

**PENGEMBANGAN FORMULA *POLYMERIC-LIPID NANOPARTICLE*
UNTUK SISTEM PENGANTARAN EKSTRAK KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmannii*) MENGGUNAKAN CHITOSAN DAN
LECITHIN**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

**Monica Andika Putri
NIM 155070501111031**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

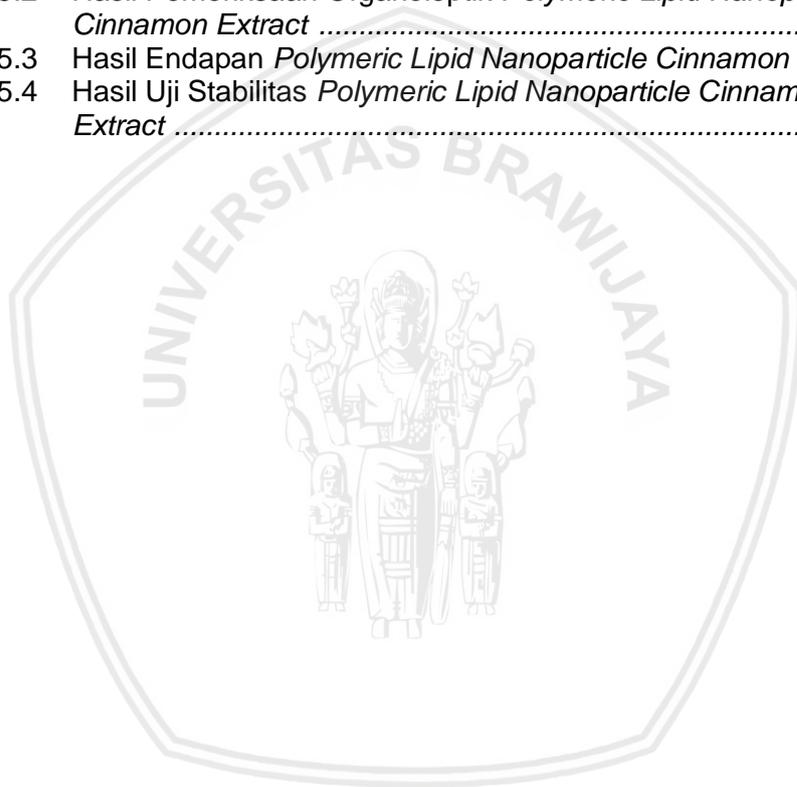
DAFTAR ISI

Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kayu Manis	6
2.2 <i>Polymeric Lipid Nanoparticle</i>	8
2.2.1 Formulasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle</i>	8
2.2.2 Mekanisme Absorpsi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle</i> ..	9
2.2.3 Metode Pembuatan Nanopartikel dengan Nanopresipitasi	12
2.3 Karakteristik <i>Polymeric Lipid Nanoparticle</i>	13
2.3.1 Ukuran Partikel	13
2.3.2 Sifat Permukaan	14
2.3.3 Pelepasan dan Pemuatan Obat	15
2.4 Polimer	16
2.5 Lipid	18
2.6 Nanopartikel Chitosan-Lecithin	18
2.7 Monografi Bahan	19
2.7.1 Chitosan	19
2.7.2 Lecithin	21
2.7.3 Poloxamer 407	22
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	24
3.2 Penjabaran Kerangka Konsep Penelitian	25
3.3 Hipotesis Penelitian	26
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	27
4.2 Variabel Penelitian	27
4.2.1 Variabel Bebas	27

4.2.2	Variabel Terikat	27
4.3	Waktu dan Lokasi Penelitian	27
4.4	Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian	27
4.5	Definisi Operasional	28
4.6	Prosedur Penelitian	28
4.6.1	Skrining Kandungan Polifenol <i>Cinnamon Extract</i>	28
4.6.2	Preparasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	29
4.7	Rancangan Formula	30
4.7.1	Formulasi	30
4.7.2	Rasionalisasi Formula	31
4.8	Karakterisasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	33
4.8.1	Analisis Ukuran Partikel, Indeks Poldispersitas, dan Zeta Potensial	33
4.8.2	Uji Stabilitas	33
4.9	Analisis Data	34
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1	Hasil Skrining Kandungan Polifenol <i>Cinnamon Extract</i>	36
5.2	Hasil Optimasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	37
5.3	Hasil Karakterisasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	39
5.4	Hasil Uji Stabilitas	45
BAB 6	PEMBAHASAN	
6.1	Pembahasan Hasil Penelitian	46
6.2	Keterbatasan Penelitian	55
6.3	Implikasi pada Bidang Farmasi	56
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1	Kesimpulan	57
7.2	Saran	57
	DAFTAR PUSTAKA	58
	LAMPIRAN	68

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur <i>Polymeric Lipid Nanoparticle</i>	8
Gambar 2.2 Absorpsi Obat dengan Adanya Bahan Lipid	10
Gambar 2.3 Absorpsi Obat dalam Enterosit	11
Gambar 2.4 Struktur Kimia Chitosan	21
Gambar 2.5 Struktur Kimia Lecithin	22
Gambar 2.6 Struktur Kimia Poloxamer 407	23
Gambar 5.1 Hasil Identifikasi Kandungan Polifenol <i>Cinnamon Extract</i>	37
Gambar 5.2 Hasil Pemeriksaan Organoleptik <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	38
Gambar 5.3 Hasil Endapan <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i> .	39
Gambar 5.4 Hasil Uji Stabilitas <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	45



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Perbandingan Jumlah Komponen Polimer dan Lipid	30
Tabel 4.2 Komposisi Formula <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	31
Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Organoleptik <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	37
Tabel 5.2 Hasil Evaluasi Karakterisasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	40
Tabel 5.3 Hasil Evaluasi Karakterisasi <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i> Formula F Tween 80	41
Tabel 5.4 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey's Multiple Range Test</i> Ukuran Partikel	42
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey's Multiple Range Test</i> Zeta Potensial .	43
Tabel 5.6 Hasil Uji Stabilitas <i>Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract</i>	44



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGEMBANGAN FORMULA POLYMERIC-LIPID NANOPARTICLE UNTUK SISTEM PENGANTARAN EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) MENGGUNAKAN CHITOSAN DAN LECITHIN

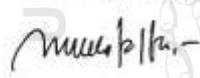
Oleh:
Monica Andika Putri
155070501111031

Telah diuji pada:
Hari : Kamis
Tanggal : 27 Juni 2019
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I,


Uswatun Khasanah, S.Farm., Apt., M.Farm.
NIP. 2011068512222001

Pembimbing-I/Penguji-II,



Oktavia Eka Puspita, S.Farm., Apt., M.Sc.
NIP. 2011068510252001

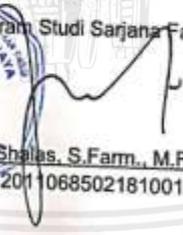
Pembimbing-II/Penguji-III,



Ferri Widodo, S.Si., Apt., M.Biomed.
NIP. 2009127503151001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,


Alvan Febristi Shales, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 2011068502181001



ABSTRAK

Putri, Monica Andika. 2019. ***Pengembangan Formula Polymeric-Lipid Nanoparticle untuk Sistem Penghantaran Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmannii) Menggunakan Chitosan dan Lecithin.*** Tugas Akhir. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt. (2) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.

Polymeric lipid nanoparticle (PLN) merupakan sistem penghantaran untuk mengimbangi kekurangan dari *lipid nanoparticle* dan juga *polymer nanoparticle*. Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dilaporkan mengandung sinamaldehyd dan polifenol yang dapat menurunkan glukosa darah dan meningkatkan level insulin. Chitosan digunakan sebagai polimer karena dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dan absorpsi intestinal. Sedangkan lecithin digunakan sebagai lipid karena bersifat *biodegradable*, memiliki imunogenisitas dan toksisitas intrinsik yang rendah. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui rasio chitosan dan lecithin untuk menghasilkan formula *polymeric lipid nanoparticle* yang optimal sebagai sistem penghantaran ekstrak kayu manis. Pembuatan *polymeric lipid nanoparticle* ini menggunakan metode nanopresipitasi. Pada penelitian ini digunakan 3 perbandingan lecithin dan chitosan yaitu sebesar 1:7; 1:3; dan 3:5 untuk F1, F2, dan F3 berturut-turut. Setelah dilakukan preparasi ketiga formula *polymeric lipid nanoparticle* yang menggunakan poloxamer 407 sebagai surfaktan, sediaan tersebut dilakukan evaluasi organoleptik, analisis ukuran partikel, indeks polidispersitas (PDI), zeta potensial, dan uji stabilitas. Berdasarkan hasil analisis, formula F3 memenuhi spesifikasi ukuran partikel yaitu memiliki rata-rata ukuran partikel sebesar $960,17 \pm 4,24$ nm, indeks polidispersitas $0,65 \pm 0,01$, dan zeta potensial $34,93 \pm 0,84$ mV. Hasil uji stabilitas pada suhu 4°C selama 30 hari menunjukkan sediaan masih stabil. Selain itu juga dibuat sediaan yang menggunakan tween 80 sebagai surfaktan, dengan perbandingan lecithin dan chitosan sebesar 3:5. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa sediaan memiliki rata-rata ukuran partikel $289,33 \pm 10,3$ nm, indeks polidispersitas $0,61 \pm 0,01$, dan zeta potensial $44,4 \pm 0,1$ mV.

Kata kunci: *polymeric lipid nanoparticle*, ekstrak kayu manis, chitosan, lecithin, analisis ukuran partikel

ABSTRACT

Putri, Monica Andika. 2019. ***Development of Polymeric-Lipid Nanoparticle Formula for Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmannii*) Delivery System Using Chitosan and Lecithin.*** Final Assignment. Pharmacy Program of Medical Faculty Brawijaya University. Adviser: (1) Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt. (2) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.

Polymeric lipid nanoparticle (PLN) is a delivery system to compensate the deficiency of lipid nanoparticle and also polymer nanoparticle. *Cinnamomum burmannii* is reported to contain cinnamaldehyde and polyphenol which can reduce blood glucose and increase insulin levels. Chitosan is used as polymer because it can improve the encapsulation efficiency and intestinal absorption. While lecithin is biodegradable, has low immunogenicity and intrinsic toxicity. The purpose of this study was to determine the ratio of chitosan and lecithin to produce the optimal formula. Preparation of this polymeric lipid nanoparticle used nanoprecipitation method. In this study, 3 ratios of lecithin and chitosan used were 1:7; 1:3; and 3:5 for F1, F2 and F3 respectively. After preparation of the three polymeric lipid nanoparticle formulas using poloxamer 407 as surfactants, the preparations were carried out organoleptic evaluation, particle size analysis, polydispersity index (PDI), potential zeta, and stability test. Based on the results of the analysis, the F3 fulfilled the particle size specification which have an average particle size of 960.17 ± 4.24 nm, the polydispersity index was 0.65 ± 0.01 , and the potential zeta was 34.93 ± 0.84 mV. Stability test results at 4°C for 30 days showed the preparations were still stable. In addition, preparations were made using tween 80 as surfactant, with a ratio of lecithin and chitosan of 3:5. The characterization results showed that the preparation had an average particle size of 289.33 ± 10.3 nm, the polydispersity index was 0.61 ± 0.01 , and the potential zeta was 44.4 ± 0.1 mV.

Keyword: polymeric lipid nanoparticle, cinnamon extract, chitosan, lecithin, particle size analysis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cinnamomum sp. (*cinnamon*, *kayu manis*) merupakan genus dari tanaman famili *Lauraceae*. Terdapat sekitar 250 spesies dan yang paling khas tumbuh di Indonesia adalah *C. camphora* dan *C. burmannii*. *Cinnamomum burmannii* adalah tumbuhan tropis berkayu dan bagian yang dapat digunakan sebagai makanan maupun obat tradisional adalah kulit kayu yang dikeringkan. Penggunaannya sebagai bahan tambahan pada makanan pada umumnya dikarenakan kulit kayu manis menghasilkan aroma dan perasa pada makanan. Berdasarkan suatu hasil studi, menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis memiliki peluang untuk digunakan sebagai obat, salah satunya yaitu untuk penatalaksanaan kondisi diabetes mellitus tipe 2 ataupun sebagai produk *functional food* untuk mencegah kejadian atau perkembangan penyakit diabetes. Dengan pemanfaatan *cinnamon extract* untuk penatalaksanaan diabetes tipe 2, maka dapat mencegah dan menurunkan tingginya prevalensi penderita diabetes mellitus (Power dan Pratley, 2011). Dimana menurut data Riskesdas (2013), angka kejadian DM di Indonesia terjadi peningkatan dari 1,1 % pada tahun 2007 kemudian menjadi 2,1 % di tahun 2013 dari jumlah penduduk sebanyak 250 juta jiwa.

Babu *et al.*(2007) telah mempelajari komponen fitokimia tunggal dalam Cinnamon yang memiliki peran terhadap aktivitas hipoglikemik, yaitu dengan melakukan isolasi *cinnamaldehyde* dari ekstrak *C. zeylanicum* kemudian

diberikan pada tikus wistar jantan diabetes. Hasil yang diperoleh yaitu adanya penurunan signifikan pada glukosa plasma sebesar 70,4% dan peningkatan level insulin sebesar 38,8%. Penelitian terhadap komponen fitokimia yang terdapat dalam kayu manis dilakukan oleh Chen *et al.*(2009), yaitu terhadap bioavailabilitas *cinnamaldehyde*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa *cinnamaldehyde* dimetabolisme menjadi asam sinamat di dalam liver. Senyawa murni tersebut segera berubah menjadi hippuric acid. Bioavailabilitas oral *cinnamaldehyde* yaitu hanya sebesar 20%, dengan metabolit sebanyak 48% yang ditemukan di urin dan feses dan waktu paruh 1,7 jam (Chen *et al.*, 2009). Komponen *cinnamaldehyde* berperan dalam menurunkan glukosa darah dan sebagai antioksidan yang dapat mencegah perkembangan penyakit diabetes mellitus tipe 2 (Camacho *et al.*, 2015). Namun sebelum sampai di sistemik, komponen tersebut mengalami metabolisme di hepar. Hal ini memerlukan pendekatan sistem pengantaran untuk meningkatkan bioavailabilitas komponen fitokimia *cinnamon extract* dan menghindarkan dari kerusakan *first pass metabolism* pada liver. Pendekatan sistem penghantaran yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah *cinnamon extract* tersebut salah satunya yaitu sistem penghantaran *polymeric lipid nanoparticle*. Oleh karena itu diperlukan sistem pengantaran yang dapat menghindarkan senyawa aktif dari kerusakan dalam saluran pencernaan untuk rute pemberian oral.

Strategi formulasi sistem pengantaran untuk tujuan tersebut diantaranya menggunakan nanopartikel polimer dikombinasikan dengan nanopartikel berbasis lipid. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengkombinasikan kemanfaatan yang dimiliki oleh bahan polimer, yaitu untuk meningkatkan lama waktu tinggal pada permukaan sel absorptif sehingga dapat memberikan

kesempatan obat untuk berpartisipasi menuju sel absorptif. Selain itu, polimer dapat memfasilitasi pembukaan *tight junction* pada sel absorpsi sehingga meningkatkan permeabilitas paraseluler partikel yang akan memberikan keuntungan dalam proses absorpsi sediaan nanopartikel (Delie dan Blanco-Príeto, 2005). Keuntungan yang diperoleh dari penggunaan nanopartikel berbasis lipid khususnya dalam penelitian ini adalah meningkatkan bioavailabilitas oral dengan meningkatkan permeasi usus dan menghindari obat dari *hepatic first pass metabolism* melalui transpor limfatik (Porter *et al.*, 2007; Rao *et al.*, 2014). Jenis polimer yang dapat digunakan untuk membentuk nanopartikel antara lain chitosan, pectin, polietilenimin, poloxamer, dan modifikasi polimer alami. Sedangkan bahan lipid yang dapat digunakan antara lain phosphatidylcholine, asam stearat, asam oleat, lecithin, dan jenis-jenis lipid yang pada umumnya digunakan untuk membentuk *solid lipid nanoparticle*.

Formulasi *polymeric lipid nanoparticle* yang dapat digunakan salah satunya yaitu menggunakan chitosan sebagai polimer dan lecithin sebagai lipid. Alasan chitosan digunakan sebagai polimer karena dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dan absorpsi intestinal (Pan *et al.*, 2002; Delie dan Blanco-Príeto, 2005). Peningkatan tersebut disebabkan oleh adanya perlindungan suatu obat dalam nanopartikel terhadap pH dan degradasi enzimatik di saluran cerna dan membukanya *tight junction* secara reversibel (Delie dan Blanco-Príeto, 2005). Karakteristik ini memberikan peluang penggunaan sistem polimer untuk penghantaran obat secara oral untuk dapat menjamin stabilitas penghantaran obat selama di sirkulasi sistemik sehingga menjamin ketersediaannya di tempat aksi. Dengan adanya sistem lipid, akan dapat meningkatkan *cellular uptake* ketika berada di tempat aksi (seluler). Hal ini menguntungkan karena komponen

aktif akan dilepaskan di dalam sel terutama untuk komponen aktif yang tergetnya adalah seluler sehingga diperoleh efektivitas yang baik. Lipid yang memiliki karakteristik baik untuk dikombinasi dalam formulasi nanopartikel ini salah satunya yaitu lecithin. Spesifikasi ukuran nanopartikel yang dapat diterima yaitu kurang dari 1000 nm (Sundaresan *et al.*, 2013). Pada penelitian Yu *et al.*(2016), perbandingan lipid dan polimer sebesar 3 : 5 dalam formulasi *polymeric lipid nanoparticle* dapat menghasilkan ukuran partikel sebesar 157,6 nm. Komponen lipid yang semakin meningkat dapat menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil (Yu *et al.*, 2016). Dengan demikian, perbandingan tersebut dapat menjadi dasar dalam formulasi *polymeric lipid nanoparticle* pada penelitian ini.

Oleh karena itu, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan bioavailabilitas komponen fitokimia ekstrak kayu manis dengan menentukan rasio lecithin terhadap chitosan dalam formula *polymeric lipid nanoparticle* yang dapat menghindarkan dari kerusakan *first pass metabolism* pada liver serta meningkatkan bioavailabilitas.

1.2 Rumusan Masalah

Berapa rasio lecithin dan chitosan pada formula *polymeric lipid nanoparticle* yang mengandung ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dengan spesifikasi ukuran partikel kurang dari 1000 nm ?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui rasio lecithin sebagai lipid dan chitosan sebagai polimer untuk menghasilkan *polymeric lipid nanoparticle* yang optimal sebagai sistem penghantaran ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Memberikan pengetahuan mengenai formula sistem pengantaran ekstrak kayu manis menggunakan formulasi berbasis nanoteknologi yang mengombinasikan bahan lecithin sebagai lipid dan chitosan sebagai polimer, serta sebagai salah satu aplikasi ilmu bidang farmasetika dalam menerapkan pembuatan sistem penghantaran nanopartikel yang diberikan melalui rute oral.

1.4.2 Manfaat Praktis

Keutamaan dari penelitian ini yaitu formulasi ekstrak kayu manis dalam bentuk nanopartikel polimer lipid yang memungkinkan untuk mengembangkan potensi kemanfaatan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) pada penggunaan klinis. Formula yang dihasilkan dapat dibuat dalam bentuk sediaan yang *acceptable* dan prosedur pembuatannya yang *feasible* untuk pembuatan skala industri merupakan keuntungan untuk mendukung prospek *C. burmannii* sebagai *functional food product*. Selain itu, penelitian ini juga dapat berkontribusi dalam program penatalaksanaan atau pencegahan kondisi diabetes dan memberikan *added value* pada tanaman kayu manis. Hal ini mengingat bahwa melimpahnya ketersediaan kayu manis di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kayu Manis

Berdasarkan klasifikasi, kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) berasal dari kingdom Plantae. Tergolong ke dalam divisi Spermathophyta, kelas Dicotyledonae, ordo Ranales, familia Lauraceae, serta genus Cinnamomum. *Cinnamomum burmannii* merupakan tanaman asli Indonesia, yang juga dikenal dengan nama *cassia vera*, *kaneelcassia* atau *Padang kaneel* (Starr *et al.*, 2003). Kandungan kimia dari kulit kayu manis diantaranya minyak atsiri yaitu eugenol, safrole dan sinamaldehyd. Kandungan lainnya dari kayu manis yaitu kalsium oksalat, damar, dua jenis insektisida cinnzelanin dan cinnzelanol, kumarin dan sebagainya. Kayu manis adalah sumber serat, kalsium, dan mangan yang sangat baik. Kayu manis juga merupakan sumber vitamin K dan zat besi yang baik. Efek farmakologi yang dimiliki kayu manis di antaranya sebagai penambah nafsu makan, peluruh kentut, peluruh keringat, antirematik, dan penghilang rasa sakit. Minyak atsiri juga dikenal dengan minyak mudah menguap atau volatil. Pengertian atau definisi minyak atsiri merupakan senyawa yang umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, batang, kulit, daun, buah, biji maupun bunga dengan cara penyulingan dengan uap. Minyak atsiri kayu manis bersifat antibakteri sehingga dapat membantu dalam pengawetan makanan tertentu. Kayu manis juga dapat digunakan sebagai pembasmi serangga. Kandungan sinamaldehyda, sinamalasetat, eugenol, dan anetol yang tersimpan dalam minyak daun kayu manis sangat ampuh membunuh larva

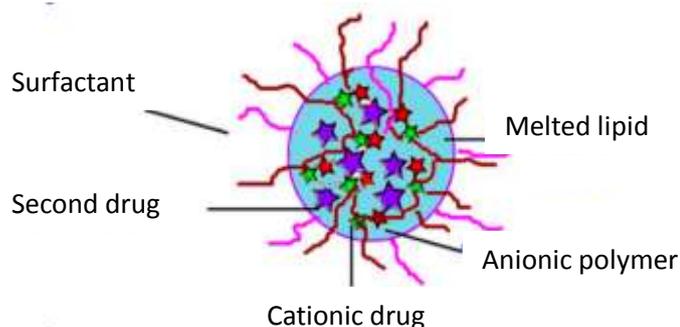
nyamuk. Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dan memiliki bau khas, dimana bau ini mewakili bau tanaman asalnya. Minyak atsiri kayu manis ini mengandung senyawa-senyawa seperti safrol, kamfer, sinamaldehyd, sinamil asetat, terpen sineol, sitral, sitronela, polifenol dan benzaldehid. Komponen terbesar yaitu *cinnamaldehyde* 55-65% dan eugenol 4-8%, beberapa jenis aldehid, benzil benzoat dan felandren yang terdapat dalam kulit batang (Hamid *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian Cao *et al.*(2007), terdapat bukti kuat yang menunjukkan bahwa polifenol dalam *cinnamon extract* menunjukkan aktivitas yang sama dengan insulin di dalam sel hewan dan penderita diabetes tipe 2, sehingga *cinnamon extract* bermanfaat untuk terapi diabetes mellitus tipe 2. *Cinnamon extract* yang larut dalam air, seperti insulin, meningkatkan aktivitas autofosforilasi reseptor insulin β (IR β) dan menurunkan aktivitas tirosin fosfatase secara *in vitro*. Kemudian polifenol dapat merangsang ambilan glukosa dan biosintesis glikogen, mengaktifkan glikogen sintase, dan menghambat glikogen sintase kinase-3 β . Selain itu, ekstrak tersebut memiliki potensi dalam pemanfaatan glukosa yang secara *in vivo* melalui peningkatan ambilan glukosa, dan mencegah resistensi insulin yang diinduksi oleh diet fruktosa tinggi pada tikus. Hal ini juga menurunkan glukosa dan meningkatkan insulin dalam darah tikus yang diberi diet mengandung *cinnamon extract* serta menurunkan tekanan darah, sehingga kayu manis terbukti menurunkan kadar glukosa, trigliserida, dan kolesterol LDL pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Selain itu, polifenol memiliki sifat anti inflamasi karena insulin menginduksi mRNA dari protein anti inflamasi tristetraprolin (TTP) dalam sel-sel tikus (Cao *et al.*, 2007).

2.2 Polymeric Lipid Nanoparticle

2.2.1 Formulasi Polymeric Lipid Nanoparticle

Polymeric lipid nanoparticle (PLN) merupakan sistem penghantaran untuk mengimbangi kekurangan dari *lipid nanoparticle* dan juga *polymer nanoparticle*. *Polymeric lipid nanoparticle* tersusun dari bahan polimer dan lipid. Polimer mengontrol pelepasan obat dan lipid dapat mengurangi *first pass metabolism* (Porter *et al.*, 2007). PLN memiliki potensi untuk meningkatkan stabilitas fisik dan biokompatibilitas. PLN memiliki lebih banyak kapasitas untuk penghantaran seluler secara *in vivo* dibandingkan *polymer nanoparticle* dan liposom. Struktur PLN (Gambar 2.1) terdiri dari *monolithic matrix PLN* dan pembungkus inti PLN, serta struktur ini terdistribusi secara homogen dalam matriks lipid padat (Wu, 2016). *Polymeric lipid nanoparticle* yang dibuat dengan metode nanopresipitasi terdiri dari fase organik dan fase air. Dalam metode nanopresipitasi fase organik ditambahkan secara perlahan ke fase air untuk membentuk emulsi dan setelah itu pelarut organik diuapkan (Li *et al.*, 2017). Fase organik terdiri dari polimer misalnya chitosan, bahan aktif, dan lipid seperti lecithin atau *egg phosphatidylcoline*. Sedangkan fase air terdiri dari larutan surfaktan.



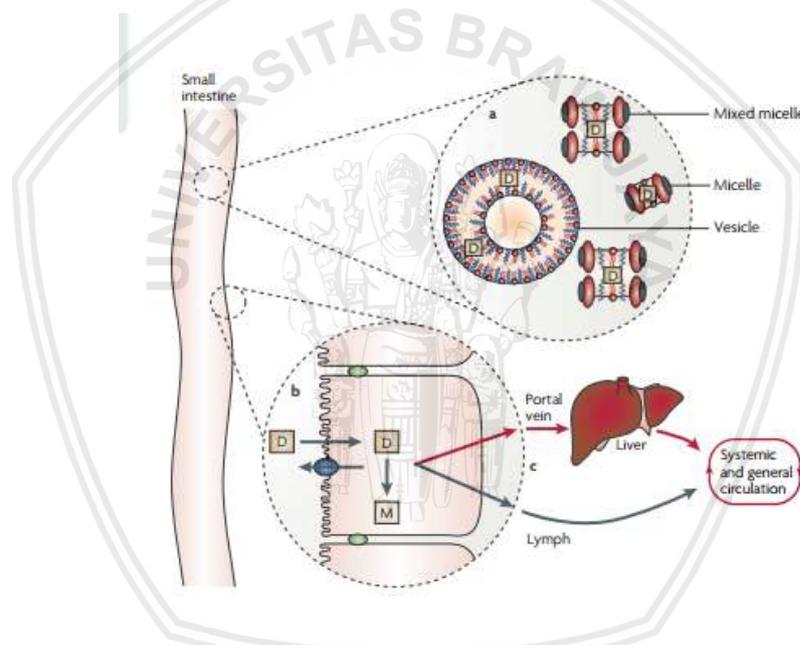
Gambar 2.1 Struktur Polymeric Lipid Nanoparticle (Wu, 2016)

Meskipun struktur PLN kompleks, metode untuk preparasi PLN tersebut cukup sederhana yang dapat berperan penting untuk meningkatkan produksinya di masa mendatang. Nanopartikel PLGA dapat menghambat P-glikoprotein (P-gp) dan juga mengatasi *multi drug resistance*. Enkapsulasi bahan aktif ke dalam nanopartikel PLGA merupakan cara untuk meningkatkan bioavailabilitas oral tetapi hanya terbatas pada obat-obatan lipofilik karena sangat sulit untuk menggabungkan obat-obat ionik larut air dengan berat molekul rendah. Untuk meningkatkan kemampuan *loading* obat ionik untuk PLN, polimer counterion dapat membuat kompleks yang stabil dengan obat ionik yang ditutup oleh membran lipid di sisi luar. Selain itu, PLN merupakan bentuk modifikasi dari SLN yang dapat mengenkapsulasi polimer anionik untuk memuat obat kationik hidrofilik (Yang *et al.*, 2012).

2.2.2 Mekanisme Absorpsi *Polymeric Lipid Nanoparticle*

Mekanisme absorpsi terjadi dengan cara endositosis. Endositosis terdiri dari fagositosis dan pinositosis. Nanopartikel masuk ke dalam sel dengan cara endositosis yang dapat ditransport melalui sel dan dihantarkan di permukaan sel yang berlawanan (*transitosis*), kemudian menimbulkan eksositosis dari membran basolateral ke sirkulasi darah selama transport melalui barrier epitel (Yu *et al.*, 2016). Penghantaran obat limfatik pada usus halus dengan adanya bahan lipid merupakan pendekatan untuk menghindari *first pass hepatic effect* (Gambar 2.2). Sistem limfatik adalah bagian dari sistem peredaran darah dan terdiri dari

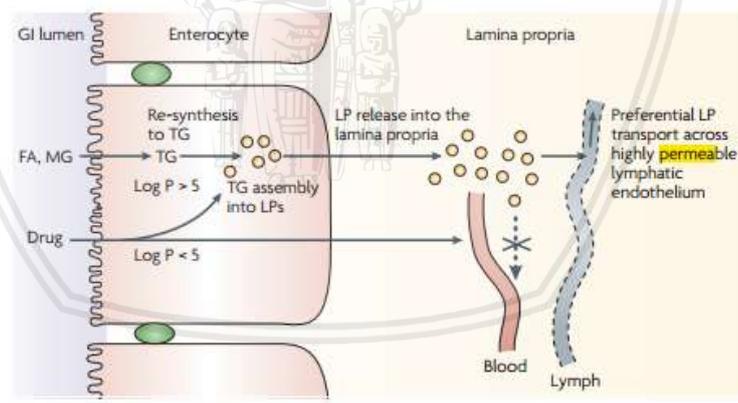
saluran yang rumit membawa cairan bening yang disebut limfe. Kategori predomnan saluran dalam sistem prelimfatik adalah kapiler, *collecting vessels*, nodus limfatik, dan duktus-duktus. Dalam penghantaran secara oral *uptake* nanopartikel dilakukan melalui *Peyer's patches* pada *gut-associated lymphoid tissue*. *Peyer's patches* terdiri dari sel M (microfold). Sel M secara efektif mengikat, mentransport, dan menghantarkan makromolekul ke sel-sel yang mendasari sistem imun mukosa (Porter *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 Absorpsi Obat dengan Adanya Bahan Lipid (Porter *et al.*, 2007)

Secara singkat, dilaporkan bahwa nanopartikel lipid memiliki sifat adhesif, sehingga menempel pada dinding usus (permukaan enterosit) dan segera melepaskan obat untuk absorpsi langsung dalam enterosit (Gambar 2.3). Secara paralel, adanya nanopartikel lipid dalam duodenum dapat meningkatkan sekresi lipase / kolipase dan garam empedu yang menghidrolisis trigliserida menjadi monogliserida dan asam lemak yang

membentuk misel dan gabungan misel, yang juga melarutkan kembali obat, sementara itu obat dilepaskan selama degradasi nanopartikel. Selanjutnya, garam empedu berinteraksi dengan misel yang memfasilitasi absorpsi jenis koloid ini oleh enterosit yang membawa obat di dalam sel. Setelah absorpsi misel dan gabungan misel di dalam enterosit, dimana misel dikonversi menjadi kilomikron setelah re-esterifikasi melalui monoacyl gliserol atau jalur asam fosfat dan stabilisasi lebih lanjut oleh fosfolipid. Namun, penetrasi lapisan air yang tidak tercampur dan musin di saluran cerna merupakan faktor yang membatasi laju obat. Kilomikron yang terbentuk kemudian mengalami transport sistem limfatik melalui kelenjar getah bening, kemudian akhirnya memasuki sirkulasi sistemik oleh drainase limfatik di duktus torasikus (Porter dan Charman, 2004).



Gambar 2.3 Absorpsi Obat dalam Enterosit (Porter dan Charman, 2004)

Selain itu, peningkatan solubilisasi obat dan peningkatan transport limfatik usus, Griffin dan O'Driscoll melaporkan bahwa mekanisme formulasi berbasis lipid dapat meningkatkan absorpsi oral obat lipofilik secara spesifik terhadap peptida dan obat-obatan yang menyerupai

protein. Hal ini mencakup penurunan degradasi enzimatik, peningkatan permeabilitas membran usus, fluidisasi membran usus, modulasi, pembentukan kompleks lipid protein dan modulasi enterosit berbasis proses efluks dan/atau metabolisme (Griffin dan O'Driscoll, 2011).

2.2.3 Metode Pembuatan Nanopartikel dengan Nanopresipitasi

Preparasi *polymeric lipid nanoparticle* dilakukan dengan menggunakan teknik nanopresipitasi. Metode ini berdasarkan pada hasil endapan antar polimer setelah pelarut semi-polar bercampur dengan air dari larutan lipofilik. Prosedur yang dilakukan yaitu melarutkan polimer, lipid, dan bahan aktif obat ke dalam suatu pelarut yang selanjutnya disebut sebagai fase organik. Fase organik tersebut ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase aqueous dan distirrer pada suhu ruang sampai semua pelarut organik menguap (Govender *et al.*, 1999). Berikutnya dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan agregat berukuran besar. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi, supernatan yang dihasilkan diambil dan ini merupakan bagian yang mengandung bahan aktif obat. Kemudian dibilas menggunakan larutan yang sebagai media disolusi untuk meningkatkan kelarutan bahan aktif. Pembilasan ini digunakan untuk menghilangkan bahan aktif yang tidak terenkapsulasi atau polimer bebas.

Faktor yang perlu dipertimbangkan dalam *polymeric lipid nanoparticle* yaitu ukuran partikel, *z-potential*, dan *entrapment efficiency* bahan aktif obat. Berdasarkan hasil penelitian Yu *et al.*(2016), *polymeric lipid nanoparticle* yang menggunakan PLGA dan egg PC, dengan meningkatnya jumlah lipid, ukuran partikel dan *EE* menurun secara bersamaan sementara potensial

zeta meningkat. Dari formulasi dengan ukuran partikel yang lebih kecil dan *EE* yang lebih tinggi tersebutlah yang dipilih untuk eksperimen selanjutnya. Dengan peningkatan rasio lipid terhadap PLGA, ukuran partikel dan *EE* menurun, sedangkan potensial zeta meningkat. Yang pertama mungkin dikaitkan dengan emulsifikasi yang disebabkan oleh lipid, mengarah ke ukuran partikel yang lebih kecil dan *EE* yang lebih rendah. Ketika jumlah PLGA dalam formulasi tersebut sedikit, obat tidak efisien dimasukkan ke dalam *polymeric lipid nanoparticle*, dan menunjukkan afinitas yang tinggi antara PLGA dan obat. Meningkatnya potensial zeta tersebut mungkin dikarenakan lipid yang netral di permukaan menutupi muatan negatif PLGA (Yu *et al.*, 2016).

2.3 Karakteristik *Polymeric Lipid Nanoparticle*

2.3.1 Ukuran Partikel

Ukuran partikel dan distribusi ukuran merupakan karakteristik paling penting dari sistem nanopartikel. Hal tersebut menentukan distribusi *in vivo*, nasib suatu obat, toksisitas, dan kemampuan penargetan sistem nanopartikel. Selain itu, juga dapat memengaruhi pemuatan obat, pelepasan obat dan stabilitas nanopartikel (Mohanraj dan Chen, 2006). Telah dilaporkan bahwa nanopartikel dapat melintasi *blood brain barrier* setelah pembukaan *tight junction* oleh manitol hiperosmotik, yang dapat memfasilitasi pengantaran agen terapi untuk penyakit yang sulit diobati seperti tumor otak. Nanopartikel yang dilapisi oleh tween 80 telah terbukti dapat melintasi *blood brain barrier*. Hanya nanopartikel submikron yang dapat diuptake secara efisien tetapi tidak dengan mikropartikel yang berukuran lebih besar. Pelepasan obat dipengaruhi

oleh ukuran partikel. Partikel yang lebih kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar, oleh karena itu sebagian besar obat akan berada di atau dekat permukaan partikel, yang memicu pelepasan obat secara cepat. Sedangkan, partikel yang lebih besar memiliki inti besar yang memungkinkan lebih banyak obat untuk dienkapsulasi dan perlahan-lahan menyebar (Redhead *et al.*, 2001). *Polymeric lipid nanoparticle* dengan ukuran 2 - 1000 nm dapat membantu membawa obat yang memiliki efek terapeutik. Dengan ukuran tersebut *polymeric lipid nanoparticle* dalam menghantarkan obat dengan rute oral dapat meningkatkan efektifitas obat, toleransi obat, dan indeks terapi obat (Sharma *et al.*, 2015). Partikel yang lebih kecil juga memiliki risiko lebih besar untuk terjadinya agregasi partikel selama penyimpanan dan transport nanopartikel. Hal tersebut selalu merupakan tantangan untuk memformulasikan nanopartikel dengan ukuran sekecil mungkin tetapi stabilitasnya maksimum (Mohanraj dan Chen, 2006).

2.3.2 Sifat Permukaan

Muatan permukaan partikel dan jenis ikatan antara obat dan nanopartikel merupakan parameter penting yang menentukan tingkat desorpsi obat dalam nanopartikel dan efisiensi pemuatan obat. Potensial zeta juga dapat digunakan untuk menentukan apakah muatan bahan aktif terenkapsulasi di dalam inti nanopartikel atau di permukaan. Muatan kationik pada liposom juga mengurangi waktu paruh selama di sirkulasi darah dan mempengaruhi biodistribusi antara tumor *microvasculature* dan *interstitium* tanpa mempengaruhi keseluruhan *uptake* tumor. Interaksi elektrostatik antara kopolimer blok bermuatan dan makromolekul yang berlawanan

muatan berperan dalam pembentukan inti nanopartikel, yang disebut "*polyion complex micelles*" (PIC) dan dengan cara ini efisiensi pemuatan akan ditingkatkan. Dengan pengukuran potensial zeta obat atau substrat, maka dapat ditentukan apakah obat tersebut terlindung atau tidak oleh nanopartikel karena jika obat terlindung oleh potensial zeta nanopartikel maka akan mendekati potensial zeta nanopartikel atau nilai nol (Honary and Zahir, 2013).

2.3.3 Pelepasan dan Pemuatan Obat

Untuk mengembangkan sistem nanopartikel, pelepasan obat dan biodegradasi polimer merupakan faktor pertimbangan penting. Secara umum, tingkat pelepasan obat tergantung pada kelarutan obat, desorpsi obat yang teradsorpsi, difusi obat melalui matriks nanopartikel, erosi atau degradasi matriks nanopartikel, dan kombinasi proses erosi/difusi. Dengan demikian kelarutan, difusi, dan biodegradasi matriks dapat mengatur proses pelepasan (Mohanraj dan Chen, 2006). Pada penelitian Zhang *et al.* (2008), untuk memuat (*loading*) obat kationik, misalnya, doxorubicin HCl atau verapamil HCl, polimer anionik, seperti dekstran sulfat atau polimer terhidrolisis dari minyak kedelai teroksidasi digunakan untuk menetralkan muatan obat dan membawa obat ke fase lipid. Setelah dilakukan ultrasonikasi kompleks polimer-obat dengan lipid dan adanya surfaktan, seperti Tween 80 dan Pluronic F68, atau lipid – PEG, emulsi tersebut kemudian didinginkan dalam media dingin membentuk PLN (*polymeric lipid nanoparticle*) yang padat. Efisiensi pemuatan dan isi pemuatan obat dapat dimaksimalkan, serta kinetika pelepasan obat dapat disesuaikan dengan

pemilihan jenis lipid, polimer, dan rasio lipid terhadap polimer yang rasional (Li *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2015). Rasio obat terhadap lipid dan konsentrasi kosurfaktan serta rasionya dioptimalkan untuk memperoleh efisiensi pemuatan dan ukuran partikel yang diinginkan (Li *et al.*, 2015).

2.4 Polimer

Kata 'polimer' berasal dari bahasa Yunani, poli yang berarti 'banyak' dan meros berarti 'bagian atau unit massa molekul yang tinggi'. Setiap molekul terdiri dari sejumlah besar unit struktural tunggal yang tergabung secara teratur dengan ikatan kovalen. Polimer merupakan *giant molecule* yang berat molekulnya tinggi, disebut makromolekul yang terbentuk dari ikatan sejumlah besar molekul kecil, yang disebut monomer. Proses dimana monomer bergabung membentuk polimer dikenal sebagai polimerisasi (Gowariker *et al.*, 2005). Polimerisasi didefinisikan sebagai reaksi kimia dalam dua atau lebih zat yang tergabung dengan atau tanpa air, panas atau pelarut lainnya yang membentuk molekul dengan berat molekul tinggi. Produk yang diperoleh disebut polimer dan bahan awal dari polimer disebut monomer.

Aplikasi spesifik dari polimer alami dalam formulasi farmasetika termasuk penggunaannya dalam pembuatan implan padat, film, *beads*, mikropartikel, nanopartikel, serta sistem inhalasi dan injeksi dalam formulasi cairan kental (Pandey *et al.*, 2004). Dalam bentuk sediaan ini, bahan polimer memiliki peran yang berbeda seperti pengikat, pembentuk matriks atau memodifikasi pelepasan obat, pembentuk lapisan film, pengental atau

peningkat viskositas, stabilisator, disintegran, *solubiliser*, emulsifier, *suspending agent*, *gelling agent* dan *bioadhesive* (Guo *et al.*, 1998).

Salah satu contoh polimer yaitu chitosan. Chitosan dapat diformulasikan sebagai *polymeric nanoparticle* untuk berbagai aplikasi dalam pemberian obat oral seperti yang dijelaskan di bawah ini dengan beberapa contoh. Catechin dan epigallocatechin merupakan flavonoid yang ada dalam teh hijau dan merupakan antioksidan kuat. Senyawa tersebut mengalami degradasi dalam cairan usus dan kurang diserap melalui membran usus. Penyerapan catechin dan epigallocatechin gallate di usus dapat ditingkatkan dengan enkapsulasi di dalam nanopartikel chitosan (Dube *et al.*, 2010). Tamoxifen, yang merupakan obat anti kanker, sedikit larut dalam air dan merupakan kandidat yang tepat untuk penghantaran obat kanker per oral. Permeasi tamoxifen di epitel usus ditingkatkan dengan memformulasikan tamoxifen menjadi nanopartikel lecithin-chitosan (Barbieri *et al.*, 2015). Nanopartikel tersebut bersifat mukoadhesif dan dapat meningkatkan permeasi tamoxifen dengan jalur paraseluler. Feng *et al.*(2013) juga telah melaporkan strategi penghantaran yang potensial secara oral untuk obat anti kanker. Mereka telah menyiapkan nanopartikel doxorubicin hydrochloride (DOX) dengan chitosan dan carboxymethyl chitosan. Struktur nano ini digunakan untuk meningkatkan absorpsi DOX di usus halus (Feng *et al.*, 2013). Alendronat natrium yang digunakan dalam pengobatan osteoporosis memiliki bioavailabilitas oral yang rendah dan efek samping pada saluran cerna. Efisiensi enkapsulasi nanopartikel yang tinggi dari alendronate natrium dicapai dengan memformulasikan nanopartikel chitosan melalui teknik gelasi ion. Pelepasan obat yang bergantung pada pH; dalam 0,1 N HCl, hampir 80% obat

dilepaskan dalam waktu 60 menit, sementara di PBS (pH 6.8) maksimal 40% obat dilepaskan selama 4 jam, menunjukkan bahwa faktor pH mempengaruhi pelepasan obat dalam kasus ini dan optimasi tersebut bersifat multifaktorial (Miladi *et al.*, 2015).

2.5 Lipid

Salah satu contoh lipid yaitu lecithin. Lecithin dapat digunakan dalam formulasi yang berbasis lipid. Lecithin yang berasal dari fosfolipid tersebut bersifat *biodegradable*, imunogenisitas yang rendah, dan memiliki toksisitas intrinsik yang rendah. Namun, lecithin terdeteksi oleh sistem pertahanan diri sendiri atau *host* dengan cepat karena mereka diserap oleh protein atau sel-sel dan kurangnya stabilitas sterik dalam sirkulasi sistemik. Oleh karena itu, polimer *biodegradable* tertentu dapat digunakan untuk memodifikasi permukaan nanopartikel berbasis lipid. Modifikasi nanopartikel berbasis lipid ini dapat meningkatkan penghantaran obat, meningkatkan absorpsi, dan mengurangi toksisitas obat. Selain itu, lecithin dapat digunakan untuk memperoleh stabilitas dan ukuran partikel yang diinginkan (Ying *et al.*, 2015).

2.6 Nanopartikel Chitosan-Lecithin

Dalam studi sebelumnya, nanopartikel chitosan-lecithin telah digunakan untuk obat lipofilik, namun beberapa senyawa lipofilik menunjukkan kelarutan yang rendah dalam metanol atau etanol dengan lecithin, dan agen pelarut yang penting seperti tokoferil polietilen glikol suksinat dan isopropil miristat. Sebagai contoh, penelitian insulin yang

dimuat dalam nanopartikel chitosan-lecithin. Insulin murni tidak larut dalam etanol, namun insulin dalam kompleks dengan fosfolipid kelarutannya dapat meningkat dalam etanol, yang memungkinkan berhasil dienkapsulasi dalam nanopartikel chitosan-lecithin dengan hasil efisiensi penyerapan yang tinggi (~94%). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kompleks fosfolipid dapat memperluas aplikasi klinis potensial untuk nanopartikel chitosan-lecithin karena kompleks obat-fosfolipid larut dalam etanol atau metanol yang dapat digunakan untuk preparasi nanopartikel chitosan-lecithin yang diisi obat untuk penghantaran obat secara optimal dan waktu pelepasan yang tepat. Enkapsulasi insulin ke dalam nanopartikel chitosan-lecithin multilayer memberikan peningkatan hasil pelepasan insulin setelah pemberian secara oral (Liu *et al.*, 2016).

2.7 Monografi Bahan

2.7.1 Chitosan

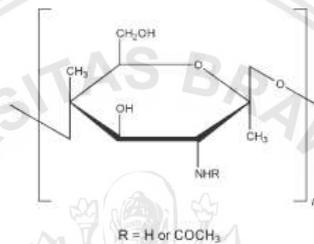
Chitosan merupakan polimer polikationik alami dengan sifat mukoadhesif, yang dapat memfasilitasi absorpsi protein di saluran cerna melalui pembukaan tight junction antara sel epitel (Pan *et al.*, 2002; Mukhopadhyay *et al.*, 2013). Chitosan memfasilitasi *transport* obat paraselular dan transelular. Chitosan berinteraksi dengan mukus (bermuatan negatif) untuk membentuk kompleks oleh ikatan ionik atau hidrogen, juga interaksi hidrofobik. PKa dari amina primer chitosan adalah ~6.5, tergantung pada derajat N-deasetilasi. Gugus ini juga berkontribusi terhadap kelarutan chitosan dalam kondisi pH asam dan netralisasi parsial amina primer ini juga dapat menjelaskan mengapa chitosan

membentuk agregat pada pH yang netral sampai tinggi (Chen *et al.*, 2013). Pelepasan awal dari nanopartikel chitosan yaitu disebabkan oleh polimer yang mengalami *swelling*, pembentukan pori-pori, atau difusi obat dari permukaan polimer (Yuan *et al.*, 2013). Nanopartikel chitosan juga menunjukkan pelepasan obat yang bergantung pada pH karena kelarutan chitosan (Miladi *et al.*, 2015). Turunan chitosan mengubah pelepasan obat dari nanopartikel, memberikan pelepasan obat yang baik dan memengaruhi profil farmakokinetik obat yang dimuat di dalamnya (Siafaka *et al.*, 2015).

Hasil yang signifikan telah tercapai dalam sintesis dan pemurnian chitosan, serta dalam penerapannya pada nanopartikel chitosan untuk penghantaran insulin secara oral yang efisien (Mao *et al.*, 2006; Prego *et al.*, 2006). Berdasarkan pengembangan teknik *self-assembly*, sistem nanopartikel *self-assembly* baru yang terdiri dari lecithin dan chitosan dibuat dengan metode injeksi pelarut (Sonvico *et al.*, 2006). Dengan metode tersebut, fosfolipid bermuatan negatif dan chitosan bermuatan positif membentuk struktur nano yang kaku dan stabil, yang menunjukkan biokompatibilitas dan biodegradabilitas yang baik, adhesi mukosa yang sangat baik, dan sitotoksitas minimal (Gerelli *et al.*, 2008; Hafner *et al.*, 2009).

Monografi dari chitosan (Gambar 2.4) yaitu berupa serbuk atau serpihan berwarna putih atau krem serta tidak berbau. Chitosan memiliki nama kimia Poly-b-(1,4)-2-Amino-2-deoxy-D-glucose, berat jenis sebesar 1.35–1.40 g/cm³, pH larutan yaitu 4.0 – 6.0, dan ukuran/distribusi partikel sebesar <30 µm. Bahan chitosan agak sukar larut dalam air; praktis tidak

larut dalam etanol (95%), pelarut organik lain, dan larutan netral atau basa pada pH diatas 6,5. Chitosan mudah larut pada hampir semua asam organik encer maupun pekat dan sampai jumlah tertentu dalam asam mineral anorganik (kecuali asam fosfor dan asam sulfur). Bahan tersebut bersifat inkompatibilitas dengan agen oksidator kuat dan stabil pada suhu ruang meskipun higroskopis setelah dikeringkan (Rowe, 2009).

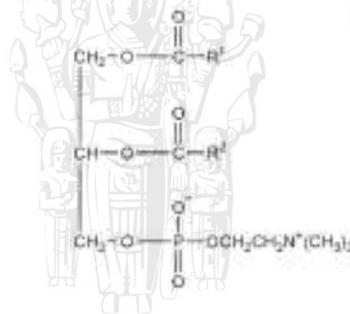


Gambar 2.4 Struktur Kimia Chitosan (Rowe, 2009)

2.7.2 Lecithin

Lecithin dapat digunakan dalam formulasi yang berbasis lipid. Lecithin yang berasal dari fosfolipid tersebut bersifat *biodegradable*, imunogenisitas yang rendah, dan memiliki toksisitas intrinsik yang rendah. Namun, lecithin terdeteksi oleh sistem pertahanan diri sendiri atau *host* dengan cepat karena lipid tersebut diabsorpsi oleh protein dan kurangnya stabilitas sterik dalam sirkulasi sistemik. Oleh karena itu, polimer *biodegradable* tertentu dapat digunakan untuk memodifikasi permukaan nanopartikel berbasis lipid. Modifikasi nanopartikel berbasis lipid ini dapat meningkatkan penghantaran obat, meningkatkan absorpsi, dan mengurangi toksisitas obat. Selain itu, lecithin dapat digunakan untuk memperoleh stabilitas dan ukuran partikel yang diinginkan (Ying *et al.*,

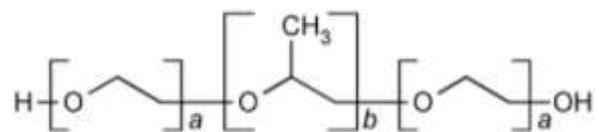
2015). Monografi dari lecithin (gambar 2.5) yaitu memiliki bentuk yang bervariasi, mulai dari semilikuid kental hingga padat, tergantung pada kandungan asam lemak bebasnya. Lecithin memiliki nama lain egg lecithin atau LSC 5050, berat jenis sebesar 0.97 g/cm^3 , pH sebesar $>4 - 7$. Kelarutan chitosan yaitu larut dalam hidrokarbon aromatik dan alifatik hidrokarbon terhalogenasi, asam lemak, serta minyak mineral. Praktis tidak larut dalam minyak jagung, minyak hewan, air, dan pelarut polar. Chitosan bersifat inkompatibilitas dengan ester karena hidrolisis, stabil dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya dan oksidasi. Lesitin padat murni harus disimpan dalam wadah tertutup rapat di suhu rendah (Rowe, 2009).



Gambar 2.5 Struktur Kimia Lecithin (Rowe, 2009)

2.7.3 Poloxamer 407

Monografi dari poloxamer 407 (gambar 2.6) yaitu berwarna putih atau hampir putih, berupa bubuk wax, microbead atau serpihan. Poloxamer memiliki nama resmi polyethylene-polypropylene glycol dan rumus molekul yaitu $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$. Berat molekul dari bahan ini yaitu sebesar 102,133 g/mol dan $>10\%$ larut dalam air pada suhu 25°C . Penyimpanan poloxamer 407 yaitu dalam wadah tertutup (Rowe, 2009).



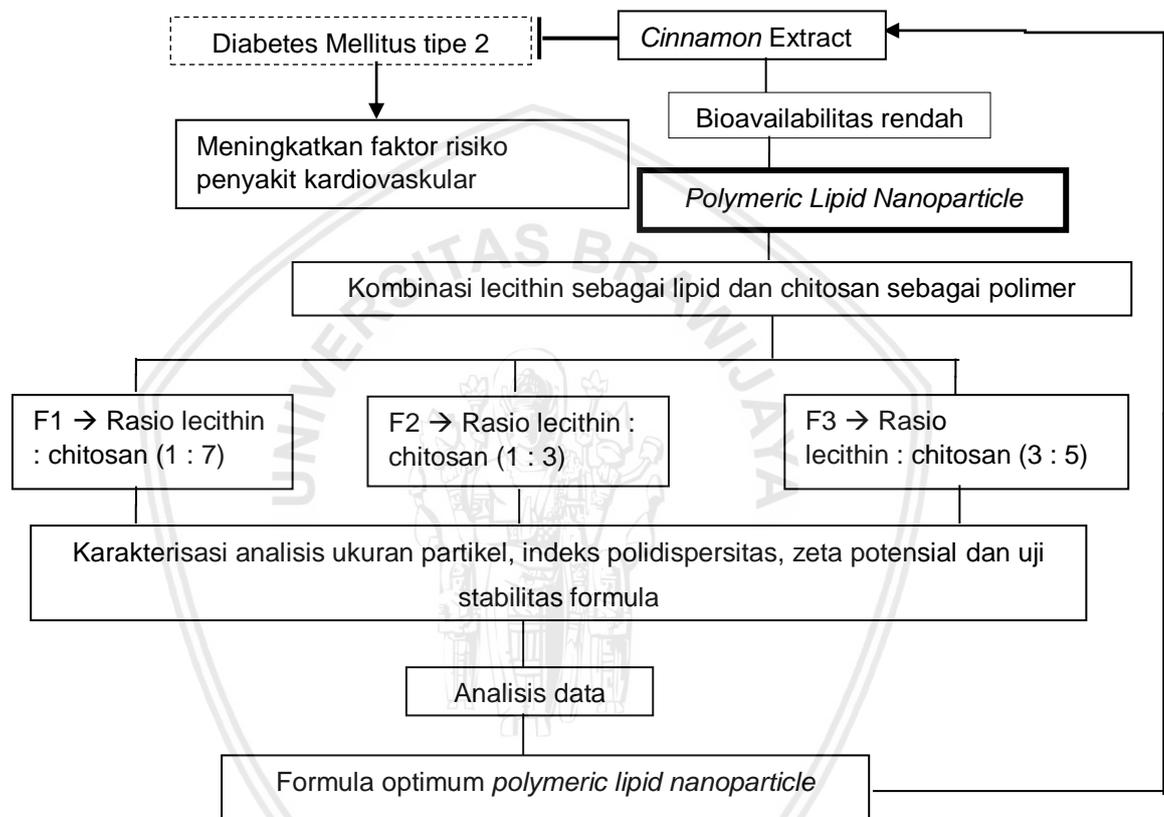
Gambar 2.6 Struktur Kimia Poloxamer 407 (Rowe, 2009)



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

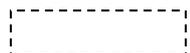
3.1 Kerangka Konsep



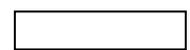
Keterangan:



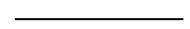
: variabel yang diteliti



: variabel yang tidak diteliti



: variabel yang berpengaruh



: berhubungan



: berpengaruh

3.2 Penjabaran Kerangka Konsep Penelitian

Terapi diabetes mellitus tipe 2 dilakukan jangka panjang untuk menurunkan faktor resiko penyakit kardiovaskular dan komplikasi lainnya. Selain penggunaan obat konvensional sebagai terapi, *cinnamon extract* memiliki peluang untuk digunakan sebagai penatalaksanaan kondisi diabetes mellitus tipe 2 ataupun sebagai produk *functional food* untuk mencegah kejadian atau perkembangan penyakit diabetes. Namun, *cinnamon extract* yang mengandung *cinnamaldehyde* tersebut dapat mengalami kerusakan komponen aktif karena *first pass metabolism*. Sehingga untuk menghindarkan kerusakan senyawa aktif akibat *first pass metabolism* diperlukan suatu pendekatan sistem penghantaran nanopartikel, salah satunya yaitu *polymeric lipid nanoparticle*.

Polymeric lipid nanoparticle mengombinasikan keuntungan karakteristik polimer dan lipid serta mengatasi hambatan fisikokimia masing-masing bahan dan karakteristiknya dalam sistem biologis. Selain itu dengan menggunakan *polymeric lipid nanoparticle*, harapannya dapat meningkatkan bioavailabilitas, dimana bioavailabilitas ini sangat diperlukan bagi senyawa aktif untuk dapat menimbulkan efek farmakologis. Formulasi nanopartikel yang dapat digunakan salah satunya yaitu menggunakan chitosan sebagai polimer dan lecithin sebagai lipid. Alasan chitosan digunakan sebagai polimer karena dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dan absorpsi intestinal (Pan *et al.*, 2002; Delie dan Blanco-Príeto, 2005). Peningkatan tersebut disebabkan oleh adanya perlindungan suatu obat dalam nanopartikel terhadap pH dan degradasi enzimatik di saluran cerna dan membukanya *tight junction* yang secara reversibel (Delie dan Blanco-Príeto, 2005). Sedangkan

lecithin sebagai lipid akan dapat meningkatkan *cellular uptake* ketika berada di tempat aksi (seluler).

Pada formula *polymeric lipid nanoparticle* ini menggunakan variasi perbandingan lecithin dan chitosan, yakni F1 (1 : 7), F2 (1 : 3), dan F3 (3 : 5). Pemilihan perbandingan tersebut didasari oleh penelitian-penelitian *polymeric lipid nanoparticle* sebelumnya yang menghasilkan persentase *entrapment efficiency* yang baik dan ukuran partikel yang sesuai spesifikasi. Penelitian tersebut dilakukan oleh Yu *et al.*(2016) yang dapat menghasilkan *polymeric lipid nanoparticle* dengan ukuran partikel antara 100-200 nm (Yu *et al.*, 2016). Dari formula yang dibuat tersebut kemudian akan dilakukan karakterisasi analisis ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial dan uji stabilitas nanopartikel. Sehingga didapatkan formula optimum *polymeric lipid nanoparticle* untuk penghantaran *cinnamon extract*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Kombinasi lecithin sebagai lipid dan chitosan sebagai polimer dengan perbandingan 3 : 5 dapat menghasilkan formula optimal *polymeric lipid nanoparticle* dalam sistem pengantaran ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dengan spesifikasi ukuran partikel kurang dari 1000 nm.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain penelitian eksperimental murni (true experimental design)

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah rasio lecithin sebagai lipid terhadap chitosan sebagai polimer dalam formulasi *polymeric lipid nanoparticle*.

4.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah ukuran *polymeric lipid nanoparticle*.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Bahan Padat Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Penelitian ini berlangsung antara bulan Januari 2019 hingga April 2019.

4.4 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu serbuk ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang diperoleh dari PT. Borobudur (Purworejo, Jawa Tengah), WFI (*Water For Injection*), chitosan,

lecithin, aseton, metanol, poloxamer 407, dan HCl. Sedangkan alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu, Kromatografi Lapis Tipis, ultraturax (IKA), *magnetic stirrer*, *hotplate*, *overhead stirrer*, pH meter, sentrifugasi, dan *Particle Size Analyzer* (Malvern Instrumen, Zetasizer ZS).

4.5 Definisi Operasional

1. *Polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* merupakan nanopartikel yang menggunakan komposisi lecithin sebagai lipid dan chitosan sebagai polimer untuk sistem pengantaran *cinnamon extract*.
2. Nanopresipitasi merupakan metode dimana fase organik (chitosan, lecithin, dan ekstrak kayu manis yang dilarutkan dalam aseton-metanol) diteteskan ke dalam fase aqueous (larutan aqueous poloxamer) lalu dihomogenkan dan diuapkan komponen pelarut organiknya. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan agregat berukuran besar dan dihasilkan supernatan yang merupakan nanopartikel *cinnamon extract*.
3. Formula optimum adalah rasio lecithin dan chitosan yang menghasilkan *polymeric lipid nanoparticle* mengandung ekstrak kayu manis pada ukuran kurang dari 1000 nm

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Identifikasi Kandungan Polifenol *Cinnamon Extract*

Ekstrak kayu manis yang diperoleh dari PT. Borobudur dilakukan skrining kandungan polifenol *cinnamon extract* dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Skrining tersebut menggunakan fase gerak yaitu kloroform : metanol (9:1) v/v, sedangkan fase diam yang digunakan adalah Silica Gel

dengan jarak elusi 8 cm. Tahapannya yaitu cuplikan dibuat dengan konsentrasi 1% b/v dan ditotolkan sebanyak 1 totolan dengan menggunakan pipa kapiler. Untuk mendeteksi adanya polifenol, digunakan pereaksi semprot FeCl_3 . Pereaksi semprot FeCl_3 ini digunakan untuk mengidentifikasi senyawa fenol, tetapi tidak dapat digunakan untuk membedakan macam-macam golongannya. Adanya senyawa fenol (Gambar 4.1) dapat ditunjukkan dengan pereaksi FeCl_3 yang nantinya memberikan bercak warna hitam, hijau atau biru kehijauan. Spesifikasi dari ekstrak tersebut apabila mengandung polifenol yaitu akan memberikan bercak warna hitam, hijau atau biru kehijauan. (Wardhani, 2012).

4.6.2 Preparasi *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Preparasi *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* dilakukan dengan menggunakan teknik nanopresipitasi. Chitosan sebanyak 112 mg dilarutkan dalam 5 ml WFI yang ditetesi HCl 1 N, diadjust sekitar pH 2-4. Lalu dipanaskan di atas hotplate pada suhu 40 ± 5 °C hingga larut. 16 mg lecithin dilarutkan dalam 6 ml aseton dan dipanaskan di atas hotplate pada suhu 30 ± 5 °C hingga larut. Ekstrak kayu manis sebanyak 200 mg dilarutkan dalam 4 ml metanol yang ditambah dengan 1 ml WFI dan dipanaskan di atas hotplate pada suhu 40 ± 5 °C hingga larut. Larutan chitosan, lecithin, dan ekstrak kayu manis tersebut dicampurkan dalam gelas beker, yang selanjutnya disebut sebagai fase organik. Kemudian dibuat larutan poloxamer 407 (1%, w/v) dan hasilnya disebut sebagai fase *aqueous*. Fase organik kemudian ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase *aqueous* dengan rasio fase organik - fase air 1: 10 (v/v) lalu

dihomogenkan menggunakan homogenizer (Ultraturax, IKA) pada kecepatan 8.000 rpm selama 5 menit. Campuran tersebut dilanjutkan pengadukannya menggunakan overhead stirrer pada suhu ruang (< 30°C) selama 24 jam untuk menguapkan komponen pelarut organik. Berikutnya dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan agregat berukuran besar pada 5.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil dan ini merupakan bagian yang mengandung *polymeric-lipid nanoparticle cinnamon extract*. (Yu *et al.*, 2016). Prosedur tersebut juga dilakukan untuk formula lainnya. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi konsentrasi lipid dan polimer yang paling optimal dalam menghasilkan nanopartikel. Dilakukan tiga formulasi *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* dengan perbandingan jumlah lecithin dan chitosan berdasarkan penelitian Yu *et al.*(2016) yang dapat menghasilkan *polymeric lipid nanoparticle* dengan ukuran partikel antara 100-200 nm (tabel 4.1).

Tabel 4.1 Perbandingan Jumlah Komponen Lipid dan Polimer

Formula	Rasio Lecithin : Chitosan
F1	1 : 7
F2	1 : 3
F3	3 : 5

4.7 Rancangan Formula

4.7.1 Formulasi

Dalam penelitian ini terdapat tiga rancangan formula yaitu F1, F2, dan F3. F1 adalah formula *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract*

dengan rasio lecithin : chitosan sebesar 1 : 7, F2 menggunakan rasio sebesar 1 : 3, dan F3 menggunakan rasio sebesar 3 : 5.

Tabel 4.2 Komposisi Formula *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Fase Organik	Kode Formula		
	F1	F2	F3
<i>Cinnamon Extract</i> (mg)	200	200	200
Lecithin (mg)	16	32	48
Chitosan (mg)	112	96	80
Aseton-metanol (v/v)	3:2	3:2	3:2
Fase Air	Kode Formula		
	F1	F2	F3
Larutan poloxamer 407	1%	1%	1%

4.7.2 Rasionalisasi Formula

Pada penelitian ini *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* dibuat dengan metode nanopresipitasi dengan komponen formula yang terdiri dari *cinnamon extract* sebagai bahan aktif, chitosan sebagai polimer, lecithin sebagai lipid, aseton dan metanol sebagai pelarut (fase organik), dan poloxamer 407 sebagai surfaktan untuk fase *aqueous*.

Pada formulasi ini dilakukan dengan metode nanopresipitasi, dimana metode ini berdasarkan pada hasil endapan antar polimer setelah pelarut semi-polar bercampur dengan air dari larutan lipofilik. Digunakan metode nanopresipitasi karena metode ini sesuai untuk pelarut yang larut dalam air, seperti aseton dan metanol. Selain itu merupakan metode yang baik untuk menghasilkan nanopartikel berukuran hingga kurang dari 200 nm (Zhang *et al.*, 2010).

Jumlah ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 200 mg. Berdasarkan penelitian Shokri *et al.*(2015) bahwa *cinnamon extract* dengan dosis 200 mg dapat menurunkan glukosa darah sebesar 150 mg/dL. Dosis 200 mg tersebut merupakan dosis yang optimal dibandingkan dosis lain (Shokri *et al.*, 2015). Rasio lipid terhadap polimer yang digunakan yaitu sebesar 1:7, 1:3, dan 3:5. Pada penelitian Yu *et al.*(2016), dengan rasio lipid terhadap polimer sebesar 1:7, 1:3, dan 3:5 tersebut dapat menghasilkan ukuran partikel yang optimal yaitu antara 100-200 nm (Yu *et al.*, 2016).

Polimer yang digunakan dalam formulasi ini yaitu chitosan. Chitosan dipilih karena memiliki sifat mukoadhesif, sehingga dapat memfasilitasi absorpsi protein di saluran cerna melalui pembukaan tight junction antara sel epitel. Dengan enkapsulasi di dalam chitosan, penyerapan *cinnamon extract* dapat meningkat di dalam usus. Chitosan juga telah banyak digunakan sebagai bahan pembuatan nanopartikel karena sifat biodegradabilitas dan biokompatibilitasnya (Dube *et al.*, 2010). Pada formulasi ini digunakan lecithin sebagai lipid. Lecithin dapat digunakan untuk memperoleh stabilitas dan ukuran nanopartikel yang diinginkan. Selain itu, dipilih lipid ini karena bersifat *biodegradable*, memiliki imunogenisitas yang rendah, dan memiliki toksisitas intrinsik yang rendah. Nanopartikel menggunakan lipid ini juga dapat meningkatkan penghantaran obat, meningkatkan absorpsi, dan mengurangi toksisitas obat (Ying *et al.*, 2015). Aseton dan metanol digunakan sebagai pelarut pada fase organik dikarenakan *cinnamon extract* memiliki sifat hidrofobik, dimana pelarut ini dapat melarutkan bahan yang bersifat hidrofobik. Selanjutnya poloxamer

407 digunakan sebagai surfaktan untuk fase aqueous karena memiliki sifat yang baik sebagai *stabilizer* dan bersifat stabil dalam larutan aqueous. Bahan ini juga memiliki kompatibilitas yang sangat baik dengan bahan lainnya dan memiliki karakteristik pelepasan obat yang baik (Rowe, 2009). Dimana ketika surfaktan ditambahkan akan memiliki mekanisme yaitu fase organik diemulsifikasikan di dalam fase *aqueous*, kemudian emulsi minyak dalam air akan terbentuk. Dalam hal tersebut, bagian ekor hidrofobik dari lipid tersebut melekat ke inti polimer, dimana kepala hidrofilik mengarah keluar menuju fase *aqueous*, sehingga terbentuklah lipid yang melapisi inti polimer. (Yu *et al.*, 2016).

4.8 Karakterisasi *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

4.8.1 Analisis Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, dan Zeta Potensial

Ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan z-potential nanopartikel dilakukan evaluasi menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) dengan alat *Particle Size Analyzer* (Malvern Instrumen, Zetasizer ZS). Evaluasi ini dilakukan terhadap setiap sediaan, yang bertujuan untuk mengetahui ketercapaian ukuran nanopartikel pada formula yang dioptimasi (Yu *et al.*, 2016).

4.8.2 Uji Stabilitas

Uji stabilitas ini digunakan untuk mengetahui stabilitas fisik formula, memastikan bahwa sediaan tidak akan mengalami perubahan selama penyimpanan (30 hari). Sediaan nanopartikel disimpan pada suhu 4°C

selama 30 hari. Kondisi fisik nanopartikel setelah 30 hari tersebut dibandingkan dengan sediaan sebelumnya (Banker, 1997).

4.9 Analisis Data

Analisis data statistik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji statistik parametrik. Pada uji ini terdapat tiga syarat yang perlu diperhatikan yaitu skala pengukuran variabel harus variabel numerik, distribusi data haruslah normal, dan varians data harus sama. Uji varians tersebut digunakan untuk mengetahui apakah kelompok data memiliki varians yang sama atau tidak. Nilai varians sama menghasilkan nilai $P > 0,05$. Pada penelitian ini juga dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas digunakan untuk melihat distribusi data normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji Shapiro-Wilk, karena uji tersebut digunakan untuk sampel ≤ 50 . Kemudian dilakukan uji homogenitas, tes yang umum digunakan terhadap homogenitas data yang digunakan adalah Levene's test. Uji ini dapat menunjukkan homogenitas dari kelompok yang diambil datanya (Razali dan Wah, 2011). Jika hasil yang didapatkan adalah data homogen, maka dilakukan uji statistik parametrik One Way ANOVA (Analysis of Variance). One Way ANOVA merupakan metode yang digunakan untuk menganalisis data desain eksperimental yang objektif dengan membandingkan rata-rata dua kelompok atau lebih menggunakan variabel numerik tunggal untuk menguji hipotesis nol dari populasi yang memiliki rata-rata hitung yang sama (Bolton dan Bon, 2004).

Data yang ditampilkan disajikan dalam bentuk rata-rata \pm simpangan baku. Perbedaan parameter yang ditetapkan dianalisa secara statistik dengan

menggunakan uji One Way ANOVA tersebut. Hasil analisa dinyatakan berbeda makna dengan $p < 0,05$.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Kandungan Polifenol *Cinnamon Extract*

Ekstrak kayu manis yang diperoleh dari PT. Borobudur dilakukan identifikasi kandungan polifenol dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Plat KLT yang telah disemprot dengan FeCl_3 menunjukkan warna bercak hitam, dimana warna hitam ini menunjukkan positif adanya kandungan polifenol. Sehingga ekstrak kayu manis yang digunakan ini positif mengandung polifenol. Nilai R_f yang diperoleh yaitu 0,28. Nilai R_f KLT yang baik yaitu antara 0,2 - 0,8. Senyawa yang memiliki R_f lebih tinggi berarti memiliki kepolaran yang rendah, begitu pun sebaliknya. Hal ini dikarenakan fase diam bersifat polar. Senyawa yang bersifat lebih polar akan tertahan pada fase diam sehingga akan menghasilkan nilai R_f yang rendah (Ewing, 1985). Hasil skrining kandungan polifenol ekstrak kayu manis yang telah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 ini terdapat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Hasil Skrining Kandungan Polifenol *Cinnamon Extract*

5.2 Hasil Optimasi *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Setelah dibuat sediaan *polymeric lipid nanoparticle*, diperoleh hasil akhir berupa supernatan dan endapan. Hasil pemeriksaan organoleptik dari supernatan terdapat pada tabel 5.1 dan gambar 5.2 serta hasil endapan terdapat pada gambar 5.3.

Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Organoleptik Supernatan *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Formula	Spesifikasi	Hasil Pengamatan Organoleptik
F1	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye pucat jernih • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis 	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye pucat agak keruh • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis
F2	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye pucat jernih 	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye pucat agak keruh

	<ul style="list-style-type: none"> • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis
F3	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye pucat jernih • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis 	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye pucat jernih • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis



Gambar 5.2 Hasil Pemeriksaan Organoleptik Supernatan *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*



Gambar 5.3 Hasil Endapan *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Endapan yang dihasilkan dari sentrifugasi ketiga formula yaitu berupa padatan berwarna coklat tua. Jumlah endapan untuk formula F1, F2, dan F3 tersebut meningkat secara berturut-turut. Namun pada F1 hanya terlihat endapan yang sangat sedikit. Hasil endapan yang sedikit menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis dapat terenkapsulasi dengan baik oleh *polymeric lipid nanoparticle*.

5.3 Hasil Karakterisasi *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Dari ketiga formula *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* yang telah dibuat, dilakukan karakterisasi ukuran partikel, *polydispersity*

index, zeta potensial dengan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) menggunakan Malvern Instrumen, Zetaziser ZS. Data untuk formula F1, F2, dan F3 merupakan hasil rata-rata dari masing-masing 3 data ukuran partikel, *polydispersity index*, dan zeta potensial. Hasil evaluasi tersebut dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.2):

Tabel 5.2 Hasil Evaluasi Karakterisasi *Polymeric Lipid Nanoparticle* Cinnamon Extract

Formula	Rata-rata \pm SD		
	Ukuran Partikel (nm)	<i>Polydispersity Index</i> (PDI)	Zeta Potensial (mV)
F1	1317 \pm 6,93	0,92 \pm 0,09	41,8 \pm 0,26
F2	1047,33 \pm 6,11	0,68 \pm 0,03	45,63 \pm 0,81
F3	960,17 \pm 4,24	0,65 \pm 0,01	34,93 \pm 0,84

Keterangan: n (jumlah data) = 3

Dalam penelitian ini, lebih ditekankan pada hasil ukuran partikel. Berdasarkan hasil pengukuran ukuran partikel menunjukkan bahwa *polymeric lipid nanoparticle* formula F1 dan F2 tidak memenuhi spesifikasi sediaan yang diinginkan. Dari hasil tersebut yang memenuhi spesifikasi sediaan yaitu formula F3, yang menggunakan komposisi lecithin dan chitosan dengan perbandingan 3 : 5. Spesifikasi ukuran partikel yang dapat diterima yaitu kurang dari 1000 nm (Sundaesan *et al.*, 2013).

Hasil optimasi menggunakan surfaktan Poloxamer 407 masih menghasilkan ukuran partikel yang cukup besar yaitu lebih dari 1000 nm. Spesifikasi ukuran partikel yang diinginkan yaitu kurang dari 1000 nm. Oleh karena itu berdasarkan pertimbangan ukuran partikel maka pada penelitian ini juga digunakan surfaktan lain yaitu Tween 80. Rasio chitosan dan lecithin

yang digunakan adalah 3 : 5. Konsentrasi tween 80 yang digunakan sama seperti penggunaan poloxamer 407 yaitu sebesar 1%. Hasil sentrifugasi sediaan dilakukan evaluasi ukuran partikel, *polydispersity index*, dan zeta potensial yang dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.3):

**Tabel 5.3 Hasil Evaluasi Karakterisasi *Polymeric Lipid Nanoparticle*
Cinnamon Extract Formula F Tween 80**

Formula	Rata-rata \pm SD		
	Ukuran Partikel (nm)	<i>Polidispersity Index</i> (PDI)	Zeta Potensial (mV)
F tween 80	289,33 \pm 10,3	0,61 \pm 0,01	44,4 \pm 0,1

Keterangan: n (jumlah data) = 3

Untuk melihat perbedaan ukuran partikel antara F1; F2; dan F3, dilakukan analisis statistik. Yang pertama yaitu uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk ukuran partikel F1, F2, dan F3 diperoleh nilai p 0,220. Karena hasil uji normalitas data tersebut memiliki nilai p > 0,05, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa persebaran datanya normal. Selanjutnya uji homogenitas varians yang menggunakan *Levene's test* menunjukkan nilai signifikansi 0,548 yang berarti nilai p > 0,05. Sehingga dapat dikatakan bahwa kelima formula memiliki varians data yang sama (homogen). Selanjutnya pada uji *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 yang menandakan terdapat perbedaan ukuran partikel yang bermakna pada tiga formula. Hasil uji *Post Hoc Tukey's Multiple Range Test* menunjukkan jika F1, F2, dan F3 apabila dibandingkan maka terdapat perbedaan yang

signifikan pada ketiga formula tersebut. Dimana ukuran partikel F1 lebih besar daripada F2 dan F3, serta F2 lebih besar daripada F3.

Tabel 5.4 Hasil Uji *Post Hoc Tukey's Multiple Range Test* Ukuran Partikel

Formula	p	Keterangan
F1 vs F2	0, 000	Signifikan
F1 vs F3	0, 000	Signifikan
F2 vs F1	0, 000	Signifikan
F2 vs F3	0, 000	Signifikan
F3 vs F1	0, 000	Signifikan
F3 vs F2	0, 000	Signifikan

Hasil rata-rata uji indeks polidispersitas dari F2 dan F3 menunjukkan bahwa masih dalam rentang spesifikasi yaitu $< 0,7$, sehingga sediaan dapat dikatakan stabil. Namun hasil dari F1 tidak berada dalam rentang spesifikasi. Data indeks polidispersitas juga dilakukan pengolahan dengan analisis statistik. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk indeks polidispersitas F1, F2, dan F3 diperoleh nilai p 0,358, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa persebaran datanya normal. Selanjutnya uji homogenitas varians menunjukkan nilai signifikansi 0,131. Sehingga dapat dikatakan bahwa ketiga formula memiliki varians data yang sama (homogen). Selanjutnya pada uji *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0,002 yang menandakan terdapat perbedaan indeks polidispersitas yang bermakna pada tiga formula. Hasil uji *Post Hoc Tukey's Multiple Range Test* menunjukkan jika F2 dan F3 dibandingkan maka tidak terdapat perbedaan indeks polidispersitas yang signifikan. Namun bila F1 dan F2 serta F1 dan F3 dibandingkan maka

terdapat perbedaan yang signifikan yaitu indeks polidispersitas F1 lebih tinggi daripada F2 dan F3.

Hasil rata-rata uji zeta potensial dari ketiga formula menunjukkan nilai di atas +30 mV. Nilai tersebut sesuai dengan spesifikasi zeta potensial yaitu di atas atau di bawah ± 30 mV, dimana menunjukkan bahwa sediaan memiliki stabilitas yang baik (Honary dan Zahir, 2013). Data zeta potensial juga dilakukan pengolahan dengan analisis statistik. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk zeta potensial F1, F2, dan F3 diperoleh nilai p 0,139, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa persebaran datanya normal. Selanjutnya uji homogenitas varians menunjukkan nilai signifikansi 0,200. Sehingga dapat dikatakan bahwa ketiga formula memiliki varians data yang sama (homogen). Selanjutnya pada uji *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 yang menandakan terdapat perbedaan zeta potensial yang bermakna pada lima formula. Hasil uji *Post Hoc Tukey's Multiple Range Test* menunjukkan bahwa antara F1, F2, dan F3 terdapat perbedaan zeta potensial yang signifikan. Dimana zeta potensial F2 lebih besar daripada F1 dan F3, serta F1 lebih besar daripada F3.

Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc Tukey's Multiple Range Test* Zeta Potensial

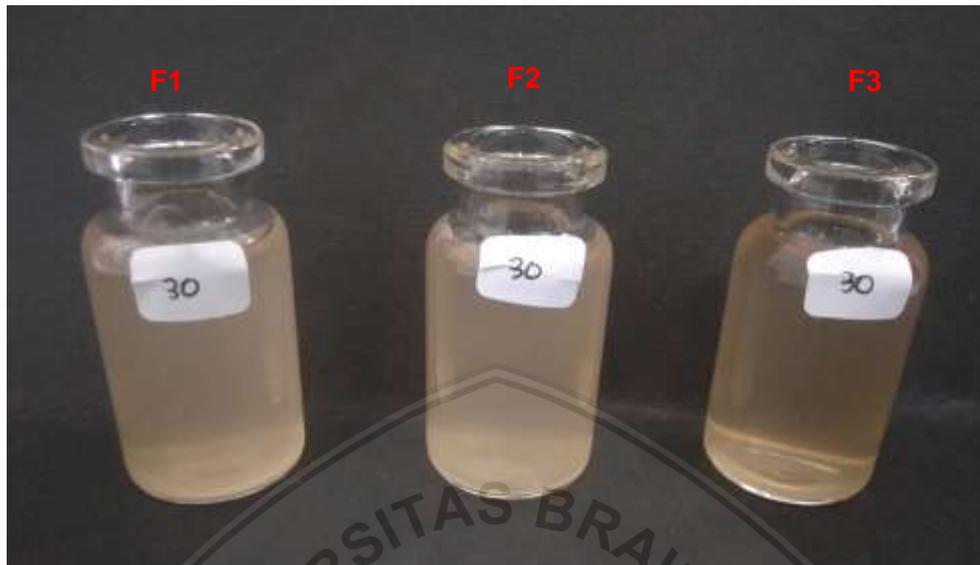
Formula	p	Keterangan
F1 vs F2	0,001	Signifikan
F1 vs F3	0,000	Signifikan
F2 vs F1	0,001	Signifikan
F2 vs F3	0,000	Signifikan
F3 vs F1	0,000	Signifikan
F3 vs F2	0,000	Signifikan

5.4 Hasil Uji Stabilitas

Uji stabilitas sediaan *polymeric lipid nanoparticle* yaitu supernatan yang telah dihasilkan dari sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 dan 5.000 rpm tersebut, disimpan pada suhu 4°C selama 30 hari. Parameter untuk uji stabilitas ini adalah organoleptik dari supernatan sediaan. Hasil uji stabilitas dapat dilihat pada tabel 5.6 dan gambar 5.4 berikut:

Tabel 5.6 Hasil Uji Stabilitas *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Formula	Pengamatan Organoleptik	
	Hari ke 0	Hari ke 30
F1	<ul style="list-style-type: none"> Berwarna oranye pucat keruh Cair Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis Tidak terdapat endapan 	<ul style="list-style-type: none"> Berwarna oranye pucat keruh Cair Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis Terdapat endapan yang mudah terdispersi
F2	<ul style="list-style-type: none"> Berwarna oranye pucat agak keruh Cair Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis Tidak terdapat endapan 	<ul style="list-style-type: none"> Berwarna oranye pucat agak keruh Cair Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis Terdapat endapan yang mudah terdispersi
F3	<ul style="list-style-type: none"> Berwarna oranye pucat jernih Cair Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis Tidak terdapat endapan 	<ul style="list-style-type: none"> Berwarna oranye pucat jernih Cair Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis Terdapat endapan yang mudah terdispersi



Gambar 5.4 Hasil Uji Stabilitas *Polymeric Lipid Nanoparticle Cinnamon Extract*

Dari hasil uji stabilitas, setelah 30 hari setiap sediaan dari kedua replikasi tersebut terbentuk pengendapan di dasar supernatan nanopartikel. Namun endapan dapat hilang setelah dilakukan pengocokan.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Identifikasi kandungan polifenol ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) setelah disemprot FeCl_3 menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung polifenol. Warna positif pada identifikasi diperkirakan karena terbentuknya kompleks Fe^{3+} dengan fenol. Fenol akan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Senyawa fenol akan membentuk kompleks dengan ion besi, sehingga menimbulkan perubahan warna menjadi hitam (Kristanti *et al.*, 2008). Hal ini sesuai dengan pernyataan Anderson *et al.* (2004) bahwa *Cinnamomum burmannii* mengandung polifenol dan juga senyawa *cinnamaldehyde* yang merupakan turunan fenol. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan identifikasi *cinnamaldehyde*. Kandungan polifenol ini memiliki aktivitas antioksidan dimana dapat menghambat perubahan yang disebabkan oleh diabetes pada ginjal (nefropati) dan secara signifikan memperbaiki disfungsi ginjal, serta stres oksidatif pada diabetes. Terapi dengan polifenol juga mengurangi sekresi insulin dan menunda timbulnya resistensi insulin. Mekanisme yang terjadi yaitu dengan penghambatan saluran K^+ + ATP dan K^+ + V dalam sel beta, sehingga bermanfaat untuk terapi diabetes mellitus tipe 2 (Anderson *et al.*, 2004).

Ekstrak kayu manis (*cinnamon extract*) diformulasikan menjadi *polymeric lipid nanoparticle* sebagai sistem penghantaran karena memiliki stabilitas penghantaran obat yang baik selama di sirkulasi sistemik sehingga menjamin ketersediaannya di tempat aksi. Formulasi *polymeric lipid*

nanoparticle cinnamon extract ini dibuat menjadi 3 formula yaitu F1, F2, dan F3. Dalam penelitian ini telah diperoleh formula optimal yang memenuhi spesifikasi yaitu formula yang memiliki ukuran partikel < 1000 nm dan stabil baik dari segi *polydispersity index (PDI)* dan zeta potensial.

Formulasi *polymeric lipid nanoparticle* ini menggunakan bahan chitosan dan lecithin. Chitosan digunakan sebagai polimer karena dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dan absorpsi intestinal. Peningkatan tersebut disebabkan oleh adanya perlindungan suatu obat dalam nanopartikel terhadap pH dan degradasi enzimatik di saluran cerna dan membukanya *tight junction* yang secara reversibel. Selain itu juga memiliki sifat *mucosal adhesiveness* yang baik dan sitotoksisitas yang minimal (Delie dan Blanco-Prieto, 2005). Karakteristik ini memberikan peluang penggunaan sistem polimer untuk penghantaran obat secara oral untuk dapat menjamin stabilitas penghantaran *Cinnamon Extract* selama di sirkulasi sistemik sehingga menjamin bioavailabilitasnya tetap baik di tempat aksi. Lecithin digunakan sebagai lipid karena bersifat *biodegradable*, memiliki imunogenisitas yang rendah, memiliki toksisitas intrinsik yang rendah, serta dapat digunakan untuk memperoleh stabilitas dan ukuran partikel yang diinginkan. Dengan adanya lipid ini, akan dapat meningkatkan *cellular uptake* ketika berada di tempat aksi (seluler) (Ying *et al.*, 2015).

Pada proses pembuatan *polymeric lipid nanoparticle* dalam penelitian ini, digunakan alat ultraturrax yang berfungsi untuk mendispersikan material-material di dalam sediaan cair sekaligus proses homogenisasi. Kecepatan putaran maksimal yang dapat digunakan yaitu 8000 rpm. Selain itu digunakan

alat *overhead stirrer* untuk proses pengadukan dan penguapan pelarut organik. Sehingga kedua alat ini berperan dalam pengecilan ukuran partikel.

Pada penelitian ini dilakukan uji organoleptik pada supernatan dari sediaan *polymeric lipid nanoparticle* yang meliputi warna, bentuk atau konsistensi, dan bau yang diamati secara visual. Warna, konsistensi, dan bau supernatan dari sediaan *polymeric lipid nanoparticle* ini telah sesuai dengan spesifikasi yaitu berwarna oranye pucat, cair, dan berbau seperti ekstrak kayu manis.

Hasil uji karakterisasi ukuran partikel menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) menghasilkan rata-rata ukuran partikel yaitu $1317 \text{ nm} \pm 6,93$; $1047,33 \text{ nm} \pm 6,11$; dan $960,17 \pm 4,24 \text{ nm}$ untuk formula F1, F2, F3 berturut-turut. F3 telah memenuhi spesifikasi ukuran partikel yang diinginkan yaitu $< 1000 \text{ nm}$ (Sundaresan *et al.*, 2013). Namun F1 dan F2 tidak memenuhi spesifikasi ukuran partikel yang diinginkan. Besar dari ukuran partikel ini dapat dipengaruhi oleh metode atau prosedur pembuatan dan komposisi bahan *polymeric lipid nanoparticle*.

Terdapat pustaka lain yang menyatakan bahwa ukuran partikel dapat dipengaruhi oleh konsentrasi bahan, kecepatan pengadukan, dan durasi pengadukan (Baviskar *et al.*, 2016). Pada penelitian yang Yu *et al.*(2016) menyatakan bahwa dengan meningkatnya jumlah lipid pada formulasi *polymeric lipid nanoparticle*, ukuran partikel yang dihasilkan semakin kecil. Dalam penelitian ini jumlah lipid yang digunakan untuk formula F1, F2, dan F3 meningkat secara berturut-turut dan ukuran partikel yang dihasilkan semakin mengecil. Ukuran partikel yang terkecil tersebut dimiliki oleh F3 yang menggunakan jumlah lipid terbesar di antara formula lain, yaitu dengan rasio

lipid dan polimer sebesar 3 : 5. Dengan demikian ukuran partikel pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh jumlah lipid. Polimer yang digunakan dalam penelitian ini yaitu chitosan. Menurut penelitian Lam *et al.*, (2013) ukuran nanopartikel yang dihasilkan melebihi 1000 nm tersebut terbentuk ketika jumlah polimer chitosan ditingkatkan. Kemampuan chitosan dalam pembentukan gumpalan secara spontan ini dikarenakan adanya interaksi dari polielektrolit yang berlawanan muatan untuk membentuk kompleks polielektrolit dengan kelarutan yang berkurang. Campuran chitosan konsentrasi tinggi dengan suatu bahan lebih cenderung mempengaruhi keterikatan rantai chitosan dan kelarutan dari kompleks kedua bahan tersebut. Dari hal tersebut akan menghasilkan gumpalan, sehingga ketika jumlah chitosan ditingkatkan maka ukuran partikel dapat meningkat. Penelitian tersebut menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 12.500 rpm selama 15 menit sebanyak 2 kali. Kecepatan dan durasi sentrifugasi juga mempengaruhi ukuran nanopartikel yang diinginkan (Cutts *et al.*, 2015). Sedangkan pada formulasi *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* ini menggunakan kecepatan sentrifugasi sebesar 5.000 rpm selama 10 menit yang dilanjutkan dengan 10.000 rpm selama 15 menit. Pada penelitian Yu *et al.*(2016), dengan kecepatan homogenisasi atau pengadukan menggunakan ultraturrax sebesar 22.000 rpm selama 30 detik dapat menghasilkan *polymeric lipid nanoparticle* dengan ukuran partikel antara 100-200 nm (Yu *et al.*, 2016). Sedangkan dalam penelitian ini kecepatan homogenisasi yang digunakan hanya 8.000 rpm selama 5 menit. Sehingga untuk mengecilkan ukuran partikel tersebut dipengaruhi oleh kecepatan dan durasi waktu sentrifugasi serta pengadukan.

Pada formulasi *polymeric lipid nanoparticle* ini digunakan bahan poloxamer 407 sebagai surfaktan. Penggunaan surfaktan dalam hal ini dapat memengaruhi besarnya ukuran partikel. Pada penelitian Parkash *et al.*(2016) menyatakan bahwa penggunaan poloxamer 407 sebagai surfaktan dapat menghasilkan ukuran partikel sebesar 708,3 nm, sedangkan dengan menggunakan poloxamer 188 dihasilkan ukuran partikel sebesar 250,3 nm. Dalam penelitian tersebut penggunaan poloxamer 407 menghasilkan rata-rata ukuran partikel yang lebih besar daripada penggunaan poloxamer 188. Hal ini dapat dikarenakan adanya perbedaan nilai HLB surfaktan yang memengaruhi ukuran partikel. Nilai HLB sangat memengaruhi stabilitas partikel dalam media cair. Semakin tinggi nilai HLB surfaktan, maka semakin mampu untuk menstabilkan partikel yang ada dalam media air. Nilai HLB poloxamer 188 yaitu 29, sedangkan poloxamer 407 yaitu 18-23. Sehingga poloxamer 188 yang memiliki ekor hidrofobik lebih panjang akan memberikan stabilitas partikel yang lebih tinggi karena dapat membentuk struktur misel yang lebih rapat dibandingkan poloxamer 407 dalam media air. Ekor hidrofobik yang semakin panjang dapat mengurangi tegangan permukaan selama proses kavitasi dan menghasilkan nanopartikel yang lebih stabil (Syahbirin *et al.*, 2014). Pustaka lain menyebutkan bahwa apabila konsentrasi surfaktan ditingkatkan maka ukuran partikel dapat berkurang. Dengan konsentrasi surfaktan yang meningkat tersebut, dapat mengurangi tegangan permukaan dan memfasilitasi proses partisi partikel. Pengurangan ukuran partikel biasanya diikuti oleh peningkatan luas permukaan. Oleh karena itu, terjadi oposisi antara proses pengcoveran permukaan baru dan aglomerasi permukaan yang tidak tercover. Sehingga pengcoveran permukaan partikel

yang baru terbentuk tersebut dihasilkan dari peningkatan konsentrasi surfaktan (Reddy *et al.*, 2006). Jadi apabila konsentrasi surfaktan ditingkatkan pada formulasi *polymeric lipid nanoparticle* ini maka kemungkinan ukuran partikel yang dihasilkan dapat lebih kecil. Dengan demikian besarnya ukuran partikel pada penelitian ini dapat disebabkan oleh faktor konsentrasi bahan, durasi waktu pengadukan dan sentrifugasi, serta kecepatan pengadukan dan sentrifugasi.

Tween 80 sebagai surfaktan juga dilakukan optimasi pada formulasi *polymeric lipid nanoparticle* yang menggunakan chitosan dan lecithin ini. Konsentrasi yang digunakan sama seperti penggunaan poloxamer 407 yaitu sebesar 1%. F3 dengan rasio lecithin : chitosan sebesar 3:5 dan menggunakan surfaktan Tween 80 jika dibandingkan dengan surfaktan poloxamer 407 pada konsentrasi yang sama menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil. Uji ukuran partikel F Tween 80 ini menghasilkan nilai rata-rata ukuran partikel sebesar $289,93 \text{ nm} \pm 10,3$. Hasil ukuran partikel tersebut lebih rendah daripada ukuran partikel formula F1, F2, dan F3 yang menggunakan poloxamer 407 sebagai surfaktan. Pada penelitian Lin *et al.* (2015), penggunaan tween 80 sebagai surfaktan dapat menghasilkan ukuran partikel sebesar 169,6 nm. Ukuran partikel yang kecil pada penggunaan tween 80 tersebut disebabkan oleh adanya bagian monooleat hidrofobik pada antarmuka fase organik dan fase air bersama dengan polimer ini dapat menutupi droplet fase organik secara efisien, dan dengan demikian mengurangi tegangan antarmuka dari fase organik dan fase air, sehingga menghasilkan ukuran partikel yang lebih rendah (Lin *et al.*, 2015). Pustaka lain juga menyatakan bahwa tween 80 ini dapat mencegah aglomerasi pada suatu

dispersi sehingga dapat dihasilkan ukuran partikel yang kecil (Ray *et al.*, 2015). Nilai HLB tween 80 yaitu 15, dimana nilai HLB ini tidak tergolong sangat tinggi. Namun dengan HLB yang lebih rendah daripada poloxamer ini, tween 80 dapat lebih mudah terdispersi dalam fase minyak atau organik yang memicu pembentukan film surfaktan pada antarmuka dan stabilitas yang dihasilkan baik. Sehingga dengan penggunaan tween 80 ini juga dapat dihasilkan ukuran partikel yang kecil (Attwood *et al.*, 2008).

Menurut penelitian Liu *et al.*(2015), bioavailabilitas suatu obat yang digambarkan dari disolusi dan absorpsi oral meningkat dengan berkurangnya ukuran partikel yang masih dalam rentang nanometer (Liu *et al.*, 2015). Pada penelitian Dhaliwal *et al.*(2008) terdapat peranan bahan chitosan dalam meningkatkan bioavailabilitas. Chitosan dapat bekerja di tempat absorpsi. Chitosan mungkin secara fisik atau biokimia menunda atau mencegah akses obat ke rute permeasi paraselulernya dengan mengikat mukus di tempat absorpsi atau dengan pembentukan lapisan pelindung yang viskos. Derivat chitosan, quercetin dan DM72 telah terbukti menghambat efluks acyclovir melalui P-gp, dengan tujuan untuk meningkatkan bioavailabilitas (Dhaliwal *et al.*, 2008). Bioavailabilitas oral *polymeric lipid nanoparticle* suatu obat meningkat akibat kemampuannya untuk memasuki sirkulasi sistemik melalui uptake dari pembuluh limfatik dan jalur paraseluler yang dapat mencegah interaksi makanan dan efek *first pass metabolism*, yaitu dengan ukuran partikel lebih dari 200 nm. Polimer yang terdapat pada *polymeric lipid nanoparticle* dapat menghasilkan stabilitas in vitro yang baik dan membuat *polymeric lipid nanoparticle* tersebut dapat dikenali oleh sistem retikuloendotelial in vivo (Gajra *et al.*, 2015). Menurut Sharma *et al.*(2015)

polymeric lipid nanoparticle dengan ukuran 2 - 1000 nm dapat membantu membawa obat yang memiliki efek terapeutik. Dengan ukuran tersebut *polymeric lipid nanoparticle* dalam menghantarkan obat dengan rute oral dapat meningkatkan efektifitas obat, toleransi obat, dan indeks terapi obat (Sharma *et al*, 2015).

Nilai rata-rata indeks polidispersitas yang dihasilkan pada F1, F2, dan F3 berturut-turut yaitu $0,92 \pm 0,09$; $0,68 \pm 0,03$; dan $0,65 \pm 0,01$. Indeks polidispersitas (PDI) digunakan untuk menggambarkan derajat ketidakteraturan distribusi ukuran partikel. Parameter tersebut memiliki rentang mulai dari 0 sampai dengan 1. PDI dengan nilai lebih dari 0,7 menunjukkan bahwa suatu sampel tersebut memiliki distribusi ukuran partikel yang luas (Rane *et al.*, 2005). Nilai indeks polidispersitas yang kecil menunjukkan keseragaman ukuran partikel yang baik, sehingga hanya sedikit agregasi partikel yang terjadi dan stabilitas koloidnya baik. Pada penelitian ini, diperoleh nilai indeks polidispersitas yang semakin rendah seiring dengan semakin tingginya rasio lipid terhadap polimer. Rasio lipid terhadap polimer pada F3 lebih tinggi daripada formula lain. Pada penelitian Troutier *et al.*(2005), formula *polymeric lipid nanoparticle* dengan rasio lipid terhadap polimer yang lebih tinggi bersifat lebih stabil dibandingkan formula lain. Hal tersebut dikarenakan lipid dapat bertindak sebagai penstabil elektrostatik. Namun apabila jumlah lipid lebih sedikit, lipid yang melapisi inti polimer tersebut kurang cukup untuk menstabilkan *polymeric lipid nanoparticle* sehingga menimbulkan aglomerasi yang mengarah ke peningkatan indeks polidispersitas (Troutier *et al.*, 2005).

Uji zeta potensial digunakan untuk mengarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel. Zeta potensial merupakan nilai yang mengindikasikan kekuatan tolak menolak antar partikel (Pertiwi *et al.*, 2018). Pada penelitian ini nilai rata-rata zeta potensial yang dihasilkan untuk F1, F2, dan F3 berturut-turut yaitu $41,8 \text{ mV} \pm 0,26$; $45,63 \text{ mV} \pm 0,81$; dan $34,93 \text{ mV} \pm 0,84$. Zeta potensial sering digunakan sebagai indikator stabilitas droplet, dimana nilai yang lebih dari $+30 \text{ mV}$ atau kurang dari -30 mV mengindikasikan stabilitas yang baik (Kadu *et al.*, 2011). Sehingga ketiga formula dalam penelitian ini memiliki stabilitas yang baik karena nilai zeta potensialnya lebih dari $+30 \text{ mV}$. Nilai zeta potensial yang positif dapat disebabkan oleh bahan chitosan. Chitosan bersifat polikationik dan oleh karena itu zeta potensial akan semakin meningkat pada media yang lebih asam. Hal tersebut dikarenakan adanya amina bebas pada molekul chitosan. Secara spesifik, gugus amino ($-\text{NH}_2$) membentuk gugus amina kationik ($-\text{NH}_3^+$) dalam lingkungan yang asam. Sehingga apabila pH media meningkat, maka nilai zeta potensial menurun akibat berkurangnya ionisasi gugus amina (Khunawattanakul *et al.*, 2008).

Uji stabilitas *polymeric lipid nanoparticle* yang dilakukan yaitu pengamatan organoleptik atau secara fisik. Setelah 30 hari masa penyimpanan pada suhu 4°C , terdapat endapan yang mudah terdispersi pada formula F1, F2, dan F3. Endapan tersebut dapat hilang setelah dilakukan pengocokan. Adanya endapan tersebut menunjukkan adanya agregasi, yang merupakan menyatunya partikel-partikel berukuran kecil membentuk suatu unit dengan ukuran yang lebih besar dan bersifat reversibel. Agregasi mampu mempercepat terjadinya koalesens atau fusi, yang mana struktur koloid baru akan terbentuk dan bersifat ireversibel (Yadav *et al.*, 2011). Fusi atau

koalesens dapat disebabkan adanya gerak Brown yang menyebabkan terjadinya tumbukan kuat antar partikel-partikel sehingga koloid baru yang terbentuk akan sulit didispersikan kembali (Stanich *et al.*, 2013). Pada penelitian Dave *et al.*(2017) menyatakan bahwa penyimpanan *polymeric lipid nanoparticle* pada suhu 4°C bersifat lebih stabil dibandingkan pada suhu ruang, sehingga suhu 4°C merupakan kondisi yang optimal untuk penyimpanan. Hal ini dapat dilihat bahwa pada suhu ruang menunjukkan adanya peningkatan ukuran partikel dan indeks polidispersitas, penurunan zeta potensial serta efisiensi enkapsulasi yang lebih jauh dari awal penyimpanan dibandingkan pada suhu 4°C (Dave *et al.*, 2017). Pada formula F3, tampak jumlah endapan yang lebih sedikit dibandingkan F1 dan F2 namun tidak jauh berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa formula F3 lebih stabil dibandingkan yang lain.

Berdasarkan uji ukuran partikel dan stabilitas sediaan menunjukkan bahwa formula F3 merupakan formula yang paling baik karena memenuhi syarat ukuran nanopartikel dan lebih stabil selama 30 hari penyimpanan dibandingkan dengan formula lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa formula yang memiliki jumlah lipid paling banyak, yaitu dengan rasio lecithin terhadap chitosan sebesar 3 : 5 dapat memberikan hasil sediaan *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* yang optimal.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini tidak dilakukan pengamatan morfologi menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) dan TEM (*Transmission Electrone Microscope*) untuk melihat bentuk atau visual dari *polymeric lipid*

nanoparticle cinnamon extract. Kecepatan dari alat ultraturrax dan sentrifugasi mungkin dapat ditingkatkan untuk memberikan hasil formulasi yang lebih baik. Hal ini berkaitan dengan penelitian lain bahwa kecepatan homogenisasi atau pengadukan menggunakan ultraturrax sebesar 22.000 rpm selama 30 detik dapat menghasilkan *polymeric lipid nanoparticle* dengan ukuran partikel antara 100-200 nm (Yu *et al.*, 2016). Selain itu tidak dilakukan uji *entrapment efficiency* zat aktif karena keterbatasan bahan dan waktu, sehingga ekstrak yang dijerap oleh *polymeric lipid nanoparticle* belum dapat diketahui jumlahnya secara pasti.

6.3 Implikasi pada Bidang Farmasi

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk menentukan formula optimal *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* menggunakan chitosan sebagai polimer dan lecithin sebagai lipid dengan metode nanopresipitasi. Dengan mengombinasikan manfaat dari polimer dan lipid untuk tujuan penatalaksanaan terapi diabetes mellitus tipe 2, maka dapat meningkatkan lama waktu tinggal pada permukaan sel absorpsi sehingga memberikan kesempatan zat aktif ekstrak kayu manis untuk berpartisipasi menuju sel absorptif dan dapat meningkatkan bioavailabilitas oral.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Rasio lecithin : chitosan yang menghasilkan formula *polymeric lipid nanoparticle* optimal berdasarkan spesifikasi ukuran partikel kurang dari 1000 nm adalah 3 : 5. Hasil uji indeks polidispersitas dan zeta potensial menunjukkan bahwa sediaan F3 tersebut homogen dan tergolong stabil. Namun pada uji stabilitas fisik sediaan *polymeric lipid nanoparticle cinnamon extract* terdapat endapan yang mudah terdispersi sehingga endapan dapat hilang setelah dilakukan pengocokan.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, sebaiknya dilakukan uji *polymeric lipid nanoparticle* lainnya seperti uji pengamatan morfologi menggunakan SEM dan TEM serta uji *entrapment efficiency* zat aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson *et al.* Isolation and Characterization of Polyphenol Type-A Polymers from Cinnamon with Insulin-like Biological Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, 52, 65–70.
- Banker GS, 1997, *Modern pharmaceuticals drugs and the pharmaceutical science*, 7th vol, Marcel Dekker Inc., New York, hal. 355.
- Barbieri, S.; Buttini, F.; Rossi, A.; Bettini, R.; Colombo, P.; Ponchel, G.; Sonvico, F. Ex vivo permeation of tamoxifen and its 4-OH metabolite through rat intestine from lecithin/chitosan nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 2015, 491, 99–104.
- Baviskar *et al.* Influence of Various Process Variables and Formulation Excipients on the Engineering of Sertaconazole Solid Lipid Nanoparticles. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2016,6, PP. 51-63.
- B. E. Rabinow. Nanosuspensions in drug delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3:785Y796 (2004).
- B. E. Rabinow. Pharmacokinetics of nanosuspensions. Presentation at Nanotechnology for Drug Delivery Conference, Philadelphia, PA (2005).
- B. He, P. Lin, Z. Jia, W. Du, W. Qu, L. Yuan, W. Dai, H. Zhang, X. Wang, J. Wang, X. Zhang, Q. Zhang, The transport mechanisms of polymer nanoparticles in Caco-2 epithelial cells, *Biomaterials* 34 (2013) 6082-6098.
- Beija, M.; Salvayre, R.; Lauth-de Viguerie, N.; Marty, J.D. Colloidal systems for drug delivery: From design to therapy. *Trends Biotechnol.* 2012, 30, 485–496.
- Bolton, S. dan C. Bon, 2004, *Pharmaceutical Statistics, Practical and Clinical Applications*, 4th Edition, Marcel Dekker, Inc., New York, 265-281.
- Buzea, C., Pacheco, I.I., et al., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* 2(4), MR17-71.
- Calvo, P., Remuñan-López, C., et al., 1997. Chitosan and chitosan/ethylene oxidepropylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm. Res.* 14, 1431–6143.

- Camacho S. *et al.* Anti-obesity and anti-hyperglycemic effects of cinnamadehyde via altered ghrelin secretion and functional impact on food intake and gastric emptying. *Scientific reports*. 2015.doi: 10.1038/srep07919.
- Cao *et al.* Cinnamon extract and polyphenols affect the expression of tristetraprolin, insulin receptor, and glucose transporter 4 in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Biochemistry and Biophysics*. 2007;459:214–222.
- Chan, F.X. Gu, L. Zhang, J.M., J.-W. Rhee, A.Z. Wang, A.F. Radovic-Moreno, F. Alexis, R. Langer, O.C. Farokhzad, Self-assembled lipidpolymer hybrid nanoparticles: a robust drug delivery platform, *ACS Nano* 2 (2008) 1696–1702.
- Chen MC, Mi FL, Liao ZX, et al. (2013). Recent advances in chitosanbased nanoparticles for oral delivery of macromolecules. *Adv Drug Deliv Rev* 65:865–79.
- Chen Y, Ma Y, Ma W. Pharmacokinetics and bioavailability of cinnamic acid after oral administration of *Ramulus Cinnamomi* in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2009;34(1):51–6.
- Christina, Lidwina Prillya, 2014, Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) dan Simvastatin Terhadap Kadar Kolesterol LDL Tikus Sprague-Dawley Dengan Pakan Tinggi Lemak, Universitas Diponegoro.
- Clark MA, Jepson MA. Exploiting M cells for drug and vaccine delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;50:81–106.
- Cutts *et al.* Factors determining the stability, size distribution, and cellular accumulation of small, monodisperse chitosan nanoparticles as candidate vectors for anticancer drug delivery: application to the passive encapsulation of [14C]-doxorubicin. *Nanotechnology, Science and Applications*. 2015;8 67–80.
- D. Attwood, A.T. Florence, *Fast Track: Physical Pharmacy*, Pharmaceutical Press2008.

- Dave *et al.* Lipid-polymer hybrid nanoparticles: Development & statistical optimization of norfloxacin for topical drug delivery system. *Bioactive Materials* 2 (2017) 269-280.
- Delie, F. and Blanco, M.J. 2005. Polymeric Particulate to Improve Oral Bioavailabiliti of Peptide Drugs. *Molecules*, 10 : 65-75.
- Desai, M.P., Labhasetwar, V., et al., 1997. The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in Caco-2 cells is size dependent. *Pharm. Res.* 14, 1568–1573.
- Devrim, Burcu dan Bozkir, Asuman. Preparation and Characterization of Protein-loaded Lipid-polymer Hybrid Nanoparticles with Polycaprolactone as Polymeric Core Material. *J Biomol Res Ther.* 2014; 3:3.
- Dhaliwal S, Jain S, Singh HP, Tiwary AK. Mucoadhesive micro-spheres for gastroretentive delivery of acyclovir: in vitro and in vivo evaluation. *Aaps J.* 2008;10(2):322–30.
- Ditjen POM. 1979. Farmakope Indonesia Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Dube, A.; Nicolazzo, J.A.; Larson, I. Chitosan nanoparticles enhance the intestinal absorption of the green tea catechins (+)-catechin and (-)-epigallocatechin gallate. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2010, 41, 219–225.
- Dvorackova, Eva and Snoblova, Marie. 2015. Effects of extraction methods on the phenolic compounds contents and antioxidant capacities of cinnamon extracts. *Food Sci. Biotechnol.* 24(4): 1201-1207.
- European Pharmacopeia, 2005, *European Pharmacopoeia 5.0*, Monographs, United Kingdom, pp 2264.
- Ewing, Galen Wood. 1985. *Instrumental of Chemical Analysis Fifth Edition*. McGraw-Hill. Singapore.
- Feng, C.; Wang, Z.; Jiang, C.; Kong, M.; Zhou, X.; Li, Y.; Cheng, X.; Chen, X. Chitosan/o-carboxymethyl chitosan nanoparticles for efficient and safe oral

anticancer drug delivery: In vitro and in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 2013, 457, 158–167.

Gajra B, Dalwadi C, Patel R. Formulation and optimization of itraconazole polymeric lipid hybrid nanoparticles (lipomer) using box behnken design. *J Pharm Sci.* 2015;23(1):3.

Galletti P, Malferrari D, Samori C, Sartor G, Tagliavini E. Effects of ionic liquids on membrane fusion and lipid aggregation of egg-PC liposomes. *Colloid Surface B.* 2015;125:142-150.

Gerelli Y, Di Bari MT, Deriu A, et al. Structure and organization of phospholipid/polysaccharide nanoparticles. *J Phys Condens Matter.* 2008;20(10):104211.

Govender *et al.* PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water soluble drug. *Journal of Controlled Release* 57 (1999) 171–185.

Gowariker, V. R., Viswanathan, N. V. and Shreedhar, J. *Polymer Science, New Age International, New Delhi, 2005.*

Guo, J.; Skinner, G.W.; Harcum, W.W.; Barnum, P.E. Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymers. *PSTT* 1998, 1, 254-261.

H. Cao, M.M. Polansky, R.A. Anderson, Cinnamon extract and polyphenols affect the expression of tristetraproline, insulin receptor, and glucose transporter 4 in mouse 3t3-l1 adipocytes, *Arch. Biochem. Biophys.* 459(2007) 214–222.

Hafner A, Lovric J, Voinovich D, Filipovic-Grcic J. Melatonin-loaded lecithin/chitosan nanoparticles: physicochemical characterisation and permeability through Caco-2 cell monolayers. *Int J Pharm.* 2009;381(2): 205–213.

Hamid, dkk., 2004, Chemical Composition of Cinnamomum Species Collected in Sarawak, *Journal of Sains Malaysiana*, 45(4): 627–632.

- Hirenkumar K. Makadia dan Steven J. Siegel. 2011. *Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. Polymers (Basel)*. 1; 3(3): 1377-1397.
- Honary, Soheyla and Zahir, Foruhe. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* April 2013; 12 (2): 265-273.
- Kadu, P.J., Kushare, S.S., Thacker, D.D., Gattani, S.G., 2011. Enhancement of oral bioavailability of atorvastatin calcium by self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). *Pharm. Dev. Technol.* 16, 6574.
- Karim *et al.*, 2014, Preparation and evaluation of SEDDS of simvastatin by in vivo, in vitro and ex vivo technique, *Drug Dev Ind Pharm, Early Online*: 1-5.
- Khunawattanakul, W., Puttipipatkachorn, S., Rades, T., Pongjanyakul, T., 2008. Chitosan–magnesium aluminum silicate composite dispersions: characterization of rheology, flocculate size and zeta potential. *Int. J. Pharm.* 351, 227–235.
- Kristanti AN, Nanik SA, Mulyadi T, dan Bambang K. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press; 2008.
- Lam *et al.* Development of Chitosan Nanoparticles as a Stable Drug Delivery System for Protein/siRNA. *International Journal of Biomaterials*. 2013:9 1-9.
- Lee, J.H., Yeo, Y., 2015. Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. *Chem Eng Sci.* 125, 75–84.
- Li, D., Kaner, R.B., 2006. Shape and aggregation control of nanoparticles: not shaken. Not Stirred. *J. Am. Chem. Soc.* 128 (3), 968–975.
- Li, J., Zhu, J.J., 2013. Quantum dots for fluorescent biosensing and bio-imaging applications. *Analyst* 138, 2506–2515.
- Li *et al.* A Review of the Structure, Preparation, and Application of NLCs, PNPs, and PLNs. *Nanomaterials* 2017, 7, 122.

- Lin *et al.*, 2015. Effect of process and formulation variables on the preparation of parenteral paclitaxel-loaded biodegradable polymeric nanoparticles: A co-surfactant study. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*, 1-13.
- Liu *et al.*, 2016, Self-assembled lecithin/chitosan nanoparticles for oral insulin delivery: preparation and functional evaluation, *International Journal of Nanomedicine* 2016:11 761–769.
- Mao S, Bakowsky U, Jintapattanakit A, Kissel T. Self-assembled polyelectrolyte nanocomplexes between chitosan derivatives and insulin. *J Pharm Sci.* 2006;95(5):1035–1048.
- Martien, dkk., 2012, Perkembangan Teknologi Nanopartikel sebagai Sistem Penghantaran Obat, *Pharmaceutics Journal*, Vol.8;1.
- McMillan, J., Batrakova, E., et al., 2011. Cell delivery of therapeutic nanoparticles. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 104, 563–601.
- Miladi, K.; Sfar, S.; Fessi, H.; Elaissari, A. Enhancement of alendronate encapsulation in chitosan nanoparticles. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2015, 30, 391–396.
- Mohanraj, V.J. and Y. Chen. 2006. Nanoparticles : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 :1.
- Mora-Huertas, C.E., Fessi, H., et al., 2010. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *Int. J. Pharm.* 385 (1–2), 113–142.
- Mukhopadhyay P, Sarkar K, Chakraborty M, et al. (2013). Oral insulin delivery by self-assembled chitosan nanoparticles: in vitro and in vivo studies in diabetic animal model. *Mater Sci Eng C* 33:376–82.
- Mura, S., Nicolas, J., et al., 2013. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat. Mater.* 12, 991–1003.
- Pan, Y., Li, Y.-j., Zhao, H.-y., Zheng, J.-m., Xu, H., Wei, G., Hao, J.-s., Cui, F.-d., 2002. Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system: chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin in vivo. *Int. J. Pharm.* 249, 139–147.
- Pandey, R.; Khuller, G.K. Polymer based drug delivery systems for mycobacterial infections. *Curr. Drug Deliv.* 2004, 1, 195-201.

- Parkash *et al.* Development of Novel Polymer-Lipid Hybrid Nanoparticles of Tamoxifen: In Vitro and In Vivo Evaluation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. Vol. 15, 1–8 (2016).
- Patravale, V.B., Date, A.A., Kulkarni, R.M. 2004. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *J Pharm Pharmacol*, 56(7) : 827-40.
- Pertiwi *et al.* Preparation of Gold Nanoparticles with Based on Conjugated Gum Arabic Vincristine and Evaluation of Their In Vitro Characteristics. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 16, 6-11 (2018).
- Porter, C. J. H., Kaukonen, A. M., Boyd, B. J., Edwards, G. A. & Charman, W. N. Susceptibility to lipase-mediated digestion reduces the oral bioavailability of danazol after administration as a medium-chain lipid-based microemulsion formulation. *Pharm. Res.* 21, 1405–1412 (2004).
- Porter, Christopher JH. and Trevaskis, Natalie, 2007, Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs, *Drug Discovery*, Vol.6, pp. 231-248.
- Power, M., Pratley, R., 2011, Alternative and Complementary Treatments for Metabolic Syndrome, *Current Diabetes Reports*, Vol. 11, Issue 3, pp. 173-178.
- Prokop, A., Davidson, J.M., 2008. Nanovehicular Intracellular Delivery Systems. *J Pharm Sci.* 97 (9), 3518-3590.
- R.J. Mersny, Lessons from nature: "Pathogen-Mimetic" systems for mucosal nanomedicines, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61 (2009) 172-192.
- Rahayu, Citra. 2012. *Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Kandungan Senyawa Total Polifenol dan Flavonoid Madu Palisa Secara Spektrofotometri UV-Vis*. Makasar: Universitas Hasanudin.
- Rampino A, Borgogna M, Blasi P, Bellich B, Cesaro A. Chitosan nanoparticles: preparation, size evolution and stability. *Int J Pharm.* 2013; 455(1–2):219–228.
- Rane, S.S.; Choi, P. Polydispersity index: How accurately does it measure the breadth of the molecular weight distribution ? *Chem. Mater.* 2005, 17, 926. [CrossRef].

- Ray *et al.*, 2015, Optimization of the process parameters for the fabrication of a polymer coated layered double hydroxide-methotrexate nanohybrid for the possible treatment of osteosarcoma, *RSC Advances*, Vol.5, 102574–102592.
- Razali, N.M., Yap Bee Wah. 2011. Power Comparison of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors, and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical modeling and Analytics* Volume 2 No. 1. 21–33.
- Reddy *et al.* Tamoxifen citrate loaded solid lipid nanoparticles (SLN): preparation, characterization, in vitro drug release, and pharmacokinetic evaluation. *Pharm Dev Technol* 2006; 11 (2):167–77.
- Redhead HM, Davis SS, Illum L. Drug delivery in poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles surface modified with poloxamer 407 and poloxamine 908: in vitro characterisation and in vivo evaluation. *J Control Release* 2001; 70: 353-363.
- Rowe, Raymond C., Sheskey, Paul J., dan Quinn, Marian E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients, sixth edition*, Pharmaceutical Perss, USA.
- S.D. Conner, S.L. Schmid, Regulated portals of entry into the cell, *Nature*, 422 (2003) 37-44.
- Sharma, *et al.* Nanoparticle based insulin delivery system: the next generation efficient therapy for Type 1 diabetes, *Journal of Nanobiotechnology* (2015) 13:74.
- Siafaka, P.I.; Titopoulou, A.; Koukaras, E.N.; Kostoglou, M.; Koutris, E.; Karavas, E.; Bikiaris, D.N. Chitosan derivatives as effective nanocarriers for ocular release of timolol drug. *Int. J. Pharm.* 2015, 495, 249–264.
- Siepmann, J., Göpferich, A., 2001. Mathematical modeling of bioerodible, polymeric drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48 (2–3), 229–247.
- Son, G.H., Lee, B.J., et al., 2017. Mechanisms of drug release from advanced drug formulations such as polymeric-based drug-delivery systems and lipid nanoparticles. *J. Pharmaceut.* <https://doi.org/10.1007/s40005-017-0320-1>.

- Sonvico F, Cagnani A, Rossi A, et al. Formation of self-organized nanoparticles by lecithin/chitosan ionic interaction. *Int J Pharm.* 2006;324(1):67–73.
- Stanich, C.A., Smith, A. R. H., Putzel, G. G., Wartch, C. S., Lamprecht, A.K., Mandal, P., Mann, E. Coarsening Dynamics of Domains in Lipid Membranes. *Biophysical Journal*, 2013, 105(2): 444-454.
- Starr, et al., 2003, *Cinnamomum burmannii*, *Journal of Biological Resource Division*.
- Subash Babu P, Prabuseenivasan S, Ignacimuth S. Cinnamaldehyde-A potential antidiabetic agent. *Phytomedicine*. 2007;14:15–22.
- Sundaresan, et al. Lipid–polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2013;85:427-443.
- Syahbirin et al. Suspension Stability and Characterization of Chitosan Nanoparticle–Coated Ketoprofen Based on Surfactants Oleic Acid and Poloxamer 188. *Makara J. Sci.* 2014; 18:86-90.
- Troutier AL, Thevenot J, David L, Delair T, Ladavière C. Steric stabilization of lipid/polymer particle assemblies by poly(ethylene glycol)-lipids. *Biomacromolecules*. 2007;8(11):3651–3660.
- Vij N., Min T., Marasigan R., Belcher C. N., Mazur S., Ding H., Yong K. T., dan Roy I. 2010. Development of PEGylated PLGA nanoparticle for controlled and sustained drug delivery in cystic fibrosis. *Nanobiotech* : 8: 22.
- Wardhani, Lilies Kusuma dan Sulistyani, Nanik. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella Flexneri* beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. Yogyakarta : *Jurnal Ilmiah Kefarmasian, Vol. 2, No. 1, 2012 : 1-16*.
- Wong HL, Rauth AM, Bendayan R, et al. Chemotherapy with anticancer drugs entrapped in solid lipid nanoparticles. *Adv Drug Delivery Rev.* 2007;59:491-504

- Woodle MC. Sterically stabilized liposome therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev.* 1995;16:249–265.
- Wu, X.Y. Strategies for optimizing polymer–lipid hybrid nanoparticle-mediated drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2016, 5, 609–612.
- Yadav, A.V., Murthy, M.S., Shete, A. S., Sakhare, S. Stability Aspects of Liposomes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Reserach*, 2011, 45(4): 402-413.
- Yang, X.Z.; Dou, S.; Wang, Y.C.; Long, H.Y.; Xiong, M.H.; Mao, C.Q.; Yao, Y.D.; Wang, J. Single-step assembly of cationic lipid–polymer hybrid nanoparticles for systemic delivery of siRNA. *ACS Nano* 2012, 6, 4955–4965.
- Ying *et al.*, 2015, Physical characterization and in vivo pharmacokinetic study of self-assembling amphotericin B-loaded lecithin-based mixed polymeric micelles, *International Journal of Nanomedicine*:10 7265–7274.
- Yu *et al.*, 2016, Role of Four Different Kinds of Polyethylenimines (PEIs) in Preparation of Polymeric Lipid Nanoparticles and Their Anticancer Activity Study, *Journal of Cancer*, Vol. 7, 872-882.
- Z. Niu, I. Conejos-Sánchez, B.T. Griffin, C.M. O'Driscoll, M.J. Alonso, Lipid-based nanocarriers for oral peptide delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 106 (2016) 337–354.
- Zhang L, Zhang L. Lipid–polymer hybrid nanoparticles: synthesis, characterization and applications. *Nano Life.* 2010;1(1):163–173.
- Zhao, X., Li, H., et al., 2008. Targeted drug delivery via folate receptors. *Expert Opin. Drug Deliv.* 5 (3), 309–319.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, dan Zeta Potensial

Ukuran Partikel

Ukuran Partikel (nm)	F1	F2	F3
Replikasi 1	1321	1042	955,4
Replikasi 2	1321	1046	961,6
Replikasi 3	1309	1054	963,5
Rata-rata \pm SD	1317 \pm 6,93	1047,33 \pm 6,11	960,17 \pm 4,24

Indeks Polidispersitas (PDI)

Indeks Polidispersitas	F1	F2	F3
Replikasi 1	0,985	0,672	0,657
Replikasi 2	0,95	0,666	0,645
Replikasi 3	0,811	0,712	0,651
Rata-rata \pm SD	0,92 \pm 0,09	0,68 \pm 0,03	0,65 \pm 0,01

Zeta Potensial

Zeta Potensial	F1	F2	F3
Replikasi 1	41,7	45,5	34,5
Replikasi 2	41,6	44,9	35,9
Replikasi 3	42,1	46,5	34,4
Rata-rata \pm SD	41,8 \pm 0,26	45,63 \pm 0,81	34,93 \pm 0,84

Lampiran 2. Data Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, dan Zeta Potensial Formula F Tween 80

Ukuran Partikel

Ukuran Partikel (nm)	F Tween 80
Replikasi 1	283,3
Replikasi 2	284,7
Replikasi 3	301,8
Rata-rata \pm SD	289,93 \pm 10,3

Indeks Polidispersitas

Indeks Polidispersitas	F Tween 80
Replikasi 1	0,627
Replikasi 2	0,598
Replikasi 3	0,61
Rata-rata \pm SD	0,61 \pm 0,01

Zeta Potensial

Zeta Potensial (mV)	F Tween 80
Replikasi 1	44,3
Replikasi 2	44,4
Replikasi 3	44,5
Rata-rata \pm SD	44,4 \pm 0,1

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Ukuran Partikel

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
UKURAN PARTIKEL	.233	9	.174	.894	9	.220

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: Nilai p menunjukkan $> 0,05$ yang menandakan distribusi data normal.

Test of Homogeneity of Variances

UKURAN PARTIKEL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.667	2	6	.548

Kesimpulan: Nilai p menunjukkan $> 0,05$ yang menandakan bahwa ketiga formula memiliki varians data yang sama (homogen).

ANOVA

UKURAN PARTIKEL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	207648.2	2	103824.083	3015.901	.000
Within Groups	206.553	6	34.426		
Total	207854.7	8			

Kesimpulan: Nilai p $< 0,05$ menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: UKURAN PARTIKEL

Tukey HSD

(I) Formula	(J) Formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	269.6667*	4.79065	.000	254.9676	284.3657
	F3	356.8333*	4.79065	.000	342.1343	371.5324
F2	F1	-269.6667*	4.79065	.000	-284.3657	-254.9676
	F3	87.1667*	4.79065	.000	72.4676	101.8657
F3	F1	-356.8333*	4.79065	.000	-371.5324	-342.1343
	F2	-87.1667*	4.79065	.000	-101.8657	-72.4676

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Kesimpulan: Perbedaan jumlah lipid dan polimer berbeda secara bermakna terhadap ukuran partikel yang dihasilkan.



Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik Indeks Polidispersitas (PDI)

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
INDEKS POLIDISPERSITAS	.239	9	.146	.916	9	.358

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: Nilai p menunjukkan $> 0,05$ yang menandakan distribusi data normal.

Test of Homogeneity of Variances

INDEKS POLIDISPERSITAS

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.911	2	6	.131

Kesimpulan: Nilai p menunjukkan $> 0,05$ yang menandakan bahwa kelima formula memiliki varians data yang sama (homogen).

ANOVA

INDEKS POLIDISPERSITAS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.125	2	.062	20.490	.002
Within Groups	.018	6	.003		
Total	.143	8			

Kesimpulan: Nilai $p < 0,05$ menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan.

Multiple Comparisons

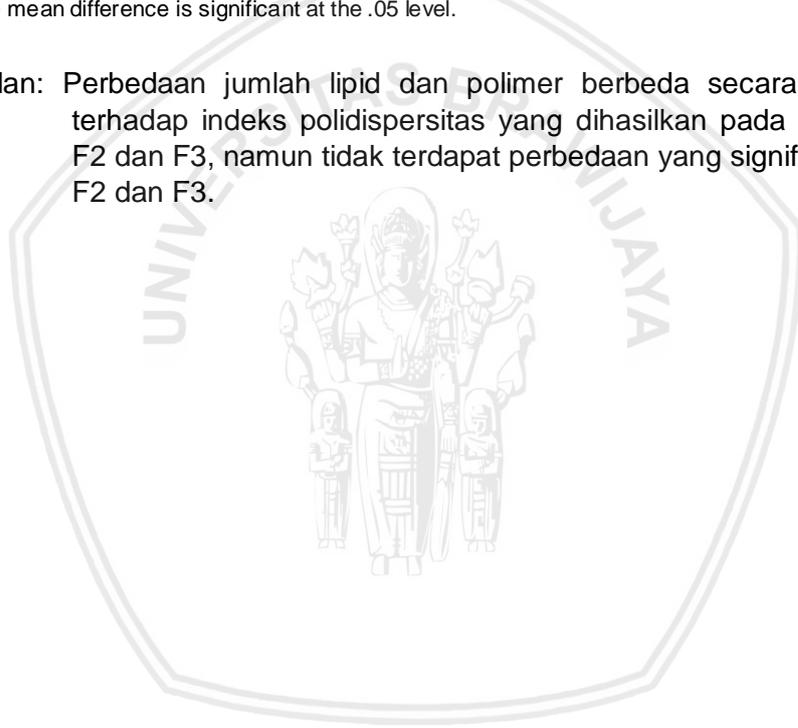
Dependent Variable: INDEKS POLIDISPERSITAS

Tukey HSD

(I) Formula	(J) Formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	.2320*	.04505	.005	.0938	.3702
	F3	.2643*	.04505	.003	.1261	.4026
F2	F1	-.2320*	.04505	.005	-.3702	-.0938
	F3	.0323	.04505	.763	-.1059	.1706
F3	F1	-.2643*	.04505	.003	-.4026	-.1261
	F2	-.0323	.04505	.763	-.1706	.1059

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Kesimpulan: Perbedaan jumlah lipid dan polimer berbeda secara bermakna terhadap indeks polidispersitas yang dihasilkan pada F1 dengan F2 dan F3, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara F2 dan F3.



Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik Zeta Potensial

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZETA POTENSIAL	.235	9	.165	.875	9	.139

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: Nilai p menunjukkan $> 0,05$ yang menandakan distribusi data normal.

Test of Homogeneity of Variances

ZETA POTENSIAL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.128	2	6	.200

Kesimpulan: Nilai p menunjukkan $> 0,05$ yang menandakan bahwa kelima formula memiliki varians data yang sama (homogen).

ANOVA

ZETA POTENSIAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	176.336	2	88.168	185.400	.000
Within Groups	2.853	6	.476		
Total	179.189	8			

Kesimpulan: Nilai p $< 0,05$ menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan.

Multiple Comparisons

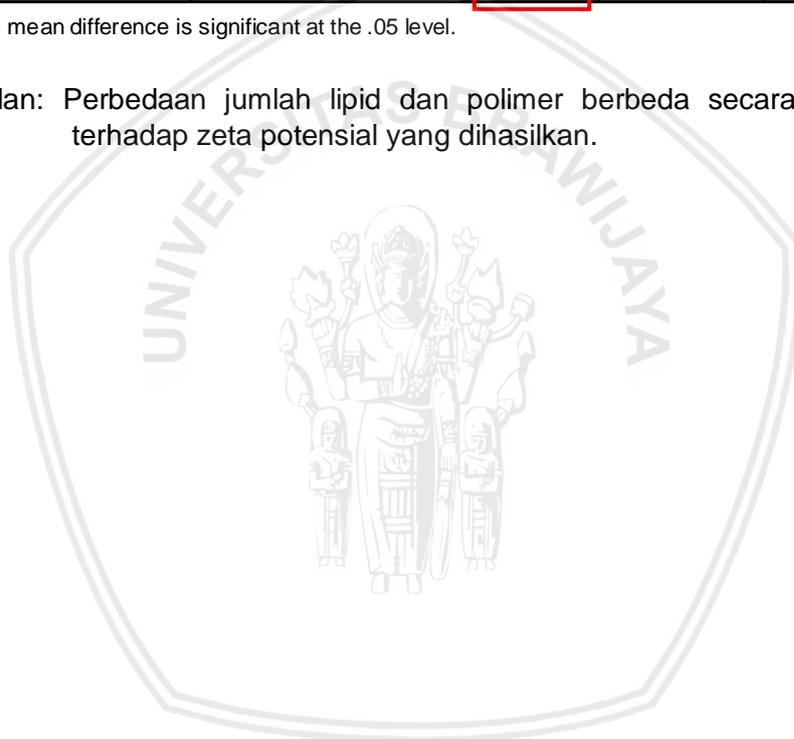
Dependent Variable: ZETA POTENSIAL

Tukey HSD

(I) Formula	(J) Formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	-3.8333*	.56306	.001	-5.5610	-2.1057
	F3	6.8667*	.56306	.000	5.1390	8.5943
F2	F1	3.8333*	.56306	.001	2.1057	5.5610
	F3	10.7000*	.56306	.000	8.9724	12.4276
F3	F1	-6.8667*	.56306	.000	-8.5943	-5.1390
	F2	-10.7000*	.56306	.000	-12.4276	-8.9724

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Kesimpulan: Perbedaan jumlah lipid dan polimer berbeda secara bermakna terhadap zeta potensial yang dihasilkan.



Lampiran 6. Hasil Ukuran Partikel F1 (I)

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: F1(B) 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 56 Dispersant RI: 1,330
 Material RI: 1,33 Viscosity (cP): 0,8872
 Material Absorbtion: 0,500 Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 13:43:32

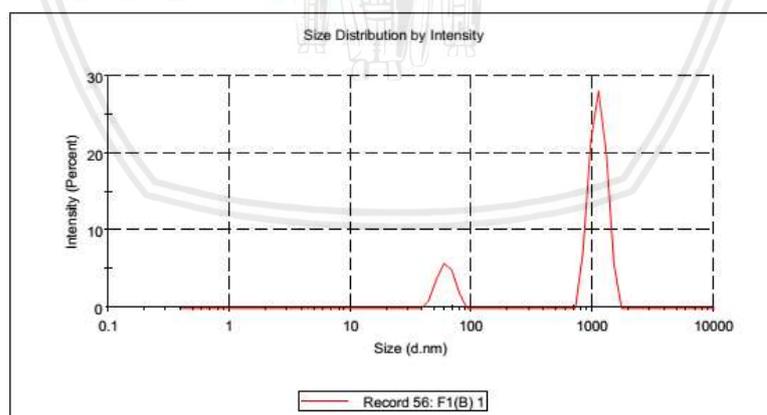
System

Temperature (°C): 25,0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kcps): 188,7 Measurement Position (mm): 4,65
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 7

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1321	Peak 1: 1111	82,6	173,7
Pdi: 0,985	Peak 2: 61,10	17,4	9,525
Intercept: 0,920	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 7. Hasil Ukuran Partikel F1 (II)

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: F1(B) 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 57

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,33

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,500

Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 13:45:54

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 181,7

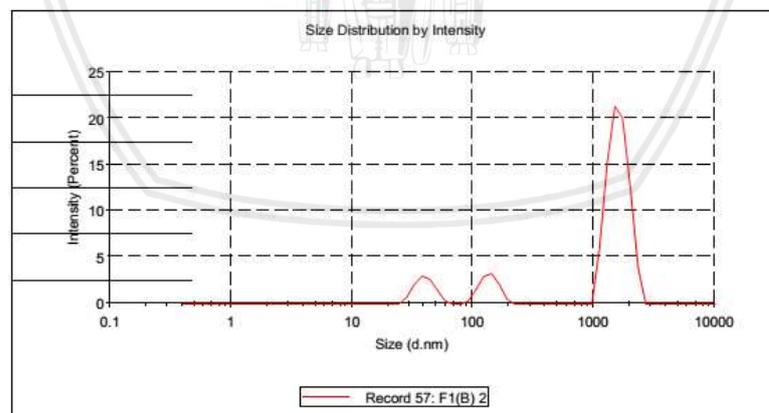
Measurement Position (mm): 4,65

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 7

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1309	Peak 1: 1594	78,8	306,2
Pdl: 0,811	Peak 2: 136,5	10,8	23,67
Intercept: 0,900	Peak 3: 40,14	10,3	7,307
Result quality	Refer to quality report		



Lampiran 8. Hasil Ukuran Partikel F1 (III)

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: F1(B) 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 59	Dispersant RI: 1,330
Material RI: 1,33	Viscosity (cP): 0,8872
Material Absorbtion: 0,500	Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 13:50:40

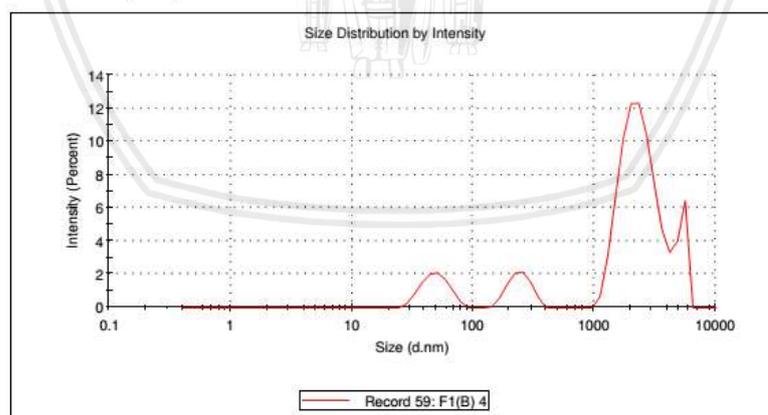
System

Temperature (°C): 25,0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 176,4	Measurement Position (mm): 4,65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 7

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1321	Peak 1: 2339	68,9	734,4
Pdl: 0,950	Peak 2: 4997	13,3	578,8
Intercept: 0,878	Peak 3: 49,43	9,5	12,08

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 9. Hasil Ukuran Partikel F2 (I)

Size Distribution Report by Intensity
v2.2

Sample Details

Sample Name: F2(B) 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 52

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,33

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,500

Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 11:14:17

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 469.9

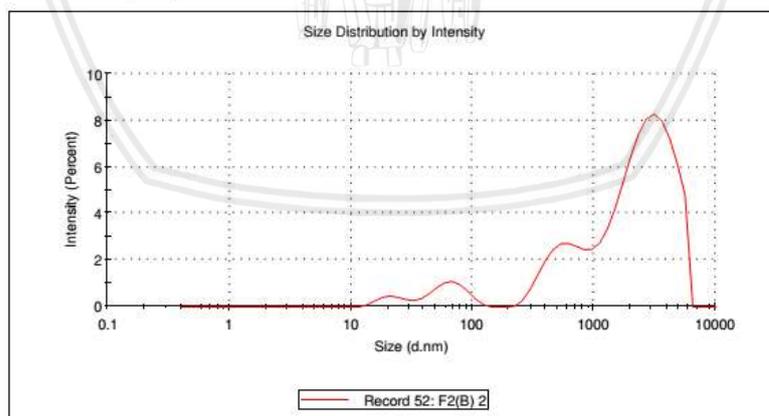
Measurement Position (mm): 1,25

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 7

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1054	Peak 1: 2845	74,9	1315
Pdl: 0,712	Peak 2: 557,5	16,9	164,0
Intercept: 0,919	Peak 3: 65,78	6,1	20,26
Result quality	Refer to quality report		



Lampiran 10. Hasil Ukuran Partikel F2 (II)

Size Distribution Report by Intensity
v2.2

Sample Details

Sample Name: F2(B) 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 55

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,33

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,500

Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 11:20:25

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 476,4

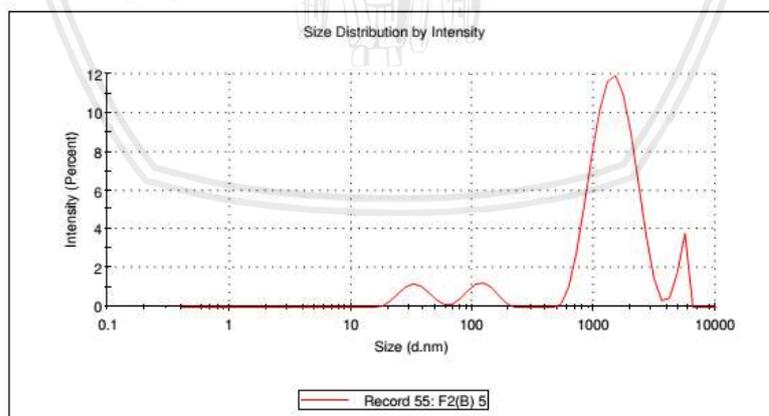
Measurement Position (mm): 1,25

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 7

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1046	Peak 1: 1517	82,2	567,0
PdI: 0,666	Peak 2: 5140	6,4	580,8
Intercept: 0,918	Peak 3: 118,1	5,8	29,84
Result quality Refer to quality report			



Lampiran 11. Hasil Ukuran Partikel F2 (III)

Size Distribution Report by Intensity
v2.2

Sample Details

Sample Name: F2(B) 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

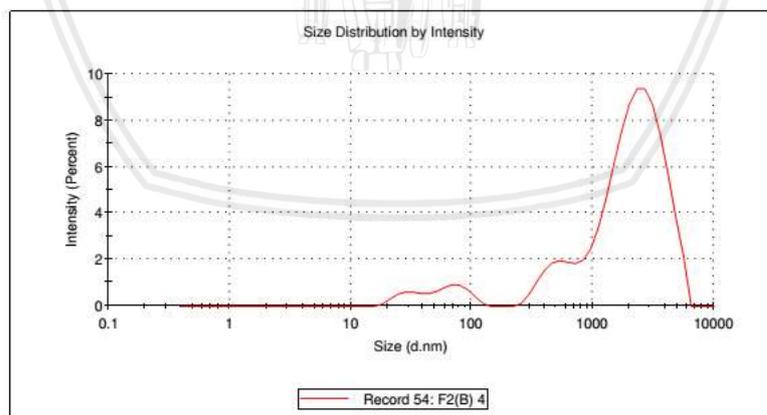
File Name: Monica 2 2019.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 54 Dispersant RI: 1,330
 Material RI: 1,33 Viscosity (cP): 0,8872
 Material Absorbtion: 0,500 Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 11:18:23

System

Temperature (°C): 25,0 Duration Used (s): 60
 Count Rate (kcps): 464,3 Measurement Position (mm): 1,25
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 7

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1042	Peak 1: 2503	81,3	1162
PdI: 0,672	Peak 2: 512,0	10,5	130,3
Intercept: 0,918	Peak 3: 71,69	5,0	19,93

Result quality **Refer to quality report**

Lampiran 12. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas F3 (I)

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: F3(A) 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 11

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,33

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,500

Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 13:55:01

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 191,8

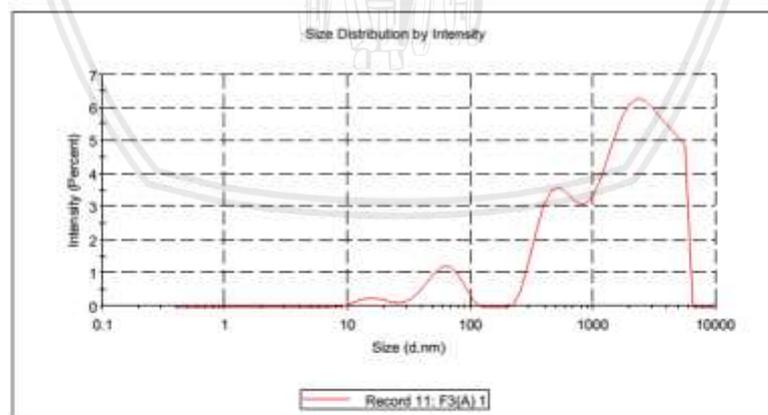
Measurement Position (mm): 1,05

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 6

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 955,4	Peak 1: 2663	68,8	1381
PdI: 0,657	Peak 2: 540,0	23,2	166,2
Intercept: 0,952	Peak 3: 61,18	6,7	18,72
Result quality	Refer to quality report		



Lampiran 13. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas F3 (II)

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: F3(A) 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 12

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,33

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,500

Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 14:05:54

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 187,5

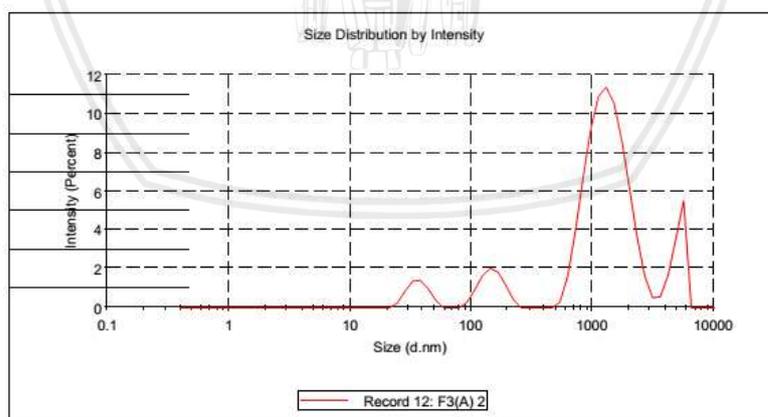
Measurement Position (mm): 1,05

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 6

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 961,6	Peak 1: 1357	74,7	491,9
PdI: 0,645	Peak 2: 4927	11,8	715,5
Intercept: 0,957	Peak 3: 148,2	8,3	31,96
Result quality	Refer to quality report		



Lampiran 14. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas F3 (III)

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: F3(A) 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 15

Dispersant RI: 1,330

Material RI: 1,33

Viscosity (cP): 0,8872

Material Absorbtion: 0,500

Measurement Date and Time: 04 Maret 2019 14:15:32

System

Temperature (°C): 25,0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 195,4

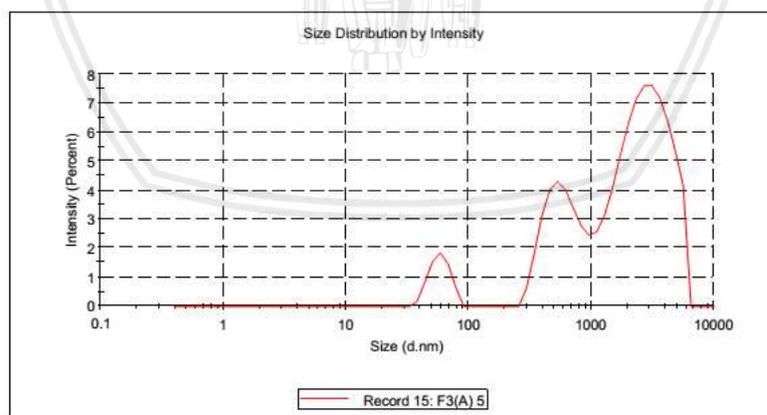
Measurement Position (mm): 1,05

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 6

Results

	Size (d.nm...)	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 963,5	Peak 1: 2862	67,7	1271
PdI: 0,651	Peak 2: 590,8	26,0	184,6
Intercept: 0,946	Peak 3: 58,51	6,3	10,76

Result quality **Refer to quality report**

Lampiran 15. Hasil Uji Zeta Potensial F1 (I)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F1(B) 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 45

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 14:03:32

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 88,4

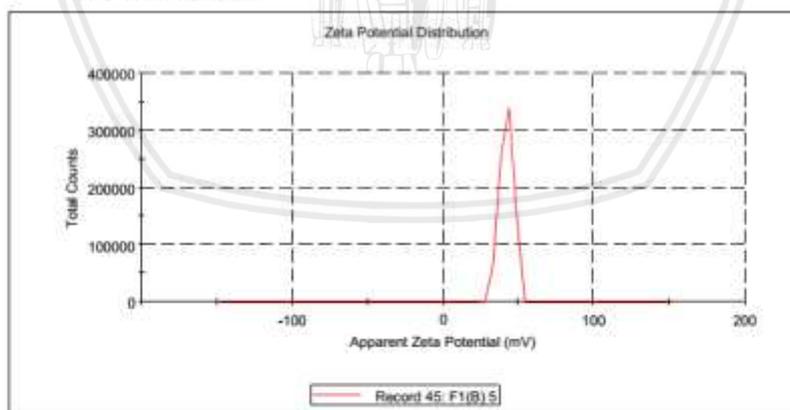
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 5

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 41,7	Peak 1: 41,7	100,0	4,56
Zeta Deviation (mV): 4,56	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,561	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 16. Hasil Uji Zeta Potensial F1 (II)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F1(B) 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 26

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 9:15:15

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 511,8

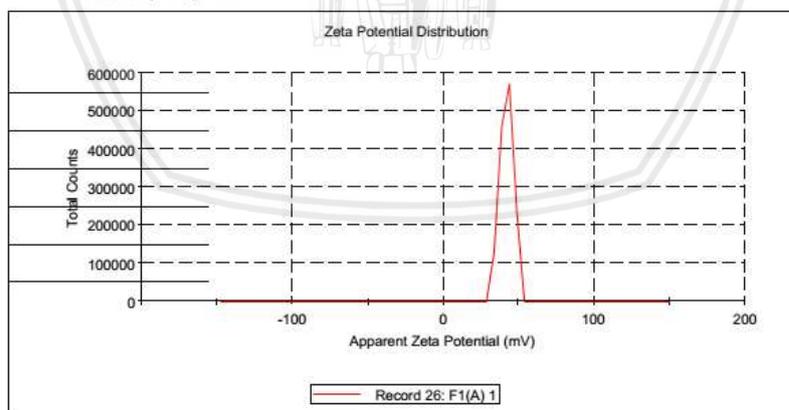
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 41,6	Peak 1: 41,6	100,0	4,35
Zeta Deviation (mV): 4,35	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,277	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 17. Hasil Uji Zeta Potensial F1 (III)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F1(B) 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 28

Dispersant Rt: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 9:18:53

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 14

Count Rate (kcps): 84,0

Measurement Position (mm): 4,50

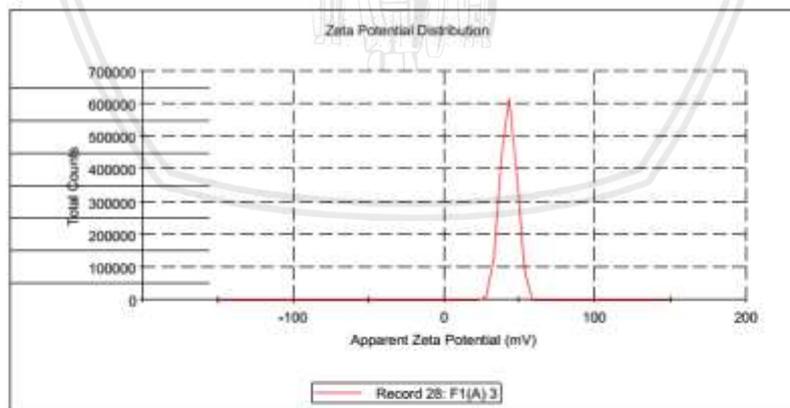
Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 5

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 42,1	Peak 1: 42,1	100,0	5,23
Zeta Deviation (mV): 5,23	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,302	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality **Good**



Lampiran 18. Hasil Uji Zeta Potensial F2 (I)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F2 (B) 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 8

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 11:14:17

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 14

Count Rate (kcps): 94,0

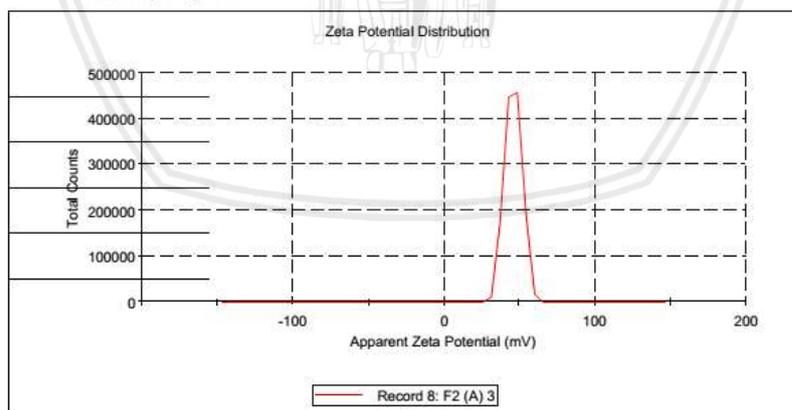
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 5

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 45,5	Peak 1: 45,5	100,0	5,55
Zeta Deviation (mV): 5,55	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,591	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 19. Hasil Uji Zeta Potensial F2 (II)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F2 (B) 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 9

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 11:20:25

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 132,6

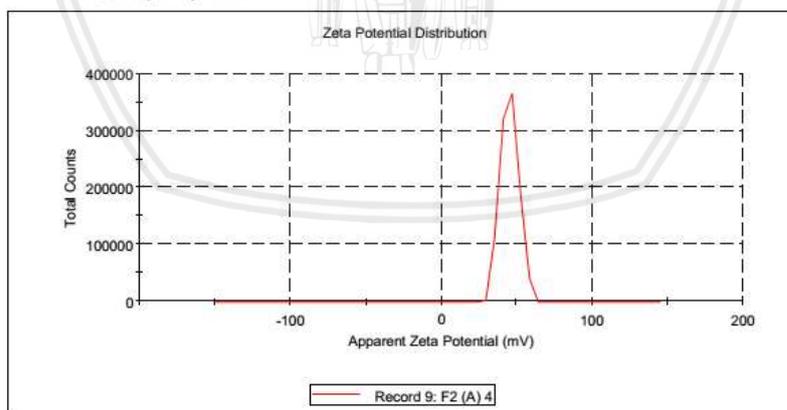
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 5

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 44,9	Peak 1: 44,9	100,0	5,89
Zeta Deviation (mV): 5,89	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,595	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 20. Hasil Uji Zeta Potensial F2 (III)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F2 (B) 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 10

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 11:18:23

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 47,2

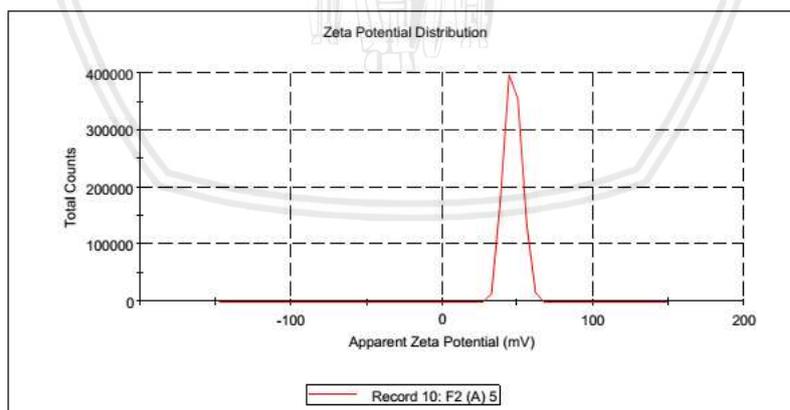
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 5

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 46,5	Peak 1: 46,5	100,0	5,75
Zeta Deviation (mV): 5,75	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,597	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 21. Hasil Uji Zeta Potensial F3 (I)

Zeta Potential Report
v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F3(A) 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 10

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 8:00:10

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 263,1

Measurement Position (mm): 4,50

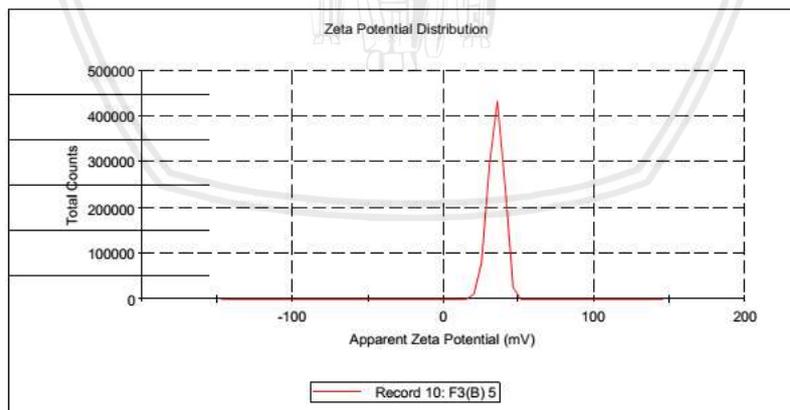
Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 34,5	Peak 1: 34,5	100,0	5,06
Zeta Deviation (mV): 5,06	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,688	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality **Good**



Lampiran 22. Hasil Uji Zeta Potensial F3 (II)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd • © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F3(A) 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 8

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 8:18:52

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 192,3

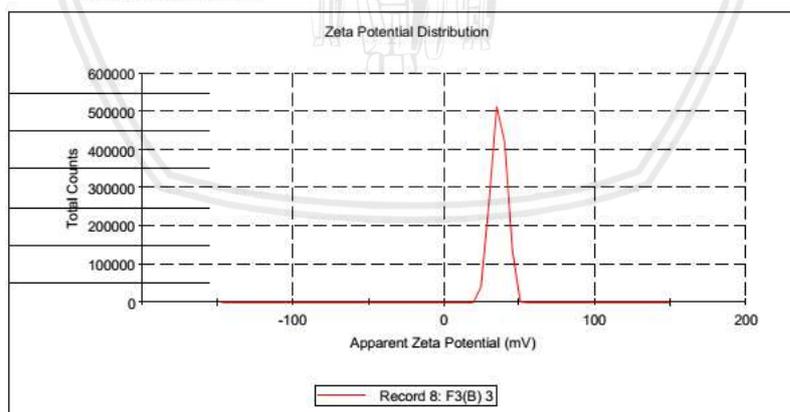
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 35,9	Peak 1: 35,9	100,0	5,09
Zeta Deviation (mV): 5,09	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,694	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 23. Hasil Uji Zeta Potensial F3 (III)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F3(A) 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Monica 2 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 6

Dispersant RI: 1,330

Date and Time: 04 Maret 2019 8:15:02

Viscosity (cP): 0,8872

Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0

Zeta Runs: 15

Count Rate (kcps): 121,4

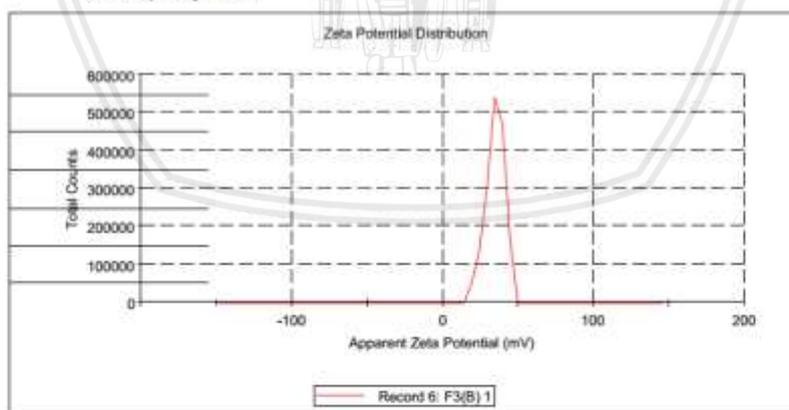
Measurement Position (mm): 4,50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 34,4	Peak 1: 34,4	100,0	6,16
Zeta Deviation (mV): 6,16	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,672	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Lampiran 24. *Certificate of Analysis Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmannii)*

CPOTB/GMP Certified
ISO 9001:2015
ISO 22000:2018

BOROBUDUR INDUSTRI JAMU, PT.
Head Office :
Jl. Madukoro Blok A/26 Semarang 50141
T. +62-24-7606888 F. +62-24-7605553
E-mail : office@borobudurherbal.com

**Certificate of Analysis
Dry Extract**

MANUFACTURING DATA		GENERAL DATA	
Product Name	Cinnamon P.E	Plant Species	<i>Cinnamomum burmannii</i>
Local Name	Kayu Manis	Botanical part used	Cortex
Batch Number	048PP01.6	Ratio Botanical Extract	10 : 1
Manufacture Date	October 20, 2016	Excipients	Maltodextrin
Testing Date	October 21, 2016	Preservatives	N/A
Expire Date	October 20, 2020	Extraction Solvent	Ethanol 70%
Shelf Life	4 years	Storage	store in cool and dry place, keep away from strong light and heat
ITEM	SPECIFICATION	TEST RESULT	TEST METHOD
IDENTIFICATION TEST			
Appearance	Granule	Complies	Visual
Color	Reddish Brown	Complies	Visual
Odor	Aromatic	Complies	Organoleptic
Taste	Bitter	Complies	Organoleptic
Mesh Size	70 % pass mesh 12	Complies	12 mesh screen
Loss On Drying	5.0 % max	2.93 %	2g/105°C/15 minutes
HEAVY METALS			
Arsenic (As)	5 ppm max	Complies	AAS
Lead (Pb)	10 ppm max	Complies	AAS
MICROBIOLOGICAL TEST			
Total Plate Count	Not more than 1000 cfu/gram	< 100 cfu/gram	Dilution Plating
Fungi/Yeast and molds	Not more than 100 cfu/gram	< 100 cfu/gram	Dilution Plating
E. coli	Should be absent	Complies	MPN Method
Salmonella	Should be absent	Complies	Dilution Plating
S. aureus	Should be absent	Complies	Dilution Plating
P. aeruginosa	Should be absent	Complies	Dilution Plating

REMARKS : COMPLIES WITH THE SPECIFICATION

Semarang, July 26, 2018

Operational Manager


Joko Kawiyanto, Apt

Quality Assurance


Lusiana Sugiarto, Apt

FACTORY : Jl. Hasanudin No.1 Semarang 50176 - Indonesia. Tel +62-24-3510785, Fax +62-24-3541332, E-mail : factory@borobudurherbal.com
BOROBUDUR EXTRACTION CENTER (BEC) : Jl. Walisongo KM.10 Semarang - Indonesia. Tel +62-24-8664281, Fax +62-24-8664303, E-mail : extraction.bec@gmail.com

Branch Offices :

JAKARTA : J. Tomang Tengah Raya 11, Jakarta Barat 11440 T. +62-21-5098833 (Pusat) F. +62-21-5671167
MELAKA : J. Suka Bakti IV No. 42-44 RT 01 RW 10, No. Sakasari Tembung 75116 Seremban T.J.F. +62-21-5522889
MELAKA : J. Bukit RH 8,5 Floor 3 BBN | J. Pagar No 19 | Rut. Lajang Inc. Medan Sunggal, Medan T.J.F. +62-61-8474506
TANGGARANG : J. Suka Bakti IV No. 42-44 RT 01 RW 10, No. Sakasari Tembung 75116 Seremban T.J.F. +62-21-5522889
SERANG : J. Kalsaria Barat 48 Kaw-25, Serdanga 80183 T. +62-31-7480008 (Pusat) 3491374 - 73 F. +62-31-7480262
SERANG : Perumahan Mhikmal, Cluster Hutan Talap 2 Blok A7 Senang Timur T. +62 815 8719 102 T.J.F. +62 21 5522889
BEKASI : Ruko Kertamang Satewa Liris U. J. R11 Riser 40 Bekasi, Bekasi Selatan T.J.F. +62 21 8961634
BOGOR : J. Paldang No. 47, Bogor 16122 T. +62 251 8231907 F. +62 251 8231908
MAYONG : J. Coklang Mula Kamp. Pangsarica Riv. G. 14, Bandung 40214 T. +62 22 8691613 F. +62 22 8004601
MELAKA : J. Bukit RH 8,5 Floor 3 BBN | J. Pagar No 19 | Rut. Lajang Inc. Medan Sunggal, Medan T.J.F. +62-61-8474506
SURABAYA : J. Kalsaria Barat 48 Kaw-25, Serdanga 80183 T. +62-31-7480008 (Pusat) 3491374 - 73 F. +62-31-7480262
MALANG : J. Senaga Baru II No.2 Kav. Blimbing - Malang T.J.F. +62-341-2992177
DEWASARI : J. Mangla Utara No. 291, Denpasar 80229 - Bali T.J.F. +62 361-822151
LONDON : Perumahan Babakan Indah, Jl. Jaja 1 No.7 Cakrawala - Lombok T. +62 818 2562 0590, +62 813 3548 9710

Lampiran 25. Certificate of Analysis Chitosan

SIGMA-ALDRICH

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA
 Email: USA: techserv@sigma.com Outside USA: eurochem@sigma.com

Certificate of Analysis

Product Name: CHITOSAN
 medium molecular weight
 Product Number: 448877
 Batch Number: STBH6274
 Brand: Aldrich
 CAS Number: 9012-76-4
 Formula:
 Formula Weight:
 Quality Release Date: 11 MAY 2018

TEST	SPECIFICATION	RESULT
APPEARANCE (COLOR)	OFF WHITE TO BEIGE AND FAINT BROWN TO LIGHT BROWN	LIGHT BEIGE
APPEARANCE (FORM)	POWDER AND/OR CHIPS	POWDER
ASSAY	75 - 85 % DEACETYLATION	85 %
VISCOSITY	200 - 800 CPS (C = 1%, 1% ACETIC ACID)	340 CPS

Claudia Mayer

Claudia Mayer
 Manager Quality Control
 Steinheim, Germany

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. 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.