Ren *et al.*, 2021). Pemanfaatan karetenoid sebagai agen farmakologis masih terbatas, oleh karena itu perlu dibuat sistem penghantaran yang baik untuk mengatasi sifat hidrofobiknya dengan dibuat dalam nanoformulasi seperti liposom (Elkholy *et al.*, 2021).

Liposom merupakan salah satu sistem penghantaran obat koloid yang dapat meningkatkan efikasi dan indeks terapi obat serta meningkatkan stabilitas dengan sistem enkapsulasi (Akbarzadeh *et al.*, 2013). Liposom adalah vesikel bulat yang terdiri dari satu atau lebih lipid bilayer yang dibentuk secara spontan oleh fosfolipid dalam media berair (Corrêa *et al.*, 2019). Enkapsulasi obat dalam liposom dapat meningkatkan kestabilan dan terapeutik dari berbagai zat aktif.

Salah satu sistem penghantaran obat yang baik dan dapat digunakan secara topikal yaitu sediaan liposom. Varshneya Aparajita (2014); Ternullo *et al* (2018) melakukan penelitian tentang liposom sebagai sistem penghantaran obat secara topikal. Hasil yang dilaporkan bahwa liposom merupakan sistem penghantaran obat yang baik secara topikal. Penelitian lain yang telah melakukan formulasi liposom dengan katekin terbukti dapat meningkatkan



efektivitas dari senyawa katekin. Selain itu, dalam penelitian tersebut menyimpulkan bahwa semakin besar kolesterol maka formulasi liposom akan semakin bagus dan stabil (Corrêa *et al.*, 2019).

Metode yang akan digunakan untuk pembuatan liposom betakaroten yaitu metode hidrasi lapis tipis. Penggunaan metode hidrasi lapis tipis dipilih karena merupakan metode yang mudah dan cepat untuk dilakukan serta peralatannya yang sederhana (Nurmahliati *et al.*, 2020). Zat aktif yang bersifat hidrofilik dapat dilarutkan dalam fase air dan zat aktif yang bersifat hidrofobik dapat dilarutkan dalam pelarut organik atau dengan senyawa lain. Pada penggunaan metode hidrasi lapis tipis akan menghasilkan liposom yang berbentuk MLV (*Multi Lamellar Vesicles*) dengan homogenitas yang kurang baik, sehingga perlu pengecil ukuran partikel untuk menyeragamkannya. Salah satu upaya untuk memperkecil ukuran partikel yang umum digunakan yaitu sonikasi (Lu dan Qi, 2021). Sonikasi merupakan metode yang efektif untuk memecahkan aglomerasi dan untuk meningkatkan dispersi nanopartikel (El-Tair *et al.*, 2020). Waktu sonikasi sangat berpengaruh pada ukuran partikel dan homogenitasnya, semakin lama waktu sonikasi maka menyebabkan ukuran partikel akan semakin homogen (Manik *et al.*, 2021).

Telah diteliti bahwa betakaroten yang dienkapsulasi menggunakan supercritical CO<sub>2</sub> dengan ultrasonik menghasilkan stabilitas yang baik (Tanaka *et al.*, 2020). Namun, belum ditemukan adanya penelitian tentang formulasi sediaan nanoliposom betakaroten dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Sehingga hal ini yang memicu peneliti untuk melakukan formulasi sediaan nanoliposom betakaroten yang memiliki efektivitas sebagai antioksidan dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana formulasi dan karakterisasi sediaan liposom betakaroten dengan metode hidrasi lapis tipis?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Melakukan formulasi dan karakterisasi sediaan liposom menggunakan senyawa betakaroten dengan metode hidrasi lapis tipis.

### **1.4 Luaran Penelitian**

1. Dari penelitian ini diperoleh sediaan liposom betakaroten yang dapat dimanfaatkan sebagai inovasi baru dalam industri farmasi.
2. Adanya publikasi ilmiah hasil penelitian liposom betakaroten dengan metode hidrasi lapis tipis.

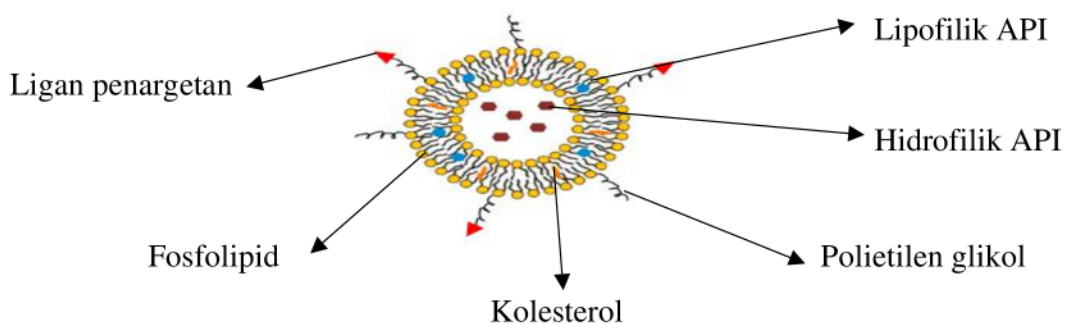
## BAB II

### STUDI PUSTAKA

#### 2.1 Liposom

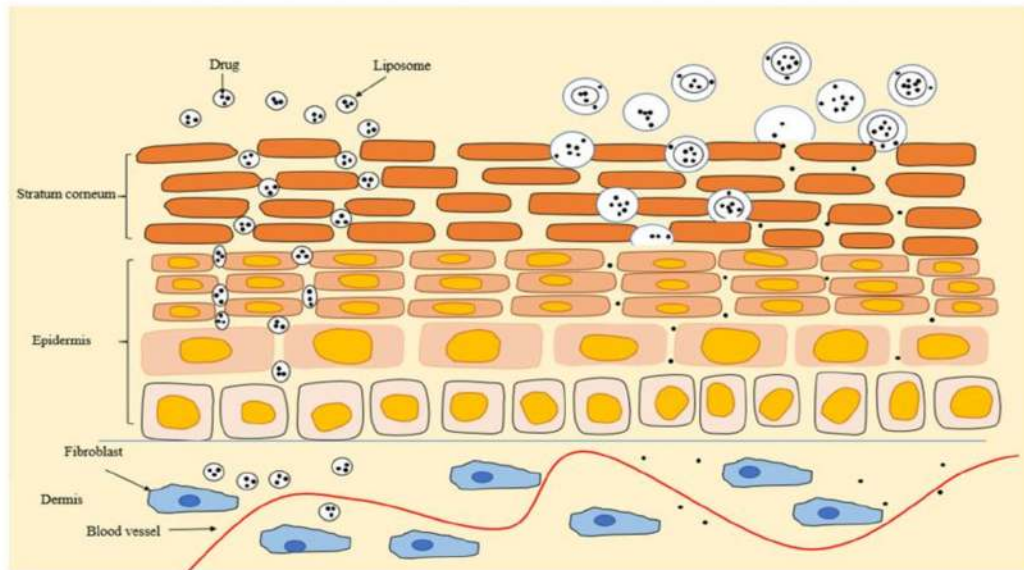
Liposom adalah vesikel *spherical* yang terdiri dari satu atau lebih lipid bilayer yang secara spontan dibentuk oleh dispersi fosfolipid dalam media air. Bagian polar dari fosfolipid berada dipermukaan luar dan dalam membran, bersentuhan langsung dengan media berair (Corrêa *et al.*, 2019). Pada umumnya, liposom dan nanoliposom memiliki kesamaan kimia, struktur dan sifat termodinamika. Liposom telah banyak digunakan untuk tujuan pembuatan kosmetik, obat, makanan dan industri pertanian (Panahi *et al.*, 2017).

Liposom dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran dan jumlah lipid bilayer-nya : vesikel unilamellar kecil (SUV) memiliki ukuran 20-100 nm, vesikel unilamellar besar (LUVs) berukuran 100 nm-1  $\mu$ m, dan vesikel unilamellar raksasa (GUVs) berukuran  $> 1 \mu$ m. SUV adalah ukuran yang paling umum digunakan sebagai sistem penghantaran obat karena menunjukkan enkapsulasi obat yang baik dan pelepasan kinetik dengan waktu sirkulasi yang lebih lama (Large *et al.*, 2021).



**Gambar 2.1** Ilustrasi struktur liposom (Fan *et al.*, 2021)

Liposom telah terbukti dapat berpenetrasi melalui stratum corneum ke dalam jaringan epidermis dan dermis. Pada penelitian sebelumnya, liposom dengan diameter rata-rata 83 nm dapat masuk kedalam jaringan epidermis dan dermis. Tetapi liposom dengan ukuran 200 – 300 nm memiliki penetrasi yang kurang baik melalui stratum corneum (Liu *et al.*, 2021) (**Gambar 2.2**).



**Gambar 2.2** Mekanisme absorpsi liposom melalui perkutan

Metode hidrasi lapis tipis merupakan metode yang paling umum digunakan untuk sintesis liposom, sederhana serta sesuai dengan bahan obat yang bersifat lipofilik, lapisan tipis yang dihasilkan akan dihidrasi dengan penghidrasi sehingga terbentuk liposom cair. Dalam metode ini, molekul lipid dan amfifilik dilarutkan dan dicampur dalam pelarut organik. Campuran tersebut lalu dipindahkan ke dalam labu alas bulat dan pelarut diuapkan dengan alat *rotary evaporator* hingga terbentuk lapisan tipis dibagian bawah labu alas bulat. Lapisan tipis kemudian dihidrasi ke dalam larutan yang mengandung senyawa hidrofilik yang akan dienkapsulasi. Suhu buffer hidrasi harus diatas suhu transisi ( $T_m$ ) fase gel-cair lipid. Volume larutan yang besar menyebabkan pembentukan MLV sedangkan laju hidrasi menentukan efisiensi enkapsulasi (Large *et al.*, 2021).

## 2.1.1 Karakteristik Liposom

### 2.1.1.1 Zeta Potensial

Zeta potensial adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Zeta potensial sering digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel yang berkaitan dengan

interaksi elektrostatik. Interaksi elektrostatik akan menentukan kecenderungan agregasi dan tolak menolak. Untuk mencegah agregasi, muatan zeta potensial harus lebih tinggi dari medium pendispersi (Abdassah, 2017). Nilai zeta potensial kurang dari -30 mV atau lebih dari +30 mV akan mempertahankan tolakan antar partikel dan partikel suspensi yang stabil (Fan *et al.*, 2021).

### **2.1.1.2 Ukuran Partikel**

Ukuran partikel merupakan karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel, yang mana digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, biologis, toksisitas, dan kemampuan penargetan dari sistem nanopartikel. Ukuran partikel diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) (Abdassah, 2017). Ukuran partikel nanoliposome yang baik adalah 100 nm -150 nm, sedangkan PI (*Polidispersity Index*) yang baik yaitu  $< 0,7 \text{ D}$  (Nugroho *et al.*, 2020).

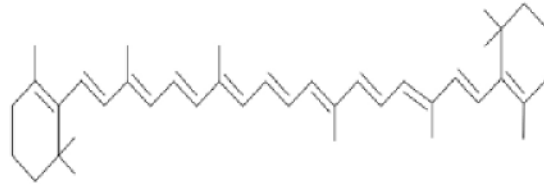
### **2.1.1.3 Efisiensi Enkapsulasi**

Efisiensi enkapsulasi (EE%) diartikan sebagai persentase jumlah obat yang terjerat dalam struktur yang berkaitan dengan jumlah obat yang ada selama pembentukan pembawa dan prosedur penjeratan (Asprea *et al.*, 2017). Enkapsulasi menjadi pilihan yang baik untuk melindungi dan meningkatkan biokompatibilitas komponen bioaktif karena memiliki manfaat nontoksik, biodegradable dan non immunogenic (Hao *et al.*, 2017).

## **2.2 Betakaroten**

Betakaroten merupakan senyawa berwarna oranye yang termasuk dalam golongan senyawa karatenoid yang terdapat didalam buah-buahan dan sayuran, seperti labu, mangga, tomat, wortel dan bayam (Chen *et al.*, 2017). Betakaroten memiliki aktivitas seperti antioksidan, antikanker, dapat mengurangi risiko penyakit jantung, katarak, dan adenoma kolorektal (Liu *et al.*, 2020). Namun, senyawa ini memiliki sifat hidrofobik sehingga penyerapan betakaroten rendah pada manusia. Hal ini menunjukkan bahwa bioavaibilitas dari betakaroten kurang baik. Senyawa ini peka terhadap panas dan cahaya, serta mudah teroksidasi,

sehingga aplikasinya pada makanan, nutraceutical, dan obat-obatan menjadi terbatas. Oleh karena itu, betakaroten harus dibuat dalam bentuk enkapsulasi untuk meningkatkan dispersibilitas air dan mencegah oksidasi serta degradasi membran (Tanaka *et al.*, 2020).



**Gambar 2. 3** Struktur Kimia Betakaroten (Elkholy *et al.*, 2020)

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Alat dan Bahan

#### 3.1.1 Alat

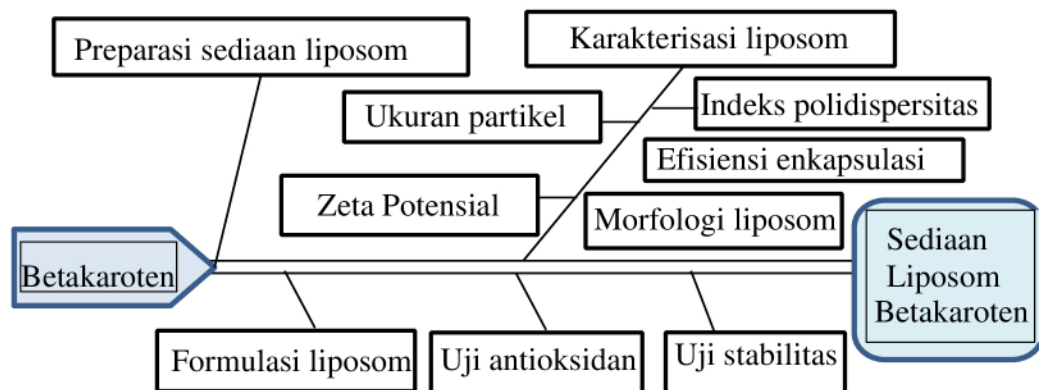
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (Pyrex), vial, *rotary evaporator* (Heidolph), *vortex* (Heidolph), *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100), *ultrasonic homogenizer* (Model 150VT Biologics) Spektrofotometer UV (1800 Shimadzu *doublebeam*), neraca analitik (Metler Toledo XS 205, kepekaan 0,01 mg).

#### 3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu Betakaroten (Sigma Aldrich), Phospolipon 80 H, Beeswax (Brataco), Kloroform Pa (JT Baker), Metanol Pa (JT Baker), etanol 70% (Brataco), propilen glikol (Brataco), tween 80 (Merck), *Posphate-Buffer Saline* (Merck), Aquabides.

### 3.2 Skema Penelitian

Urutan proses penelitian ini dimulai dari preparasi sediaan liposom betakaroten, formulasi liposom, dan dilakukan pengujian berupa pengukuran ukuran partikel, zeta potensial, stabilitas, indeks polidispersitas, efisiensi enkapsulasi, uji morfologi, dan uji antioksidan (**Gambar 3.1**)



**Gambar 3.1** Skema Penelitian

### 3.3 Tahapan Penelitian

#### 3.3.1 Pembuatan liposom dengan metode hidrasi lapis tipis

Liposom diformulasikan dengan mencampurkan dari 2 fase, yakni fase organik dan fase air. Fase organik terdiri dari betakaroten, beeswax, phospholipon 80H, serta campuran metanol:kloroform (7:3). Sedangkan fase polar meliputi PBS pH 7,4, tween 80 dan propilen glikol (**Tabel 3.1**). Liposom dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis. Semua bahan pada fase organik yang terdiri dari betakaroten, beeswax, phospholipon 80H, metanol dan kloroform (7:3) dimasukkan ke dalam labu alas bulat rotary evaporator, dipanaskan sampai suhu 45<sup>0</sup>C dengan kecepatan 100 rpm selama 1 jam. Proses rotary selama 1 jam akan membentuk lapisan tipis pada dinding labu alas bulat. Lapisan tipis yang terbentuk kemudian dikeluarkan dari labu dan diletakkan di cawan porselin lalu ditambahkan dengan etanol yang kemudian di *waterbath* sambil diaduk sampai kental. Pada fase polar dibuat dengan cara melarutkan 1 tablet *phosphate buffer saline* menggunakan aquades dalam labu ukur 100 ml. Diambil sebanyak 10 ml larutan PBS yang telah dibuat kemudian dicampurkan dengan tween 80 dan propilen glikol. Setelah itu dicampurkan fase organik dan fase air menggunakan rotary tanpa keadaan vakum selama 30 menit. Liposom yang telah terbentuk diseragamkan dan dikecilkan ukurannya dengan memakai alat sonikator dengan variasi waktu 2;4;6; dan 8 menit. Hasil sonikasi dimasukkan ke dalam vial lain, kemudian disimpan di dalam lemari es atau dapat langsung diuji (Pasaribu *et al.*, 2016)



**Tabel 3. 1** Formula Nanoliposom Betakaroten (Putri, 2021)

<b>Nama Bahan</b>	<b>Jumlah</b>
Betakaroten (mg)	15 mg
Phospholipon 80H	51,6 mg
Beeswax	8 mg
Phosphate-Buffered Saline (ml)	10 ml
Kloroform (ml)	3 ml
Metanol (ml)	7 ml
Tween 80	0,5 ml
Propilen glikol	1,177 ml

### 3.3.2 Uji morfologi liposom

Morfologi karakteristik dan ukuran liposom dievaluasi dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) (Phenom Pro-X). Sampel liposom diencerkan dengan pengenceran 20x dan 50x, lalu ditetaskan sampel pada *formvar coated cumprum grid* sebanyak satu tetes dan dikeringkan pada suhu ruang. Setelah liposom kering dianalisa dengan SEM (Phenom Pro-X). Sampel dimasukkan ke dalam wadah dan dianalisis pada suhu 25°C.

### 3.3.3 Pembacaan ukuran partikel dan pengujian zeta potensial

Pengukuran ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *particel size analyzer* (Horiba SZ 100), sampel dimasukan kedalam kuvet setelah dilakukan pengenceran 100x dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk masing-masing.

### 3.3.4 Pengujian efisiensi enkapsulasi

Pengujian efisiensi enkapsulasi dimulai dengan pembuatan kurva baku betakaroten sebagai standar. Pada pembuatan larutan standar betakaroten, diambil 10 mg betakaroten kemudian dilarutkan menggunakan metanol dalam labu ukur 10 ml dengan konsentrasi larutan stok 1000 µg/ml. Dari larutan standar betakaroten diencerkan menggunakan aquabides dengan konsentrasi 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm; 25 ppm dan 30 ppm dalam labu ukur 10 ml. Lima konsentrasi hasil pengenceran

kemudian diukur kadar betakarotennya menggunakan UHPLC (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*) dengan panjang gelombang 371 nm menggunakan kolom Sunfire™ C18 150x5 mm, 4,6 µm dengan menggunakan fase gerak asetronitril:metanol (7:3) dan kecepatan aliran 1,2 ml/menit, kemudian dilakukan penentuan efisiensi enkapsulasi dengan 3 replikasi.

Liposom betakaroten diambil dan dimasukkan kedalam *float a lyzer* selama 1 hari, kemudian dimasukkan ke dalam beker yang berisi larutan PBS. Beker yang sudah berisikan *float a lyzer* diputar menggunakan *magnetic stirer* kemudian diambil supernatannya. Supernatan tersebut kemudian diencerkan menggunakan larutan PBS kemudian dimasukkan kedalam vial untuk diukur jumlah betakaroten total, dilakukan penentuan efisiensi enkapsulasi dengan 3 replikasi. Penetapan kadar menggunakan UHPLC (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*) dengan panjang gelombang 371 nm. Kolom yang digunakan adalah kolom Sunfire™ C18 150x5 mm, 4,6 µm dengan menggunakan fase gerak asetronitril:metanol (7:3) dan kecepatan aliran 1,2 ml/menit.

### **3.3.5 Uji stabilitas sediaan**

Uji stabilitas dilakukan selama 1 bulan. Hasil nanoliposom dimasukkan ke dalam botol kaca berpenutup ulir setelah dihomogenisasi menggunakan ultrasonikator. Uji stabilitas yang dilakukan yaitu uji stabilitas dipercepat. Dalam uji stabilitas dipercepat dilakukan peningkatan laju degradasi kimia dan perubahan fisika dengan cara sampel disimpan pada kondisi suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \text{RH} \pm 5\% \text{RH}$  (Tietje dan Brouder, 2010).

### **3.3.6 Uji antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan sediaan nanoliposom betakaroten dilakukan menggunakan metode DPPH. Analisis redaman dalam uji ini hanya menggunakan satu formula nanoliposom yaitu sediaan dengan waktu ultrasonikasi 4 menit karena memiliki ukuran partikel yang paling kecil. Uji antioksidan dimulai dengan preparasi larutan DPPH 0,5 mM. Ditimbang 19,7 mg DPPH, dilarutkan dalam labu takar 100 mL dengan metanol, kemudian dihomogenkan dengan divortex selama 3

menit. Setelah itu, diencerkan larutan DPPH 0,5 mM menjadi 0,05 mM dengan pelarut metanol, kemudian dihomogenkan dengan divortex selama 3 menit. Selanjutnya mengukur panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV. Larutan DPPH 0,05 mM dibaca pada lamda 400-800 untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum. Sampel nanopartikel dari larutan stok 1000 ppm diencerkan menjadi 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Selanjutnya dipipet sebanyak 1 mL tiap seri kadar larutan sampel kemudian ditambah 4 mL larutan DPPH 0,05 mM kemudian dihomogenkan dengan vortex. Sampel yang telah dihomogenkan dengan vortex lalu didiamkan selama 30 menit dalam ruangan gelap. Setelah itu dibaca absorbansi DPPH larutan sampel menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada lamda 516 nm. Larutan kontrol/blanko dibuat menggunakan campuran 1 mL metanol dan 4 mL larutan DPPH 0,05 mM. Masing-masing sampel dan blanko dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimal sebanyak tiga kali. Data yang diperoleh dari hasil % Redemen dan konsentrasi senyawa uji kemudian diolah menggunakan regresi linier untuk mendapatkan konsentrasi penangkapan radikal 50% ( $IC_{50}$ ).

$$\% \text{ redaman} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

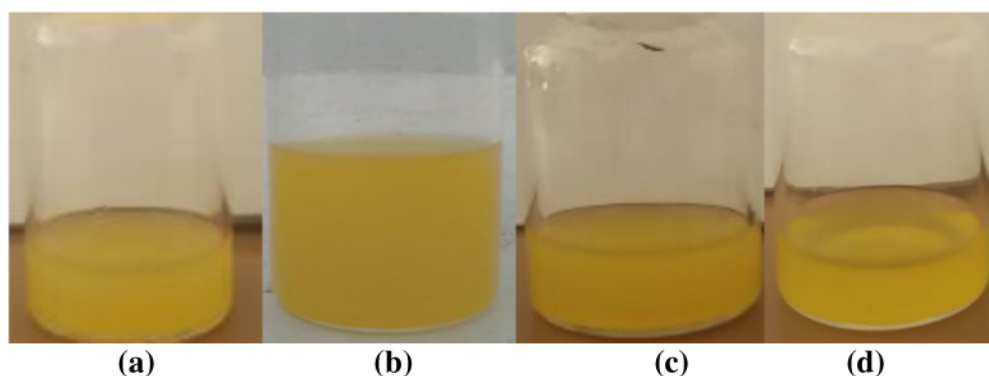
### 3.4 Analisis Hasil

Hasil dari pembacaan ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, efisiensi enkapsulasi, dan nilai aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan pada jurnal-jurnal penelitian sebelumnya.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Preparasi Nanoliposom

Tahapan awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah preparasi nanoliposom betakaroten dengan variasi waktu sonikasi 2 menit; 4 menit; 6 menit; dan 8 menit. Hasil yang didapat dari preparasi nanoliposom berupa larutan kuning. Hasil organoleptis dapat dilihat pada **Gambar 4.1**



**Gambar 4.1** Preparasi nanoliposom dengan variasi waktu 2 menit (a), 4 menit (b), 6 menit (c), dan 8 menit (d)

Dilakukan variasi waktu sonikasi 2 menit; 4 menit; 6 menit; dan 8 menit dengan tujuan untuk memperkecil ukuran partikel serta dapat mempengaruhi tingkat kejernihan sediaan. Pada formula dengan waktu sonikasi 2 menit didapatkan larutan berwarna kuning keruh. Pada formula dengan waktu 4 menit hasil yang didapat larutan berwarna kuning sedikit keruh. Pada formula dengan waktu 6 menit didapatkan larutan berwarna kuning sedikit keruh. Pada variasi waktu terbanyak yaitu 8 menit larutan yang didapat berwarna kuning agak jernih.

### 4.2 Karakterisasi Nanoliposom

Data yang diperoleh dari sediaan nanoliposom betakaroten dengan metode hidrasi lapis berdasarkan variasi waktu 2 menit; 4 menit; 6 menit; dan 8 menit menggunakan bantuan alat ultrasonikator dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

**Tabel 4. 1** Data optimasi nanoliposom betakaroten (n=3)  $\pm$  SD

Variasi Waktu	Warna	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas ( $\text{\textcircled{D}}$ )	Zeta Potensial (mV)
2 menit	Kuning keruh	175,6 $\pm$ 3,71	0,47 $\pm$ 0,10	-26,7 $\pm$ 0,26
4 menit	Kuning sedikit keruh	159,5 $\pm$ 2,12	0,52 $\pm$ 0,06	-32,4 $\pm$ 0,36
6 menit	Kuning sedikit keruh	177,0 $\pm$ 5,17	0,57 $\pm$ 0,02	-27,8 $\pm$ 0,21
8 menit	Kuning agak jernih	181,4 $\pm$ 8,34	0,65 $\pm$ 0,05	-23,3 $\pm$ 1,40

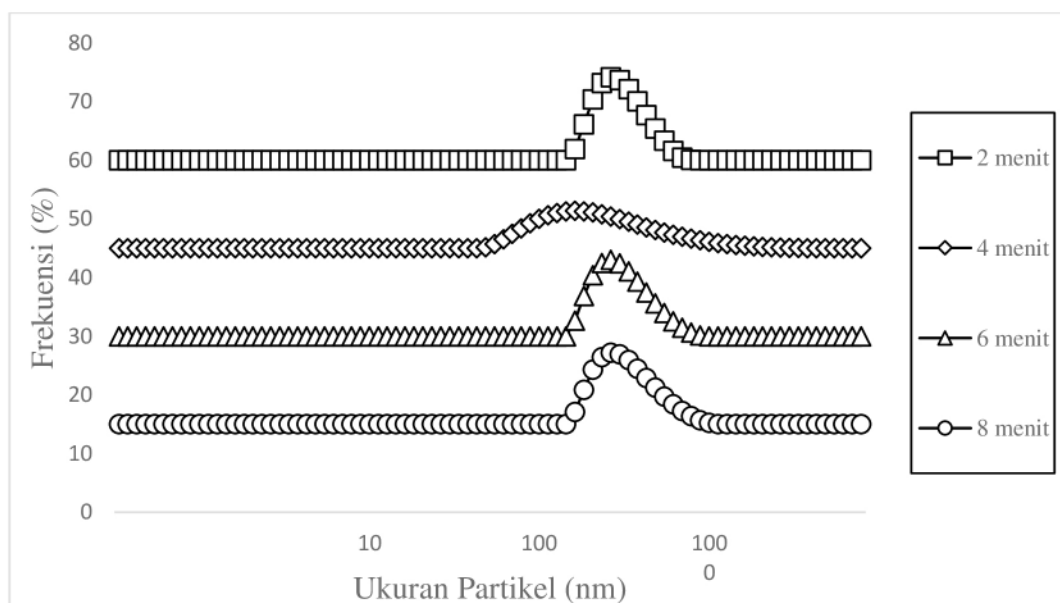
#### 4.2.1 Ukuran partikel dan distribusi partikel

Ukuran dan distribusi partikel merupakan faktor penting dalam karakterisasi sistem nanopartikel. **Tabel 4.1** menunjukkan data ukuran partikel sediaan liposom betakaroten dengan variasi waktu ultrasonikasi. Ukuran partikel yang didapat masuk dalam range 100-1000 nm, sehingga dapat dikatakan sebagai sediaan liposom (Large *et al.*, 2021).

Proses sonikasi memiliki peranan penting untuk mengurangi ukuran partikel. Proses tersebut akan menghasilkan getaran ultrasonik yang menyebabkan tumbukan antar partikel liposom dalam suatu medium, sementara itu gelombang ultrasonik dapat memecah ukuran liposom menjadi lebih kecil. Dari data diatas ukuran partikel terkecil yang diperoleh yaitu 159,5  $\pm$  2,12 dengan durasi sonikasi 4 menit. Seharusnya, durasi sonikasi yang lebih lama dapat membuat ukuran partikel menjadi lebih kecil, tetapi hasil yang diperoleh berbanding terbalik (Putri *et al.*, 2017). Pada durasi sonikasi 6 dan 8 menit memiliki ukuran partikel yang lebih besar dari durasi sonikasi 4 menit, hal ini disebabkan pencampuran belum sempurna sehingga mudah terbentuk koloid (Prihantini *et al.*, 2019).

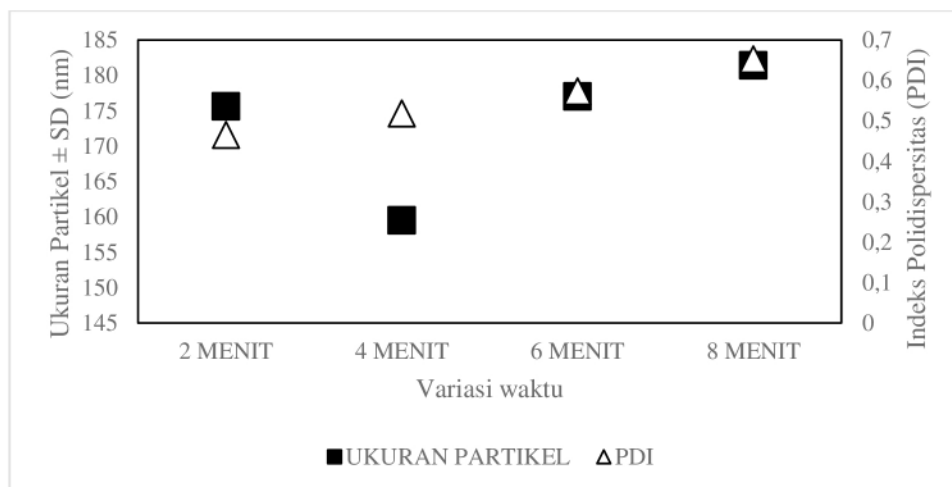
Distribusi ukuran partikel adalah karakteristik yang penting dalam mempengaruhi pelepasan obat, drug loading, dan stabilitas. Distribusi partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas (Amyliana dan Agustini, 2021). Nilai

indeks polidispersitas dari keempat variasi waktu sonikasi dapat dilihat pada **Tabel 4.1**. Hasil yang diperoleh menunjukkan tidak ada formula yang memiliki indeks polidispersitas  $>0,7$  sehingga dapat dikatakan setiap formula dengan variasi waktu yang berbeda memiliki ukuran partikel yang homogen. **Gambar 4.2** menampilkan variasi waktu sonikasi 2 menit, 6 menit dan 8 menit memiliki polidispersitas atau homogenitas ukuran partikel terbaik ditandai dengan muncul satu puncak yang tinggi dan sempit.



**Gambar 4.2** Distribusi ukuran partikel nanoliposom terhadap optimasi waktu

Indeks polidispersitas merupakan representasi dari distribusi ukuran partikel dalam sampel yang diberikan. Indeks polidispersitas terdapat 2 kategori, yaitu monodispersi dan polidispersi. Nilai indeks polidispersitas 0,01 – 0,6 termasuk kategori monodispersi, sedangkan kategori polidispersitas memiliki nilai  $>0,6$  (Amyliana dan Agustini, 2021). Nilai numerik PDI berkisar dari 0,0 (untuk sampel dengan ukuran partikel yang sangat seragam) hingga 1,0 (untuk sampel yang sangat polidispersi dengan beberapa populasi ukuran partikel) (Danaei *et al.*, 2018).

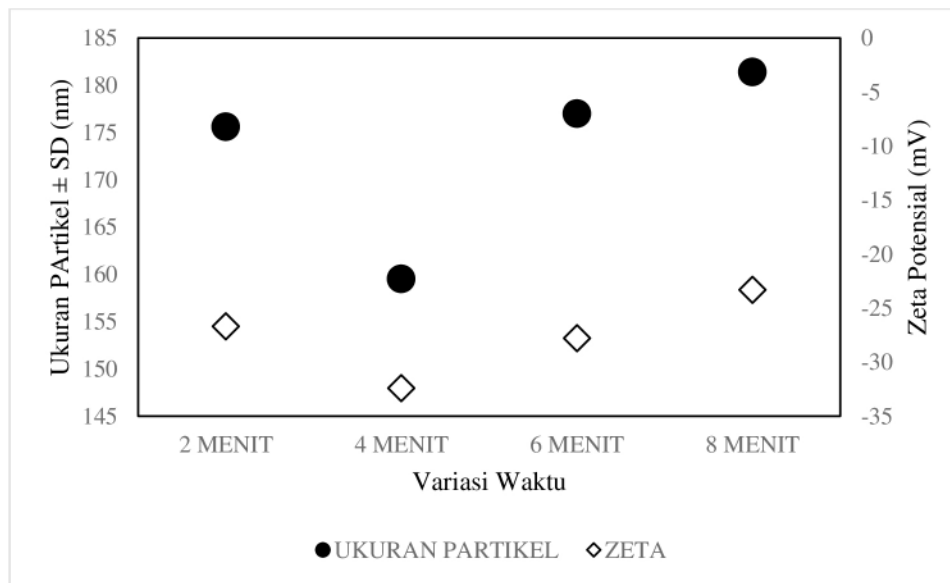


**Gambar 4.3** Indeks polidispersitas dan ukuran partikel terhadap waktu sonikasi

#### 4.2.2 Zeta potensial

Zeta potensial adalah ukuran besarnya potensial elektrostatis atau gaya tolak menolak antara muatan listrik yang sama dari partikel dalam suatu sediaan. Zeta potensial merupakan parameter penting untuk menggambarkan stabilitas sistem dispersi. Nilai zeta potensial juga dapat memberikan gambaran bahwa partikel dalam suatu sediaan mengalami agregasi atau flokulasi (Surini *et al.*, 2018). Nilai negatif pada zeta potensial menandakan terdapat asam lemak bebas pada sediaan sehingga terjadi penolakan yang cukup besar antar tetapan untuk bergabung yang mengakibatkan sistem emulsi menjadi stabil (Nugroho *et al.*, 2020).

Beberapa faktor yang mempengaruhi nilai zeta potensial yaitu pH, kekuatan ionik, dan konsentrasi partikel (Ahmed *et al.*, 2019). Nilai zeta potensial lebih dari +25 mV atau kurang dari -25 mV menggambarkan sediaan nanopartikel yang stabil (Evans *et al.*, 2018). **Gambar 4.4** menunjukkan hubungan antara ukuran partikel dan nilai zeta potensial, hasil pengujian zeta potensial liposom betakaroten pada waktu sonikasi 2 menit yaitu  $-26,7 \pm 0,26$ ; sonikasi 4 menit yaitu  $-32,4 \pm 0,36$ ; sonikasi 6 menit yaitu  $-27,8 \pm 0,21$  mV; dan sonikasi 8 menit yaitu  $-23,3 \pm 1,40$  mV. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada waktu sonikasi 4 menit, formulasi menjadi lebih stabil jika dibandingkan dengan waktu sonikasi 2 menit; 6 menit; dan 8 menit, dilihat dari besarnya nilai zeta potensial.



**Gambar 4.4** Zeta potensial dan ukuran partikel terhadap variasi waktu sonikasi

#### 4.2.3 Efisiensi enkapsulasi

Efisiensi enkapsulasi salah satu parameter penting dalam pengembangan penghantaran obat berbasis liposom (Shao *et al.*, 2017). Pada pengujian efisiensi enkapsulasi dalam liposom, obat bebas harus dipisahkan dari liposom. Metode pemisahan pada pengujian ini menggunakan metode dialisis. Nilai efisiensi enkapsulasi yang baik yaitu lebih dari 80% (Ullmann *et al.*, 2021).

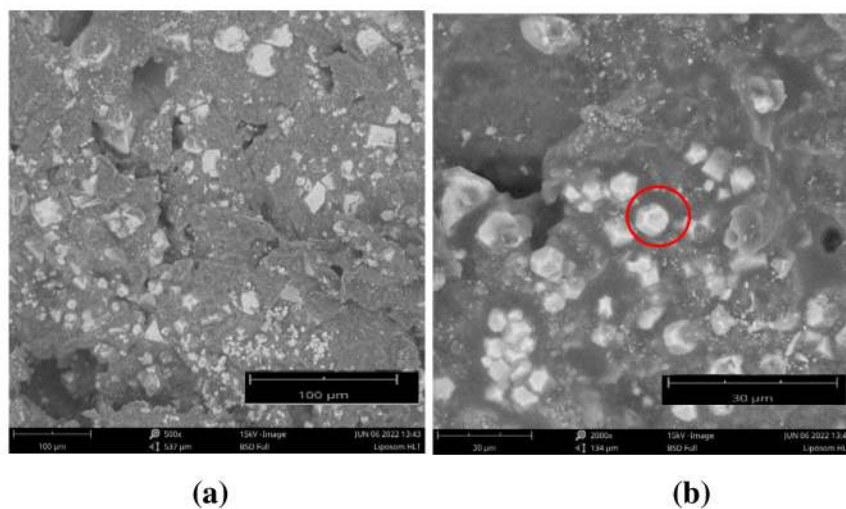
Hasil efisiensi enkapsulasi menggunakan UHPLC nilai yang diperoleh dari rata-rata 3 kali replikasi yaitu  $97,95\% \pm 0,55$ . Hasil tersebut dapat dikatakan baik karena lebih dari 80% (Ullmann *et al.*, 2021). Salah satu komposisi dari sediaan liposom betakaroten yaitu phospholipon 80H yang berfungsi sebagai fosfolipid, penambahan konsentrasi fosfolipid dapat meningkatkan nilai efisiensi enkapsulasi (Ambarwati dan Rustiani, 2022).

#### 4.2.4 Morfologi liposom

Sampel liposom betakaroten yang digunakan untuk uji morfologi yaitu menggunakan sampel dengan variasi waktu sonikasi 4 menit. Pemeriksaan morfologi liposom digunakan *scanning electron microscopy* (SEM). Pada pengujian menggunakan SEM sampel yang digunakan berbentuk padatan, maka



dari itu sebelum dilakukan pemeriksaan morfologi sampel liposom harus dikeringkan melalui proses *freeze drying* sehingga dihasilkan padatan berwarna kuning. Akan tetapi, dari hasil *freeze dry* yang dilakukan tidak dapat menghasilkan bentuk padatan yang kering sempurna karena dalam formulasi liposom betakaroten terdapat tween 80 sehingga saat melakukan pengujian tidak dapat memaksimalkan perbesaran. Hasil pengamatan morfologi liposom betakaroten dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 4.5** Morfologi liposom betakaroten dengan perbesaran 500x (a), perbesaran 1000x (b)

Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat jika morfologi liposom betakaroten memiliki bentuk mendekati bulat (sferis). Hal lain yang dapat diamati yaitu liposom betakaroten membentuk agregat. Penyebab terjadinya agregasi partikel dan bentuk partikel yang tidak sferis dikarenakan metode pengeringan yang digunakan untuk mengeringkan sediaan liposom yaitu pengeringan beku (*freeze dry*) (Robson *et al.*, 2018). Pada proses *freeze dry* terjadi sublimasi fase air, yang mengakibatkan selama proses pengeringan partikel akan cenderung membentuk suatu sistem (terjadi pengendapan) dibandingkan membentuk satu partikel saja (Amalia *et al.*, 2015). Pengamatan menggunakan SEM belum dapat menggambarkan bentuk lamelartitas dari liposom (Verawaty *et al.*, 2016).

### 4.3 Pengujian Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1,2,2-diphenyl picryl hydrazyl*). Metode ini merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan diukur menggunakan instrumen Spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum yaitu 516 nm. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50%*).  $IC_{50}$  merupakan nilai yang menggambarkan konsentrasi senyawa yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50% (Ikhrar *et al.*, 2019).

**Tabel 4. 2** Hasil uji aktivitas antioksidan liposom betakaroten

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Regresi Linier	Nilai $R^2$	$IC_{50}$
Vitamin C	2	0,3458	6,62	$y = 6,0538x - 4,335$	$R^2 = 0,9493$	8,98 ppm
	4	0,3315	10,48			
	6	0,2323	37,27			
	8	0,2048	44,69			
	10	0,1609	56,55			
Liposom betakaroten	200	0,3693	0,27	$y = 0,0019x - 0,0424$	$R^2 = 0,9969$	26.317,05 ppm
	400	0,3676	0,73			
	600	0,3661	1,13			
	800	0,3647	1,51			
	1000	0,3634	1,86			

Hasil uji aktivitas antioksidan liposom betakaroten dan vitamin C dapat dilihat pada **Tabel 4.2**. Persentase aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa penurunan nilai absorbansi dapat menyebabkan terjadinya kenaikan nilai persentase peredaman. Semakin besar konsentrasi menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki juga besar (Zuliani dan Kusuma, 2019).

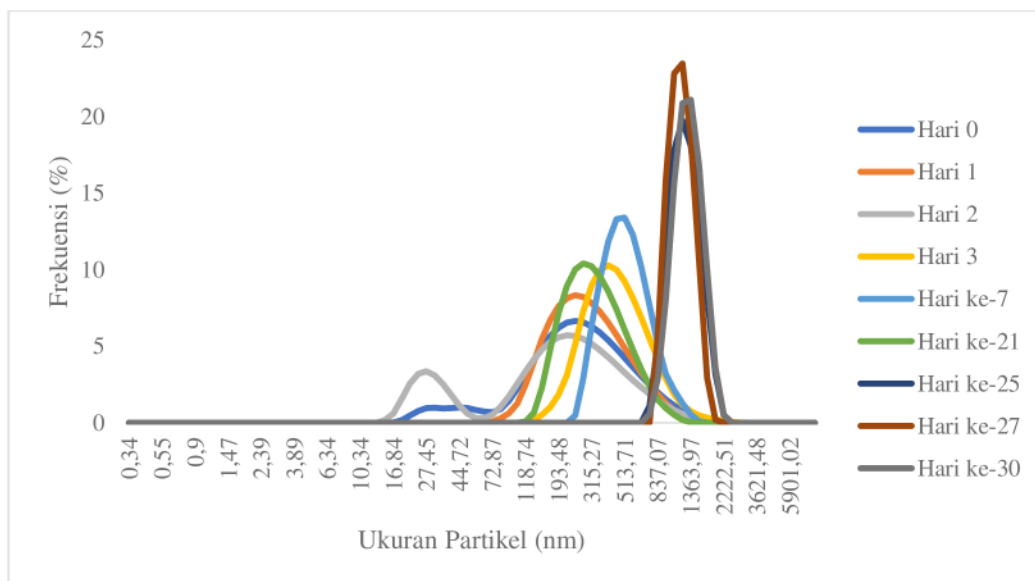
Aktivitas antioksidan dibagi menjadi beberapa kategori yaitu sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah. Antioksidan dikatakan sangat kuat jika memiliki nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, antioksidan kuat memiliki nilai  $IC_{50}$  berkisar pada rentang 50-100 ppm, antioksidan sedang memiliki nilai  $IC_{50}$  antara 100-150 ppm, antioksidan lemah berada pada rentang 150-200 ppm, dan nilai  $IC_{50}$  lebih dari 200 ppm menandakan aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Hasil yang diperoleh pada pengujian antioksidan liposom betakaroten yaitu 26.317,05 ppm, sedangkan hasil yang diperoleh untuk vitamin C yaitu 8,98 ppm. Hasil pengujian untuk liposom betakaroten masuk dalam kategori antioksidan yang sangat lemah, sementara untuk vitamin C masuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat. (Purwanto *et al.*, 2017).

#### 4.4 Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas yang dilakukan yaitu uji stabilitas dipercepat dengan waktu penyimpanan sediaan selama 30 hari. Sediaan liposom betakaroten disimpan dalam *climatic chamber* dengan suhu  $40^{\circ}C \pm 2^{\circ}C/RH 75\% \pm 5\%$ . Data yang didapat pada pengujian stabilitas liposom betakaroten selama 30 hari dapat dilihat pada **Tabel 4.3** dan **Gambar 4.6**

**Tabel 4. 3** Hasil uji stabilitas liposom betakaroten selama 30 hari

Hari ke	Ukuran partikel	Indeks polidispersitas	Zeta potensial
H – 0	102,57 ± 7,06	0,628 ± 0,04	-47,20 ± 2,05
H - 30	774,90 ± 40,65	1,538 ± 0,18	-25,50 ± 0,82



**Gambar 4.6** Distribusi partikel liposom betakaroten selama penyimpanan 30 hari

Pengujian stabilitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh kondisi penyimpanan terhadap sediaan liposom betakaroten. Ketidakstabilan suatu produk dapat menyebabkan berkurangnya khasiat obat. Beberapa faktor yang mempengaruhi stabilitas yaitu suhu, radiasi cahaya, udara, ukuran partikel, pH, dan sifat pelarutnya (Pratiwi *et al.*, 2018). Uji stabilitas yang dilakukan meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial. Sediaan dievaluasi pada hari ke-0 dan hari ke-30 seperti pada **Tabel 4.3**. Dapat dilihat pada tabel tersebut terjadi kenaikan ukuran partikel yang cukup besar, hal tersebut menandakan terjadinya agregasi pada sampel yang menyebabkan ukuran partikel meningkat (Li *et al.*, 2018). Nilai indeks polidispersitas juga mengalami peningkatan yang cukup besar yaitu  $>0,7$ , semakin besar nilai indeks polidispersitas menunjukkan partikel yang terbentuk tidak seragam yang mengakibatkan formula akan terflokulasi lebih cepat. Nilai PDI  $>0,7$  menggambarkan ukuran partikel tidak seragam dan distribusi partikel yang luas atau menyebar (Handayani *et al.*, 2018). **Gambar 4.6** menunjukkan distribusi partikel selama penyimpanan 30 hari.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa formulasi dan karakterisasi sediaan nanoliposom betakaroten dengan metode hidrasi lapis menggunakan pengecil ukuran partikel ultrasonikator diperoleh formula optimum pada variasi waktu 4 menit dengan karakterisasi sediaan nanoliposom meliputi ukuran partikel, indeksi polidispersitas, dan zeta potensial secara berturut-turut yaitu  $159 \pm 2,12$  nm,  $0,52 \pm 0,06$  Đ dan  $-32,4 \pm 0,36$  mV serta nilai efisiensi enkapsulasi  $99,18\% \pm 0,22$ . Berdasarkan uji aktivitas antioksidan yang telah dilakukan, liposom betakaroten yang dihasilkan tidak memiliki aktivitas antioksidan.

#### **5.2 Saran**

Perlunya dilakukan pengujian stabilitas dengan kelengkapan data lebih lanjut seperti pada suhu ruang dan suhu beku serta dapat dilakukan uji hedonik pada sediaan nanoliposom betakaroten dengan metode hidrasi lapis tipis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M., 2017. Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik 15, 8.
- Ahmed, K.S., Hussein, S.A., Ali, A.H., Korma, S.A., Lipeng, Q., Jinghua, C., 2019. Liposome: composition, characterisation, preparation, and recent innovation in clinical applications. *J. Drug Target.* 27, 742–761. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2018.1527337>
- Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejati-Koshki, K., 2013. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res. Lett.* 8, 102. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102>
- Amalia, A., Jufri, M., Anwar, E., 2015. Preparasi dan Karakterisasi Sediaan Solid Lipid Nanoparticle (SLN) Gliklazid 13, 7.
- Ambarwati, R., Rustiani, E., 2022. Formulasi dan Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) Dengan Polimer Plga. *Maj. Farmasetika* 7, 305. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v7i4.38549>
- Amyliana, N.A., Agustini, R., 2021. Formulasi dan Karakterisasi Nanoenkapsulasi Yeast Beras Hitam Dengan Metode Sonikasi Menggunakan Poloxamer 10, 8.
- Asprea, M., Leto, I., Bergonzi, M.C., Bilia, A.R., 2017. Thyme essential oil loaded in nanocochleates: Encapsulation efficiency, in vitro release study and antioxidant activity. *LWT* 77, 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.006>
- Chen, J., Li, F., Li, Z., McClements, D.J., Xiao, H., 2017. Encapsulation of carotenoids in emulsion-based delivery systems: Enhancement of  $\beta$ -carotene water-dispersibility and chemical stability. *Food Hydrocoll.* 69, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.024>
- Corrêa, A.C.N.T.F., Pereira, P.R., Paschoalin, V.M.F., 2019a. Preparation and Characterization of Nanoliposomes for the Entrapment of Bioactive Hydrophilic Globular Proteins. *J. Vis. Exp.* 59900. <https://doi.org/10.3791/59900>
- Corrêa, A.C.N.T.F., Pereira, P.R., Paschoalin, V.M.F., 2019b. Preparation and Characterization of Nanoliposomes for the Entrapment of Bioactive Hydrophilic Globular Proteins. *J. Vis. Exp.* 59900. <https://doi.org/10.3791/59900>
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., Mozafari, M., 2018. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* 10, 57. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
- Elkholy, N.S., Shafaa, M.W., Mohammed, H.S., 2021. Cationic liposome-encapsulated carotenoids as a potential treatment for fibromyalgia in an animal model. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* 1867, 166150. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2021.166150>

- Elkholy, N.S., Shafaa, M.W., Mohammed, H.S., 2020. Biophysical characterization of lutein or beta carotene-loaded cationic liposomes. *RSC Adv.* 10, 32409–32422. <https://doi.org/10.1039/D0RA05683A>
- El-Tair, A.M., El-Feky, M.S., Sharobim, K.G., Mohammedin, H., Kohail, M., 2020. Improving The Reactivity Of Clay Nano-Partciles In High Strength Mortars Through Indirect Sonication Method 9, 11.
- Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Pasaribu, G., Iskandarsyah, I., Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Sagita, E., Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2016. Uji Aktivitas Antiproliferasi Formula Liposom Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharm. Sci. Res.* 3, 45–59. <https://doi.org/10.7454/psr.v3i1.3212>
- Fan, Y., Marioli, M., Zhang, K., 2021. Analytical characterization of liposomes and other lipid nanoparticles for drug delivery. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 192, 113642. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113642>
- Hao, J., Guo, B., Yu, S., Zhang, W., Zhang, D., Wang, J., Wang, Y., 2017. Encapsulation of the flavonoid quercetin with chitosan-coated nano-liposomes. *LWT - Food Sci. Technol.* 85, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.048>
- Hudiyanti, D., Fawrin, H., Siahaan, P., 2018. Simultant encapsulation of vitamin C and beta-carotene in sesame (*Sesamum indicum l.*) liposomes. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 349, 012014. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/349/1/012014>
- Ikhrrar, M.S., Yudistira, A., Wewengkang, D.S., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan *Stylissa sp.* dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *PHARMACON* 8, 961. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29376>
- Large, D.E., Abdelmessih, R.G., Fink, E.A., Auguste, D.T., 2021. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 176, 113851. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113851>
- Li, Z., Peng, S., Chen, X., Zhu, Y., Zou, L., Liu, W., Liu, C., 2018. Pluronic modified liposomes for curcumin encapsulation: Sustained release, stability and bioaccessibility. *Food Res. Int.* 108, 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.048>
- Liu, J., Zheng, A., Peng, B., Xu, Y., Zhang, N., 2021. Size-Dependent Absorption through Stratum Corneum by Drug-Loaded Liposomes. *Pharm. Res.* 38, 1429–1437. <https://doi.org/10.1007/s11095-021-03079-9>
- Liu, X., Wang, P., Zou, Y.-X., Luo, Z.-G., Tamer, T.M., 2020. Co-encapsulation of Vitamin C and  $\beta$ -Carotene in liposomes: Storage stability, antioxidant activity, and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Res. Int.* 136, 109587. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109587>
- Lu, W.-L., Qi, X.-R. (Eds.), 2021. *Liposome-Based Drug Delivery Systems, Biomaterial Engineering*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-49320-5>
- Manik, G., Kalia, S., Sahoo, S.K., Sharma, T.K., Verma, O.P. (Eds.), 2021. *Advances in Mechanical Engineering: Select Proceedings of CAMSE 2020*,

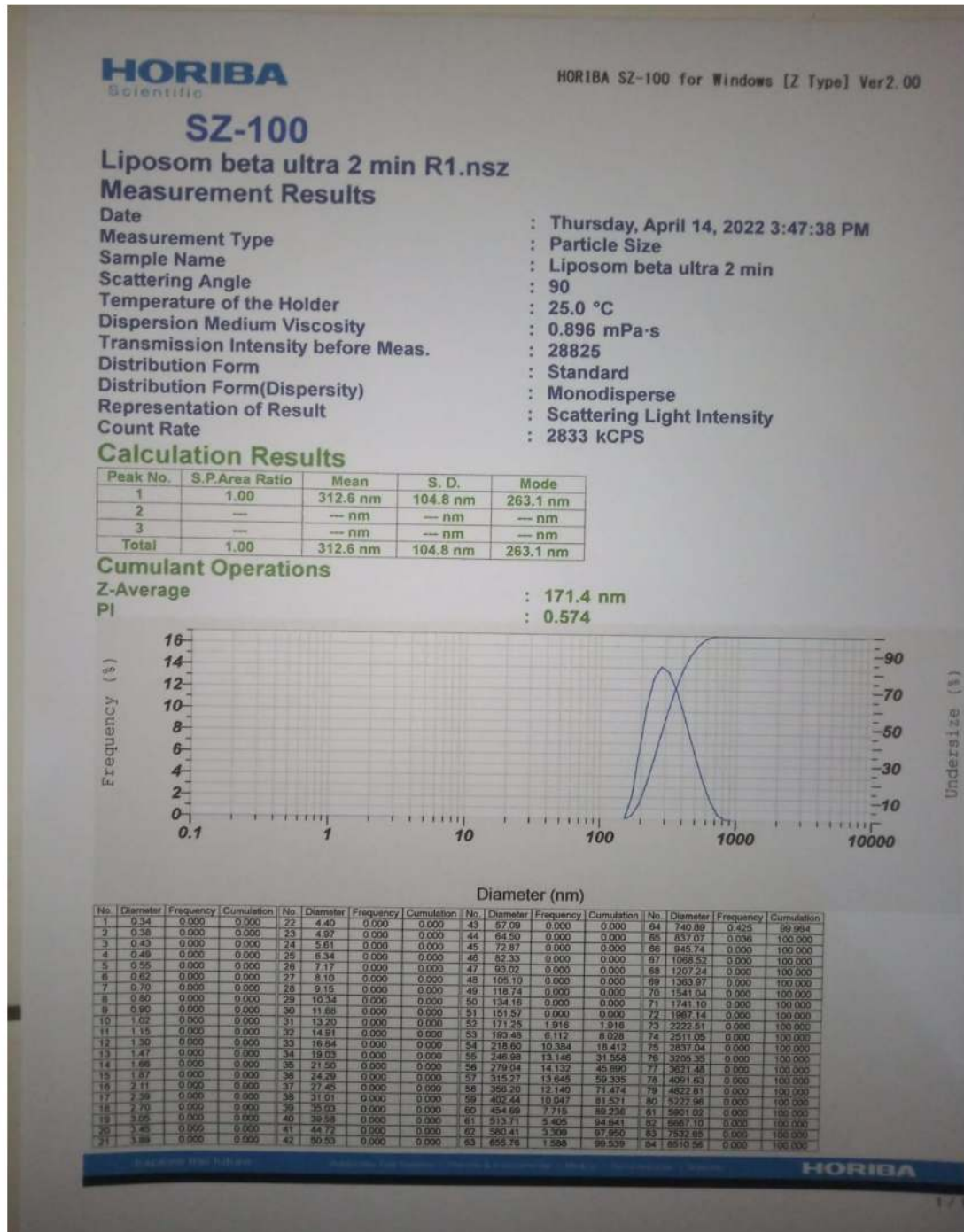
- Lecture Notes in Mechanical Engineering. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-0942-8>  
mps-01-00041.pdf, n.d.
- Nugroho, B.H., Ningrum, A.D.K., Pertiwi, D.A., Salsabila, T., Syukri, Y., 2020. Pemanfaatan Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* L.) Berbasis Nanoteknologi Liposom Sebagai Pengobatan Antihiperqlikemia. *EKSAKTA J. Sci. Data Anal.* 216–229. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol19.iss2.art12>
- Panahi, Y., Farshbaf, M., Mohammadhosseini, M., Mirahadi, M., Khalilov, R., Saghfi, S., Akbarzadeh, A., 2017. Recent advances on liposomal nanoparticles: synthesis, characterization and biomedical applications. *Artif. Cells Nanomedicine Biotechnol.* 45, 788–799. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1282496>
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., Pramono, S., 2018. Physical and Chemical Stability Test of SNEDDS (Self-nanoemulsifying Drug Delivery System) and Nanoemulsion Ethyl Acetate Fraction of *Garcinia mangostana* L. *Maj. Obat Tradis.* 23, 84. <https://doi.org/10.22146/mot.28533>
- Prihantini, M., Zulfa, E., Prastiwi, L.D., Yulianti, I.D., 2019. Pengaruh Waktu Ultrasonikasi Terhadap Karakteristik Fisika Nanopartikel Kitosan Ekstrak Etanol Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) dan Uji Stabilitas Fisika Menggunakan Metode Cycling Test 9.
- Purwanto, D., Bahri, S., Ridhay, A., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan Berbagai Pelarut. *KOVALEN* 3, 24. <https://doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i1.8230>
- Putri, D.C.A., Dwiastuti, R., Marchaban, M., Nugroho, A.K., 2017. Optimization of Mixing Temperature and Sonication Duration In Liposome Preparation. *J. Pharm. Sci. Community* 14, 79–85. <https://doi.org/10.24071/jpsc.142728>
- Ren, Y., Sun, H., Deng, J., Huang, J., Chen, F., 2021. Carotenoid Production from Microalgae: Biosynthesis, Salinity Responses and Novel Biotechnologies. *Mar. Drugs* 19, 713. <https://doi.org/10.3390/md19120713>
- Robson, A.-L., Dastoor, P.C., Flynn, J., Palmer, W., Martin, A., Smith, D.W., Woldu, A., Hua, S., 2018. Advantages and Limitations of Current Imaging Techniques for Characterizing Liposome Morphology. *Front. Pharmacol.* 9, 80. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00080>
- Rocha, F., Yumi Sugahara, L., Leimann, F.V., de Oliveira, S.M., da Silva Brum, E., Calhelha, R.C., Barreiro, M.F., Ferreira, I.C.F.R., Porto Ineu, R., Gonçalves, O.H., 2018. Nanodispersions of beta-carotene: effects on antioxidant enzymes and cytotoxic properties. *Food Funct.* 9, 3698–3706. <https://doi.org/10.1039/C8FO00804C>
- Shao, X.-R., Wei, X.-Q., Zhang, S., Fu, N., Lin, Y.-F., Cai, X.-X., Peng, Q., 2017. Effects of Micro-environmental pH of Liposome on Chemical Stability of Loaded Drug. *Nanoscale Res. Lett.* 12, 504. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-2256-9>
- Surini, S., S., S., Djajadisastra, J., 2018. Formulation and in vitro Penetration Study of Transfersomes Gel Containing Gotu Kola Leaves Extract (*Centella asiatica* L. Urban). *J. Young Pharm.* 10, 27–31. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.8>



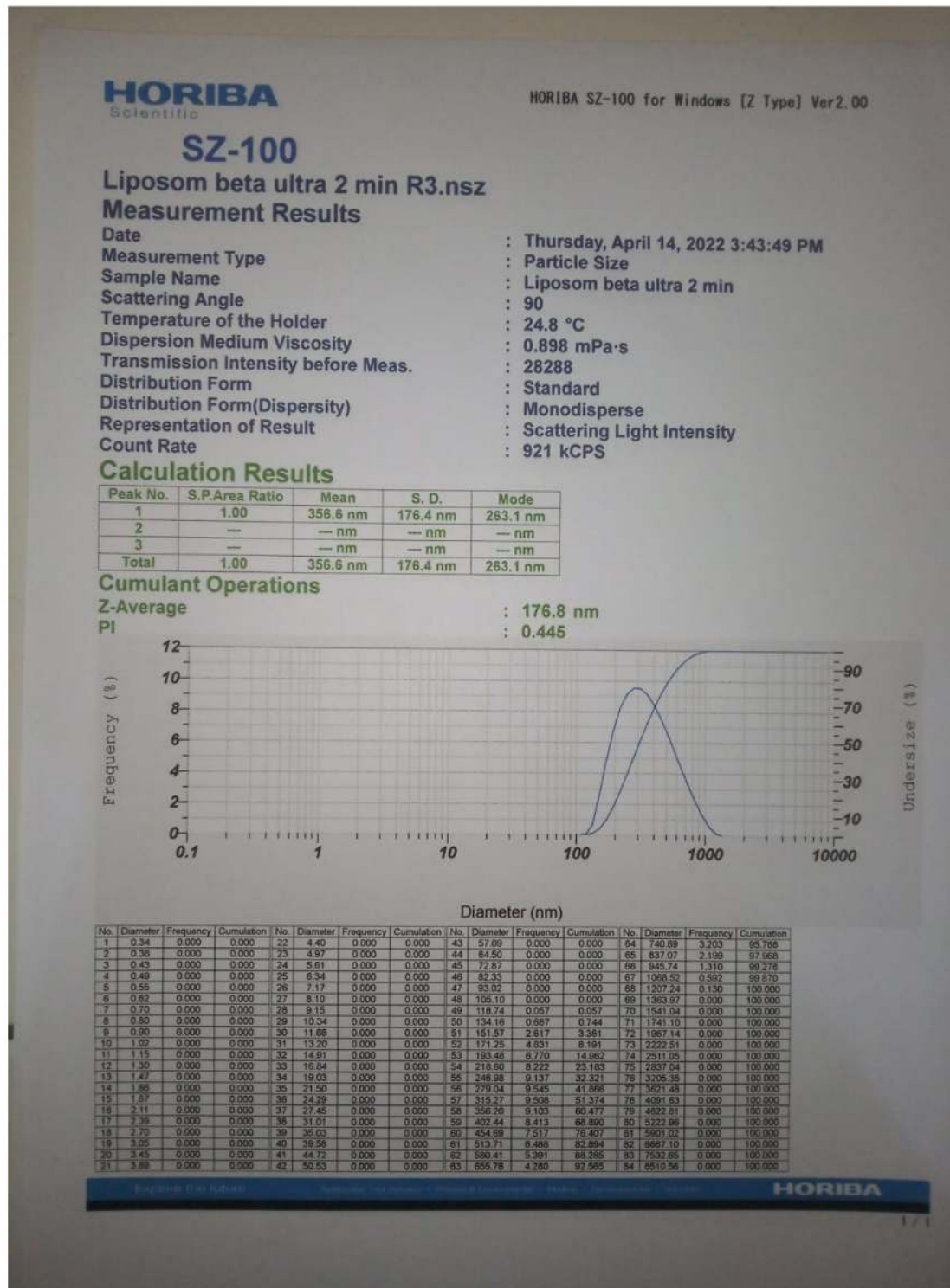
- Tanaka, Y., Uemori, C., Kon, T., Honda, M., Wahyudiono, Machmudah, S., Kanda, H., Goto, M., 2020. Preparation of liposomes encapsulating  $\beta$ -carotene using supercritical carbon dioxide with ultrasonication. *J. Supercrit. Fluids* 161, 104848. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104848>
- Tietje, C., Brouder, A. (Eds.), 2010. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use, in: *Handbook of Transnational Economic Governance Regimes*. Brill | Nijhoff, pp. 1041–1053. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>
- Ullmann, K., Lenewit, G., Nirschl, H., 2021. How to Achieve High Encapsulation Efficiencies for Macromolecular and Sensitive APIs in Liposomes. *Pharmaceutics* 13, 691. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050691>
- Universitas Brawijaya, Nurmahliati, H., Widodo, F., Universitas Brawijaya, Puspita, O. eka, Universitas Brawijaya, 2020. Effect of Soy Lecithin and Sodium Cholate Concentration on Characterization Pterostilbene Transfersomes. *Pharm. J. Indones.* 005, 109–115. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.7>
- Verawaty, V., Halim, A., Febriyenti, F., 2016. Efektivitas Sistem Penghantaran Liposom pada Katekin Sebagai Antioksidan. *J. Sains Farm. Klin.* 2, 176. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2016.2.2.85>
- Zuliani, N.E., Kusuma, I.W., 2019. Test of Antioxidant Activity (DPPH Method) Of Methanol Extract and its fractions from leaves of Knobweed (*Hyptis capitata* Jacq.) 5.

## LAMPIRAN

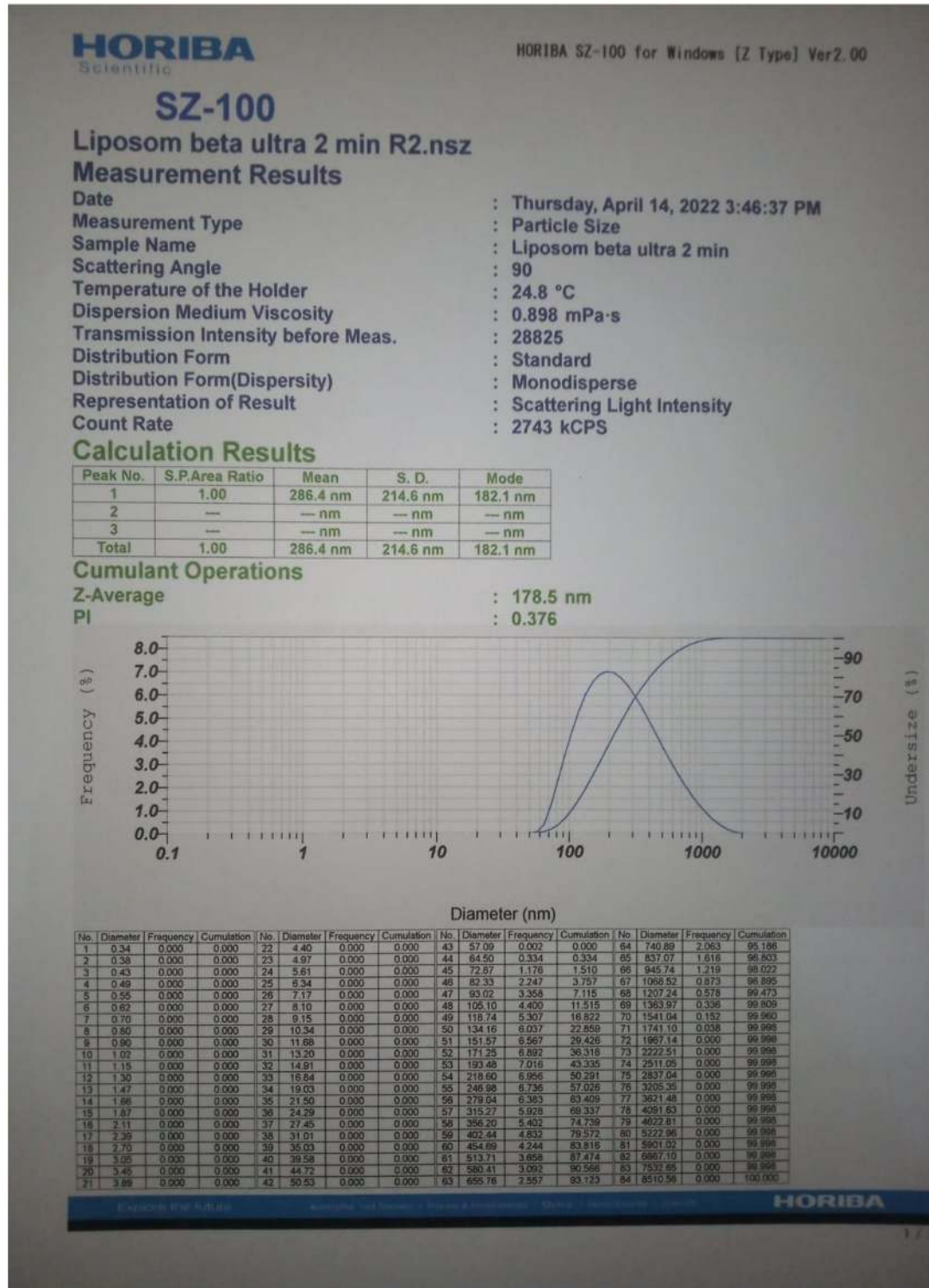
**Lampiran 1** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 2 menit (replikasi 1)



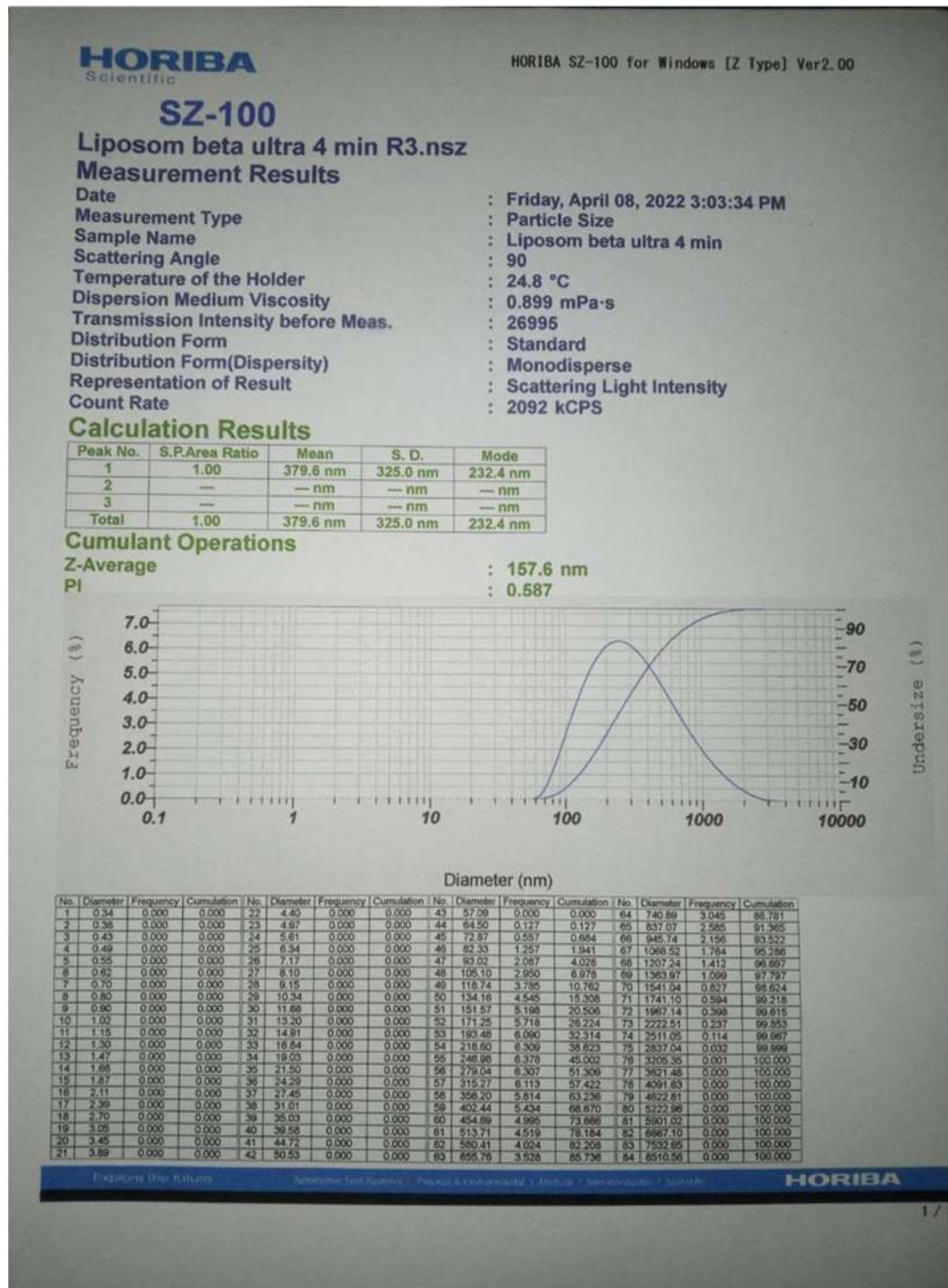
**Lampiran 2** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 2 menit (replikasi 2)



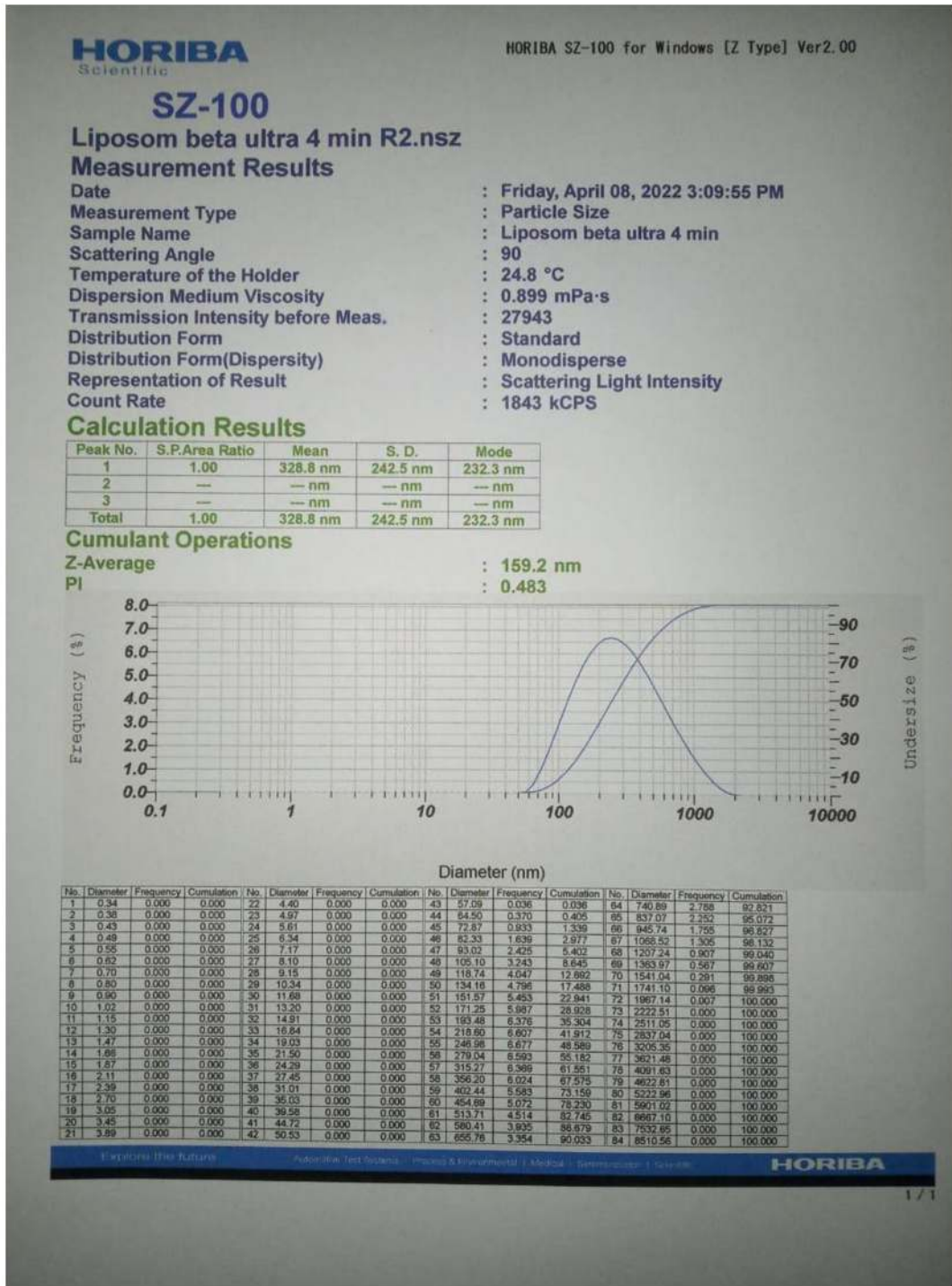
**Lampiran 3** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 2 menit (replikasi 3)



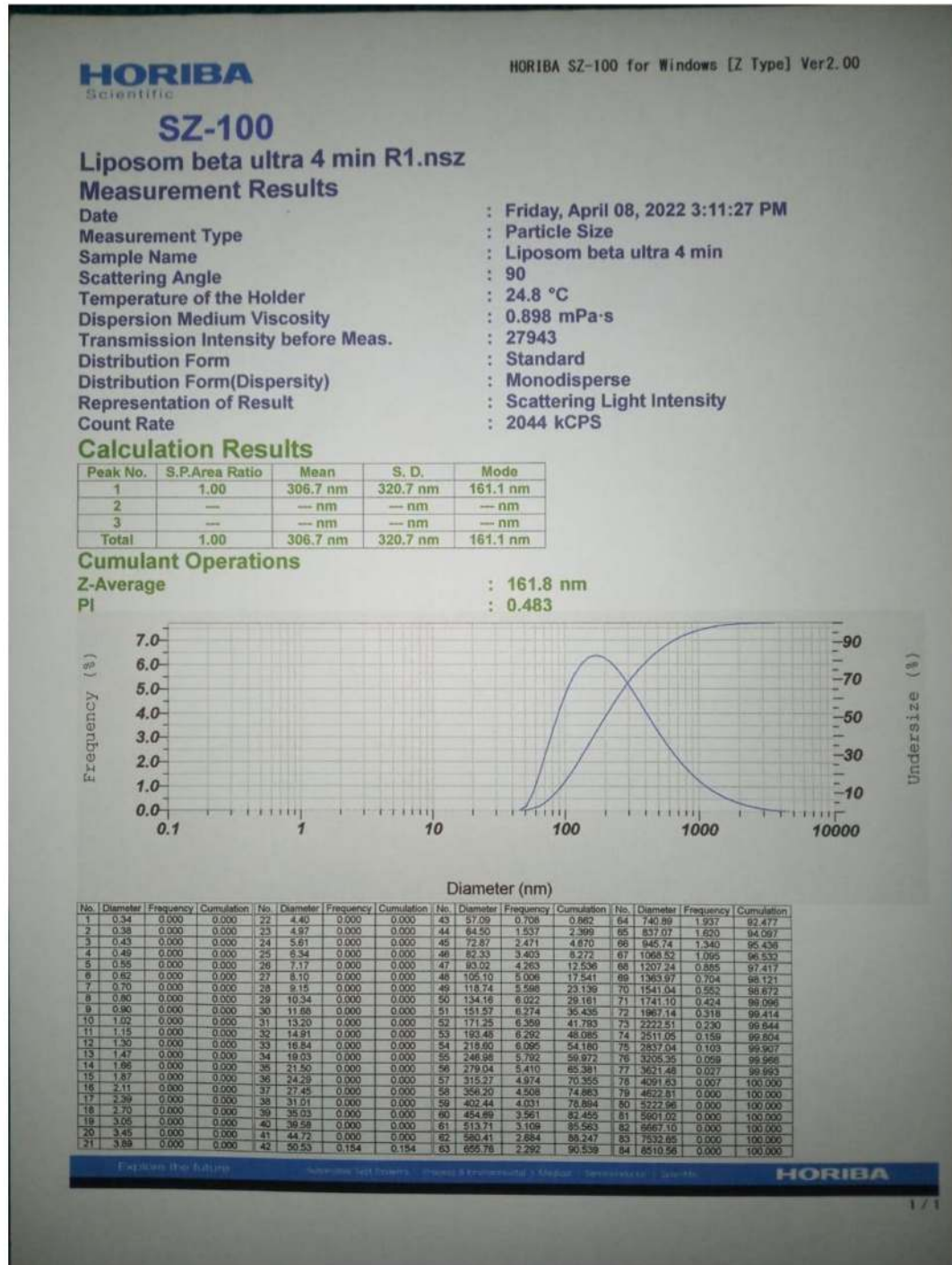
**Lampiran 4** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 4 menit (replikasi 1)



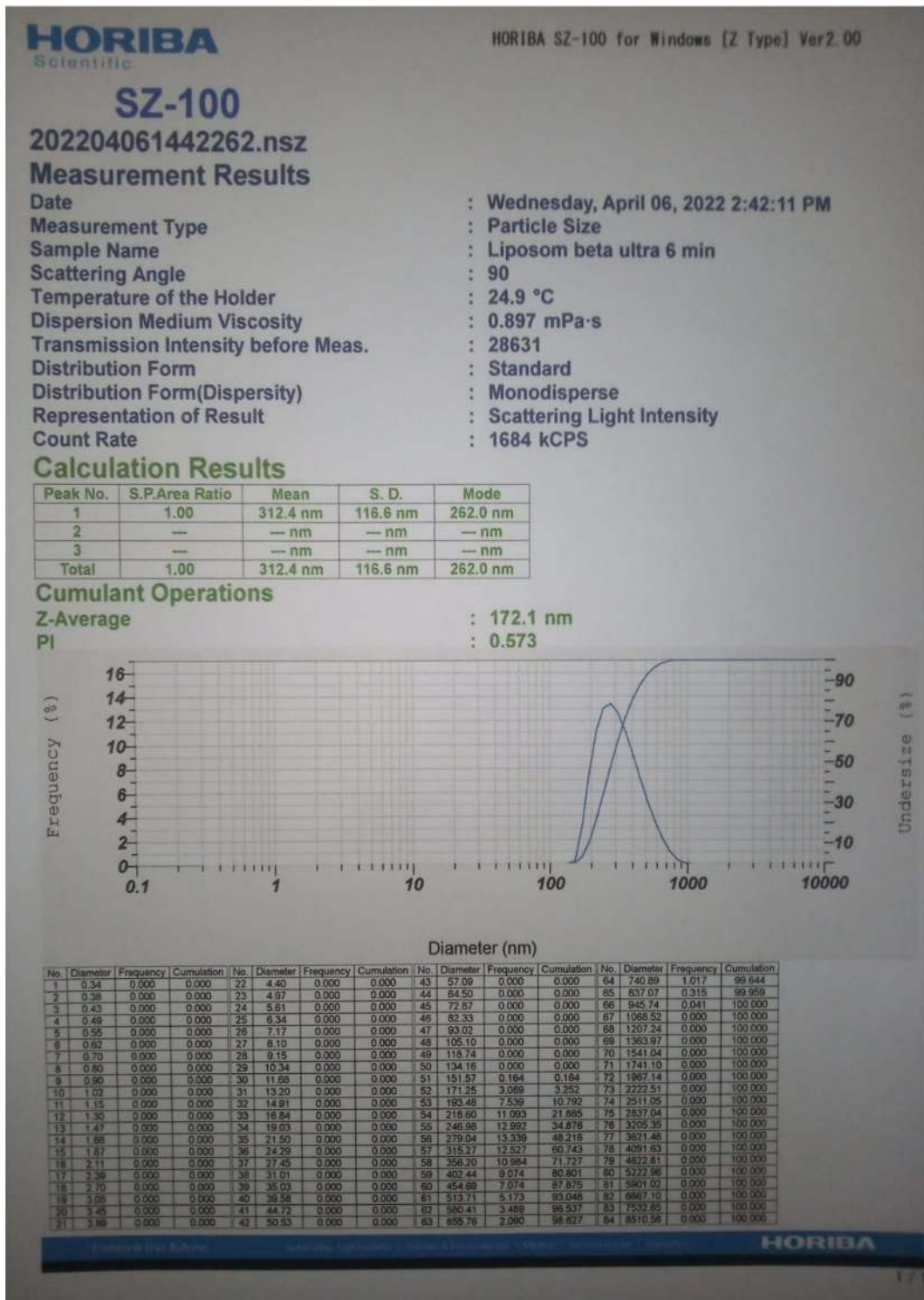
**Lampiran 5** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 4 menit (replikasi 2)



**Lampiran 6** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 4 menit (replikasi 3)

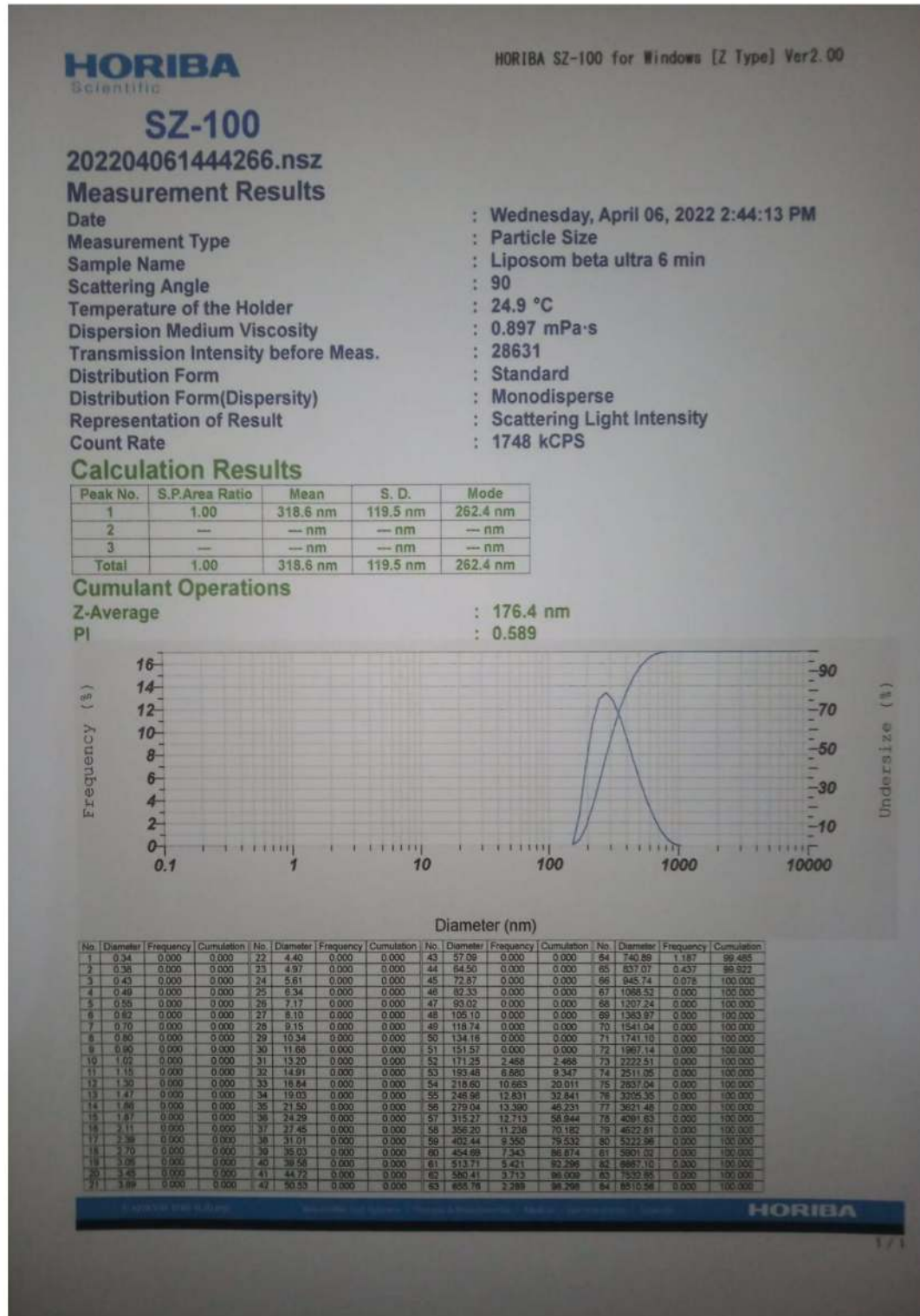


**Lampiran 7** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 6 menit (replikasi 1)

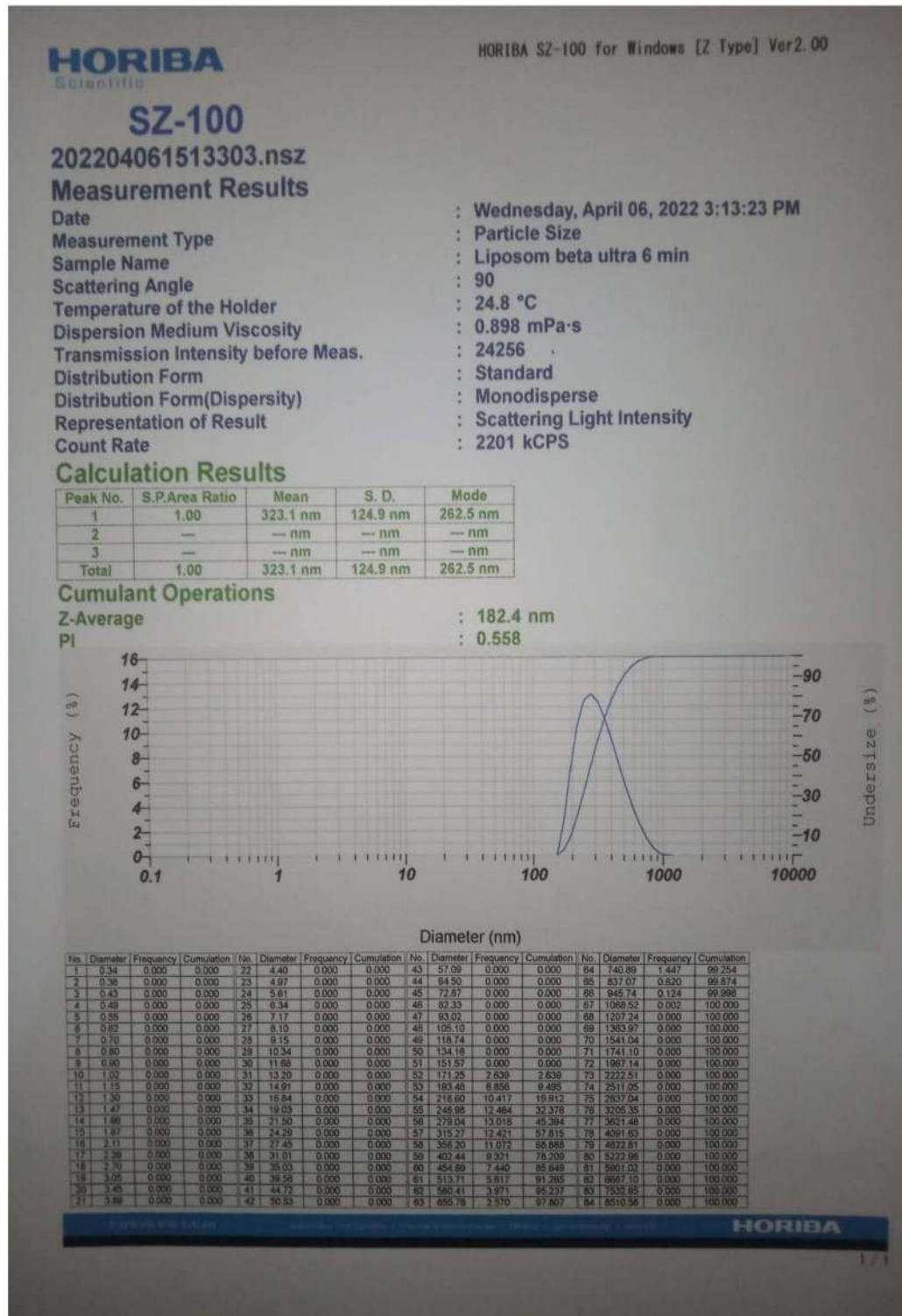




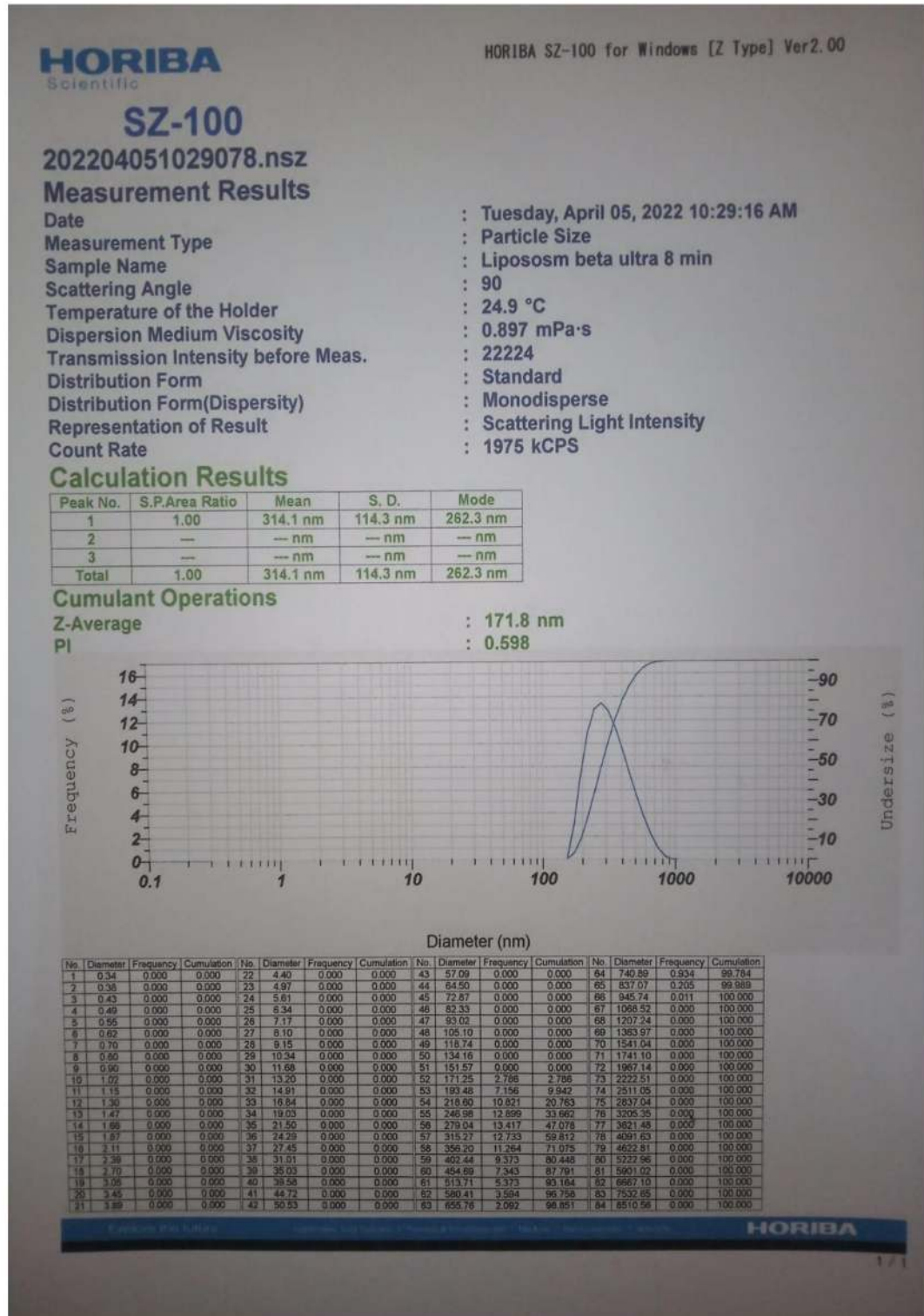
**Lampiran 8** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 6 menit (replikasi 2)



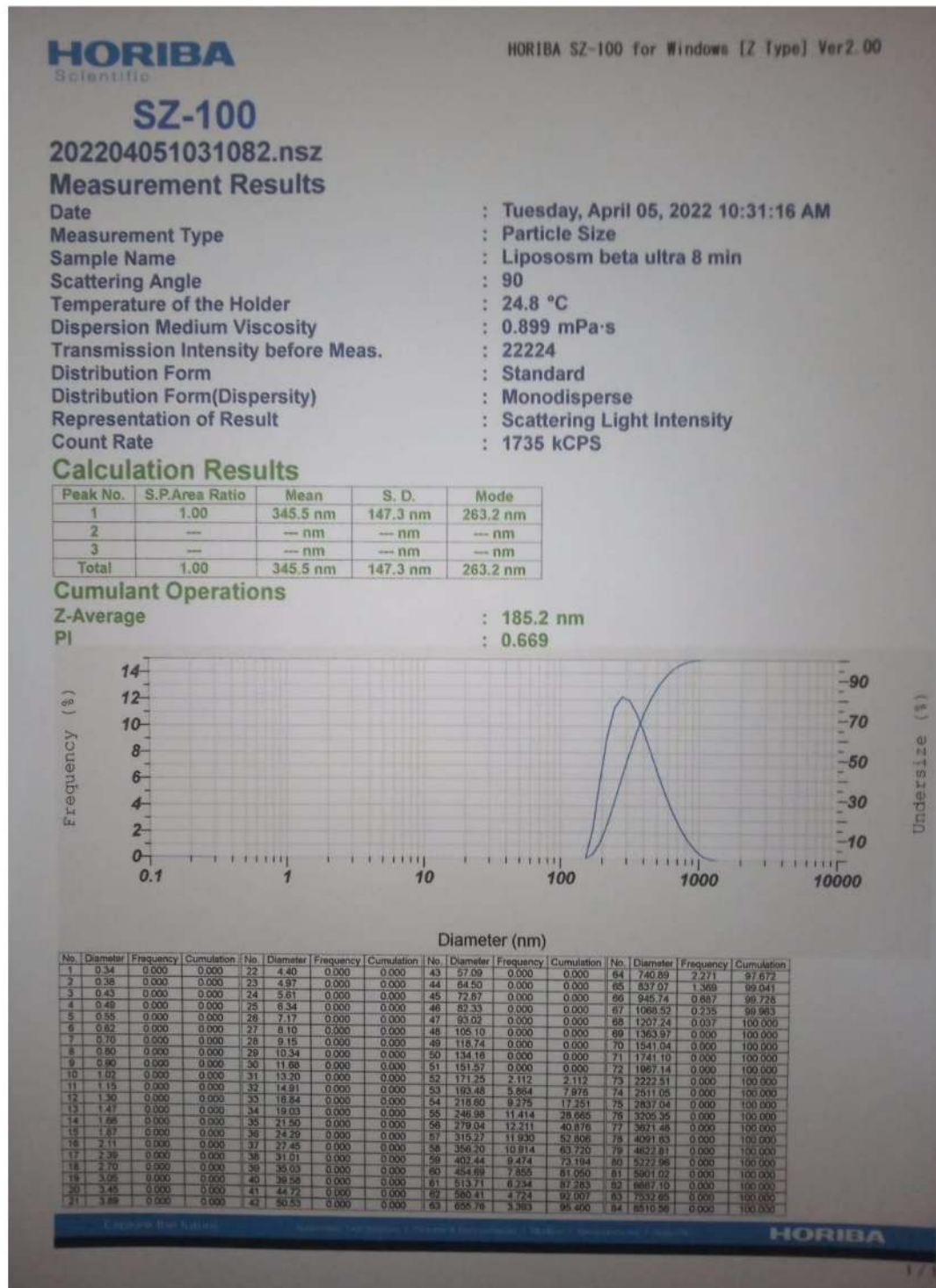
**Lampiran 9** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 6 menit (replikasi 3)



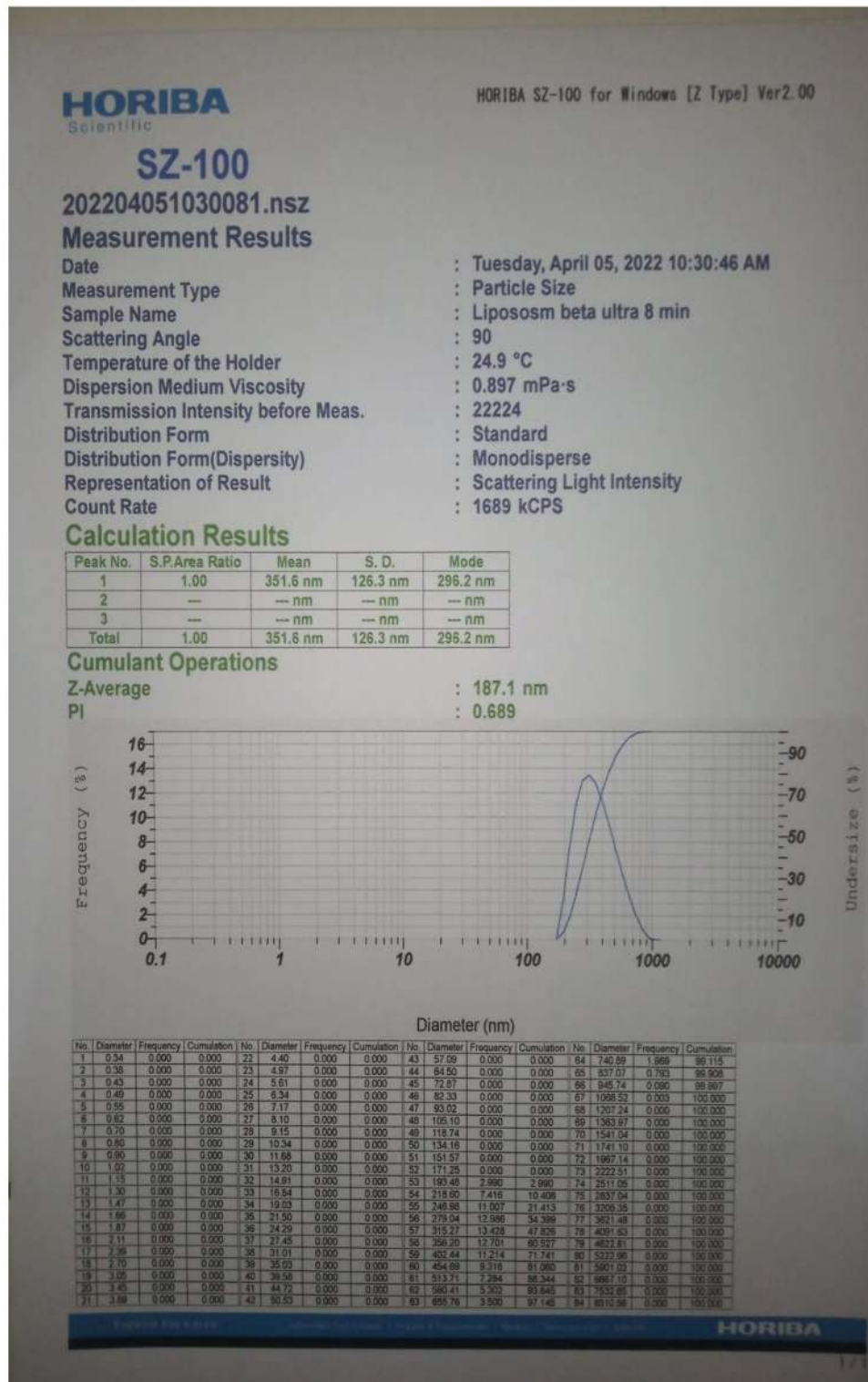
**Lampiran 10** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 8 menit (replikasi 1)



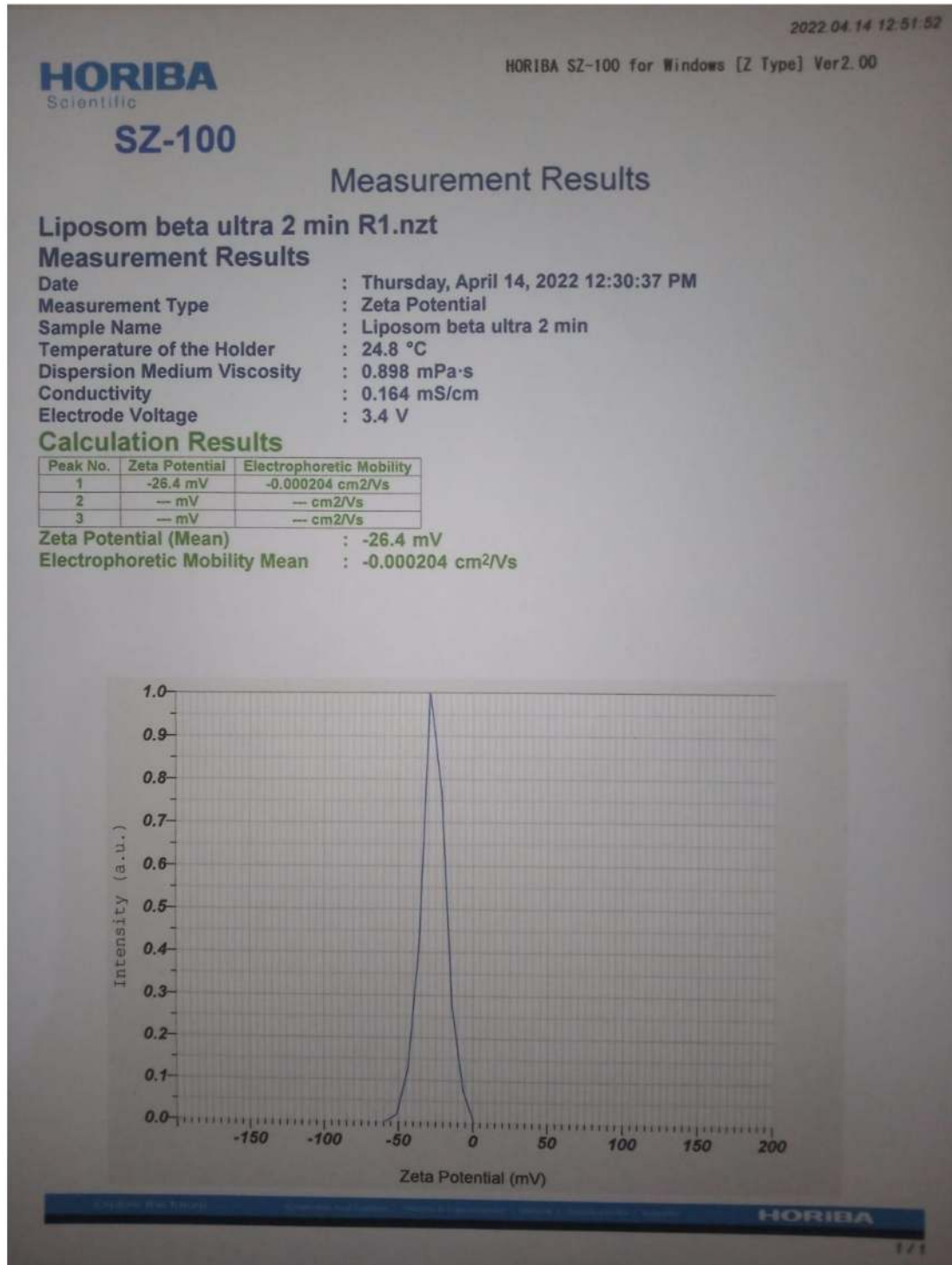
**Lampiran 11** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 8 menit (replikasi 2)



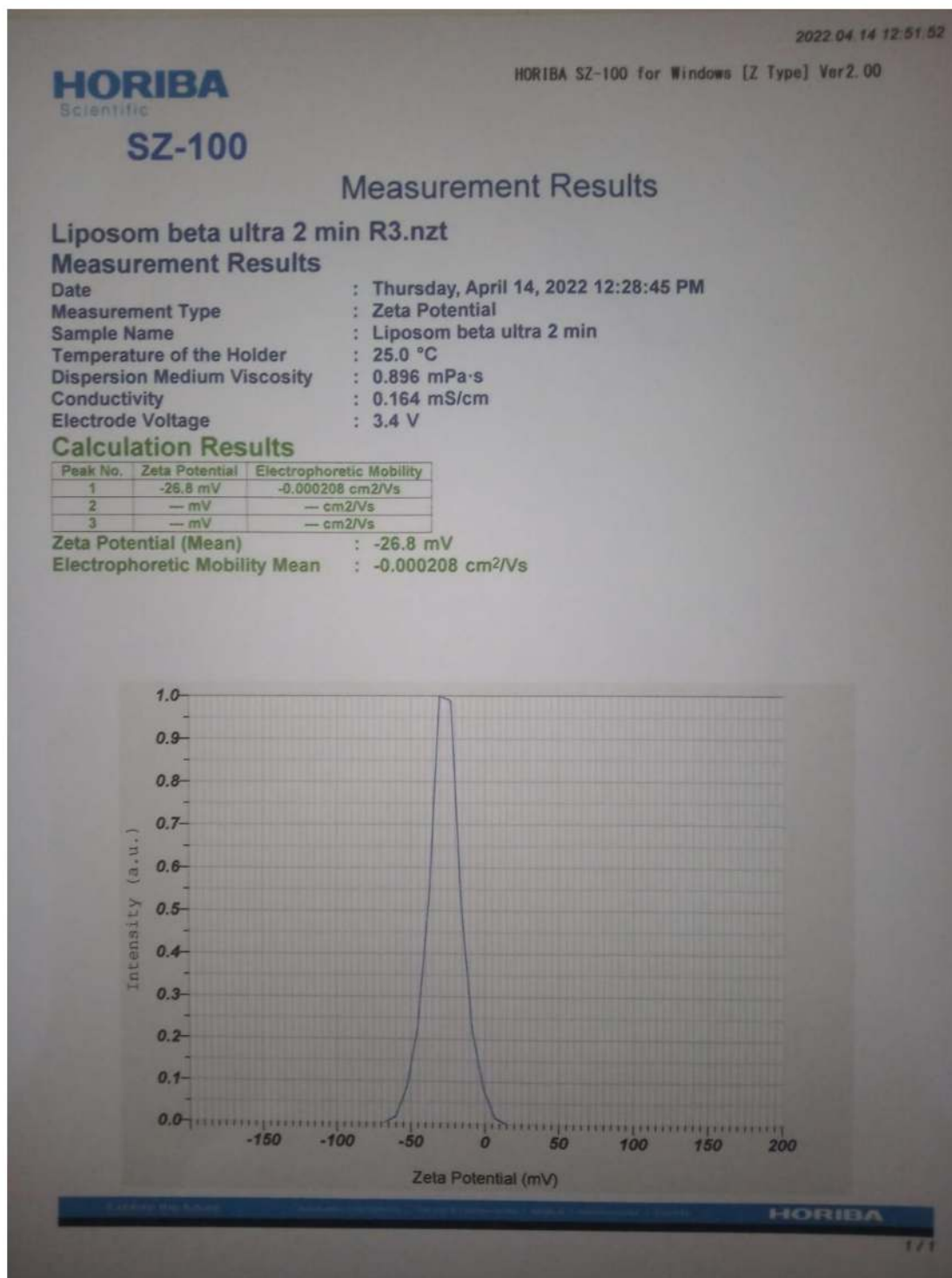
**Lampiran 12** Hasil PSA ukuran partikel dan indeks polidispersitas durasi sonikasi 8 menit (replikasi 3)



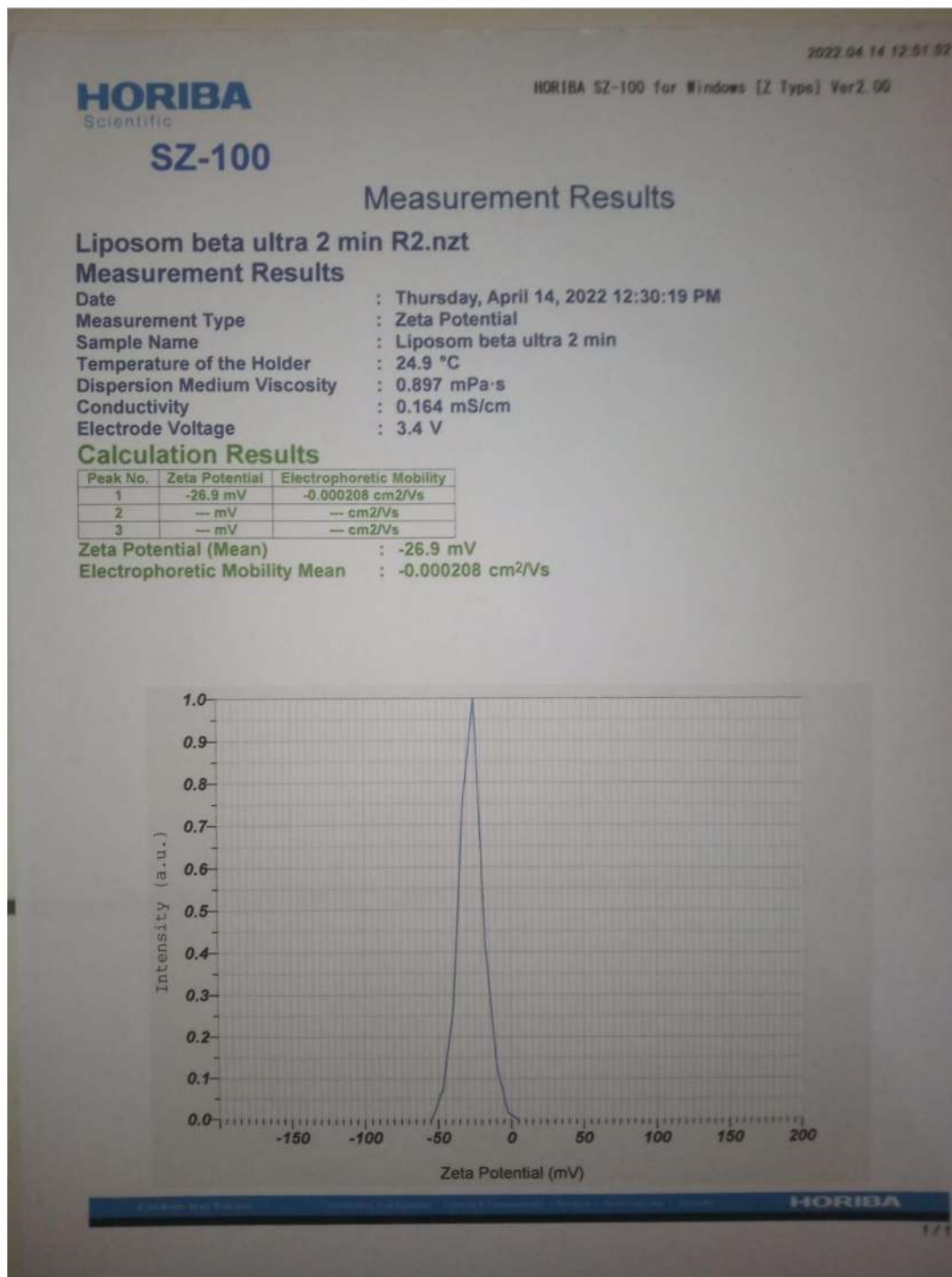
**Lampiran 13** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 2 menit (replikasi 1)



**Lampiran 14** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 2 menit (replikasi 2)

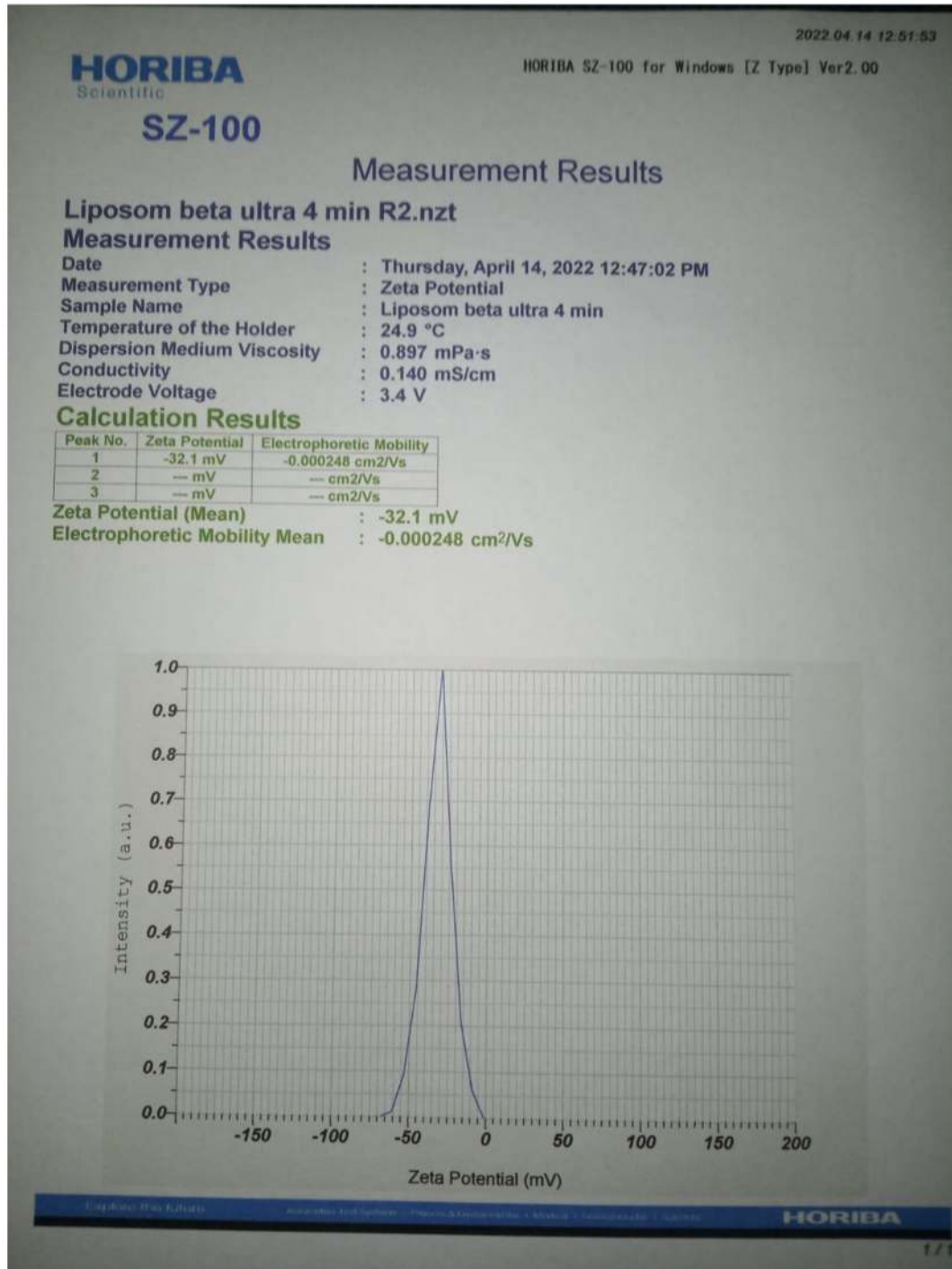


**Lampiran 15** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 2 menit (replikasi 3)

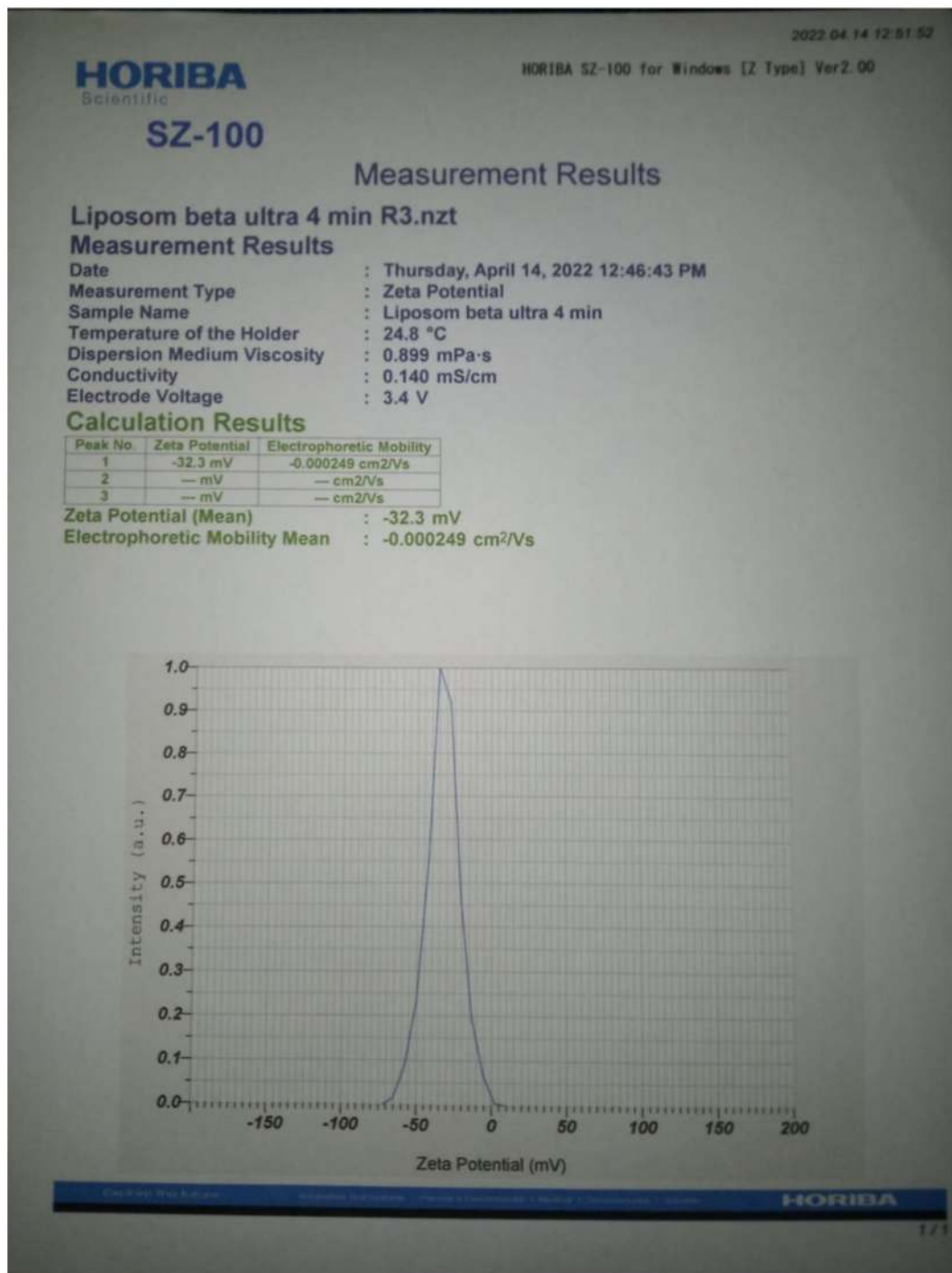




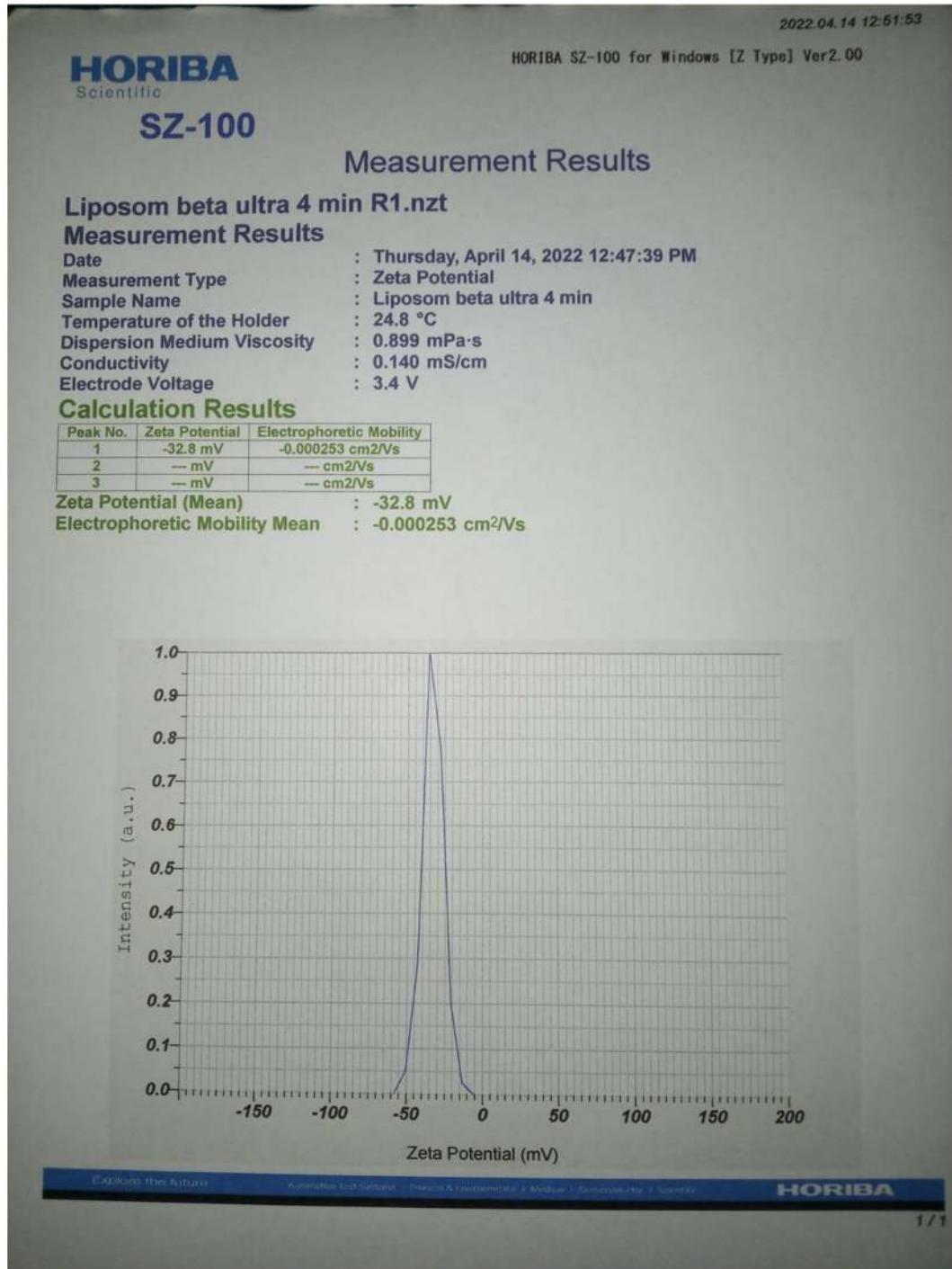
**Lampiran 16** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 4 menit (replikasi 1)



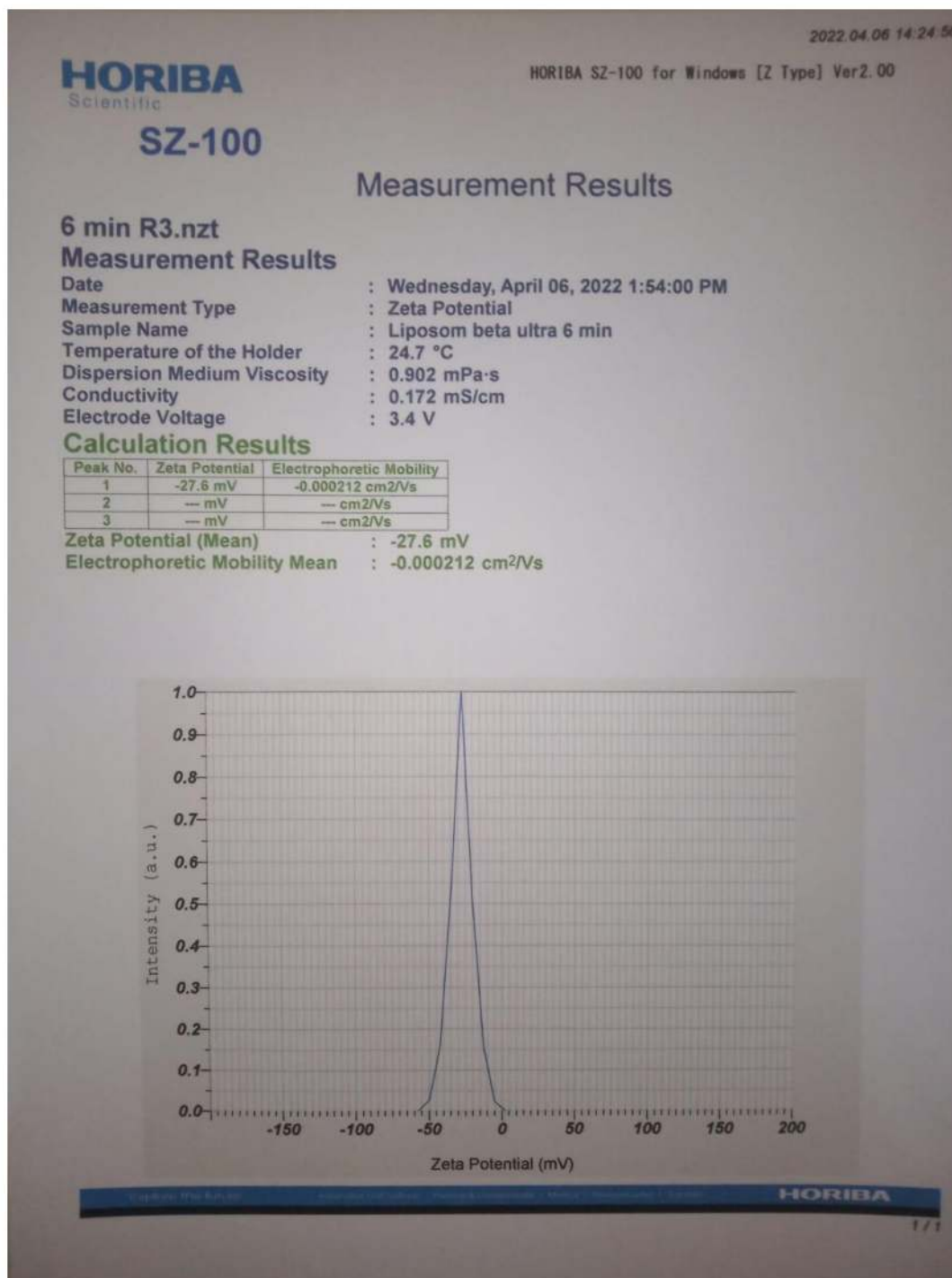
**Lampiran 17** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 4 menit (replikasi 2)



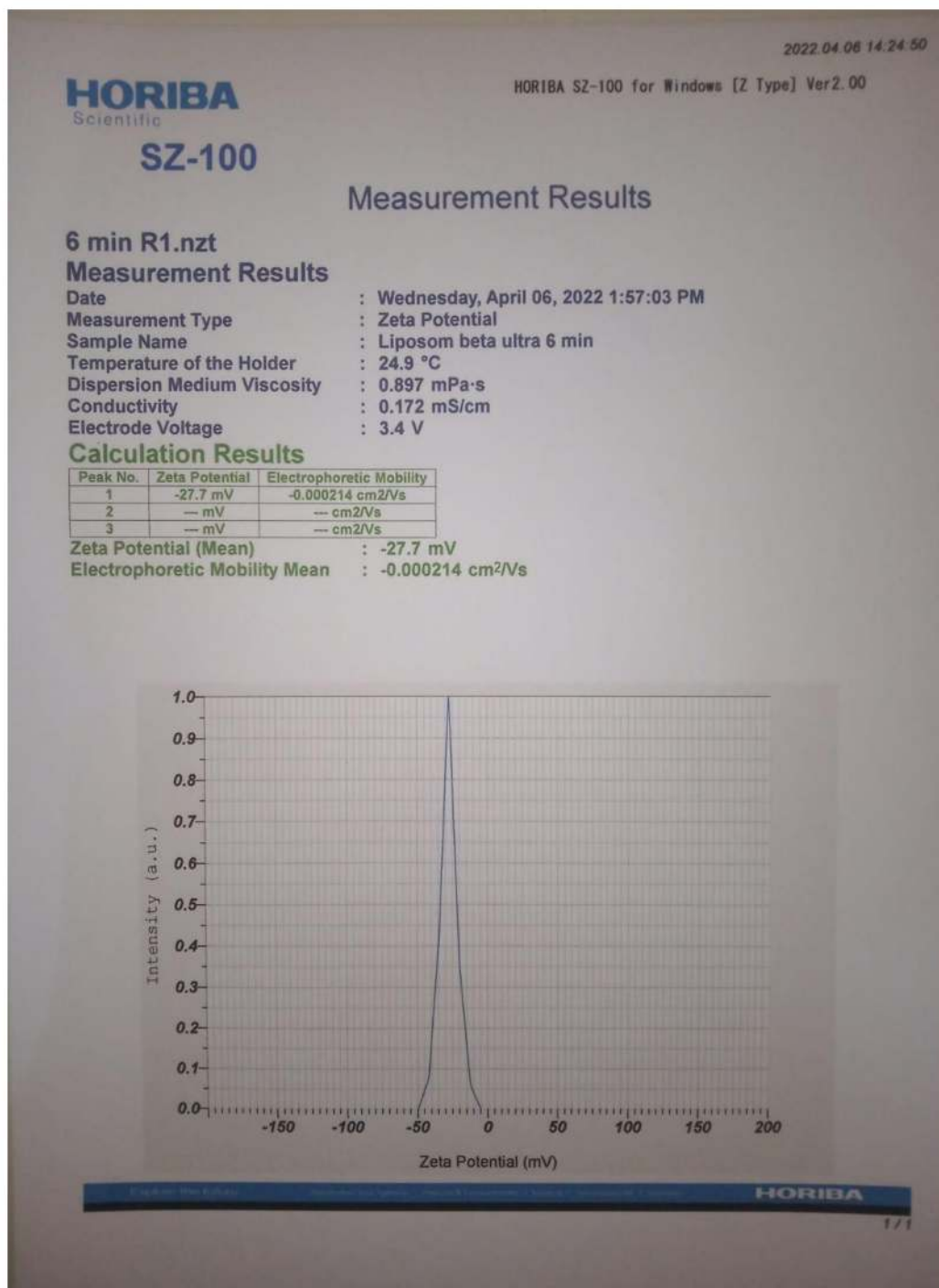
**Lampiran 18** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 4 menit (replikasi 3)



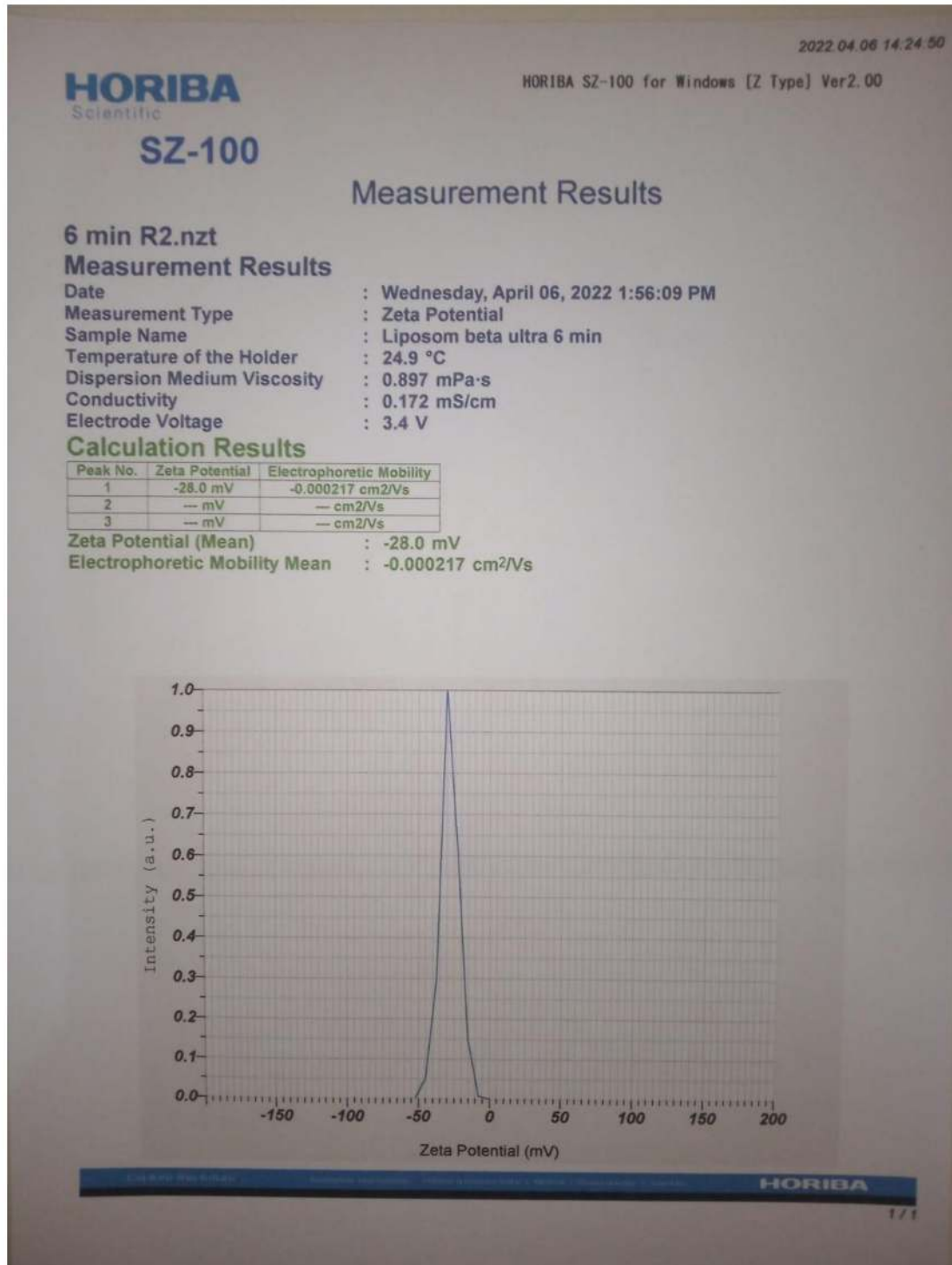
**Lampiran 19** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 6 menit (replikasi 1)



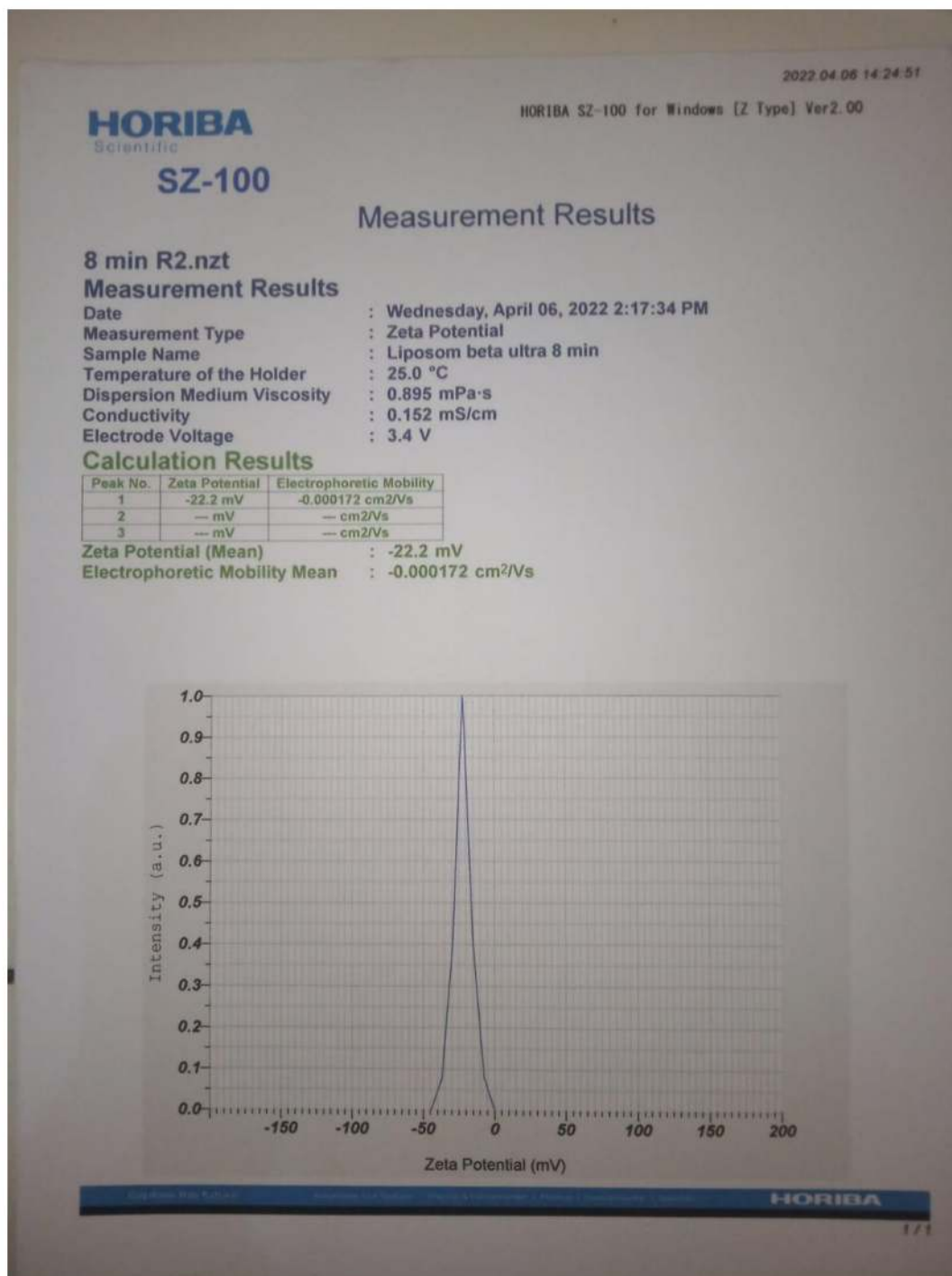
**Lampiran 20** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 6 menit (replikasi 2)



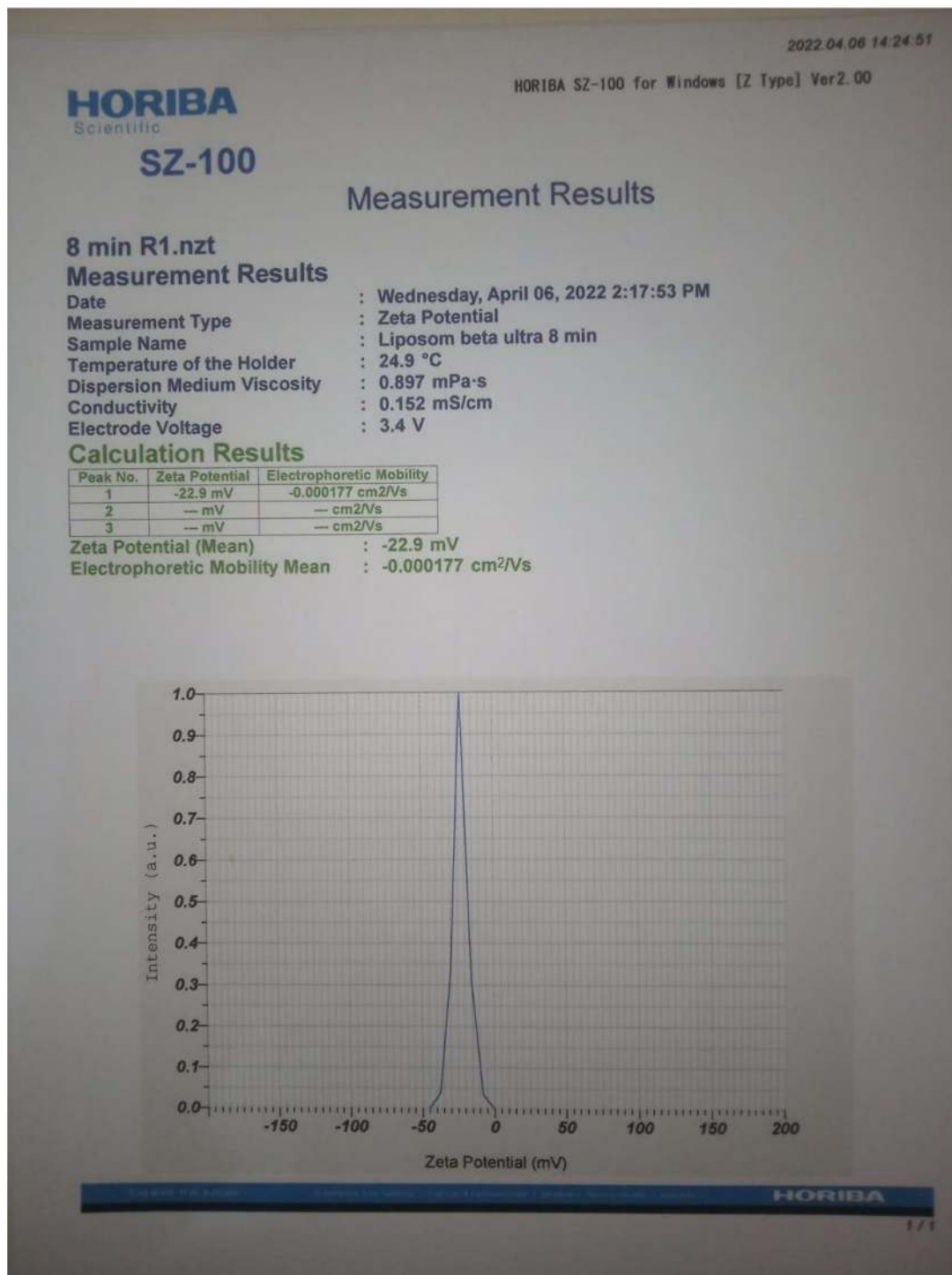
**Lampiran 21** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 6 menit (replikasi 3)



**Lampiran 22** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 8 menit (replikasi 1)

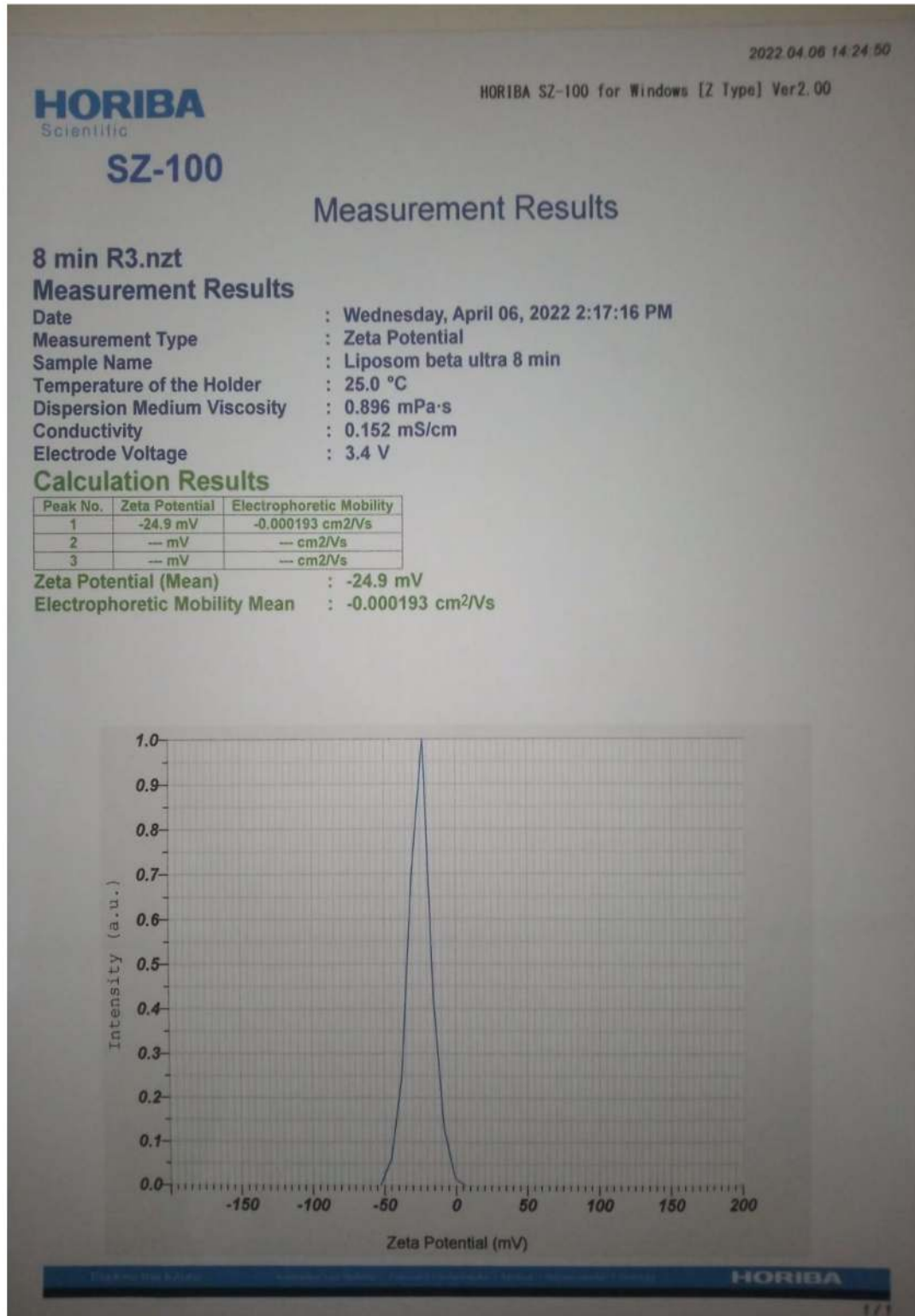


**Lampiran 23** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 8 menit (replikasi 2)





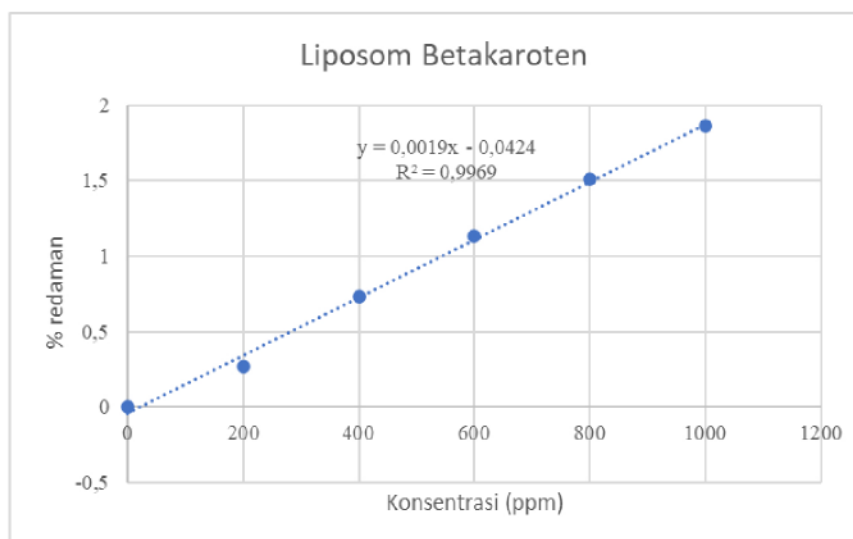
**Lampiran 24** Hasil PSA zeta potensial dengan durasi sonikasi 8 menit (replikasi 3)



### Lampiran 25 Perhitungan nilai efisiensi enkapsulasi

Replikasi	%EE
1	99,01
2	99,10
3	99,43
	99,18 ± 0,22

### Lampiran 26 Kurva regresi uji antioksidan liposom betakaroten



### Lampiran 27 Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> liposom betakaroten

$$\% \text{ redaman} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

- Konsentrasi 200 ppm

$$\begin{aligned} \% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,3693}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 0,27\% \end{aligned}$$

- Konsentrasi 400 ppm

$$\begin{aligned} \% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,3676}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 0,73\% \end{aligned}$$

- Konsentrasi 600 ppm

$$\% \text{ redaman} = \frac{0,3703 - 0,3661}{0,3703} \times 100 \%$$

$$= 1,13\%$$

- Konsentrasi 800 ppm

$$\% \text{ redaman} = \frac{0,3703 - 0,3647}{0,3703} \times 100 \%$$

$$= 1,51\%$$

- Konsentrasi 1000 ppm

$$\% \text{ redaman} = \frac{0,3703 - 0,3634}{0,3703} \times 100 \%$$

$$= 1,86\%$$

Persamaan regresi :  $y = 0,0019x - 0,0424$

$$y = 50$$

$$50 = 0,0019x - 0,0024$$

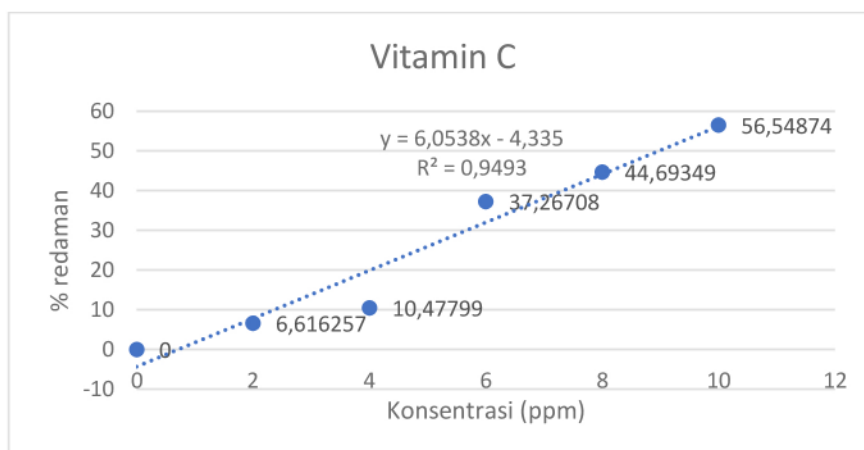
$$50 + 0,0024 = 0,0019x$$

$$50,0024 = 0,0019x$$

$$x = 50,0024/0,0019$$

$$x = 26317,05263 \text{ ppm}$$

### Lampiran 28 Kurva regresi uji antioksidan vitamin C



### Lampiran 29 Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> vitamin C

$$\% \text{ redaman} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

- Konsentrasi 2 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,3458}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 6,62\%\end{aligned}$$

- Konsentrasi 4 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,3315}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 10,48\%\end{aligned}$$

- Konsentrasi 6 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,2323}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 37,27\%\end{aligned}$$

- Konsentrasi 8 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,2048}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 44,69\%\end{aligned}$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ redaman} &= \frac{0,3703 - 0,1609}{0,3703} \times 100 \% \\ &= 56,55\%\end{aligned}$$

Persamaan regresi linier:  $y = 6,0538x - 4,335$

$$y = 50$$

$$50 = 6,0538x - 4,335$$

$$50 + 4,335 = 6,0538x$$

$$54,335 = 6,0538x$$

$$x = 54,335/6,0538$$

$$x = 8,98 \text{ ppm}$$

**Lampiran 30** Perhitungan hasil PSA ukuran partikel uji stabilitas sonikasi 4 menit

Hari ke-	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata
0	94,9	108,8	104	102,57 ± 7,06
1	115,8	93,1	114,9	107,93 ± 12,85
2	90,6	97,1	88,2	91,97 ± 4,60
3	215,3	240,9	255,9	237,37 ± 20,53

7	262,3	287,8	279,3	276,47 ± 12,98
21	114,3	108,4	123,8	115,50 ± 7,77
25	758	752,8	766,7	759,17 ± 7,02
27	885,6	852,7	858,8	865,70 ± 17,50
30	820,7	743,1	760,9	774,90 ± 40,65

**Lampiran 31** Perhitungan hasil PSA indeks polidispersitas uji stabilitas sonikasi 4 menit

Hari ke-	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata
0	0,665	0,632	0,587	0,628 ± 0,04
1	1,33	1,078	1,348	1,252 ± 0,15
2	1,57	1,175	0,967	1,237 ± 0,31
3	1,121	1,163	1,23	1,171 ± 0,05
7	1,332	1,421	1,315	1,356 ± 0,06
21	1,445	1,348	1,521	1,438 ± 0,09
25	1,794	2,018	2,231	2,014 ± 0,22
27	2,11	1,814	1,844	1,923 ± 0,16
30	1,683	1,332	1,538	1,518 ± 0,18

**Lampiran 32** Perhitungan hasil PSA zeta potensial uji stabilitas sonikasi 4 menit

Hari ke	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata
0	-45,1	-49,2	-47,3	-47,20 ± 2,05
1	-40,8	-41,5	-43,7	-42,00 ± 1,51
2	-37,1	-37,2	-37	-37,10 ± 0,10
3	-46,4	-45,9	-45,7	-46,00 ± 0,36
7	-46,6	-47,8	-46	-46,80 ± 0,92
21	-45,6	-42,8	-43,8	-44,07 ± 1,42
25	-30,8	-32	-33,3	-32,03 ± 1,25
27	-25,4	-24,3	-24	-24,57 ± 0,74
30	-25,3	-24,8	-26,4	-25,50 ± 0,82

**Lampiran 33** *Certificate of Analysis* Betakaroten

**SIGMA-ALDRICH**

3550 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA  
 Website: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)  
 Email USA: [techserv@sigmaaldrich.com](mailto:techserv@sigmaaldrich.com)  
 Outside USA: [extechserv@sigmaaldrich.com](mailto:extechserv@sigmaaldrich.com)

**Certificate of Analysis**

Product Name:  $\beta$ -Carotene - synthetic,  $\geq 93\%$  (UV), powder

Product Number: C9750  
 Batch Number: MKCQ9186  
 Brand: SIGMA  
 CAS Number: 7215-40-7  
 MDL Number: MFCD000011556  
 Formula: C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>  
 Formula Weight: 536.87 g/mol  
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C  
 Quality Release Date: 26 JUL 2018

Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Red to Very Dark Red-Brown	Red-Brown
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Dark Red to Dark Red-Brown	Red-Brown
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
1 mg + 1 mL, CHCl <sub>3</sub>		
Purity	92.5 - 101.0 %	98.2 %
by UVVS (Based on E <sub>1%</sub> = 2280 for Lambda Maximum of 478 nm to 479 nm in Hexane)	92.5 - 101.0 %	98.5 %
Purity		
by UVVS (Based on E <sub>1%</sub> = 2590 for Lambda Maximum of 450 nm to 451 nm in Hexane)		

*Michael Grady*  
 Michael Grady, Manager  
 Quality Control  
 Milwaukee, WI US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Page 1 of 1

Version Number 1

**Lampiran 34** Larutan sampel uji DPPH

