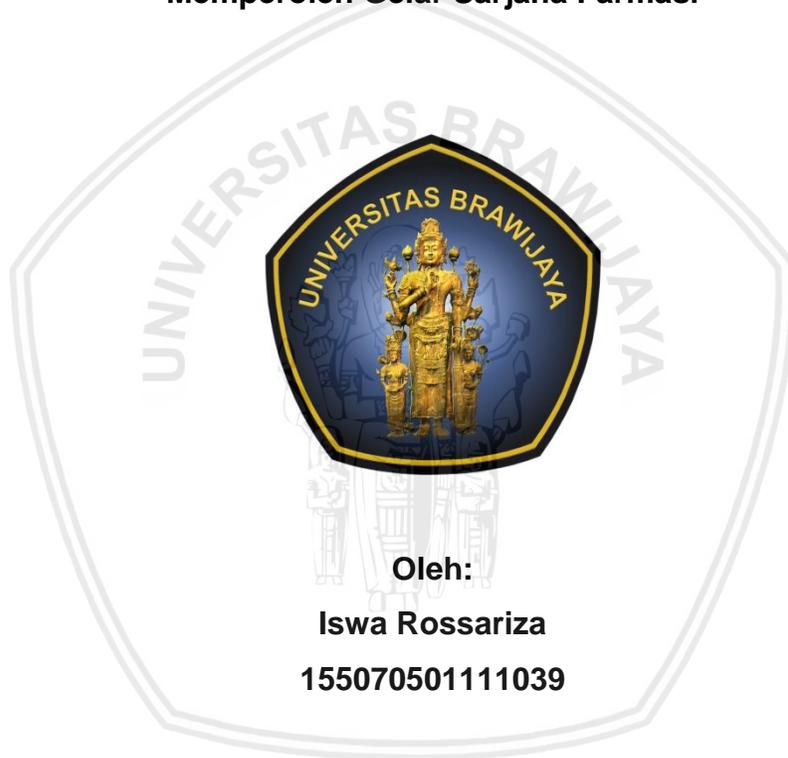


**PENGEMBANGAN FORMULA *POLYMERIC-LIPID NANOPARTICLE*
UNTUK SISTEM PENGANTARAN EKSTRAK KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmanii*) MENGGUNAKAN NA ALGINAT DAN EGG PC
(*EGG PHOSPHATIDYLCHOLINE*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Iswa Rossariza

155070501111039

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

DAFTAR ISI

	Halaman
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	5
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 (<i>Cinnamomum burmanii</i>).....	7
2.1.1 Deskripsi Tanaman Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	7
2.1.2 Kandungan Kayu Manis	8
2.2 <i>Polymeric-Lipid Nanoparticle</i> (PLN).....	10
2.3 Karakteristik <i>Polymeric-Lipid Nanoparticle</i>	11
2.3.1 Ukuran Partikel	11
2.3.2 Sifat Permukaan.....	12
2.4 Mekanisme PLN Masuk ke Dalam Sel.....	13
2.5 PLN Na Alginat - Egg PC	15
2.6 Metode Pembuatan PLN	16
2.7 Monografi bahan	17
2.7.1 Natrium Alginat (Na Alginat).....	17
2.7.2 <i>Egg phosphatidylcholine</i> (Egg PC).....	18
2.7.3 Poloxamer.....	20

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep.....	21
3.2 Penjabaran Kerangka Konsep Penelitian	22
3.3 Hipotesis Penelitian.....	23

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian 24

4.2 Variabel Penelitian 24

 4.2.1 Variabel Bebas..... 24

 4.2.2 Variabel Terikat..... 24

 4.2.3 Variabel Kontrol 24

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian 24

4.4 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian..... 25

4.5 Definisi Operasional 25

4.6 Prosedur Penelitian 26

 4.6.1 Identifikasi Kandungan Polifenol Ekstrak Kayu Manis 26

 4.6.2 Preparasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu Manis. 26

 4.6.3 Karakterisasi PLN Ekstrak Kayu Manis 27

 4.6.3.1 Analisis ukuran partikel 27

 4.6.3.2 Uji Stabilitas 28

4.7 Rancangan Formula..... 28

 4.7.1 Formulasi 28

 4.7.2 Rasionalisasi Formula 29

4.8 Analisis Data 30

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Kandungan Polifenol Ekstrak Kayu Manis..... 32

5.2 Hasil Optimasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu Manis 33

5.3 Hasil Evaluasi Karakterisasi PLN Ekstrak Kayu Manis 35

5.4 Hasil Uji Stabilitas..... 38

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan 41

6.2. Keterbatasan Penelitian 50

6.3. Implikasi pada Bidang Farmasi..... 51

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan 52

7.2 Saran 52

DAFTAR PUSTAKA..... 53

LAMPIRAN..... 58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Matriks <i>Polymeric-Lipid Nanoparticle</i>	11
Gambar 2.2 Macam-macam Endositosis Menuju Sel.....	14
Gambar 2.3 Na Alginat	18
Gambar 2.4 Egg PC	19
Gambar 2.5 Poloxamer.....	20
Gambar 5.1 Hasil Skrining Kandungan Polifenol Ekstrak Kayu Manis	33
Gambar 5.2 Hasil Pengamatan Organoleptik <i>Polymeric-Lipid</i> Ekstrak Kayu Manis	35
Gambar 5.3 Hasil Uji Stabilitas <i>Polymeric-Lipid Nanoparticle</i> Ekstrak Kayu Manis	39



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Perbandingan Jumlah Komponen Polimer dan Lipid	27
Tabel 4.2 Komposisi Formula <i>Polymeric Lipid Nanoparticle</i> Ekstrak Kayu Manis	28
Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Organoleptik <i>Polymeric-Lipid</i> Ekstrak Kayu Manis	34
Tabel 5.2 Hasil Evaluasi Karakterisasi <i>Polymeric-Lipid Nanoparticle</i> Ekstrak Kayu Manis	36
Tabel 5.3 Hasil Uji Stabilitas <i>Polymeric-Lipid Nanoparticle</i> Ekstrak Kayu Manis	39



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGEMBANGAN FORMULA POLYMERIC-LIPID NANOPARTICLE UNTUK
SISTEM PENGANTARAN EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*)
MENGUNAKAN NA ALGINAT DAN EGG PC (EGG
PHOSPHATIDYLCHOLINE)

Oleh:

Iswa Rossariza
155070501111039

Telah diuji pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 28 Juni 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I,



Ika Putri Nurhayati, S.Farm., Apt., M.Sc.

NIP. 2013048909152001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing/II/Penguji-III,



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

NIP. 2011068510252001



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

NIP. 2009127503151001

Mengetahui,

Petua Program Studi Sarjana Farmasi,



Alvan Febrina Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 2011068502181001

ABSTRAK

Rossariza, Iswa. 2019. ***Pengembangan Formula Polymeric-Lipid Nanoparticle untuk Sistem Pengantaran Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum Burmanii) Menggunakan Na Alginat dan Egg PC (Egg Phosphatidylcholine)***. 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.

Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) adalah tanaman yang asalnya dari Indonesia dengan zat aktif polifenol khususnya cinnamaldehida yang bermanfaat untuk penderita diabetes mellitus tipe 2 dengan meningkatkan reseptor insulin penderita. Namun, dalam tubuh komponen cinnamaldehida ini mengalami modifikasi struktural di area saluran pencernaan dan dalam liver. *Polymeric-Lipid Nanoparticle* (PLN) adalah solusi dari permasalahan cinnamaldehida tersebut. PLN adalah sistem pengantaran yang mengkombinasikan polimer dan lipid untuk dijadikan nanopartikel dimana keduanya mempunyai keuntungan untuk dijadikan nanopartikel. Na Alginat sebagai komponen polimer dan Egg PC sebagai komponen lipid menjadikan PLN dapat memperpanjang adesi dari formulasi pada mukosa, melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake*. Penelitian ini bertujuan mengetahui rasio polimer Na Alginat dan lipid Egg PC untuk menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimal untuk menghantarkan ekstrak kayu manis berdasarkan ukuran partikel. Pembuatan PLN menggunakan metode nanopresipitasi dengan mencampurkan fase organik tetes demi tetes ke dalam fase aqueous. Penelitian ini memiliki 3 perbandingan formula Na Alginat dan Egg PC yang berbeda yaitu F1 adalah 7:1, F2 adalah 3:1, dan F3 adalah 5:3. Setelah dibuat ketiga formulasi, sediaan PLN dikarakterisasi berdasarkan uji organoleptik, analisis ukuran partikel, polidispersitas, dan zeta potensial menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS), serta dilakukan uji stabilitas sediaan. Formula yang menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimal untuk menghantarkan ekstrak kayu manis adalah F3 dengan rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3 mempunyai ukuran partikel paling kecil yaitu $372,36 \pm 3,62$ nm sesuai dengan spesifikasi masuk rentang 2-1000 nm.

Kata kunci: *polymeric-lipid nanoparticle*, ekstrak kayu manis, Na Alginat, Egg PC, ukuran partikel

ABSTRACT

Rossariza, Iswa. 2019. ***Development of Polymeric-Lipid Nanoparticle Formula for Cinnamon Extract (Cinnamomum Burmanii) Delivery System Using Sodium Alginate and Egg PC (Egg Phosphatidylcholine)***. 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.

Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) is a plant originating from Indonesia with active substances called polyphenol especially cinnamaldehyde which is useful for patients with type 2 diabetes mellitus by increasing the patient's insulin receptors. However, in body, cinnamaldehyde undergoes structural modifications in the digestive tract area and liver. Polymeric-Lipid Nanoparticle (PLN) is the solution to the problem of cinnamaldehyde. PLN is a delivery system that combines polymers and lipids to be made into nanoparticles where both have the advantage of being made into nanoparticles. Sodium Alginate as a component of polymer and Egg PC as a lipid component makes PLN able to extend the adhesion of the formulations on the mucosa, protect the surface of the nanoparticles formed (prevent particle leakage), reduce toxicity, and increase cellular uptake. This study aims to determine the ratio of polymeric Sodium Alginat and lipid Egg PCs to produce the optimal Polymeric-Lipid Nanoparticle to deliver cinnamon extract based on particle size. The making of PLN uses the method of nanoprecipitation by mixing the organic phase dropwise into the aqueous phase. This study has 3 comparisons of different formulas of Na Alginate and Egg PC, namely F1 is 7: 1, F2 is 3: 1, and F3 is 5: 3. After making all three formulations, the PLN preparations were characterized based on organoleptic tests, particle size analysis, polydispersity index, and potential zeta using the Dynamic Light Scattering (DLS) method, as well as the stability test of the preparation. The formula that produces the optimal Polymeric-Lipid Nanoparticle to deliver cinnamon extract is F3 with a ratio of Na Alginat: PC Egg of 5: 3 has the smallest particle size of $372,36 \pm 3,62$ nm according to the specification of range 2-1000 nm.

Keyword: polymeric-lipid nanoparticle, cinnamon extract, Na Alginate, Egg PC, particle size

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kayu manis adalah salah satu jenis rempah yang paling banyak dijumpai di Indonesia. Dalam dunia perdagangan, baik ekspor maupun lokal, kayu manis terdiri dari empat jenis, yaitu : *Cinnamomum burmanii*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum cillialawan*. *Cinnamomum burmanii* sendiri merupakan jenis kayu manis yang berasal dari Indonesia (Rismunandar dan Paimin, 2001). Menurut penelitian yang di lakukan sebelumnya, komposisi kayu manis terdiri dari abu (2,4%), protein (3,5%), lemak (4%), serat (33,0%), karbohidrat (52,0%), dan menghasilkan energi 285 Kcal/100g. Sedangkan komposisi mineralnya terdiri atas zat besi (7,0 mg/g), zinc (2,6 mg/g), kalsium (83,8 mg/g), chromium (0,4 mg/g), mangan (20,1 mg/g), magnesium (85,5 mg/g), natrium (0.0 mg/g), kalium (134,7 mg/g), dan fosfor (42,2 mg/g) (Ravindran *et al*; 2004).

Pada penelitian sebelumnya, kayu manis dapat memberikan perbedaan signifikan atau bermakna dalam kadar Glukosa Darah Puasa 2 jam Post Pandrial (GDP 2 PP). Penelitian tersebut dilakukan di Puskesmas Ngawi, Kecamatan Ngawi, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur setelah diberikan intervensi berupa seduhan bubuk kayu manis dalam dosis 8 gram maupun 10 gram dengan hasil yang signifikan pada penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 (Arini dan Ardiaria, 2016). Adanya perbedaan signifikan atau bermakna GDP 2 PP pada kedua kelompok perlakuan disebabkan oleh kandungan polifenol yang tinggi pada kayu manis utamanya cinnamaldehida. Pada kayu manis, terdapat minyak esensial yang didapatkan hanya dari kulit

kayunya, yaitu *trans*-cinnamaldehida, *eugenol* dan *linalool* yang mempunyai persentase 82,5% dari komposisi total (Ranasinghe, 2013). Cinnamaldehida memiliki bioavailabilitas sebesar 20% dengan waktu paruh 1.7 jam, dengan metabolit sebanyak 48% ditemukan di urin dan feses (Gowder dan Devaraj, 2006 ; Zhao *et al*; 2015). Cinnamaldehida memiliki bioavailabilitas sebesar 20% dengan waktu paruh 1.7 jam, dengan metabolit sebanyak 48% ditemukan di urin dan feses (Gowder dan Devaraj, 2006 ; Zhao *et al*; 2015). Ekskresi cinnamaldehida dilakukan utamanya oleh hati dan ginjal, dengan sebagian besar cincin aldehida cinnamaldehida telah berubah menjadi asam cinnamat (Zhao *et al*; 2015). Komponen ini memiliki efek antihiperqlikemik, dengan cara kerja utama menurunkan hormon grelin yang secara langsung dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Penurunan hormon grelin dalam waktu lama memicu penurunan kadar plasma glukosa pada kondisi puasa dan selama OGTT (*Oral Glucose Tolerant Test*) (Camacho *et al*; 2015).

Hasil uji klinis membuktikan bahwa ekstrak kayu manis berpotensi mencegah perkembangan DM tipe 2 dan menghindarkan dari komplikasi. Namun, hasil ujinya terkadang tidak konsisten dan menunjukkan hasil kebalikan dari kelompok plasebonya pada beberapa hasil (Baker *et al*; 2008). Hal ini dapat terjadi kemungkinan penyebabnya adalah karena rendahnya bioavailabilitas ekstrak kayu manis mengingat kandungan utamanya adalah komponen cinnamaldehida dan polifenol. Komponen inilah yang diketahui berkontribusi terhadap perbaikan kondisi DM tipe 2. Dua komponen ini sama-sama menurunkan glukosa dalam darah dan bertindak sebagai antioksidan yang sinergis dalam mencegah perkembangan DM

tipe 2 dan menghindarkan dari komplikasi (Huang *et al*; 2011; Sheng *et al*; 2008). Permasalahannya adalah sebelum cinnamaldehida sampai di aliran darah sistemik terlebih dahulu mengalami modifikasi struktural di area saluran pencernaan dan liver yang tidak dikehendaki. Modifikasi struktural ini menjadikan cinnamaldehida dalam liver menjadikan sebagian besar cincin aldehida cinnamaldehida telah berubah menjadi asam cinnamat (Zhao *et al*; 2015). Apabila banyak asam cinnamat dalam tubuh dapat menjadikan tubuh mengalami gangguan pencernaan seperti mual dan muntah pada umumnya. Oleh karena itu diperlukan sistem pengantaran yang dapat menghindarkan senyawa aktif dari kerusakan dalam saluran pencernaan untuk rute pemberian oral.

Solusi dari permasalahan ini adalah dengan mengkombinasikan nanopartikel berbasis polimer dengan nanopartikel berbasis lipid. Jenis polimer yang dapat digunakan untuk membentuk nanopartikel adalah Na Alginat dan jenis lipid yang digunakan adalah Egg PC (*Egg Phosphatidylcholine*). Fosfatidilkolin yang diperoleh dari telur (Egg PC) merupakan salah satu lipid netral yang dapat dikombinasikan dengan polimer untuk menghasilkan nanopartikel solid berdasarkan interaksi hidrofobik. Sistem gabungan melalui interaksi hidrofobik ini dapat melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake* (Galleti *et al*; 2014). Apabila dibandingkan dengan Soy PC, Egg PC memiliki beberapa kelebihan yaitu Egg PC mengandung lebih banyak komponen fosfatidilkolin didalamnya, fosfolipid dalam Egg PC mempunyai rantai asam lemak panjang yang tidak tersaturasi oleh n-6 dan n-3, terutama *arachidonic acid* (AA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) dimana

Soy PC tidak memilikinya, serta saturasi dari Egg PC lebih tinggi daripada Soy PC sehingga stabilitas oksidatif nya lebih baik dari Soy PC (Jing Li *et al*, 2014). Komponen polimernya adalah natrium alginat yang merupakan polimer alami yang banyak digunakan dalam pembuatan mikro dan nanopartikel. Na Alginat mempunyai sifat bioadesif yang memungkinkan untuk membantu perpanjangan adesi dari formulasi pada mukosa intestinal. Kemudian, dengan meningkatkan *intake* dengan saluran pencernaan, maka obat yang dibawa dengan system pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle* menggunakan Na Alginat akan meningkat bioavailabilitasnya pada sediaan oral (Ahmad *et al*; 2005). Apabila dibandingkan dengan polimer chitosan yang mempunyai sifat mukoadesif juga, natrium alginat memiliki kelebihan dapat membungkus obat yang sifatnya lipofilik yang digunakan dalam berbagai teknik, mempunyai stabilitas tinggi, sifatnya sederhana, tidak toksik, biokompatibilitas, dan murah. Selain itu, Na alginat memiliki kekuatan mukoadhesif tertinggi dibandingkan dengan polimer alami dan sintetis lainnya (Thwala, 2012). Spesifikasi ukuran yang diinginkan adalah 2-1000 nm dikarenakan PLN yang berukuran 2 - 1000 nm dapat membantu membawa obat yang memiliki efek terapeutik. Dengan ukuran tersebut, PLN dalam menghantarkan obat dengan rute oral dapat meningkatkan efektifitas obat, toleransi obat, spesifitas, dan indeks terapeutik obat analog (Sharma *et al*, 2015). Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Yu *et al*, 2016) bahwa rasio polimer Na Alginat : lipid Egg PC (5 : 3) menghasilkan formula paling optimal dengan ukuran paling kecil dibandingkan dengan rasio polimer Na Alginat : lipid Egg PC (3 : 1) dan rasio polimer Na Alginat : lipid Egg PC (7 : 1). Penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar polimer yang terkandung

dalam PLN, maka semakin besar pula ukuran partikel yang dihasilkan (Yu *et al.*, 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Berapa rasio Na Alginat dan Egg PC untuk menghasilkan formula *Polymeric Lipid Nanoparticle* mengandung ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) yang optimal?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui rasio polimer Na Alginat dan lipid Egg PC untuk menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimal untuk menghantarkan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) berdasarkan ukuran partikel.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Memberikan pengetahuan mengenai formula sistem pengantaran ekstrak kayu manis menggunakan formulasi berbasis nanoteknologi yang mengkombinasikan bahan polimer Na Alginat dan lipid Egg PC serta sebagai salah satu aplikasi ilmu bidang farmasetika dalam menerapkan pembuatan sistem pengantaran nanopartikel yang diberikan melalui rute oral.

1.4.2 Manfaat Praktis

Keutamaan penelitian ini adalah formulasi ekstrak kayu manis dalam bentuk nanopartikel polimer-lipid memungkinkan untuk mengembangkan potensi

kemanfaatan kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) pada penggunaan klinis. Formula yang dihasilkan dapat dikemas dalam bentuk sediaan yang *acceptable* dan prosedur pembuatannya yang *feasible* untuk pembuatan skala industri merupakan keuntungan untuk mendukung prospek *C. burmanii* sebagai *functional food product*. Selain itu juga dapat berkontribusi dalam program pencegahan atau pun penatalaksanaan kondisi diabetes dan memberikan *added value*.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)

Kayu manis merupakan produk rempah-rempah yang paling banyak dijumpai di Indonesia. Ada empat jenis kulit kayu manis dalam dunia perdagangan ekspor maupun lokal, yaitu : *Cinnamomum burmanii*, *Cinnamomum zeylanicum*, *cinnamomum cassia*, *cinnamomum cillialawan*. *Cinnamomum burmanii* ini berasal dari Indonesia (Rismunandar dan Paimin, 2001).

Dari 54 spesies kayu manis (*Cinnamomun sp*) yang dikenal didunia 12 diantaranya terdapat di Indonesia. Tanaman kayu manis yang selama ini banyak dikembangkan di Indonesia adalah *Cinnamomum burmanii* yang merupakan usaha perkebunan rakyat terutama dikembangkan di Sumatera Barat, Jambi dan Sumatera utara. Tanaman ini akan tumbuh baik pada ketinggian 600-1500 mdpl, panjangnya sekitar 9-12cm dan lebarnya 3,-5,4cm tergantung jenisnya warna pucuknya kemerahan, sedangkan daun tuanya hijau tua, bunganya berkelamin dua atau bunga sempurna dengan warna kuning, ukurannya kecil. Buahnya adalah buah buni, berbiji satu dan berdaging. Bentuknya bulat memanjang, buah muda berwarna hijau tua dan buah tua bewrna ungu tua. Tanaman ini banyak dijumpai di Sumatera Utara, Sumatera Barat, Jambi, Bengkulu. Berdasarkan klasifikasinya, kayu manis tergolong dalam kingdom Plantae, divisi Gymnospermae, subdivisi Spermatophyta, kelas Dicotyledonae, subkelas : Dialypetalae, ordo Policarpicae, famili Lauraceae, genus *Cinnamomum*, spesies *Cinnamomum burmanii* (Rismunandar dan Paimin, 2001).

2.1.2 Kandungan Kayu Manis

Menurut penelitian yang dilakukan sebelumnya, komposisi kayu manis terdiri dari abu (2,4%), protein (3,5%), lemak (4%), serat (33,0%), karbohidrat (52,0%), dan menghasilkan energi 285 Kcal/100g. Sedangkan komposisi mineralnya terdiri atas zat besi (7,0 mg/g), zinc (2,6 mg/g), kalsium (83,8 mg/g), chromium (0,4 mg/g), mangan (20,1 mg/g), magnesium (85,5 mg/g), natrium (0,0 mg/g), kalium (134,7 mg/g), dan fosfor (42,2 mg/g) (Ravindran *et al.*, 2004).

Pada penelitian sebelumnya, kayu manis dapat memberikan perbedaan signifikan atau bermakna dalam kadar Glukosa Darah Puasa 2 jam Post Prandial. Penelitian tersebut dilakukan di Puskesmas Ngawi, Kecamatan Ngawi, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur setelah diberikan intervensi berupa seduhan bubuk kayu manis dalam dosis 8 gram maupun 10 gram dengan hasil yang signifikan pada penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 (Arini dan Ardiaria, 2016). Adanya perbedaan signifikan atau bermakna GDP 2 PP pada kedua kelompok perlakuan disebabkan oleh kandungan polifenol yang tinggi pada kayu manis utamanya cinnamaldehida. Pada kayu manis, terdapat minyak esensial yang didapatkan hanya dari kulit kayunya, yaitu *trans*-cinnamaldehida, *eugenol* dan *linalool* yang mempunyai persentase 82,5% dari komposisi total (Ranasinghe, 2013). Cinnamaldehida memiliki bioavailabilitas sebesar 20% dengan waktu paruh 1.7 jam, dengan metabolit sebanyak 48% ditemukan di urin dan feses (Gowder dan Devaraj, 2006 ; Zhao *et al.*; 2015). Ekskresi cinnamaldehida dilakukan utamanya oleh hati dan ginjal, dengan sebagian besar cincin aldehida cinnamaldehida telah berubah menjadi asam cinnamat (Zhao *et al.*; 2015). Komponen ini memiliki efek antihiperlipemik, dengan

cara kerja utama menurunkan hormone grelin yang secara langsung dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Penurunan hormon grelin dalam waktu lama memicu penurunan kadar plasma glukosa pada kondisi puasa dan selama OGTT (*Oral Glucose Tolerant Test*) (Camacho *et al*; 2015).

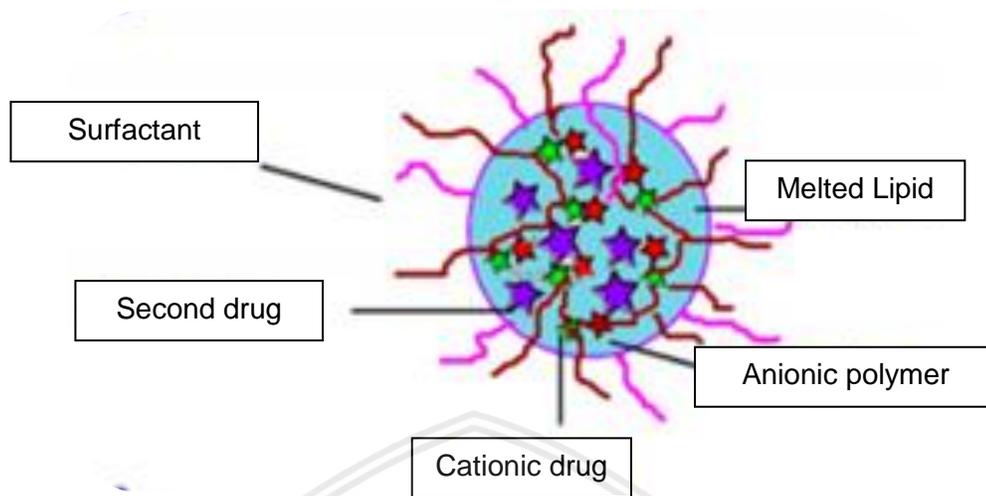
Mekanisme kerja *cinnamon* dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin, yaitu mengaktifkan reseptor P1 3-kinase dan menghambat tirosin fosfatase, meningkatkan konsentrasi dari substrat IRS-1 terfosforisasi dan pengikatannya pada PI 3-kinase, mengaktifkan sintase glikogen, menstimulasi pengambilan glukosa, dan mengaktifasi kinase dari reseptor insulin (Hlebowicz *et al*; 2007).

Polifenol yang terkandung dalam *cinnamon* dapat mempengaruhi fungsi glukosa dan insulin didalam tubuh. Polifenol akan merangsang autofosforisasi reseptor insulin melalui peningkatan aktivitas forforisasi tirosin dan menurunkan proses defosforisasi (Kannappan *et al*; 2006; Ziegenfuss *et al*; 2006). Salah satu komponen polifenol tersebut adalah cinnamaldehida dengan mekanisme kerja sebagai anti inflamasi, antioksidan, potensial hipoglikemik serta hipolipidemik. Karena kandungan zat aktif inilah kayu manis dapat diolah menjadi suatu bahan yang dapat membantu menurunkan kadar glukosa darah pada pasien diabetes melitus dan dapat digunakan dalam jangka panjang. Kayu manis mengandung koumarin yang memiliki risiko hepatotoksisitas, yaitu toksisitas yang khusus terjadi pada hepar terutama dari proses metabolisme hingga menghasilkan metabolit koumarin yaitu, 7-hidroxicoumarin (Barlow *et al*; 2008).

2.2 *Polymeric-Lipid Nanoparticle (PLN)*

Polymeric-Lipid Nanoparticle (PLN) adalah sistem pengantaran yang mengkombinasikan polimer dan lipid untuk dijadikan nanopartikel dimana keduanya mempunyai keuntungan untuk dijadikan nanopartikel. PLN dalam tubuh berbentuk padat, mirip dengan *Solid Lipid Nanoparticle (SLN)*. Keberadaan polimer dan lipid membuatnya memiliki sifat material yang berbeda, misalnya hidrofobik dan kelarutan dalam air, PLN dapat memuat berbagai jenis muatan, namun SLN hanya memuat senyawa yang hidrofobik. Keuntungan PLN sebagai nanopartikel sendiri adalah mempunyai pilihan polimer dan lipid yang biokompatibel yang luas untuk dikombinasikan menjadi PLN, pembuatan PLN yang mudah sehingga dapat menggunakan satu metode saja, dan dapat melakukan enkapsulasi pada obat yang berbeda (Wu, 2016).

Formulasi PLN telah terbukti meningkatkan efisiensi pengantaran obat, dapat menjadikan pelepasan obat yang terkontrol, meningkatkan penyerapan obat pada sel (*cellular uptake*) dan pengantaran obat pada intraseluler, dan dapat menghindari *membrane efflux transporter mediated multidrug resistance (MDR)* pada sel kanker. Seperti pengantaran jenis nano lainnya, PLN juga dapat terkonjugasi dengan dengan beberapa target untuk pengantaran obat tertarget pada pembuluh darah pada tumor dan sel tumornya itu sendiri. Karena keuntungan-keuntungan ini, PLN mempunyai potensial yang hebat untuk menghantarkan agen terapi dengan kisaran yang luas. Meskipun begitu, untuk mendesain formula yang optimal dengan semua karakteristik yang diinginkan untuk PLN sangat diperlukan seperti aplikasi PLN untuk pengantaran ekstrak kayu manis (Wu, 2016).



Gambar 2.1 Struktur Matriks *Polymeric-Lipid Nanoparticle*

(Wu, 2016)

2.3 Karakteristik *Polymeric-Lipid Nanoparticle*

2.3.1 Ukuran Partikel

Bioavailabilitas obat rute oral dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dari obat-obatan (yaitu kelarutan, pKa, ukuran, dan lain-lain). Absorpsi obat dan partikel ke dalam saluran pencernaan (GIT) melalui berbagai jalur tergantung pada ukurannya. Partikel dengan diameter 1 μm diserap dengan cara fagositosis oleh makrofag usus, kemudian nanopartikel dengan ukuran <200 nm diserap melalui endositosis oleh enterosit. Ukuran partikel dalam studi nanopartikel memiliki peran penting. Obat-obatan yang berukuran nano haruslah stabil, *biodegradable*, tidak beracun, tidak menimbulkan inflamasi, tidak trombogenik, dan tidak mengganggu sistem imun. Selain itu, PLN harus dapat membawa obat berukuran kecil, protein, vaksin, dan asam nukleat. PLN yang berukuran 2 - 1000 nm dapat membantu membawa obat yang memiliki efek terapeutik. Dengan ukuran tersebut, PLN dalam menghantarkan

obat dengan rute oral dapat meningkatkan efektifitas obat, toleransi obat, spesifitas, dan indeks terapeutik obat analog (Sharma *et al*, 2015).

2.3.2 Sifat Permukaan

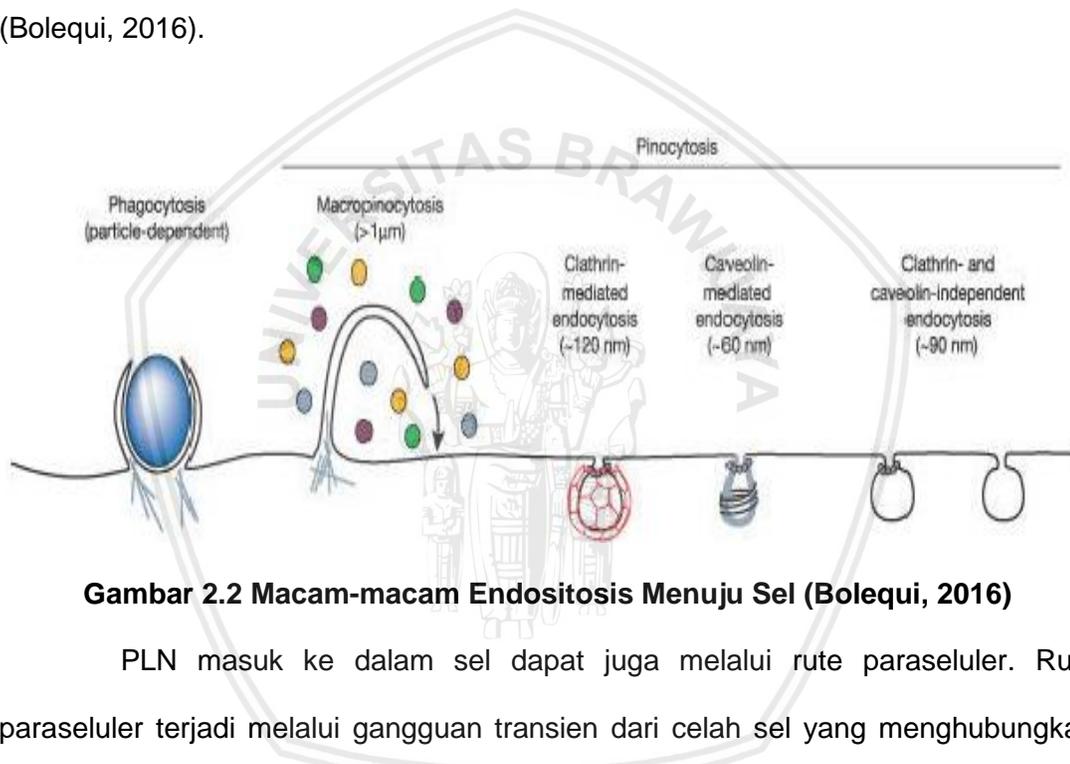
Selain ukuran partikel, sifat permukaan juga berperan penting dalam formulasi PLN. Salah satu pendekatan yang mungkin untuk meningkatkan waktu sirkulasi nanopartikel dalam aliran darah adalah memodifikasi permukaan partikel dan meminimalkan atau mengeliminasi adsorpsi protein. Mekanisme dari adsorpsi protein dikaitkan dengan interaksi elektrostatis. Interaksi elektrostatis dari nanopartikel dapat dikontrol oleh variasi dari permukaan partikel yang dapat ditentukan oleh potensial zeta dari partikel tersebut. Nanopartikel yang mempunyai potensial zeta positif memiliki penyerapan protein yang baik, namun ada penelitian yang menjelaskan bahwa liposom yang memiliki potensial zeta negatif dapat meningkatkan respon imun, formulasi tersebut secara cepat dihilangkan dari sirkulasi oleh retikulum endoplasma (RES). Sehingga, nanopartikel yang mempunyai potensial zeta negatif tidak signifikan dalam penyerapan protein. Dengan memvariasikan sifat permukaan, dapat terjadi interaksi antara protein dan adsorbent untuk penyerapan selektif dari protein (Honary dan Zahir, 2013).

Untuk pengaruh pada sistem mukoadesif, potensial zeta yang memiliki nilai positif mungkin memberikan interaksi elektrostatis yang kuat dengan mukosa atau permukaan mukosa yang bermuatan negatif. Maka, dapat digunakan nanopartikel yang bermuatan positif dan memiliki sifat mukoadesif contohnya chitosan sehingga dapat mendorong adhesi ke sel mukosa yang normalnya bermuatan negatif (Honary dan Zahir, 2013).

2.4 Mekanisme PLN Masuk ke Dalam Sel

PLN masuk ke dalam sel melalui endositosis. Mekanisme endositosis sendiri ada dua yaitu fagositosis dan pinositosis. Fagositosis terjadi melalui sel imun fagosit yaitu makrofag, monosit, neutrofil, sel dendrit, dan sel M. Pinositosis terjadi melalui mekanisme yang berbeda yaitu : *macropinocytosis*, *clathrin-mediated endocytosis (CME)*, *caveolae-mediated endocytosis (CvME)* dan *clathrin- and caveolae-independent endocytosis* (Gambar 2.2). Macropinocytosis adalah endositosis fase cair yang bergantung pada konsentrasi zat terlarut sekitar sel. Sama dengan fagositosis, makropinositosis terjadi melalui pembentukan membran pertusi yang pada akhirnya hancur oleh membran yang menghasilkan vesikel endositosis yang mempunyai ukuran 1 μm . CME terjadi melalui interaksi antara reseptor-ligan yang membentuk vesikel yang membungkus clathrin yang dibawa menuju nucleus setelah pengambilan *GTPase* termediasi *dynamin* (Bolequi, 2016). CME terjadi ketika salahsatu lubang dari membrane sel dibentuk oleh polimerisasi dari *clathrin-1* dan kumpulan protein lain. Ligan yang mengikat reseptor akan termakan pada lubang tersebut. Sebuah enzim menangkap kumpulan vesikel, dan cangkang dari *clathrin* akan menghilang. Vesikel tersebut akan menyatu dengan endosome dan dideteksi oleh sel. Nanomaterial yang bermuatan positif juga dilaporkan dapat masuk lebih cepat melalui endositosis termediasi *clathrin* dibandingkan dengan nanomaterial bermuatan negatif (Stavropoulos, 2011). CvME adalah mekanisme utama endositosis di sebagian besar sel. CvME terjadi pada membrane utama yang kaya akan kolesterol dan sphingolipid yang dilapisi oleh sebuah protein dimerik yaitu

caveolin. Pemecahan caveolae dari membran menghasilkan membran berbentuk seperti labu/botol yang membentuk vesikula caveolar yang menghindarkan dari degradasi lisosomal. CvME merupakan rute alternative menuju target ketika muatan nanopartikel sensitif terhadap enzim (misal peptida, protein, dan asam nukleat). Namun, CvME dalam prosesnya diatur oleh persinyalan yang kompleks yang kemungkinan diatur oleh muatannya itu sendiri dan terjadi lebih lambat dari CME (Bolequi, 2016).



Gambar 2.2 Macam-macam Endositosis Menuju Sel (Bolequi, 2016)

PLN masuk ke dalam sel dapat juga melalui rute paraseluler. Rute paraseluler terjadi melalui gangguan transien dari celah sel yang menghubungkan sel yang berdekatan yaitu *tight junction*. Regulasi protein yang dibentuk oleh *tight junction* (misalnya *junctional adhesion molecules (JAMs)*, *occludins*, dan *claudins*) mengatur fungsi dari *barrier* untuk mempersilahkan PLN masuk secara selektif dan tidak mengangkut zat-zat yang ada di antara sel (Bolequi, 2016).

Permukaan PLN dapat disesuaikan untuk menentukan mekanisme mana yang dipakai dalam pengantaran masuk ke dalam sel. Ikatan antara ligan dan

reseptor pada sel epitel dapat dihantarkan melalui *barrier* epitel. Nanopartikel yang ukurannya sangat kecil dapat menuju sel epitel melalui jalur paraseluler, kemudian melalui *barrier* epitel. Nanopartikel yang sifatnya lipofilik dapat permeasi menuju *barrier* epitel melalui jalur transeluler. Nanopartikel yang bermuatan kationik dapat menuju sel epitel dengan adsorpsi termediasi (Bolequi, 2016).

Seperti yang sudah dijelaskan, nanopartikel kebanyakan menuju sel target melalui endositosis. Mekanisme yang digunakan dalam endositosis bergantung pada sifat fisikokimia dari nanopartikel misalnya sifat permukaan, sifat hidrofobik, dan ukuran partikel dari *Polymeric-Lipid Nanoparticle* (Bolequi, 2016).

2.5 PLN Na Alginat - Egg PC

Hasil studi menunjukkan bahwa kombinasi polimer dengan lipid untuk pengantaran obat dapat memperbaiki stabilitas, meningkatkan *cellular uptake*, dan menghambat biodistribusi (Liu *et al*; 2010). Nanopartikel polimer-lipid mengkombinasikan keuntungan karakteristik polimer dan lipid dan mengatasi hambatan fisikokimia masing-masing bahan dan karakteristiknya dalam sistem biologis (Wong *et al*; 2006). Jenis polimer yang dapat digunakan untuk membentuk nanopartikel adalah Na Alginat dan jenis lipid yang digunakan adalah Egg PC (*Egg Phosphatidylcholine*). Fosfatidilkolin yang diperoleh dari telur (Egg PC) merupakan salah satu lipid netral yang dapat dikombinasikan dengan polimer untuk menghasilkan nanopartikel solid berdasarkan interaksi hidrofobik. Sistem gabungan ini dapat dapat melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah

kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake* (Galleti *et al*; 2014).

Komponen polimer, Na Alginat adalah polimer alami yang banyak digunakan dalam pembuatan mikro dan nanopartikel. Na Alginat mempunyai sifat bioadesif yang memungkinkan untuk membantu perpanjangan adesi dari formulasi pada mukosa intestinal . Kemudian, dengan meningkatkan intak dengan saluran pencernaan, maka obat yang dibawa dengan system pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle* menggunakan Na Alginat akan meningkat bioavailabilitasnya pada sediaan oral (Ahmad *et al*; 2005). Keuntungan menggunakan natrium alginat yaitu Na alginat mampu membungkus obat yang sifatnya lipofilik yang digunakan dalam berbagai teknik, mempunyai stabilitas tinggi, sifatnya sederhana, tidak toksik, biokompatibilitas, dan murah. Selain itu, Na alginat memiliki kekuatan mukoadhesif tertinggi dibandingkan dengan polimer alami dan sintetis lainnya (Thwala, 2012).

2.6 Metode Pembuatan PLN

Secara umum, metode pembuatan PLN ada 8 metode. Pada Penelitian ini digunakan metode yang digunakan adalah metode nanopresipitasi. Metode nanopresipitasi adalah metode yang cepat dan dapat direproduksi untuk membuat PLN. Prinsipnya dengan pendekatan polimer dan obat-obatan yang pertama tersebar dalam pelarut larut dalam air (misalnya, aseton dan asetonitril). Kemudian, solusinya diteteskan ke dalam fase air yang mengandung lipid, dan nanopartikel dicampur dengan proses pemutaran dan homogenisasi. Metode pembuatan ini berdasarkan pada metode emulsifikasi, dengan penambahan lipid untuk agen

permukaan aktif. Lipid, polimer, dan obat-obatan dilarutkan dalam fase minyak, dan fase minyak dicampur dengan fase air untuk membentuk emulsi O / W. Bagian hidrofobik dari lipid menempel pada inti polimer, dan ujung hidrofilik dari lipid memanjang ke fase berair untuk secara efektif membentuk PLN. Pelarut organik yang digunakan dalam metode ini dapat bersifat toksik, maka residu pelarut harus dihilangkan (Zhang *et al*; 2015).

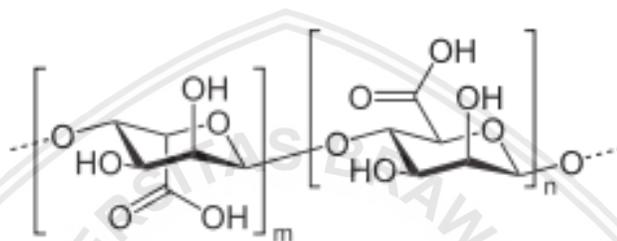
2.7 Monografi bahan

2.7.1 Natrium Alginat (Na Alginat)

Alginat diperoleh terutama dari spesies ganggang coklat *Laminaria hiperborean*, *Ascophyllum nodosum*, dan *Macrocystis pyrifera*. Alginat banyak ditemukan di alam dan dapat dengan mudah membentuk nanopartikel dengan kemampuannya untuk membentuk hydrogel *cross-link* (Peniche *et al*; 2003; Thwala, 2012). Na Alginat (Gambar 2.3) mempunyai sifat bioadesif yang memungkinkan untuk membantu perpanjangan adesi dari formulasi pada mukosa intestinal . Kemudian, dengan meningkatkan intak dengan saluran pencernaan, maka obat yang dibawa dengan system pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle* menggunakan Na Alginat akan meningkat bioavailabilitasnya pada sediaan oral (Ahmad *et al*; 2005). Keuntungan menggunakan natrium alginat yaitu Na Alginat mampu membungkus obat yang sifatnya lipofilik yang digunakan dalam berbagai teknik, mempunyai stabilitas tinggi, sifatnya sederhana, tidak toksik, biokompatibilitas, dan murah. Selain itu, Na alginat memiliki kekuatan mukoadhesif

tertinggi dibandingkan dengan polimer alami dan sintetis lainnya (Thwala, 2012). Pemerian dari Na Alginat adalah Natrium alginat berupa serbuk warna putih atau kuning-coklat pucat, tidak berbau dan tidak berasa. Na Alginat mempunyai nama lain Algin, asam alginic, garam sodium. Rumus molekulnya adalah $(C_6H_8O_6)_n$.

Na Alginat mempunyai struktur kimia sebagai berikut

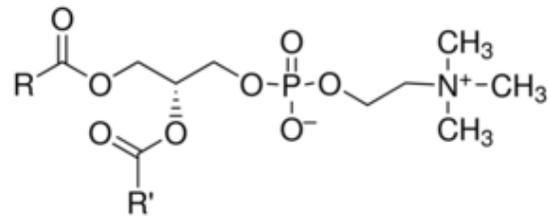


Gambar 2.3 Na Alginat (Rowe, 2009)

Berat jenisnya adalah 10.000 – 600.000. Kelarutan Na Alginat sendiri Na Alginat praktis tidak larut dalam etanol (95%), eter, kloroform, dan etanol / campuran air di mana kandungan etanol lebih besar dari 30%. Juga, praktis tidak larut dalam pelarut organik lainnya dan larutan asam berair dimana pH kurang dari 3. Perlahan larut dalam air, membentuk larutan koloid yang kental. Inkompatibilitas dari Na Alginat inkompatibel dengan turunan acridine, kristal violet, garam kalsium, logam berat, dan etanol dengan konsentrasi lebih besar 5%. Konsentrasi rendah dari elektrolit menyebabkan peningkatan viskositas, namun konsentrasi elektrolit yang tinggi menyebabkan proses salting-out natriumalginat. Sebaiknya Na Alginat disimpan di tempat dengan kelembaban relatif rendah dan temperatur dingin (kedap udara)(Rowe, 2019).

2.7.2 Egg phosphatidylcholine (Egg PC)

Egg phosphatidylcholine (Egg PC) (Gambar 2.4) adalah fosfolipid yang berasal dari jaringan hewan, lebih tepatnya dari kuning telur ayam. Kuning telur ayam merupakan sumber yang penting dari pembuatan Egg PC. Apabila dibandingkan dengan Soy PC, Egg PC memiliki beberapa kelebihan yaitu Egg PC mengandung lebih banyak komponen fosfatidilkolin didalamnya, fosfolipid dalam Egg PC mempunyai rantai asam lemak panjang yang tidak tersaturasi oleh n-6 dan n-3, terutama *arachidonic acid* (AA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) dimana Soy PC tidak memilikinya, serta saturasi dari Egg PC lebih tinggi daripada Soy PC sehingga stabilitas oksidatifnya lebih baik dari Soy PC (Jing Li *et al*, 2014). Kemudian, Egg PC merupakan salah satu lipid netral yang dapat dikombinasikan dengan polimer untuk menghasilkan nanopartikel solid berdasarkan interaksi hidrofobik. Sistem gabungan ini dapat melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake* (Galletti *et al*; 2014). Kelebihan Egg PC inilah yang membuat Egg PC ini menjadi pilihan untuk pengembangan sistem pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle* untuk kayu manis. Pemerian Egg PC sendiri bentuknya bervariasi, mulai dari semilikuid kental hingga padat, tergantung pada kandungan asam lemak bebasnya. Nama lain dari Egg PC adalah Lecithins; E 322; Lecithin (egg); Lecithinon; Phospholutein; 3-fluoro-UB. Rumus molekulnya adalah $C_{42}H_{80}NO_8P$. Struktur kimianya adalah

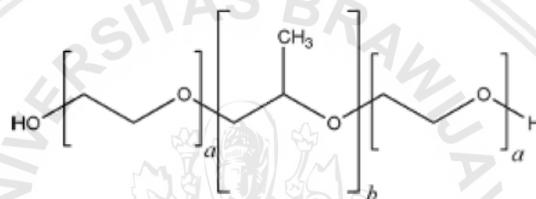


R, R' = fatty acid residues

Gambar 2.4 Egg PC (Rowe, 2009)

Berat jenis nya adalah 758.06. Kelarutan Egg PC sendiri larut dalam kloroform, etil eter, dan etanol. Inkompatibilitasnya adalah inkompatibel dengan ester karena hidrolisis. Egg PC sendiri harus disimpan pada suhu -20° (Rowe, 2009).

2.7.3 Poloxamer



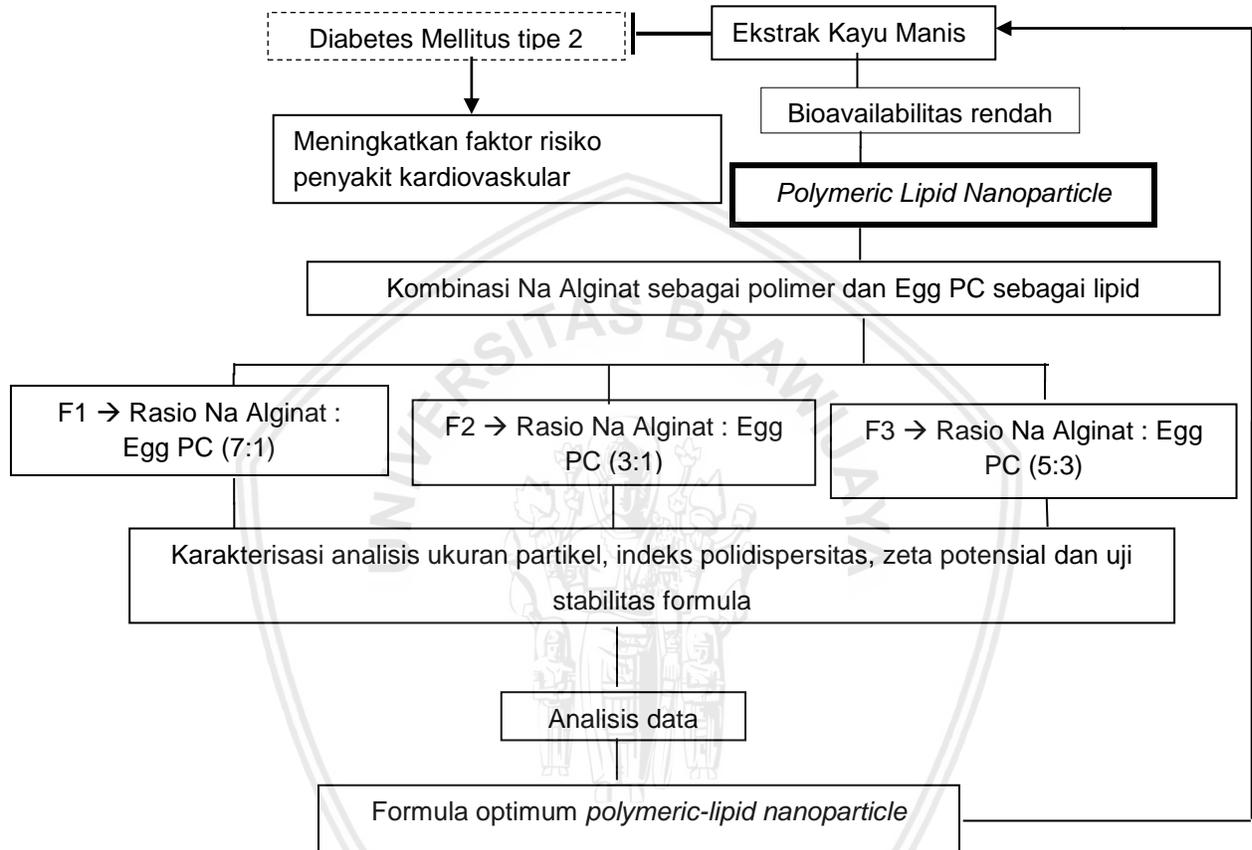
Gambar 2.5 Poloxamer (Rowe, 2009)

Pemerian poloxamer sendiri adalah umumnya poloxamer berwarna putih, lilin, berbentuk granul yang mudah mengalir, atau berbentuk padatan, tidak berbau dan tidak berasa. Nama lain dari poloxamer adalah lutrol, monolan, pluronic, poloxalkol, polietilenpropilen glikol kopolimer, supronic, synperonic, kolliphor P. Poloxamer juga stabil dalam larutan berair dengan adanya asam, basa, dan ion metal. Penyimpanan poloxamer sendiri ditempat yang sejuk maupun kering. Pemilihan poloxamer 407 dalam penelitian ini 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).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

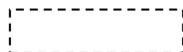
3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:



: variabel yang diteliti



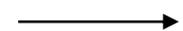
: variabel yang tidak diteliti



: variabel yang berpengaruh



: berhubungan



: berpengaruh

3.2 Penjabaran Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak kayu manis digunakan sebagai terapi diabetes mellitus tipe 2. Kandungan ekstrak kayu manis yang berperan dalam terapi diabetes mellitus tipe 2 adalah *cinnamaldehyde* yang dapat mengalami kerusakan komponen aktif karena *first pass metabolism* di liver. Sehingga solusi untuk *first pass metabolism* ini dikembangkan formula untuk sistem pengantaran ekstrak kayu manis tersebut menggunakan sistem pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle*.

Polymeric-lipid nanoparticle mengkombinasikan polimer dan lipid yang harapannya menghindari kerusakan akibat *first pass metabolism* agar bioavailabilitas tetap tinggi. Kombinasi polimer Na Alginat dan lipid Egg PC karena diharapkan dapat melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake* di tempat aksi (seluler). Rasio kombinasi Na Alginat dan Egg PC mempengaruhi terbentuknya PLN diantaranya adalah dari segi ukuran partikel. Ukuran partikel yang diinginkan adalah 2-1000 nm (Sharma *et al.*, 2015). Pada formula *Polymeric-Lipid Nanoparticle* ini menggunakan variasi perbandingan Na Alginat dan Egg PC, yakni F1 (7 : 1), F2 (3 : 1), dan F3 (5 : 3). Pemilihan rasio tersebut berdasarkan penelitian sebelumnya dapat menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimum. Penelitian yang pernah dilakukan oleh Yu *et al* pada tahun 2016, rasio dengan polimer : lipid (5 : 3) merupakan rasio yang menghasilkan formula PLN yang mengandung ekstrak kayu manis paling optimal. Dari formula tersebut kemudian akan dilakukan karakterisasi Karakterisasi analisis ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial dan uji stabilitas formula.

3.3 Hipotesis Penelitian

Kombinasi polimer Na Alginat dan lipid Egg PC dengan perbandingan 5 : 3 dapat digunakan untuk menghasilkan formula *Polymeric-Lipid Nanoparticle* dalam sistem pengantaran ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) berdasarkan spesifikasi ukuran partikel yang dihasilkan dari metode *Dynamic Light Scattering* (DLS).



BAB 4

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 Na Alginat sebagai polimer terhadap Egg PC sebagai lipid dalam formulasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle*.

4.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah ukuran partikel, zeta potensial, indeks polidispersitas, dan uji stabilitas dari *polymeric-lipid nanoparticle*.

4.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol penelitian ini adalah rasio fase organik dan fase aqueous, jumlah pelarut organik, jumlah fase aqueous, jumlah ekstrak, dan perlakuan tiap formulasi.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmasetika Jurusan Farmasi, serta Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Penelitian ini berlangsung antara bulan November 2018 hingga Mei 2019.

4.4 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) kering yang diperoleh dari PT. Borobudur, Purworejo, Jawa Tengah, WFI (Water For Injection) (Otsuka Indonesia®), Na Alginat (Sigma®), Egg PC (Sigma®), Aseton, Metanol, Poloxamer 407.

Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi lapis tipis, ultraturax (IKA®), *magnetic stirrer*, sentrifugase, *hotplate* (IKA®), *overhead stirrer* (IKA®), *particle size analyzer* (Malvern®).

4.5 Definisi Operasional

1. *Polymeric-Lipid Nanoparticle* ekstrak kayu manis adalah nanopartikel yang menggunakan kombinasi Na Alginat sebagai polimer dan Egg PC sebagai lipid untuk sistem pengantaran ekstrak kayu manis.
2. Nanopresipitasi adalah metode dimana fase organik (Egg PC dan ekstrak kayu manis yang dilarutkan dalam aseton-metanol) kemudian diteteskan ke dalam fase aqueous (Na Alginat yang dilarutkan dalam larutan aqueous poloxamer) lalu dihomogenkan dan diuapkan komponen pelarut organiknya. Kemudian campuran tersebut disentrifugasi untuk

memisahkan agregat berukuran besar dan dihasilkan supernatan yang merupakan nanopartikel ekstrak kayu manis.

3. Formula optimal adalah rasio Na Alginat dan Egg PC yang menghasilkan *polymeric-lipid nanoparticle* mengandung ekstrak kayu manis pada ukuran 2-1000 nm.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Identifikasi Kandungan Polifenol Ekstrak Kayu Manis

Ekstrak kayu manis yang didapatkan dari PT. Borobudur dilakukan identifikasi kandungan polifenol ekstrak kayu manis dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan fase gerak yaitu kloroform : metanol (9:1) v/v, sedangkan fase diam yang digunakan adalah Silica Gel 60 F254 dengan jarak elusi 8 cm. Cuplikan dibuat dengan konsentrasi 1% b/v dan ditotolkan sebanyak 5 totolan dengan menggunakan pipa kapiler. Setiap penotolan dilakukan setelah totolan sebelumnya kering. Pada pemeriksaan polifenol deteksi dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot FeCl₃. Pereaksi semprot FeCl₃ digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol, tetapi tidak dapat digunakan untuk membedakan macam-macam golongannya. Adanya senyawa fenol dapat ditunjukkan dengan pereaksi FeCl₃ yang memberikan bercak warna biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan (Wardhani, 2012).

4.6.2 Preparasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu Manis

Preparasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle* dilakukan dengan menggunakan teknik nano-precipitation (Zhang *et al*; 2015). Egg PC, Na Alginat, dan ekstrak kayu manis dilarutkan dalam acetone-methanol (3: 2, v/v) yang selanjutnya disebut sebagai fase organik. Poloxamer 407 dilarutkan dalam aquadest (1% w/v) menggunakan bantuan ultrasonik dan hasilnya disebut sebagai fase *aqueous*. Fase organik kemudian ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase *aqueous* dengan rasio minyak-air 1: 10 (v/v) lalu dihomogenkan menggunakan homogenizer ultraturax (IKA®) pada kecepatan 8000 rpm selama 5 menit pada waktu yang bersamaan. Campuran tersebut dilanjutkan pengadukannya menggunakan *overhead stirrer* (IKA®) pada suhu ruangan 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 PLN (Anonim, 2018). Dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi rasio polimer dan lipid yang paling optimal dalam menghasilkan nanopartikel. Dilakukan tiga formulasi nanopartikel polimer-lipid dengan perbandingan jumlah Na Alginat dan Egg PC seperti dalam tabel di bawah ini.

Tabel 4. 1. Perbandingan Jumlah Komponen Polimer dan Lipid

FORMULA	RASIO Na Alginat : Egg PC (%)
1	7 : 1
2	3 : 1
3	5 : 3

4.6.3 Karakterisasi PLN Ekstrak Kayu Manis

4.6.3.1 Analisis ukuran partikel

Ukuran partikel, polidispersitas, dan zeta potensial nanopartikel dievaluasi menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) (Yu *et al*; 2016). Evaluasi ini dilakukan terhadap setiap formula untuk mengetahui ketercapaian skala nano pada formula yang dioptimasi. Sebelum nanopartikel diisi ekstrak kayu manis, terlebih dahulu dilakukan optimasi rasio Na Alginat sebagai polimer dan Egg PC sebagai lipid.

4.6.3.2 Uji Stabilitas

Uji stabilitas ini digunakan untuk mengetahui stabilitas sediaan, untuk memastikan bahwa sediaan tidak akan mengalami perubahan selama penyimpanan (30 hari). Sediaan nanopartikel disimpan pada suhu 4° C selama 30 hari. Kondisi fisik nanopartikel selama uji tersebut dibandingkan dengan sediaan sebelumnya (Banker, 1997).

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* ekstrak kayu manis dengan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 7 : 1, F2 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 3 : 1, dan F3 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3.

Tabel 4.2 Komposisi Formula *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu Manis

Kode formula	Fase Organik (1)				Fase Aqueous (10)
	Ekstrak Kayu Manis (mg)	Na Alginat (mg)	Egg PC (mg)	Aseton : Metanol	Poloxamer 407 (%)
F1	200	112	16	3 : 2	1
F2	200	96	32	3 : 2	1
F3	200	80	48	3 : 2	1

4.7.2 Rasionalisasi Formula

Pada penelitian ini *polymeric lipid nanoparticle* ekstrak kayu manis dibuat dengan metode nanopresipitasi dengan komponen formula yang terdiri dari ekstrak kayu manis sebagai bahan aktif, Na Alginat sebagai polimer, Egg PC sebagai lipid,

aseton dan metanol sebagai pelarut (fase organik), poloxamer 407 sebagai surfaktan untuk fase aqueous.

Pada formulasi ini dilakukan dengan metode nanopresipitasi, dimana metode ini berdasarkan pada hasil endapan antar polimer setelah perpindahan pelarut semi-polar yang dapat bercampur dengan air dari larutan lipofilik. Digunakan metode nanopresipitasi karena metode ini sesuai untuk pelarut yang larut dalam air, seperti aseton dan metanol (Zhang *et al.*, 2010).

Jumlah ekstrak yang digunakan berdasarkan penelitian yang dilakukan (Devrim dan Bozkir, 2014) bahwa dengan jumlah ekstrak yang dienkapsulasi oleh *polymeric-lipid nanoparticle* menghasilkan ukuran partikel yang kurang dari 1000 nm. Polimer yang digunakan dalam formulasi ini yaitu Na Alginat. Na Alginat dipilih karena Na Alginat mempunyai sifat bioadesif yang memungkinkan untuk membantu perpanjangan adesi dari formulasi pada mukosa intestinal. Kemudian, dengan meningkatkan intak dengan saluran pencernaan, maka obat yang dibawa dengan sistem pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle* menggunakan Na Alginat akan meningkat bioavailabilitasnya pada sediaan oral (Ahmad *et al.*; 2005). Selain itu, Na Alginat mampu membungkus obat yang sifatnya lipofilik yang digunakan dalam berbagai teknik, mempunyai stabilitas tinggi, sifatnya sederhana, tidak toksik, biokompatibilitas, dan murah. Selain itu, Na Alginat memiliki kekuatan mukoadhesif tertinggi dibandingkan dengan polimer alami dan sintetis lainnya (Thwala, 2012). Kemudian untuk komponen lipid yaitu Egg PC dipilih karena Egg PC merupakan salah satu lipid netral yang dapat dikombinasikan dengan polimer untuk menghasilkan nanopartikel solid berdasarkan interaksi hidrofobik. Sistem gabungan

ini dapat dapat melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake* (Galleti *et al*; 2014). Aseton dan metanol digunakan sebagai pelarut pada fase organik dikarenakan ekstrak kayu manis 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).

4.8 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. 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 Ekstrak Kayu Manis

Identifikasi ekstrak kayu manis yang diperoleh dari PT. Borobudur dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan polifenol pada ekstrak kayu manis menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Identifikasi 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 ekstrak kayu manis dibuat dengan konsentrasi 1% b/v dan ditotolkan sebanyak 1 totolan dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian plat KLT tersebut disemprot dengan pereaksi semprot FeCl_3 untuk mendeteksi adanya polifenol. Totolan yang dihasilkan melalui proses penyemprotan tersebut berwarna biru kehitaman yang berarti adanya kandungan polifenol dalam ekstrak kayu manis. Sehingga ekstrak kayu manis tersebut positif mengandung polifenol. Nilai Rf yang dihasilkan adalah 0,28. Hasil tersebut menunjukkan nilai Rf masuk dalam rentang nilai Rf yang baik yaitu antara 0,2 - 0,8 (Ewing, 1985). Dalam mengidentifikasi senyawa, senyawa dengan nilai Rf yang besar akan bersifat non polar (Lipsy, 2010). Rf yang dihasilkan dari identifikasi bernilai kecil, maka menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis mengandung senyawa polifenol yang bersifat polar. Hasil identifikasi kandungan polifenol ekstrak kayu manis ini terdapat pada gambar 5.1



Gambar 5.1 Hasil Skrining Kandungan Polifenol Ekstrak Kayu Manis.

5.2 Hasil Optimasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu Manis

Optimasi yang dilakukan pada *polymeric-lipid nanoparticle* terdiri dari ekstrak kayu manis sebagai bahan aktif, Na Alginat sebagai polimer, Egg PC sebagai lipid, pelarut organik aseton dan metanol, serta larutan poloxamer 407 (1%) sebagai fase aqueous. Optimasi formula *polymeric-lipid nanoparticle* menggunakan perbandingan polimer Na Alginat dan lipid Egg PC sebagai fase organik, dan larutan poloxamer 407 (1%) sebagai fase aqueous. Prosedur yang dilakukan adalah Egg PC, Na Alginat, dan ekstrak kayu manis dilarutkan dalam acetone-methanol (3: 2, v/v) yang selanjutnya disebut sebagai fase organik. Poloxamer 407 dilarutkan dalam aquadest

(1% w/v) dan hasilnya disebut sebagai fase *aqueous*. Fase organik kemudian ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase *aqueous* dengan rasio minyak-air 1: 10 (v/v) lalu dihomogenkan menggunakan homogenizer ultraturax (IKA®) pada kecepatan 8000 rpm selama 5 menit pada waktu yang bersamaan. Campuran tersebut dilanjutkan pengadukannya menggunakan *overhead stirrer* (IKA®) pada suhu ruangan 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 PLN (Anonim, 2018). Pengamatan secara organoleptik dilakukan pada replikasi 1 dan 2 dan hasilnya terdapat pada tabel 5.1 serta gambar 5.2. Setiap sediaan yang dihasilkan dari replikasi 1 dan 2 dilakukan uji PSA guna mengetahui ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial.

Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Organoleptik *Polymeric-Lipid* Ekstrak Kayu Manis

Formula	Perbandingan polimer : lipid	Pengamatan Organoleptik setelah Sentrifugasi
F1	7 : 1	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye cerah • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis • Tidak terdapat endapan
F2	3 : 1	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye agak gelap • Cair • Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis • Tidak terdapat endapan
F3	5 : 3	<ul style="list-style-type: none"> • Berwarna oranye cerah

-
- Cair
 - Berbau seperti larutan ekstrak kayu manis
 - Tidak terdapat endapan
-



Gambar 5.2 Hasil Pengamatan Organoleptik *Polymeric-Lipid* Ekstrak Kayu Manis

5.3 Hasil Evaluasi Karakterisasi PLN Ekstrak Kayu Manis

Setelah dilakukan preparasi *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu Manis, langkah selanjutnya adalah dilakukan evaluasi karakterisasi PLN Ekstrak Kayu Manis dengan analisis ukuran partikel. Analisis ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (Malvern®), sampel diambil dan dimasukkan kedalam kuvet kemudian diletakkan kedalam alat dan dilakukan analisis. Analisis dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali masing-masing formula.

Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, didapatkan hasil uji ukuran partikel seperti pada tabel 5.2 (tabel 5.2).

Tabel 5.2 Hasil Evaluasi Karakterisasi *Polymeric-Lipid* Nanoparticle Ekstrak Kayu Manis

<i>Formula</i>	<i>Ukuran Partikel (nm) (Rata-rata ± SD)</i>	<i>Indeks Polidispersitas (PDI) (Rata-rata ± SD)</i>	<i>Zeta Potensial (Rata-rata ± SD)</i>
<i>F1</i>	438,63 ± 6,70	0,64 ± 0,01	-25,13 ± 1,53
<i>F2</i>	478,26 ± 4,80	0,59 ± 0,04	-24,63 ± 0,98
<i>F3</i>	372,36 ± 3,62	0,83 ± 0,05	-25,76 ± 3,88

Dalam penelitian ini, ukuran partikel merupakan hasil yang disoroti. Berdasarkan hasil analisis ukuran partikel, *polymeric-lipid nanoparticle* dari F1, F2, F3, masih dalam rentang ukuran untuk nanopartikel yaitu kurang dari 1000 nm. Hasil ukuran partikel yang mempunyai ukuran paling kecil adalah F3 dibanding dengan formula lainnya. Dilihat dari organoleptik juga sediaan F3 mempunyai warna yang paling cerah dan ukurannya paling kecil.

Selanjutnya dilakukan analisis statistik data untuk melihat perbedaan ukuran partikel. Analisis statistik data yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang kurang dari 50

sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk ukuran partikel pada F1, F2, F3, diperoleh hasil nilai p 0,088 , sehingga perserbaran data dari ukuran partikel tersebut normal karena memiliki $p > 0,05$. Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's test* menghasilkan nilai signifikansi 0,333 , sehingga kelima formula tersebut mempunyai varians data yang homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelima formula dan menghasilkan nilai signifikansi 0,000, sehingga terdapat perbedaan ukuran partikel yang bermakna.

Hasil analisis ukuran partikel yang lain yaitu indeks polidispersitas menunjukkan dari tiga formula ini yang masuk dalam rentang indeks polidispersitas yang baik yaitu $< 0,7$ adalah F1 dan F2. Untuk F3 mempunyai indeks polidispersitas yang $> 0,7$. Kemudian untuk data indeks polidispersitas juga dilakukan analisis statistik data sama seperti ukuran partikel. Analisis statistik data yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang kurang dari 50 sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk indeks polidispersitas pada F1, F2, F3 diperoleh hasil nilai p 0,145 sehingga perserbaran data dari indeks polidispersitas tersebut normal karena memiliki $p > 0,05$. Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's test* menghasilkan nilai signifikansi 0,093, sehingga kelima formula tersebut mempunyai varians data yang homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelima formula dan menghasilkan nilai signifikansi 0,001, sehingga terdapat perbedaan indeks polidispersitas yang bermakna.

Yang terakhir, hasil uji zeta potensial dari ketiga formula tersebut sediannya stabil dikarenakan mempunyai hasil yang dekat dengan ± 25 mV kecuali F2. Nilai zeta potensial yang baik adalah diatas atau dibawah ± 25 mV sehingga sediaan mempunyai derajat kestabilan yang tinggi (Ronson, 2012). Kemudian untuk data zeta potensial juga dilakukan analisis statistik data sama seperti ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Analisis statistik data yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang kurang dari 50 sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk zeta potensial pada F1, F2, F3 diperoleh hasil nilai p 0,961 sehingga perserbaran data dari zeta potensial tersebut normal karena memiliki $p > 0,05$. Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's test* menghasilkan nilai signifikansi 0,154, sehingga kelima formula tersebut mempunyai varians data yang homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelima formula dan menghasilkan nilai signifikansi 0,858 sehingga tidak terdapat perbedaan zeta potensial yang bermakna.

5.4 Hasil Uji Stabilitas

Uji stabilitas sediaan PLN ini untuk mengetahui stabilitas bahwa sediaan tidak akan mengalami perubahan selama penyimpanan (30 hari). Sediaan nanopartikel disimpan pada suhu 4° C selama 30 hari. Kondisi fisik nanopartikel selama uji tersebut dibandingkan dengan sediaan sebelumnya (Banker, 1997). Sediaan yang diuji adalah supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi sediaan dengan kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit dan 10.000 rpm selama 15 menit.

Parameter untuk uji stabilitas ini adalah organoleptik dari supernatan sediaan hari ke 30 yang dibandingkan dengan hari ke 0.

Tabel 5.3 Hasil Uji Stabilitas *Polymeric-Lipid* Ekstrak Kayu Manis

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



F1

F2

F3

5.3 Gambar Hasil Uji Stabilitas *Polymeric-Lipid Nanoparticle* Ekstrak Kayu

Manis

Hasil uji stabilitas sediaan pada hari ke 30 apabila dibandingkan dengan sediaan hari ke 0 menunjukkan pada replikasi 1 dan 2 pada masing-masing formula didapati endapan mudah terdispersi, namun kondisi organoleptik lainnya seperti warna, bentuk, dan bau tidak mengalami perubahan. Endapan tersebut mudah terdispersi apabila mengalami pengocokan.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui rasio polimer Na Alginat dan lipid Egg PC dalam menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimal untuk menghantarkan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) berdasarkan ukuran partikel. Ekstrak kayu manis sendiri mengandung jenis polifenol cinnamaldehida yang pada penelitian sebelumnya memberikan perbedaan signifikan atau bermakna dalam kadar Glukosa Darah Puasa 2 jam Post Prandial di Puskesmas Ngawi, Kecamatan Ngawi, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur setelah diberikan intervensi berupa seduhan bubuk kayu manis dalam dosis 8 gram maupun 10 gram dengan hasil yang signifikan pada penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 (Arini dan Ardriaria, 2016). Permasalahannya adalah sebelum komponen-komponen cinnamaldehida tersebut sampai di aliran darah sistemik terlebih dahulu mengalami modifikasi struktural menjadikan cinnamaldehida dalam liver menjadikan sebagian besar cincin aldehida cinnamaldehida telah berubah menjadi asam cinnamat (Zhao *et al*; 2015). Apabila banyak asam cinnamat dalam tubuh dapat menjadikan tubuh mengalami gangguan pencernaan seperti mual dan muntah pada umumnya. Oleh karena itu diperlukan sistem pengantaran yang dapat menghindarkan senyawa aktif dari kerusakan dalam saluran pencernaan untuk rute pemberian oral. Solusi dari permasalahan ini adalah dengan mengkombinasikan nanopartikel berbasis polimer dengan nanopartikel berbasis lipid. Penelitian ini bertujuan untuk mengkombinasikan

kemanfaatan yang dimiliki oleh bahan polimer, yaitu untuk meningkatkan lama waktu tinggal pada permukaan sel absorpsi sehingga memberikan kesempatan obat untuk berpartisipasi menuju sel absorptif sekaligus melindungi zat aktif dari kerusakan dalam saluran pencernaan, memfasilitasi pembukaan *tight junction* pada sel absorpsi secara reversibel sehingga meningkatkan permeabilitas paraseluler partikel hidrofilik yang dengan ini memberikan keuntungan untuk absorpsi sediaan nanopartikel (O'Driscoll, 2002). Optimasi yang dilakukan pada *polymeric-lipid nanoparticle* terdiri dari ekstrak kayu manis sebagai bahan aktif, Na Alginat sebagai polimer, Egg PC sebagai lipid, pelarut organik aseton dan metanol, serta larutan poloxamer 407 (1%) sebagai fase aqueous. Optimasi formula *polymeric-lipid nanoparticle* menggunakan perbandingan polimer Na Alginat dan lipid Egg PC sebagai fase organik, dan larutan poloxamer 407 (1%) sebagai fase aqueous.

Bahan yang digunakan untuk polimer adalah Na Alginat dan lipid yang digunakan adalah Egg PC (*Egg Phosphatidylcholine*). Na Alginat mempunyai sifat bioadesif yang memungkinkan untuk membantu perpanjangan adesi dari formulasi pada mukosa intestinal. Kemudian, dengan meningkatkan *intake* dengan saluran pencernaan, maka obat yang dibawa dengan system pengantaran *Polymeric-Lipid Nanoparticle* menggunakan Na Alginat akan meningkat bioavailabilitasnya pada sediaan oral (Ahmad *et al*; 2005). Fosfatidilkolin yang diperoleh dari telur (Egg PC) merupakan salah satu lipid netral yang dapat dikombinasikan dengan polimer untuk menghasilkan nanopartikel solid berdasarkan interaksi hidrofobik. Sistem gabungan ini dapat melindungi permukaan nanopartikel yang dibentuknya (mencegah kebocoran partikel), mengurangi toksisitas, dan meningkatkan *cellular uptake*

(Galleti *et al*; 2014). Aseton dan metanol digunakan sebagai pelarut pada fase organik dikarenakan ekstrak kayu manis 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).

Pencampuran seluruh komponen fase organik menghasilkan campuran yang keruh berwarna oranye cerah pada masing-masing formula yaitu F1 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 7 : 1, F2 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 3 : 1, dan F3 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3. Tidak ada perbedaan warna yang signifikan pada ketiga formula namun pada F2 sendiri warna tidak secerah F1 dan F3. Dasar pemilihan rasio polimer dan lipid masing-masing formula adalah jumlah polimer yang lebih banyak menghasilkan ukuran partikel yang lebih besar. Kemudian berdasarkan penelitian yang dilakukan juga pada rasio tersebut menghasilkan *polymeric-lipid nanoparticle* yang ukurannya kurang dari 1000 nm (Yu *et al*, 2015). Penelitian lain yang dilakukan oleh (Cagdas *et al*, 2014) menjelaskan juga bahwa dengan rasio lipid yang lebih besar maka akan membentuk membran lipid pada liposom yang stabil dalam mengenkapsulasi suatu bahan.

Kemudian, fase organik kemudian ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase aqueous dengan rasio fase organik : fase aqueous 1: 10 (v/v) lalu dihomogenkan menggunakan homogenizer ultraturax (IKA®) pada kecepatan 8000

rpm selama 5 menit pada waktu yang bersamaan. Penggunaan ultraturax (IKA®) untuk menghasilkan sediaan nano ini salah satu kunci pada metode nanopresipitasi, yaitu metode yang digunakan pada penelitian ini. Dengan penambahan lipid untuk agen permukaan aktif Lipid, polimer, dan ekstrak kayu manis dicampur menjadi fase organik, dan fase organik dicampur dengan fase air untuk membentuk emulsi O / W. Bagian hidrofobik dari lipid menempel pada inti polimer, dan ujung hidrofilik dari lipid memanjang ke fase berair untuk secara efektif membentuk PLN. Permasalahan toksisitas dapat disebabkan dari residu pelarut dari produk yang diperoleh dengan metode ini (Zhang *et al*; 2015). Setelah perlakuan ultraturax (IKA®), campuran fase organik dan fase aqueos berwarna putih susu pada ketiga formula, yaitu F1, F2, dan F3.

Guna menghindari toksisitas yang dapat disebabkan dari residu pelarut dari produk yang diperoleh dengan metode ini, campuran tersebut dilanjutkan pengadukannya menggunakan *overhead stirrer* (IKA®) pada suhu ruangan selama 24 jam untuk menguapkan komponen pelarut organik. Setelah pengadukan selama 24 jam, dihasilkan campuran berwarna oranye yang berbeda untuk masing-masing F1, F2, F3. Campuran setelah pengadukan yang dihasilkan oleh F3 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3 menghasilkan campuran berwarna oranye cerah dan paling tidak keruh dibandingkan dengan F2 dan F3. Campuran F2 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 3 : 1 dan F1 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 7 : 1 menghasilkan campuran setelah pengadukan berwarna oranye cerah namun sedikit keruh. Namun, campuran F2 lebih keruh dibandingkan dengan F1. Hasil dari campuran setelah pengadukan ini mungkin

dapat diperkirakan bahwa F3 memiliki ukuran partikel yang paling kecil karena campurannya paling cerah warnanya. 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 PLN. Supernatan yang dengan endapan yang paling sedikit menunjukkan ekstrak yang terenkapsulasi dalam PLN lebih banyak. Endapan yang dihasilkan oleh F1 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 7 : 1 menghasilkan endapan paling sedikit dan berwarna coklat paling tidak pekat dibandingkan dengan F2 dan F3. Endapan F2 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 3 : 1 dan endapan F3 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3 menghasilkan endapan yang hampir sama jumlahnya dan endapan berwarna coklat pekat. Namun, endapan F2 jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan F3. Dari hasil endapan tersebut dapat diperkirakan F3 paling banyak mengenkapsulasi ekstrak kayu manis. Kemudian supernatan dan endapan dipisahkan. Supernatan sediaan hasil sentrifugasi untuk F1 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 7 : 1 menghasilkan menghasilkan cairan berwarna oranye cerah, berbau seperti larutan ekstrak kayu manis, dan tidak terdapat endapan. Supernatan F2 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 3 : 1 menghasilkan cairan berwarna oranye agak keruh, berbau seperti larutan ekstrak kayu manis, dan tidak terdapat endapan. Supernatan F3 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3 menghasilkan cairan berwarna oranye cerah, berbau seperti larutan ekstrak kayu manis, dan tidak terdapat endapan. Supernatan ini selanjutnya dilakukan uji PSA guna mengetahui ukuran partikel,

indeks polidispersitas, dan zeta potensial serta dilakukan uji stabilitas selama 30 hari.

Evaluasi karakterisasi PLN ekstrak kayu manis dilakukan dengan analisis ukuran partikel. Analisis ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (Malvern®), sampel diambil dan dimasukkan kedalam kuvet kemudian diletakkan kedalam alat dan dilakukan analisis. Analisis dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali masing-masing formula. Hasil ukuran partikel dari masing masing formula yaitu untuk F1 dengan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 7 : 1 adalah $438,63 \pm 6,70$ nm, F2 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 3 : 1 adalah $478,26 \pm 4,80$ nm, dan F3 menggunakan Rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3 adalah $372,36 \pm 3,62$ nm. Ukuran dari F3 merupakan ukuran yang mempunyai nilai paling kecil karena jumlah polimer yang paling sedikit dibanding dengan F1 dan F2. Semakin tinggi jumlah polimer dalam formulasi, maka ukuran partikel yang dihasilkan meningkat (Yu, 2016). Seluruh hasil ukuran partikel masih masuk dalam rentang 2-1.000 nm. Rentang ukuran partikel tersebut PLN yang berukuran 2 - 1000 nm dapat membantu membawa obat yang memiliki efek terapeutik. Dengan ukuran tersebut, PLN dalam menghantarkan obat dengan rute oral dapat meningkatkan efektifitas obat, toleransi obat, spesifitas, dan indeks terapeutik obat analog (Sharma *et al*, 2015). Bioavailabilitas oral PLN yang ukurannya di atas 200 nm namun masih dalam rentang dibawah 1000 nm suatu obat meningkat akibat kemampuannya untuk memasuki saluran sistemik melalui uptake dari pembuluh limfatik dan jalur paraseluler yang dapat mencegah interaksi makanan dan efek *first pass metabolism*. Polimer yang terdapat pada PLN dapat menghasilkan stabilitas in vitro yang baik

dan membuat PLN dapat dikenali sistem retikuloendotelial in vivo (Gajra *et al.*, 2015). Namun, menurut metode yang digunakan, seharusnya ukuran partikel yang dihasilkan tidak masuk rentang yang biasa dihasilkan metode nanopresipitasi yaitu 150-170 nm. Pada metode nanopresipitasi ini, yang paling penting adalah pencampuran fase organik dengan fase aqueos (Chidambaram dan Krishnasamy, 2014). Pada penelitian ini, pencampuran fase organik ke dalam fase aqueos menggunakan ultraturrax (IKA®) dengan kecepatan 8.000 rpm selama 5 menit dirasa kurang guna memecah ukuran partikel menjadi lebih kecil dari yang diharapkan. Dengan kecepatan dan lamanya waktu ultraturrax (IKA®) tersebut tidak didapati ukuran yang dibawah 200 nm, dikarenakan kecepatan dan lama waktu ultraturrax (IKA®) yang kurang. Tidak seperti penelitian yang dilakukan oleh (Yu *et al.*, 2015) dengan kecepatan ultraturrax (IKA®) 15.000 rpm selama 15 menit menghasilkan ukuran partikel PLN yang kurang dari 200 nm. Ukuran yang dihasilkan oleh polimer Na Alginat yang terkandung dalam PLN ini lebih kecil dibandingkan PLN yang mengandung chitosan karena Na Alginat dapat menjerap ekstrak kayu manis yang sifatnya lipofilik, sehingga ekstrak yang terenkapsulasi lebih banyak dan ukurannya semakin kecil (Thwala, 2012).

Kemudian dilakukan analisis statistik data untuk melihat perbedaan ukuran partikel. Analisis statistik data yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang kurang dari 50 sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk ukuran partikel pada F1, F2, F3, diperoleh hasil nilai p 0,088 , sehingga perserbaran data dari ukuran partikel tersebut normal karena memiliki $p > 0,05$. Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas

menggunakan uji *Levene's test* menghasilkan nilai signifikansi 0,333 , sehingga kelima formula tersebut mempunyai varians data yang homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelima formula dan menghasilkan nilai signifikansi 0,000, sehingga terdapat perbedaan ukuran partikel yang bermakna.

Indeks polidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel yang nilainya 0,01 sampai 0,7 menyatakan sistem nanopartikel dengan distribusi ukuran partikel yang sempit, sedangkan nilai indeks polidispersitas yang lebih besar dari 0,7 menyatakan sistem nanopartikel dengan distribusi ukuran partikel yang sangat luas (Nidhin, 2009), dan diperkuat (Yuan, 2008) yang menyatakan semakin kecil nilai indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran partikel semakin sempit, yang berarti semakin homogen. Menurut Yuan *et al* (2008), nilai indeks polidispersitas menunjukkan penyebaran distribusi ukuran partikel, semakin kecil nilai indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran partikel semakin sempit, yang berarti ukuran diameter partikel semakin homogen. Pada penelitian ini dihasilkan indeks polidispersitas pada F1 adalah $0,64 \pm 0,01$, F2 adalah $0,59 \pm 0,04$, dan F3 adalah $0,83 \pm 0,05$. Dapat disimpulkan bahwa untuk F1 dan F2 mempunyai distribusi ukuran partikel yang homogen dikarenakan mempunyai nilai kurang dari 0,7 dan untuk F3 tidak masuk rentang indeks polidispersitas yang baik.

Kemudian untuk data indeks polidispersitas juga dilakukan analisis statistik data sama seperti ukuran partikel. Analisis statistik data yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah

sampel yang kurang dari 50 sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk indeks polidispersitas pada F1, F2, F3 diperoleh hasil nilai p 0,145 sehingga persebaran data dari indeks polidispersitas tersebut normal karena memiliki $p > 0,05$. Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's test* menghasilkan nilai signifikansi 0,093, sehingga kelima formula tersebut mempunyai varians data yang homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelima formula dan menghasilkan nilai signifikansi 0,001, sehingga terdapat perbedaan indeks polidispersitas yang bermakna.

Untuk hasil uji zeta potensial, didapati hasil uji zeta potensial untuk F1 adalah $-25,13 \pm 1,53$, F2 adalah $-24,63 \pm 0,98$, dan F3 adalah $-25,76 \pm 3,88$. Hasil uji zeta potensial dari ketiga formula tersebut stabil dikarenakan mempunyai hasil yang dekat dengan ± 25 mV kecuali F2. Nilai zeta potensial yang baik adalah diatas atau dibawah ± 25 mV sehingga sediaan mempunyai derajat kestabilan yang tinggi (Ronson, 2012). Hasil dari zeta potensial yang negatif ini dikarenakan adanya keberadaan gugus karboksilat dari Natrium Alginat yang menyebabkan nilai zeta potensial negatif (Thomas, 2017). Zeta potensial partikel akan memberikan gambaran gaya tolakan antar partikel dan menyebabkan semakin besar potensial zeta maka sistem dispersi akan semakin stabil (Couvreur *et al.*, 2002). Besarnya potensial zeta ini perlu disesuaikan dengan kompatibilitasnya dengan sel sebagai target biologis. Berbagai permasalahan yang timbul pada formulasi nanopartikel dapat dicarikan solusinya yaitu menggunakan modifikasi permukaan partikel (Kamiya dan Iijima, 2010).

Kemudian untuk data zeta potensial juga dilakukan analisis statistik data sama seperti ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Analisis statistik data yang dilakukan pertama kali adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang kurang dari 50 sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas data untuk zeta potensial pada F1, F2, F3 diperoleh hasil nilai $p > 0,05$ sehingga perserbaran data dari zeta potensial tersebut normal karena memiliki $p > 0,05$. Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's test* menghasilkan nilai signifikansi 0,154, sehingga kelima formula tersebut mempunyai varians data yang homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *One Way Anova* pada kelima formula dan menghasilkan nilai signifikansi 0,858 sehingga tidak terdapat perbedaan zeta potensial yang bermakna.

Untuk hasil uji stabilitas yang dilakukan selama 30 hari, untuk mengetahui stabilitas bahwa sediaan tidak akan mengalami perubahan selama penyimpanan (30 hari). Sediaan nanopartikel disimpan pada suhu 4°C selama 30 hari. Kondisi fisik nanopartikel selama uji tersebut dibandingkan dengan sediaan sebelumnya (Banker, 1997). Setelah hasil uji stabilitas 30 hari dilakukan dengan lama penyimpanan 30 hari, secara organoleptik sediaan tidak mengalami perubahan pada bentuk/konsistensi, warna serta bau namun hanya terbentuk endapan yang mudah terdispersi. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan PLN dari F1, F2, F3 stabil dalam waktu penyimpanan 30 hari.

Formula yang menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimal untuk menghantarkan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) adalah F3 dengan rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3 mempunyai ukuran partikel paling kecil yaitu

372,36 ± 3,62 nm, indeks polidispersitas 0,83 ± 0,056 dan zeta potensial -25,76 ± 3,88 yang menunjukkan sediaan terdistribusi homogen dan derajat kestabilan yang tinggi. Gaya tolakan partikel yang ditunjukkan dengan nilai zeta potensial yang stabil, maka dapat menjaga bentuk ukuran partikel sehingga distribusi ukuran partikel tetap homogen sehingga sediaan tidak mudah mengalami agregasi ukuran partikel.

6.2. Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini pembentukkan nanopartikel dengan ultraturax (IKA®) kecepatannya terbatas yaitu 8.000 rpm dan lamanya hanya 5 menit. Pada kecepatan yang lebih tinggi dan lebih lama kemungkinan ukuran partikel yang terbentuk mempunyai ukuran lebih kecil (Yu *et al*, 2015). Kemudian perlu dilakukan pembuatan sediaan kontrol 1, kontrol 2, dan kontrol 3 guna membandingkan apakah tidak adanya pemberian ekstrak kayu manis yang terjerap pada PLN mempengaruhi ukuran partikel PLN. Kemudian dibutuhkan pengujian kembali ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial setelah uji stabilitas guna melihat ada tidaknya perubahan. Selain itu, penelitian ini hanya dapat mengukur ukuran partikel dan tidak dilakukan uji morfologi menggunakan SEM dan TEM dikarenakan morfologi berguna untuk melihat bentuk atau visual dari *polymeric-lipid nanoparticle*. Dikarenakan keterbatasan alat dan waktu maka tidak dapat dilakukan.

6.3. Implikasi pada Bidang Farmasi

Pada penelitian ini, menggunakan suatu sistem pengantaran *polymeric-lipid nanoparticle* dengan rentang ukuran yang diinginkan 2-1000 nm. Dengan rentang

tersebut diharapkan dapat menghindarkan senyawa aktif cinnamaldehida yang bermanfaat untuk menurunkan kadar gula darah dari kerusakan dalam saluran pencernaan untuk rute pemberian oral. Untuk mencapai ukuran nano, maka dalam formulasi dilakukan metode nanopresipitasi yang salah satu kunci pentingnya adalah pemecahan droplet oleh ultraturax (IKA®). Rasio antara formula polimer Na Alginat dan lipid Egg PC juga berperan penting dalam ukuran partikel dimana semakin sedikit komponen polimer Na Alginat maka ukuran partikel yang dihasilkan lebih kecil serta PLN yang dihasilkan lebih terdistribusi homogen dan stabil.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Formula yang menghasilkan *Polymeric-Lipid Nanoparticle* yang optimal untuk menghantarkan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) adalah F3 dengan rasio Na Alginat : Egg PC sebesar 5 : 3. Ukuran partikel yang dihasilkan adalah $372,36 \pm 3,62$ nm sesuai dengan spesifikasi masuk rentang 2-1000 nm.

7.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya, sebaiknya sebaiknya dilakukan pembuatan sediaan kontrol, pengujian ulang ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial setelah uji stabilitas, dilakukan uji *polymeric lipid nanoparticle* lainnya seperti uji pengamatan morfologi menggunakan SEM dan TEM, dan uji *entrapment efficiency*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Zahoor *et al.* 2005. *Alginate Nanoparticles as Antituberculosis Drug Carriers: Formulation Development, Pharmacokinetics and Therapeutic Potential*. Chandigarh : Department of Biochemistry, Postgraduate Institute of Medical Education and Research.
- Anonim. 2018. *POLYMERIC-LIPID NANOPARTICLE UNTUK SISTEM PENGANTARAN EKSTRAK KAYU MANIS (Cinnamomum burmanii): PENGEMBANGAN FORMULA DAN UJI EFEKTIVITAS PADA TIKUS DIABETES TIPE 2*. Malang : FK UB.
- Arini, Prettika Juhan dan Ardiaria, Martha. 2016. Pengaruh Pemberian Seduhan Bubuk Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa 2 Jam Post Pandrial Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *Journal of Nutrition College*. Volume 5, Nomor 3, Halaman 198-206.
- Banker GS, 1997, *Modern pharmaceuticals drugs and the pharmaceutiucal science*, 7th vol, Marcel Dekker Inc., New York, hal. 355.
- Barlow, Susan *et al*; Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a Request from the European Commission on Coumarin in Flavourings and Other Food Ingredients with Flavouring Properties. *The EFSA Journal*. 2008;793:1 – 15.
- Beloqui, Ana *et al.* 2016. Mechanisms of transport of polymeric and lipidic nanoparticles across the intestinal barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews*.

Brussels : Louvain Drug Research Institute of Université catholique de Louvain.

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.

Cagdas *et al.* 2014. *Liposomes as Potential Drug Carrier Systems for Drug Delivery.* London : IntechOpen.

Ewing, Galen Wood. 1985. *Instrumental of Chemical Analysis Fifth Edition.* McGraw-Hill. Singapore.

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.

Gowder SJT, Devaraj H. *Effect of the food flavor cinnamaldehyde on the antioxidant status of rat kidney.* *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology.*2006;99:379-382.

Hlebowicz J, Darwiche G, Bjorgell O, Almer L. Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *The American Journal Of Clinical Nut.* 2007; 85(6): 1552-6.

- Honary, Soheyla dan Zahir Fahure. 2013. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* April 2013; 12 (2): 265-273.
- Huang B, Yuan HD, Kimdo Y, Quan HY, Chung SH. Cinnamaldehyde prevents adipocyte differentiation and adipogenesis via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARgamma) and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways. *J Agric Food Chem* 2011; 59:3666–3673.
- Intra J, Salem AK. Characterization of the transgene expression generated by branched and linear polyethylenimine-plasmid DNA nanoparticles in vitro and after intraperitoneal injection in vivo. *J Control Release*. 2008;130:129-138.
- Jing Li *et al*, 2014. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. Shenyang : School of Pharmacy. Shenyang Pharmaceutical University.
- Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran M, Anuradha C. Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. *Singapore Medical Journal*. 2006; 47(10): 858-63.
- Lipsy P. 2010. *Thin Layer Chromatography Characterization of the Active Ingredients in Excedrin and Anacin*. USA: Department of Chemistry and Chemical Biology, Stevens Institute of Technology.
- O'Driscoll, C.M., 2002. Lipid-based formulations for intestinal lymphatic delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 15: 405–415.

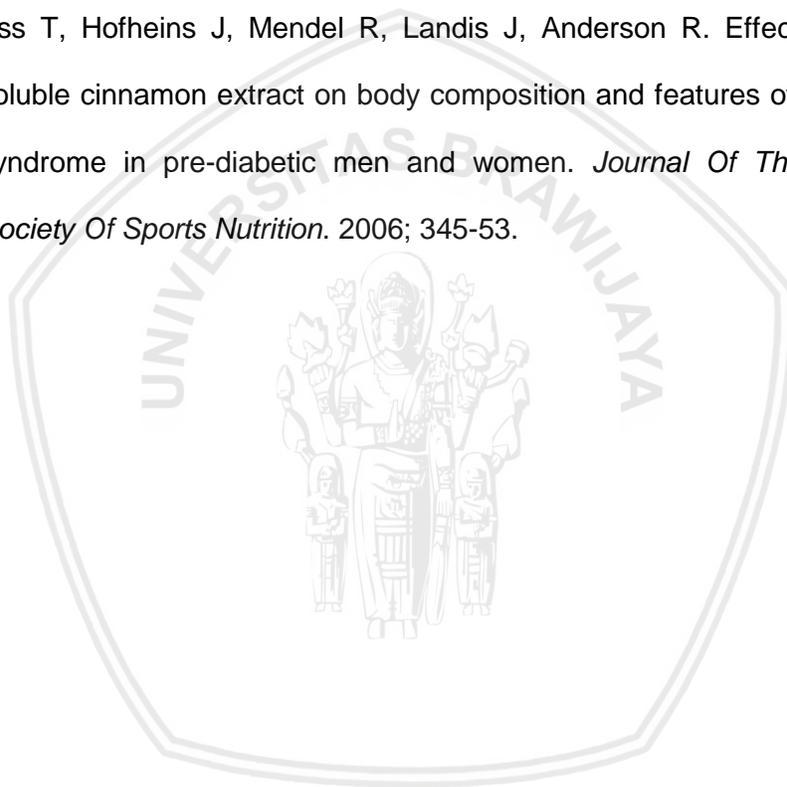
- Peniche C, Argüelles-Monal W, Peniche H, Acosta N. 2003. *Chitosan: An Attractive Biocompatible Polymer for Microencapsulation*. *Macromolecular Bioscience* 3(10):511-20.
- Ranasinghe O, Pigera S, Premakumara GAS, Galappaththy P, Constatntine GR, Katulanda P. *Medicinal Properties of 'True' Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) : a Systematic Review*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*;2013.13:275.
- Ravindran, P.N. Babu, K. N. Shylaja, M. (editor). 2004. *Cinnamon and Cassia The Genus Cinnamomum*. USA : CRC Press. P. 185-198.
- Sahoo, S., K., Labhasetwar, V. *Nanotech Approaches to Drug Delivery and Imaging, Drug Discov*, 2003;8:1112–1120.
- Sharma, Garima *et al.* 2015. Nanoparticle based insulin delivery system: the next generation efficient therapy for Type 1 diabetes. *J Nanobiotechnol* 13:74.
- Sheng X, Zhang Y, Gong Z, Huang C, Zang YQ. *Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferator-activated receptors*. *PPAR Res* 2008; 581348.
- Stavropoulos, Kathy. 2011. *Synthesis and Characterization of Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles for Combinatorial Drug Delivery*. Kansas : Pharmaceutical Chemistry and the Graduate Faculty of the University of Kansas.
- Thwala LN. 2012. *Preparation and Characterization of Alginate-chitosan Nanoparticles as a Drug Delivery System for Lipophilic Compounds*: University of Johannesburg.

- 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.
- Willim L. Baker, Gabriela Gutierrez-William, Micheael White, Jefrey Kruger, Craig I., Coleman, *Effect of Cinnamon on Glucose Control and Lipid Parameters*, 2008: Diabetes Care, Vol. 31.
- Wong HL, Bendayan R, Rauth AM, Wu XY. Simultaneous delivery of doxorubicin and GG918 (Elacridar) by new Polymer-Lipid Hybrid Nanoparticles (PLN) for enhanced treatment of multidrug-resistant breast cancer. *J Control Release*. 2006;116:275-284.
- Wu, Xiao Yu. 2016. Strategies for optimizing polymer-lipid hybrid nanoparticle-mediated drug delivery. Toronto : *Journal Of Expert Opinion on Drug Delivery*, 13:5, 609-612.
- 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.
- Zhang L, Zhang L. Lipid-polymer hybrid nanoparticles: synthesis, characterization and applications. *Nano Life*. 2010;1(1):163-173.
- Zhang, L.; Zhu, D.; Dong, X.; Sun, H.; Song, C.; Wang, C.; Kong, D. Development and characterization of single step self-assembled lipid polymer hybrid

nanoparticles for effective delivery of methotrexate. *RSC Adv.* 2015, 5, 62989–62999.

Zhao H, Yuan J, Yang Q, Xie Y, Cao W, Wang S. *Cinnamaldehyde in novel intravenous submicrometer emulsion : pharmacokinetics, tissue distribution, antitumor efficacy, and toxicity. Journal of agricultural and food chemistry.* 2015(6).doi : 10.1021/acs.jafc.5b01883.

Ziegenfuss T, Hofheins J, Mendel R, Landis J, Anderson R. Effects of a water-soluble cinnamon extract on body composition and features of the metabolic syndrome in pre-diabetic men and women. *Journal Of The International Society Of Sports Nutrition.* 2006; 345-53.



LAMPIRAN

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

Ukuran Partikel

Ukuran Partikel (nm)	F1	F2	F3
Replikasi 1	430.9	474.8	373.2
Replikasi 2	442.8	480.2	375.5
Replikasi 3	442.2	481.8	368.4
Rata-rata ± SD	438,63 ± 6,70	478,26 ± 4,80	372,36 ± 3,62

Indeks Polidispersitas (PDI)

Indeks Polidispersitas	F1	F2	F3
Replikasi 1	0.634	0.644	0.895
Replikasi 2	0.639	0.573	0.817
Replikasi 3	0.652	0.565	0.785
Rata-rata ± SD	0,64 ± 0,01	0,59 ± 0,04	0,83 ± 0,05

Zeta Potensial

Zeta Potensial	F1	F2	F3
Replikasi 1	-24.1	-25.2	-26.4
Replikasi 2	-24.4	-25.3	-21.6
Replikasi 3	-26.9	-23.5	-29.3
Rata-rata ± SD	-25,13± 1,53	-24,63 ± 0,98	-25,76 ± 3,88



Lampiran 2. Hasil Analisis Statistik Ukuran Partikel

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ukuran Partikel	.211	9	.200*	.857	9	.088

*. This is a lower bound of the true significance.

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.
1.327	2	6	.333

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

ANOVA

Ukuran Partikel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17176.882	2	8588.441	317.620	.000
Within Groups	162.240	6	27.040		
Total	17339.122	8			

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

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Indeks Polidispersitas (PDI)

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Indeks_polidipersitas	.294	9	.024	.877	9	.145

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances
Indeks_polidipersitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.624	2	6	.093

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

ANOVA

Indeks_polidipersitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.095	2	.048	27.641	.001
Within Groups	.010	6	.002		
Total	.106	8			

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

Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik Zeta Potensial

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZETA_PO	.163	9	.200*	.979	9	.961

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

ZETA_PO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.600	2	6	.154

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

ANOVA

ZETA_PO

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.936	2	.968	.157	.858
Within Groups	36.900	6	6.150		
Total	38.836	8			

Kesimpulan: Nilai p > 0,05 menunjukkan data memiliki perbedaan yang tidak signifikan.

Lampiran 5. Hasil Ukuran Partikel F1 (I)

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: Formula 1 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 2 Dispersant RI: 1.330
 Material RI: 1.33 Viscosity (mPa.s): 0.8872
 Material Absorption: 0.500 Measurement Date and Time: Friday, February 08, 2019 ...

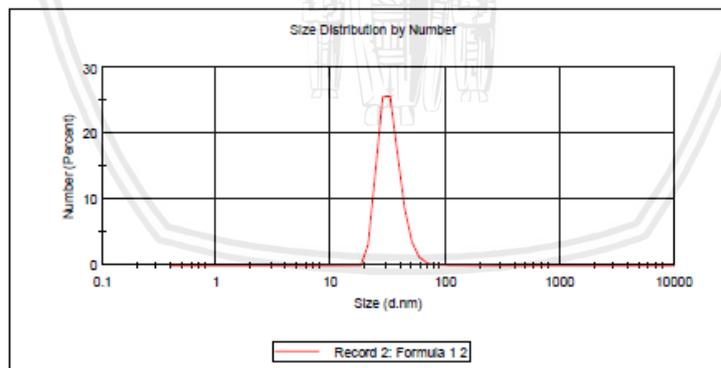
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kops): 244.3 Measurement Position (mm): 4.65
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 430.9	Peak 1: 33.18	100.0	8.642
Pd: 0.634	Peak 2: 492.7	0.0	188.6
Intercept: 0.953	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 6. Hasil Ukuran Partikel F1 (II)

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: Formula 1 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 3

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (mPa.s): 0.8872

Material Absorbtion: 0.500

Measurement Date and Time: Friday, February 08, 2019 ...

System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 243.9

Measurement Position (mm): 4.65

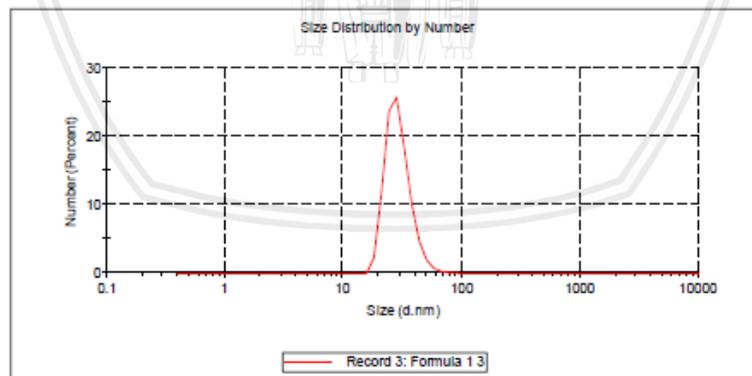
Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 442.8	Peak 1: 29.59	100.0	7.744
Pdl: 0.639	Peak 2: 287.2	0.0	107.1
Intercept: 0.951	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality Refer to quality report



Lampiran 7. Hasil Ukuran Partikel F1 (III)

Size Distribution Report by Number v2.2



Sample Details

Sample Name: Formula 1 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 4	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (mPa.s): 0.8872
Material Absorbtion: 0.500	Measurement Date and Time: Friday, February 08, 2019 ...

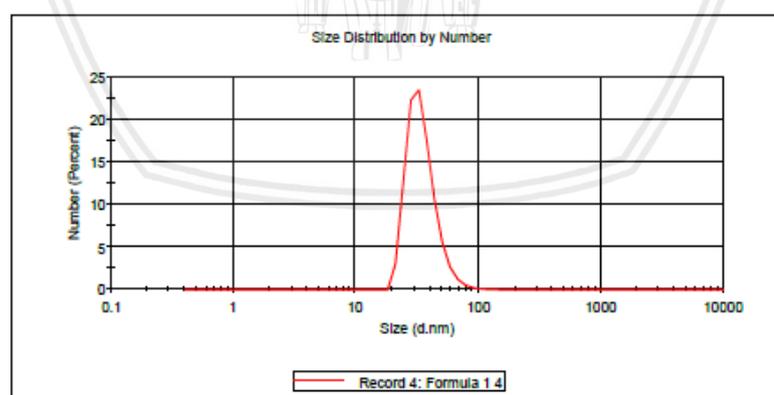
System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kops): 238.7	Measurement Position (mm): 4.65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 442.2	Peak 1: 35.03	100.0	10.63
Pdl: 0.652	Peak 2: 452.8	0.0	219.7
Intercept: 0.944	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality Refer to quality report



Lampiran 8. Hasil Ukuran Partikel F2 (I)

Size Distribution Report by Number
v2.2

Sample Details

Sample Name: Formula 2 1
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 11 Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33 Viscosity (mPa.s): 0.8872
Material Absorbion: 0.500 Measurement Date and Time: Friday, February 08, 2019 ...

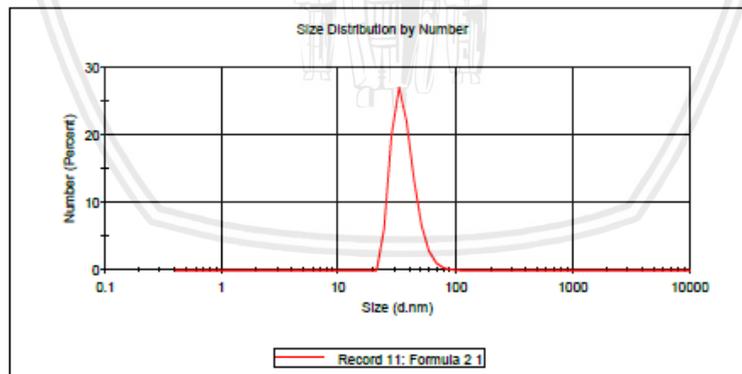
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 258.0 Measurement Position (mm): 4.65
Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 474.8	Peak 1: 36.54	99.9	9.248
Pdl: 0.644	Peak 2: 302.4	0.1	185.0
Intercept: 0.940	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 9. Hasil Ukuran Partikel F2 (II)

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: Formula 2 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 12

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (mPa.s): 0.8872

Material Absorbtion: 0.500

Measurement Date and Time: Friday, February 08, 2019 ...

System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 257.7

Measurement Position (mm): 4.65

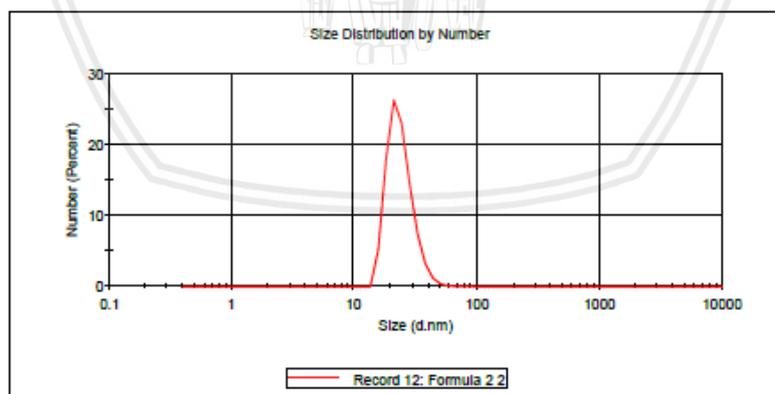
Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 480.2	Peak 1: 24.02	100.0	6.548
Pdl: 0.537	Peak 2: 0.000	0.0	0.000
Intercept: 0.952	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 10. Hasil Ukuran Partikel F2 (III)

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: Formula 2 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 13	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (mPa.s): 0.8872
Material Absorption: 0.500	Measurement Date and Time: Friday, February 08, 2019 ...

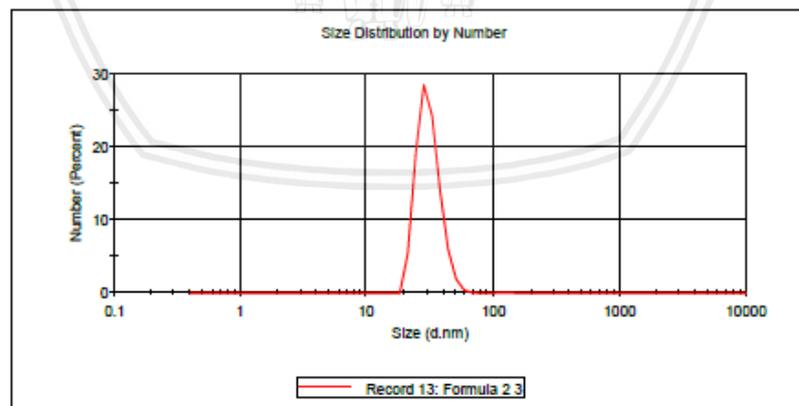
System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kops): 252.9	Measurement Position (mm): 4.65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 7

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 481.8	Peak 1: 31.07	99.9	6.705
Pdl: 0.565	Peak 2: 130.3	0.1	37.15
Intercept: 0.940	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality Refer to quality report



Lampiran 11. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas F3 (I)

Size Distribution Report by Number
v2.2



Sample Details

Sample Name: F3 Replikasi 2 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: lswa.2019.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 23	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (mPa.s): 0.8872
Material Absorption: 0.500	Measurement Date and Time: Thursday, February 28, 20...

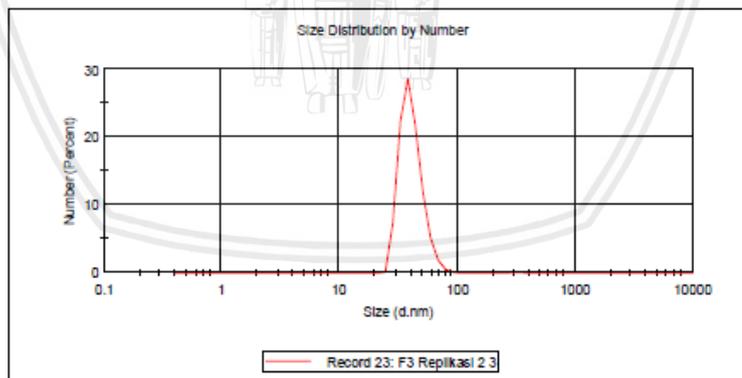
System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 190.8	Measurement Position (mm): 1.25
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 6

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 373.2	Peak 1: 40.78	99.7	9.294
PdI: 0.895	Peak 2: 332.9	0.3	168.3
Intercept: 0.960	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



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

Size Distribution Report by Number v2.2



Sample Details

Sample Name: F3 Replikasi 2 4
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: lswa 2019.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 24 Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33 Viscosity (mPa.s): 0.8872
Material Absorbtion: 0.500 Measurement Date and Time: Thursday, February 28, 20...

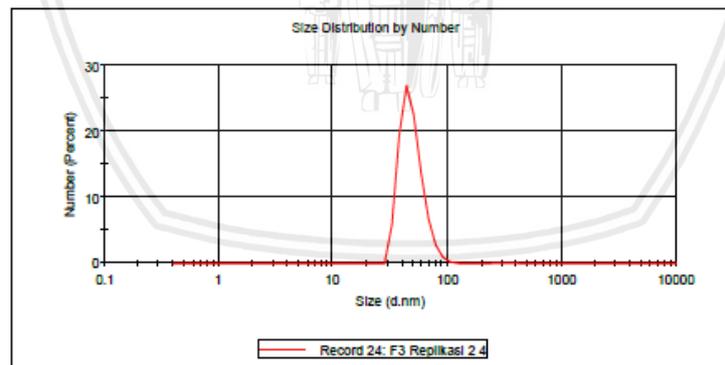
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 70
Count Rate (kcps): 190.2 Measurement Position (mm): 1.25
Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 6

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 375.5	Peak 1: 48.98	99.5	11.86
Pdl: 0.817	Peak 2: 377.1	0.5	186.3
Intercept: 0.959	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



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

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: F3 Replikasi 2 5
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: lswa 2019.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 25 Dispersant RI: 1.330
 Material RI: 1.33 Viscosity (mPa.s): 0.8872
 Material Absorption: 0.500 Measurement Date and Time: Thursday, February 28, 20...

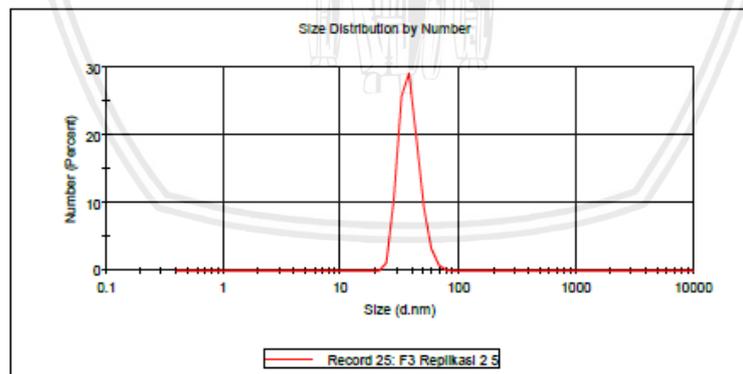
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kcps): 187.6 Measurement Position (mm): 1.25
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 6

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 368.4	Peak 1: 38.71	99.8	8.082
Pdl: 0.785	Peak 2: 306.6	0.2	235.4
Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality [Refer to quality report](#)



Lampiran 14. Hasil Uji Zeta Potensial F1 (I)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Formula 1 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 17 Dispersant RI: 1.330
 Date and Time: Friday, February 08, 2019 1... Viscosity (cP): 0.8872
 Dispersant Dielectric Constant: 78.5

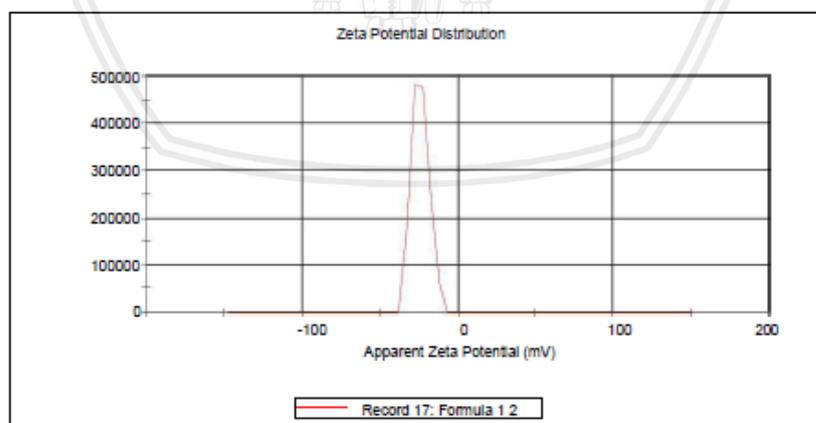
System

Temperature (°C): 25.0 Zeta Runs: 12
 Count Rate (kcps): 178.3 Measurement Position (mm): 4.50
 Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 7

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -24.1	Peak 1: -24.1	100.0	5.39
Zeta Deviation (mV): 5.39	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.264	Peak 3: 0.00	0.0	0.00

Result quality **Good**



Lampiran 15. Hasil Uji Zeta Potensial F1 (II)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Formula 1 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 18

Dispersant RI: 1.330

Date and Time: Friday, February 08, 2019 1...

Viscosity (cP): 0.8872

Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kops): 229.9

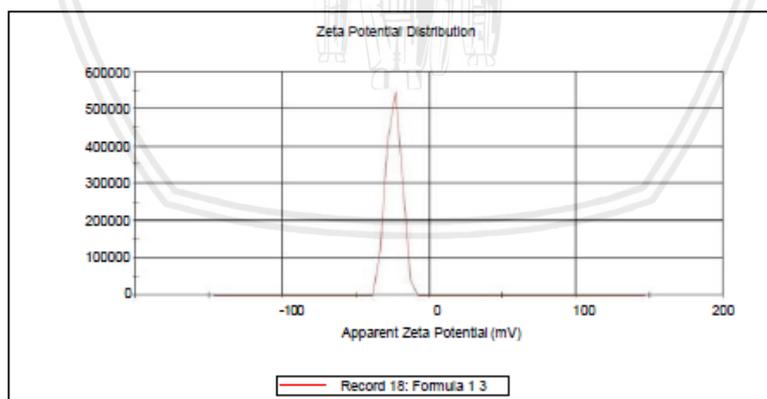
Measurement Position (mm): 4.50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 7

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -24.4	Peak 1: -24.4	100.0	4.91
Zeta Deviation (mV): 4.91	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.269	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality Good			



Lampiran 16. Hasil Uji Zeta Potensial F1 (III)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Formula 1 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 19 Dispersant RI: 1.330
 Date and Time: Friday, February 08, 2019 1... Viscosity (cP): 0.8872
 Dispersant Dielectric Constant: 78.5

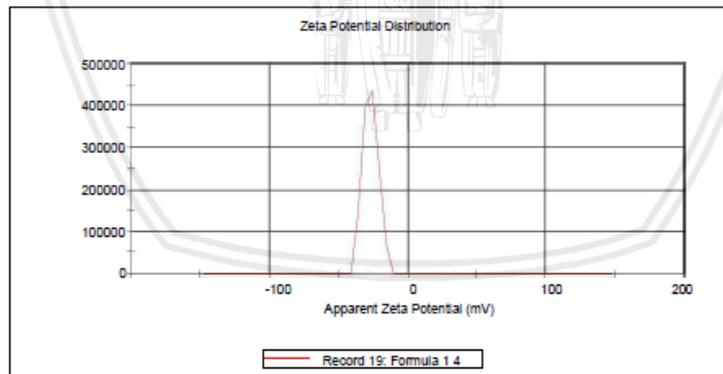
System

Temperature (°C): 25.0 Zeta Runs: 12
 Count Rate (kcps): 103.2 Measurement Position (mm): 4.50
 Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 7

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -26.9	Peak 1: -26.9	100.0	5.35
Zeta Deviation (mV): 5.35	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.272	Peak 3: 0.00	0.0	0.00

Result quality **Good**



Lampiran 17. Hasil Uji Zeta Potensial F2 (I)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Formula 2 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 21

Dispersant RI: 1.330

Date and Time: Friday, February 08, 2019 1...

Viscosity (cP): 0.8872

Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 270.2

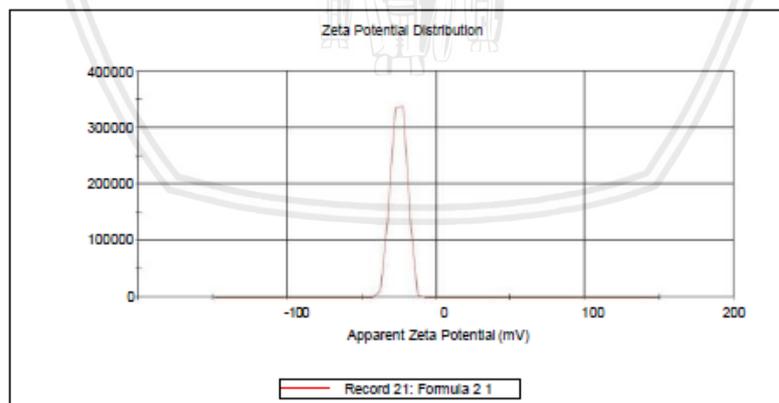
Measurement Position (mm): 4.50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 8

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -25.2	Peak 1: -25.2	100.0	4.80
Zeta Deviation (mV): 4.80	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.216	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality Good			



Lampiran 18. Hasil Uji Zeta Potensial F2 (II)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Formula 2 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 22

Dispersant RI: 1.330

Date and Time: Friday, February 08, 2019 1:28...

Viscosity (cP): 0.8872

Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 42.8

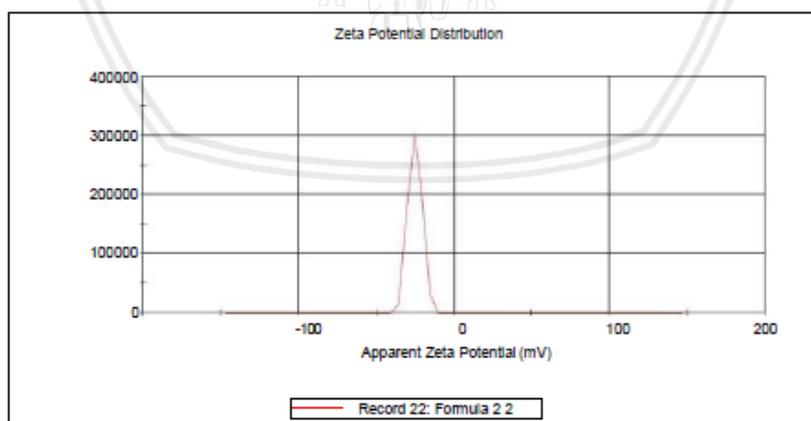
Measurement Position (mm): 4.50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -25.3	Peak 1: -25.3	100.0	4.43
Zeta Deviation (mV): 4.43	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.232	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality Good			



Lampiran 19. Hasil Uji Zeta Potensial F2 (III)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Formula 2 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Rossa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 23

Dispersant RI: 1.330

Date and Time: Friday, February 08, 2019 1:28...

Viscosity (cP): 0.8872

Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 66.1

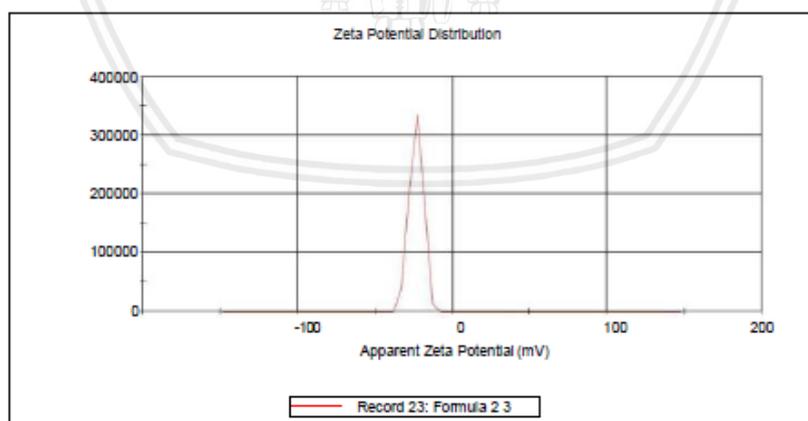
Measurement Position (mm): 4.50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -23.5	Peak 1: -23.5	100.0	4.36
Zeta Deviation (mV): 4.36	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.235	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality Good			



Lampiran 20. Hasil Uji Zeta Potensial F3 (I)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F3 Replikasi 2 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Iswa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 28

Dispersant RI: 1.330

Date and Time: Thursday, February 28, 2019 1...

Viscosity (cP): 0.8872

Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 110.0

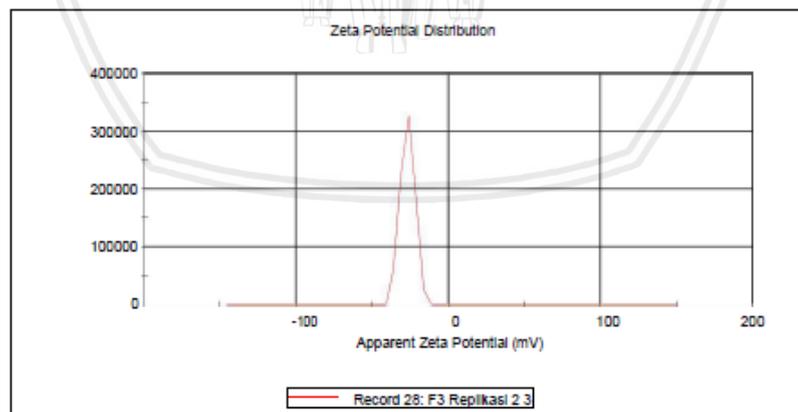
Measurement Position (mm): 4.50

Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -26.4	Peak 1: -26.4	100.0	4.77
Zeta Deviation (mV): 4.77	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.228	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality Good			



Lampiran 21. Hasil Uji Zeta Potensial F3 (II)

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F3 Replikasi 2 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Iswa 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 29

Dispersant RI: 1.330

Date and Time: Thursday, February 28, 2019 1...

Viscosity (cP): 0.8872

Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0

Zeta Runs: 12

Count Rate (kcps): 54.2

Measurement Position (mm): 4.50

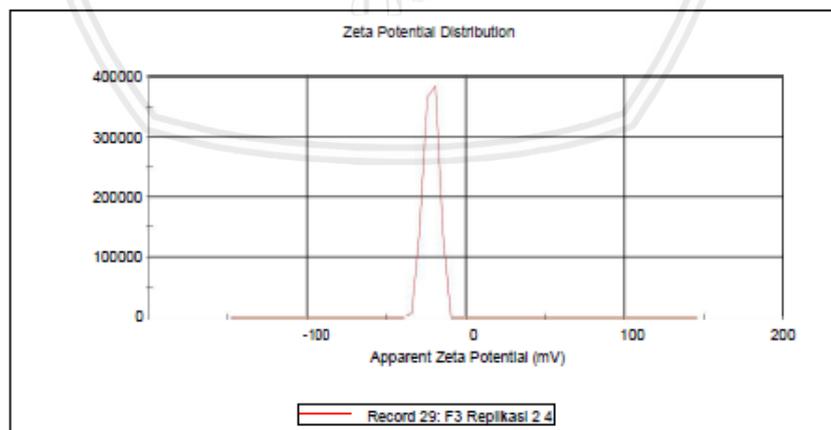
Cell Description: Zeta dip cell

Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -21.6	Peak 1: -21.6	100.0	4.53
Zeta Deviation (mV): 4.53	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.229	Peak 3: 0.00	0.0	0.00

Result quality **Good**



Lampiran 22. Hasil Uji Zeta Potensial F3 (III)

Zeta Potential Report v2.3



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: F3 Replikasi 2.5
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Iswa 2019.dts
Record Number: 30
Date and Time: Thursday, February 28, 2019 1...
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Dispersant Dielectric Constant: 78.5

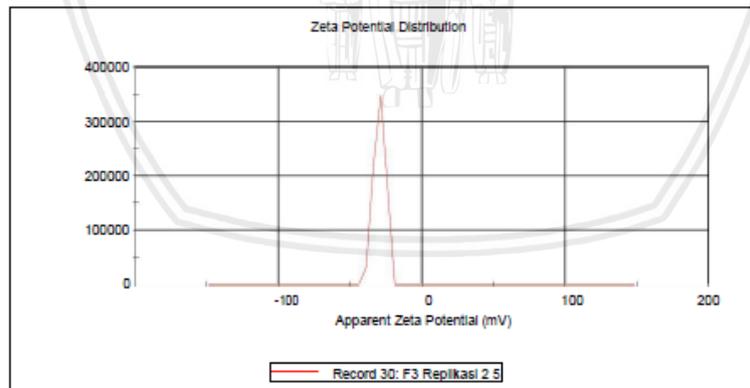
System

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 170.0
Cell Description: Zeta dip cell
Zeta Runs: 12
Measurement Position (mm): 4.50
Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -29.3	Peak 1: -29.3	100.0	4.06
Zeta Deviation (mV): 4.06	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.208	Peak 3: 0.00	0.0	0.00

Result quality Good



Lampiran 23. **Certificate of Analysis Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmanii)**

CPOTB/GMP Certified
Cara Pembuatan Obat Tradisional Yang Baik
Good Manufacturing Practice

Certificate No. 18010
ISO 9001:2015

SAP
Integrated System

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**

www.borobudurherbal.com

MANUFACTURING DATA		GENERAL DATA	
Product Name	Cinnamon P.E	Plant Species	<i>Cinnamomum burmanii</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 Kawiyo, 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 +62-24-8664261, Fax +62-24-8664303, E-mail : extraction.bec@gmail.com

Branch Offices :

JAKARTA : Jl. Tomong Tinggi Raya 11, Jakarta Barat 11440 T. +62-21-5696855 (Hunting), F. +62-21-5671767
JAGORGA : Jl. Suka Bakti IV No. 62-64 RT 03 RW 10, Kel. Sukopati Tangerang 15118 Bandem T./ F. +62-21-5522889
TANGERANG : Jl. Perumahan Highland, Cluster Horizon Tapak 2 Blok 17 Serang Timur T. +62 815 8719 103 T./ F. +62-21-5522889
BEKASI : Ruko Kalmatung Square Unit U, Jl. R11 Hoer Ali Bekasi, Bekasi Selatan T./ F. +62-21-88961634
BOGOR : Jl. Palendang No. 47, Bogor 16122 T. +62-251-8333707 F. +62-251-8339658
BANDUNG : Jl. Cioekang Holsa Komp. Prapanca Kav. G-14, Bandung 40214 T. +62-22-6041413 F. +62-22-6004601
MEDAN : Jl. Birjale KH 8,5 Pasir 5 HBN (Jl. Nawar No 19) Kel. Lalang Kec. Medan Sunggal, Medan T./F. +62-61-8473456
SURABAYA : Jl. Kallianak Barat 49 Kav.25, Surabaya 60193 T. +62-31-7490009 (Hunting) 7491374-75 F. +62-31-7490362
MALANG : Jl. Teranga Baru II No.2 Kec. Blimbing - Malang T./F. +62-341-2990277
DENPASAR : Jl. Hangka Utara No. 293, Denpasar 80239 - Bali T./ F. +62-361-422252
LOMBOK : Perumahan Babakan Indah, Jl. Asla 1 No.7 Cakranegara - Lombok T. +62 818 0562 0590, +62 813 5349 9710

Lampiran 24. Certificate of Analysis Egg PC

SIGMA-ALDRICH3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA
Email USA: techserv@sial.com Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name: L- α -PHOSPHATIDYLCHOLINE
from dried egg yolk, Type X-E, \geq 40 % enzymatic

Product Number: P5394

Batch Number: BCBV1055

Brand: Sigma

CAS Number: 8002-43-5

Formula:

Formula Weight:

Storage Temperature: -20 C

Quality Release Date: 15 JUN 2017

Recommended Retest Date: MAR 2020

TEST	SPECIFICATION	RESULT
APPEARANCE (COLOR)	LIGHT YELLOW TO YELLOW-BROWN	LIGHT YELLOW
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER
PURITY (TLC AREA %)	CONSISTENT WITH HISTORY	92.0 %
ASSAY (ENZYM.)	\geq 40 %	86 %
SOLUBILITY (COLOR)	YELLOW TO DARK YELLOW	YELLOW
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO HAZY	CLEAR
SOLUBILITY (METHOD)	100 MG/ML CHLOROFORM	100 MG/ML CHLOROFORM



Dr. Claudia Geitner
Manager Quality Control
Buchs, Switzerland

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.

Lampiran 25. Endapan dari hasil sentrifugasi masing-masing formula

