PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN NANOLIPOSOM *3-O-ETHYL ASCORBIC ACID* DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN SIZING* EXTRUDER

SKRIPSI

Oleh:

ZULFA NURAFIFAH

16613098

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

JULI 2020

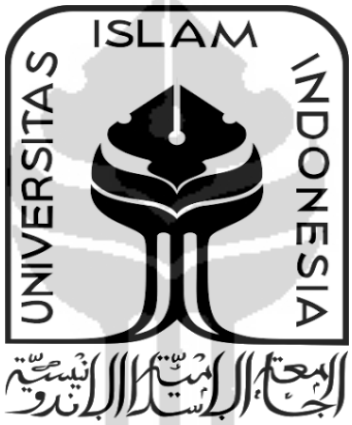
PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN NANOLIPOSOM *3-O-ETHYL ASCORBIC ACID* DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN SIZING* EXTRUDER

SKRIPSI

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

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

ZULFA NURAFIFAH

16613098

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

JULI 2020

ISLAM
UNIVERSITAS
INDONESIA

SKRIPSI

OPTIMASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN NANOLIPOSOM *3-O-ETHYL ASCORBIC ACID* DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN SIZING* EXTRUDER

Oleh:
ZULFA NURAFIFAH
16613098

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

Tanggal: 09 Juli 2020

Ketua Penguji	: Bambang Hernawan Nugroho, M.Sc., Apt	(……)
Anggota Penguji	: 1. Dr. Yandi Syukri, M.Si., Apt	(……)
	2. Dr. Lutfi Chabib,S.Farm., M.Sc., Apt	(……)
	3. Oktavia Indrati, M.Sc., Apt	(……)

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 9 Juli 2020

Penulis,



Zulfa Nurafifah

Alhamdulillahi robbil 'alamiin. Puji syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Allah subhanahu wa ta'ala yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

Atas izin Allah *subhanahu wa ta'ala* karya tulis ini penulis persembahkan untuk kedua orang tua saya Ibunda Safni dan Ayahanda Riduansyah, Kedua kakak saya Nursafyeni dan Fitri Mayasari serta Abang saya Muhammad Luthfi, terimakasih atas do'a, dukungan, motivasi, nasehat, serta kasih sayang yang senantiasa diberikan sampai saat ini.

Sahabat saya yang berada dalam satu *project* Nanoliposom *3-o-ethyl ascorbic acid* Aida Rosyidah A, terimakasih karna selalu sabar dan mampu bekerjasama dengan baik selama proses penelitian, terimakasih sudah menjadi *partner* yang sangat baik, saling *support* dan memberi masukan, serta selalu mengajak ke jalan kebaikan. Semoga Allah berkahi langkah kita serta Allah mampukan untuk menjadi sarjana yang *Rahmatan Lil Alamin. Aamiin yaa Rabbal a'laamiin*.

Almamater tercinta, Universitas Islam Indonesia.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur senantiasa penulis haturkan kepada Allah SWT, atas izin-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang Berjudul "Preparasi Dan Karakterisasi Sediaan Nanoliposom *3-O-Ethyl Ascorbic Acid* Dengan Metode Hidrasi lapis tipis Menggunakan *Down Sizing* Extruder ". Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat bagi mahasiswa agar memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Unversitas Islam Indonesia. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak baik berupa moril maupun materil. Penulis mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Bambang Hernawan N., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama sekaligus sebagai Ketua Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan Bapak Dr. Yandi Syukri, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing pendamping sekaligus sebagai Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, yang telah berjasa dalam meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, dukungan, dan kemudahan kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Lutfi Chabib, M.Sc., Apt. dan Ibu ... selaku dosen penguji yang bersedia memberikan waktunya untuk menguji dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis demi terselesaikannya naskah skripsi yang baik.
3. Bapak Saepudin, M.Si., Ph.D, Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dan Bapak Prof. Riyanto., S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan fasilitas sebagai penunjang pembelajaran serta tugas akhir ini.
4. Ibu Cynthia Astiti Putri, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang telah berjasa memberikan bantuan dan dukunga selama proses perkuliahan dan penyelesaian skripsi in.

5. Bapak Hartanto, mas Angga Kurniawan, A.Md, Bapak Yon Haryanto, STP.dan Bapak Riyanto, A.Md. serta seluruh laboran dan staf pengajar Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia yang telah memberi dukungan berupa fasilitas selama penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Aida Rosyidah A selaku rekan penelitian yang telah bersedia bertukar pikiran dan membantu penulis dalam menjalankan penelitian ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat dituliskan satu persatu yang telah memberikan energi dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis berharap adanya kritik dan saran yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Akhir kata semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat memberikan informasi bagi pembaca dan bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Yogyakarta, 9 Juli 2020

Penulis,



Zulfa Nurafifah

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR ..... **vii**
DAFTAR ISI ..... **ix**
DAFTAR GAMBAR ..... **xi**
DAFTAR TABEL ..... **xii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xiii**
INTISARI ..... **xii**
ABSTRACT ..... **xiii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang Masalah 1
1.2 Rumusan Masalah 2
1.3 Tujuan Penelitian 2
1.4 Manfaat Penelitian 2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **4**
2.1. Studi Pustaka 4
2.1.1 Liposom 4
2.1.2 Metode Ekstrusi 5
2.1.3 *3-O-Ethyl Ascorbic Acid* 5
2.1.4 Lipoid S 75 6
2.1.5 Lipoid DMPG-Na 7
2.1.6 Kolesterol 8
2.2.Hipotesis 9
BAB III METODE PENELITIAN **10**
3.1 Alat dan Bahan 10
3.2 Skema Kerja Penelitian 10
3.3 Tahapan Penelitian 11
3.3.1 Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis 11
3.3.2 Purifikasi Liposom 12
3.3.3 Penentuan Ukuran Partikel dengan PSA 12
3.3.4 Penentuan Zeta Potensial 12

3.3.5 Uji Stabilitas Sediaan 13
3.4 Analisis Hasil 13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 14
4.1 Preparasi Nanoliposom 14
4.2 Karakterisasi Nanoliposom 15
4.2.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Partikel 15
4.2.1 Nilai Zeta Potensial 18
4.3 Uji Stabilitas 19
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 22
5.1 Kesimpulan 22
5.2 Saran 22
DAFTAR PUSTAKA 23
LAMPIRAN 26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur umum Liposom.....4
Gambar 2.2. Struktur *3-O-ethyl ascorbic acid* 6
Gambar 2.3. Bentuk Lipoid S 75.....7
Gambar 2.2. Struktur Lipoid DMPG-Na.....8
Gambar 2.2. Struktur Kolesterol.....8
Gambar 3.1. Alur Skema Penelitian 10
Gambar 3.2. Variasi Siklus Ekstrusi pada extruder.....12
Gambar 4.1. Suspensi Nanoliposom 14
Gambar 4.2. Distribusi partikel suspensi nanoliposom hasil optimasi.....16
Gambar 4.3. Indeks Polidispersitas Nanoliposom terhadap Jumlah Siklus 17
Gambar 4.4. Zeta Potensial Suspensi Nanoliposom terhadap Jumlah Siklus 19
Gambar 4.5. Perbandingan Distribusi Partikel Suspensi Nanoliposom 20

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Formulasi Nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* 12
Tabel 4.1. Data Optimasi nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* 15
Tabel 4.2. Data Hari ke-0 dan hari ke-30 19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan formulasi Nanoliposom *3-O-Ethyl-Ascorbic Acid* 26
Lampiran 2. Hasil Pembacaan Ukuran Partikel menggunakan PSA.....28
Lampiran 3. Hasil Pembacaan Indeks Polidispersitas menggunakan PSA.....29
Lampiran 4. Hasil Pembacaan Zeta Potensial menggunakan PSA 30
Lampiran 5. *Certificate of Analysis 3-O-Ethyl-Ascorbic Acid*.....31

PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN NANOLIPOSOM *3-O-ETHYL ASCORBIC ACID* DENGAN METODE HIDRASI LAPIS TIPIS MENGGUNAKAN *DOWN SIZING* EXTRUDER

Zulfa Nurafifah
Program Studi Farmasi

INTISARI

Senyawa *3-O-ethyl ascorbic acid* merupakan salah satu turunan asam askorbat yang akan dibuat dalam bentuk sediaan nanoliposom sebagai upaya menjaga stabilitas *3-O-ethyl ascorbic acid* sebagai zat aktif dengan distribusi terkontrol. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan preparasi, karakterisasi, dan uji stabilitas formulasi sediaan liposom *3-O-ethyl ascorbic acid*. Metode penelitian ini yakni pembuatan sediaan Liposom 3OEAA metode hidrasi lapis tipis dengan alat pengecil ukuran berupa extruder. Sediaan nanoliposom pada penelitian ini dibuat dalam beberapa kali pengulangan siklus ekstrusi yaitu sebanyak 1,3,5, dan 7 kali. Proses ekstrusi dihitung satu kali siklus saat larutan suspensi liposom melewati membran filter polikarbonat berukuran 0,4 µm dan 0,1 µm melalui *original syringe* dan *alternate syringe*. Pengujian yang dilakukan meliputi penentuan ukuran partikel, zeta potensial dan uji stabilitas. Hasil yang diperoleh pada variasi 1 siklus, 3 siklus, 5 siklus, dan 7 siklus berupa ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial berturut-turut adalah : 184,73 ± 1,07nm, 0,22 ± 0,04 Đ, -20,2 ± 0,95 mV ; 139,97 ± 2,9nm, 0,16 ± 0,03 Đ, -19,63 ± 0,78 mV ; 119,83 ± 0,61nm, 0,26 ± 0,03 Đ, -24,77 ± 0,68 mV ; 110,07 ± 1,56nm, 0,22 ± 0,03 Đ, -27,47 ± 0,45 mV. Data studi stabilitas menunjukkan bahwa sediaan nanoliposom dari berbagai variasi siklus yang disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 2-8°C selama 1 bulan cukup stabil karna masih memenuhi persyaratan baik ukuran partikel maupun indeks polidispersitas. Disimpulkan bahwa preparasi nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* Extruder optimal pada 5 dan 7 siklus ekstrusi.

Kata kunci : 3-O-Ethyl Ascorbic Acid, Hidrasi lapis tipis, Ekstrusi, Nanoliposom

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF 3-O-ETHYL ASCORBIC ACID NANOLIPOSOMS USING THIN LAYER HYDRATION METHOD WITH EXTRUDER DOWN SIZING

Zulfa Nurafifah
Department of Pharmacy

ABSTRACT

3-O-ethyl ascorbic acid is one of ascorbic acid derivatives that will be prepared in a nanoiposome dosage form with controlled distribution. This study aimed to carry out the preparation, characterization, and stability test of the 3-O-ethyl ascorbic acid nanoliposome. The thin layer hydration method with down sizing extruder device was applied to this study. The preparation of nanoliposome was conducted in several repetitions of the extrusion cycles, there are 1,3,5 and 7 times. The extrusion process is counted as a cycle once the liposomal suspension solution passes through a 0.4 μm and 0.1 μm polycarbonate filter membrane through the original syringe and alternate syringe. Nanoliposome was characterized include particle size, zeta potential, and stability test. The results showed that, in the variation of 1 cycle, 3 cycles, 5 cycles, and 7 cycles the value of particle size, polydispersity index, and zeta potential are: 184,73 ± 1,07nm, 0,22 ± 0,04 Đ, -20,2 ± 0,95 mV ; 139,97 ± 2,9nm, 0,16 ± 0,03 Đ, -19,63 ± 0,78 mV ; 119,83 ± 0,61nm, 0,26 ± 0,03 Đ, -24,77 ± 0,68 mV ; 110,07 ± 1,56nm, 0,22 ± 0,03 Đ, -27,47 ± 0,45 mV. Stability test showed that nanoliposome preparations from several various cycles stored in refrigerators with a temperature of 2-8°C for one month are quite stable because they still meet the requirements in both particle size and polydispersity index. The conclusion, the preparation of 3-O-ethyl ascorbic acid nanoliposomes by thin layer hydration method using down sizing Extruder is optimal in 5 and 7 extrusion cycles.

Keywords : 3-O-Ethyl Ascorbic Acid, Thin Layer Hydration, Extrusion, Nanoliposome

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Senyawa *3-O-ethyl ascorbic acid* (3OEAA) merupakan salah satu turunan asam askorbat yang memiliki stabilitas terhadap oksigen dan cahaya lebih baik dari turunan asam askorbat lainnya. Hal ini disebabkan oleh adanya penambahan gugus etil pada senyawa ini sehingga mampu melindungi gugus 3-OH dari ionisasi dan oksidasi (Iliopoulos et al., 2019). Meskipun 3OEAA memiliki efek memutihkan kulit dengan baik, namun sifat kelarutannya yang tinggi di dalam air menunjukkan kemungkinan besar zat ini sulit untuk menembus lapisan *stratum korneum* yang dihantarkan oleh epidermis. Oleh karena itu zat aktif ini membutuhkan sistem penghantaran yang memiliki kompatibilitas baik dengan bagian molekul amfifilik yang dapat menangani sifat hidrofiliknya (Stamford NP, 2012; Smaoui S, 2013).

Liposom merupakan salah satu sistem penghantaran obat koloid yang dapat meningkatkan kelarutan suatu obat dengan distribusi terkontrol (Nkanga et al., 2019). Secara sederhana, pembentukan liposom didasari oleh interaksi hidrofilik-hidrofobik antara fosfolipid dan molekul air (Khosravi-Darani and Mozafari, 2010). Sediaan Liposom akan berbentuk vesikel berlapis ketika fosfolipid terhidrasi melebihi media berair (Kalepu, 2013). Salah satu metode pembuatan sediaan liposom yakni hidrasi lapis tipis yang mudah dilakukan. Hidrasi lapis tipis dari fase lipid yang kering juga dapat dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dari sediaan liposom yang berbentuk *multilamelar vesicles* (Kalepu, 2013). Namun, *multilamelar vesicles dapat* membentuk homogenitas ukuran yang buruk sehingga butuh pengecil ukuran untuk menyeragamkannya.

Pengecil ukuran dari Liposom dapat menggunakan beberapa cara diantaranya yaitu sonikasi, mikrofluidisasi, *high-pressure homogenization*, *shear-forced induced homogenization*, *homogenization* dan ekstrusi (A. Brandelli et al, 2017). Metode pengecil ukuran yang sering digunakan yaitu ekstrusi dengan kelebihan berupa dapat menggandakan efisiensi enkapsulasi serta tidak ditemukan adanya pengendapan fosfolipid (Ong et al., 2016; Wagner and Vorauer-Uhl,

2011). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fernando, A et al, 2013 menggunakan *sonicator* dan *mini extruder* sebagai pengecil ukuran pada obat Meropenem steril, menghasilkan ukuran partikel yang cenderung seragam pada liposom terekstrusi, sedangkan untuk jumlah meropenem yang terjerap lebih kecil dibandingkan liposom tersonikasi.

Selain itu, penelitian mengenai sistem penghantaran obat yang tepat untuk senyawa *3-O-ethyl ascorbic acid* masih terbatas. Adapun Li, et al, 2016 melaporkan bahwa krim *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan sistem penghantaran berupa *Lamellar Liquid Crystal* mampu meningkatkan retensi obat didalam kulit lebih baik daripada krim biasa. Namun, belum ditemukan adanya penelitian mengenai formulasi sediaan Nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder. Sehingga hal ini yang memicu peneliti untuk melakukan preparasi dan karakterisasi serta uji stabilitas *3-O-ethyl ascorbic acid* dalam bentuk sediaan Nanoliposom dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder sebagai pengecil ukuran partikel.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana formulasi sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder?

1.3 Tujuan Penelitian

Melakukan preparasi, karakterisasi, dan menguji stabilitas formulasi sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder.

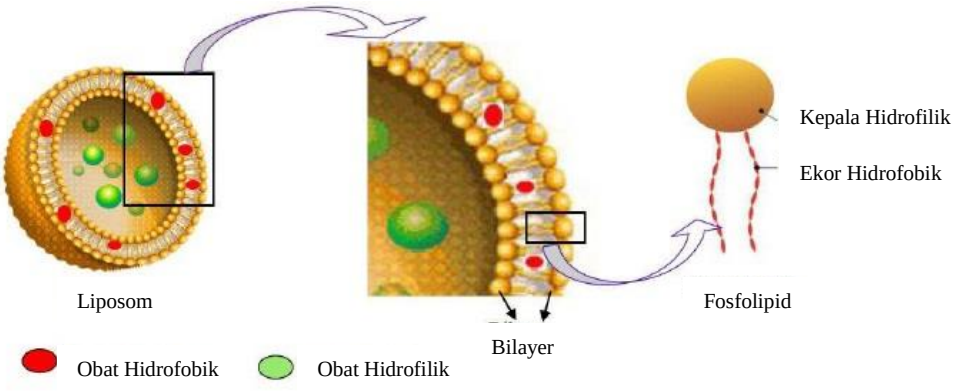
1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya bidang teknologi farmasi, menambah pengetahuan tentang formulasi optimal sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder.

2. Bagi Industri Farmasi, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan produk baru berupa sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing extruder*.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Studi Pustaka
2.1.1 Liposom

Liposom adalah vesikel artifisial kecil berbentuk bola yang dapat dibuat dari kolesterol dan fosfolipid nontoksik alami. Karena ukurannya dan karakter hidrofobik dan hidrofilik, liposom merupakan sistem penghantaran obat yang menjanjikan (Akbarzadeh et al., 2013). Berdasarkan ukuran dan jumlah bilayernya, liposom juga dapat diklasifikasikan menjadi : vesikel unilamellar kecil (SUV) dengan kisaran ukuran 20-100nm, vesikel unilamellar besar (LUV) berukuran >100nm, multilamellar vesicles (MLV) dengan ukuran > 500nm, vesikel Oligolamellar (OLV) berukuran 100-1000nm (Nkanga et al., 2019). Liposom yang digunakan untuk penggunaan medis umumnya berkisar antara 50 - 450 nm. Secara biologis dan keunggulan teknologi liposom sebagai sistem pengiriman baik in vitro dan in vivo (Su et al., 2018). Penelitian sebelumnya menyelidiki efek nanoliposom yang berukuran rata-rata 200nm dalam perlindungan *stratum corneum* terhadap surfaktan nonionik yang tidak menyebabkan kerusakan pada *stratum corneum* selama persiapan sampel untuk penyelidikan mikroskopis melalui teknik pencitraan. Salah satu metode pembuatan sediaan liposom yakni hidrasi lapis tipis yang mudah dilakukan. Hidrasi lapis tipis dari fase lipid yang kering juga dapat dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dari sediaan liposom yang berbentuk *multilamelar vesicles* (Kalepu, 2013).



Gambar 2.1. Struktur umum Liposom (Kalepu, 2013)

2.1.2 Metode Ekstrusi

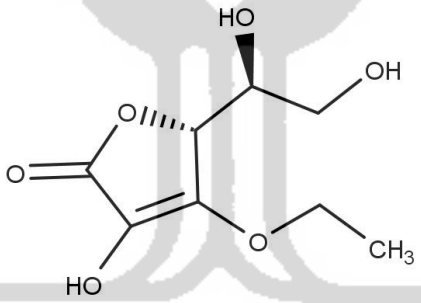
Ekstrusi merupakan teknik melewatkan suspensi liposom melalui filter membran dengan ukuran pori yang ditentukan. Sedangkan *extruder* adalah mesin yang dilengkapi dengan pompa yang mendorong cairan melalui membran, dapat digunakan untuk menyelesaikan proses ekstrusi. Sejumlah penelitian tentang ekstrusi menggunakan berbagai perangkat telah dilaporkan. Contoh perangkat yang digunakan termasuk *Lipex extruder* dan *Hamilton* sebagai mini *extruder* (Ong et al., 2016). Sebelum menggunakan *extruder*, fase lipid kering yang telah dievaporasi dari pelarutnya dihidrasi terlebih dahulu kemudian didispersi menggunakan *vortex* untuk membentuk MLV. Ukuran pori membran filter polikarbonat disesuaikan dengan diameter partikel yang diinginkan. Penggunaan 2 membran filter lebih disarankan. Proses ekstrusi dilakukan pada keadaan temperatur yang melebihi masa transisi lipid. Untuk menghindari degradasi lipid, *extruder* diberi tekanan dengan gas nitrogen (Lawrence, 1994).

Penelitian sebelumnya menggunakan *sonicator* dan *mini extruder* sebagai pengecil ukuran pada obat Meropenem steril menyatakan bahwa proses sonikasi dapat meningkatkan efisiensi penyerapan Meropenem pada Liposom hasil hidrasi sedangkan proses ekstrusi 5 siklus memberikan hasil sebaliknya (Fernando A, 2013). Kelebihan yang dimiliki metode ekstrusi sebagai pengecil ukuran partikel yakni mudah, dapat direproduksi, tidak ada degradasi fosfolipid yang terdeteksi, dapat menggandakan efisiensi enkapsulasi dari persiapan liposom, serta tidak memerlukan waktu yang lama dalam prosesnya. Namun kekurangan dari metode ini yakni Sampel mentah liposom memiliki potensi untuk terkontaminasi dari logam *Titanium probe* dan minyak dari pompa penghomogen dan dapat menghasilkan aerosol yang menghambatnya dari penggunaan dengan agen tertentu (Rahman A, et al, 2018; Ong et al., 2016).

2.1.3 *3-O-Ethyl Ascorbic Acid*

3-O-Ethyl Ascorbic Acid (3OEAA) adalah turunan asam L-askorbat dengan suatu gugus etil pada posisi karbon ketiga. Modifikasi struktural ini melindungi gugus 3-OH dari ionisasi, sehingga terdapat perubahan dalam sifat

fisikokimia (Iliopoulos et al., 2019). *3-O-Ethyl Ascorbic Acid* yang struktur sederhana dinilai memiliki aktivitas transdermal yang efisien, sehingga banyak dikembangkan sebagai zat aktif tambahan dalam kosmetik komersial (Tai et al., 2014). Senyawa ini juga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik dibuktikan oleh reaksi dengan DPPH menunjukkan aktivitas lebih lama dibandingkan dengan aktivitas antioksidan oleh Asam Askorbat (Golonka et al., 2017). Namun, sifat kelarutannya yang tinggi di dalam air menunjukkan kemungkinan besar zat ini sulit untuk menembus lapisan *stratum korneum*. Komposisi air hanya sebanyak 15-30% dari komposisi total *stratum korneum*, hal ini menyebabkan suatu zat hidrofilik akan sulit menembus lapisan hidrofobik ini, dan dapat meresap ke lapisan kulit yang lain (Maione-Silva et al., 2019). Oleh karena itu zat aktif ini membutuhkan sistem penghantaran yang memiliki kompatibilitas baik memiliki kompatibilitas baik dengan bagian molekul amfifilik yang dapat menangani sifat hidrofiliknya (Stamford NP, 2012; Smaoui S, 2013).

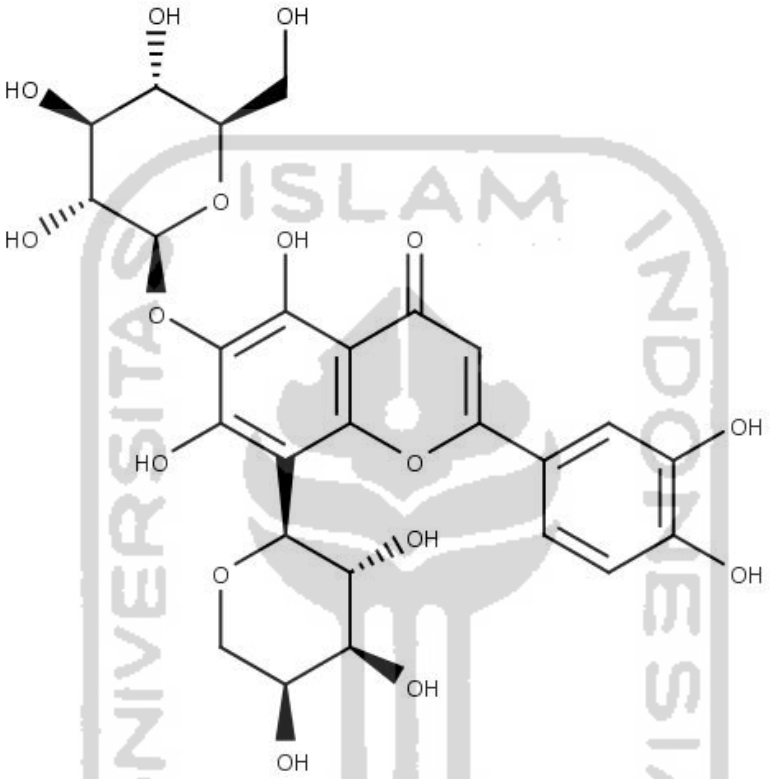


Gambar 2.2. Struktur *3-O-ethyl ascorbic acid* menggunakan MarvinSketch versi 18.22

2.1.4 Lipoid S75

Lipoid S75 disebut juga sebagai Lipoid Soybean yang merupakan fosfolipid alami hasil dari isolasi lesitin kedelai. Fosfolipid alami berasal dari sumber terbarukan dan diproduksi dengan proses yang lebih ramah lingkungan. Tersedia dalam skala yang lebih besar dengan biaya yang relatif rendah dibandingkan dengan fosfolipid sintetis serta memenuhi semua persyaratan sediaan farmasetis. Aman digunakan untuk berbagai rute administrasi obat dalam tubuh serta dalam segala bentuk sediaan (van Hoogevest and Wendel, 2014).

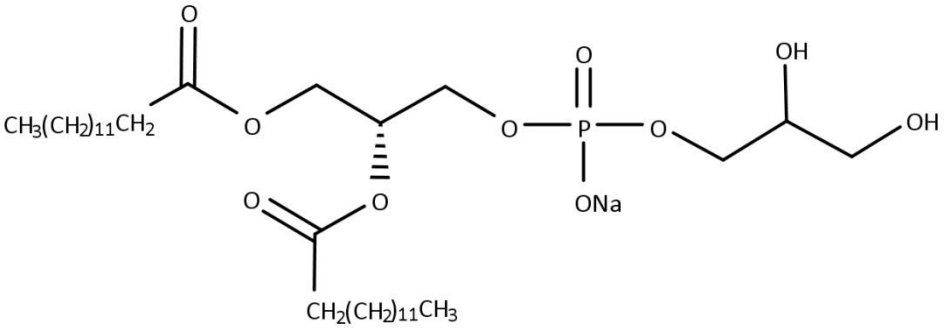
Selain itu, Lipoid S75 dapat digunakan sebagai pembawa yang efektif untuk meningkatkan stabilitas fisikokimia, bioavailabilitas, dan efikasi biopeptida makanan sebagai bahan terapi potensial untuk dimasukkan ke dalam makanan fungsional (Auwal et al., 2018)



Gambar 2.3. Struktur Lipoid S75 menggunakan MarvinSketch versi 20.15

2.1.5 Lipoid DMPG-Na

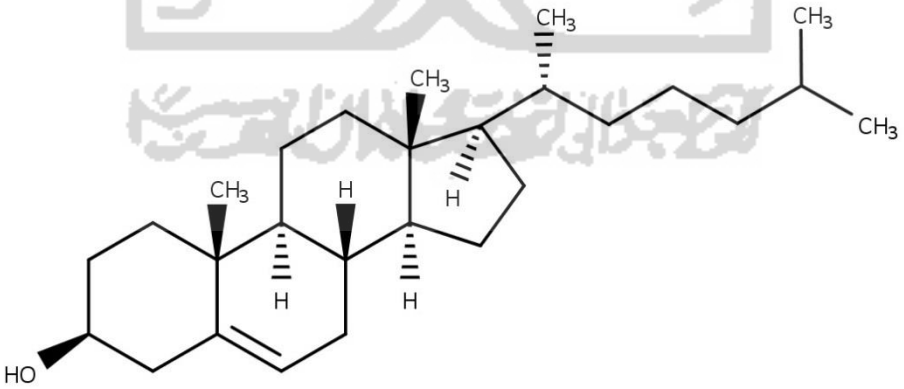
Lipoid DMPG-Na atau disebut juga Fosfatidilgliserol merupakan jenis fosfolipid sintesis. Eksipien ini dapat digunakan untuk sediaan farmasi dengan rute administrasi parenteral (van Hoogevest and Wendel, 2014). Sediaan liposom dipasaran yang menggunakan Lipoid DMPG yakni Abelcet dengan zat aktif Amphotericin B yang dapat mengatasi infeksi fungi invasif dengan rute administrasi intravena. Namun terdapat penelitian yang menggunakan campuran bahan DMPC dan Lipoid DMPG-Na yang hanya mampu menjerap Temoporfin dalam jumlah sedikit serta kurang stabil pada lapisan bilayer sediaan Liposom (Holzschuh et al., 2018).



Gambar 2.4. Struktur Lipoid DMPG-Na menggunakan MarvinSketch versi 20.15

2.1.6 Kolesterol

Kolesterol merupakan molekul amfifatik, yakni senyawa yang memiliki sifat hidrofilik dan lipofilik. Kolesterol mengandung gugus hidroksi polar disatu sisi dan tetrasiklik non-polar berbentuk cincin steroid dengan ekor hidrokarbon becabang disisi lain. Sebuah studi menyatakan bahwa substitusi fosfatidilkolin dengan kolesterol dapat meningkatkan ukuran diameter liposom serta mengurangi fluiditas membran sel target (Yandrapati, 2012). Bagian hidrofobik kolesterol mudah berinteraksi dengan inti membran sehingga penambahan kolesterol pada bilayer liposom mampu meningkatkan stabilitasnya (Bozzuto, 2015.; Hosta-Rigau et al., 2013).



Gambar 2.5. Struktur Kolesterol menggunakan MarvinSketch versi 20.15

1.2 Hipotesis

Desain formulasi nanoiposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing extruder* mampu menghasilkan formula yang stabil ditandai dengan tidak adanya pemisahan fase dan pengendapan, serta memenuhi karakteristik sediaan Liposom dengan ukuran diameter partikel kisaran 50 - 450 nm dan nilai zeta potensial lebih dari + 25 mV atau kurang dari -25 mV.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Alat

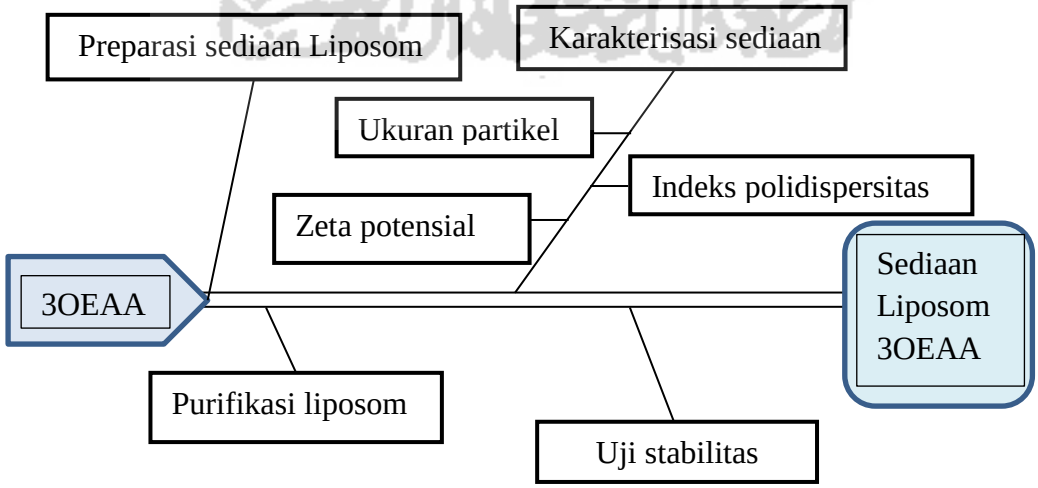
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (Pyrex), vial, *rotary evaporator* (Heidolph), *mini extruder* (Avanti), *vortex* (Heidolph), *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100), neraca analitik (Metler Toledo XS 205, kepekaan 0,01 mg), Sephadex-G50.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *3-O-ethyl ascorbic acid* (Corum), Lipoid S75 95% (Lipoid GMBH), Lipoid DMPG-Na 5% (Lipoid GMBH), Kolesterol (Sigma-Aldrich), *Phosphate-buffered saline* (Oxoid) pH 7,4, Laktosa Monohidrat (Shaanxi), Kloroform Pa (Merck) yang diperoleh dari Laboratorium Teknologi Farmasi serta Metanol Pa (Merck) yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

3.3 Skema Penelitian

Sistematika kerja pada penelitian ini berisi urutan proses mulai dari preparasi formula sediaan Liposom; desain optimasi sediaan Liposom, dengan 2 variabel, yaitu: variabel independen yakni jumlah siklus ekstrusi sedangkan variabel dependen berupa ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial. proses karakterisasi melalui variabel dependen; uji stabilitas dari formula liposom yang stabil. Skema penelitian secara umum dapat dilihat pada **Gambar 3.1**



Gambar 3.1. Alur Skema Penelitian

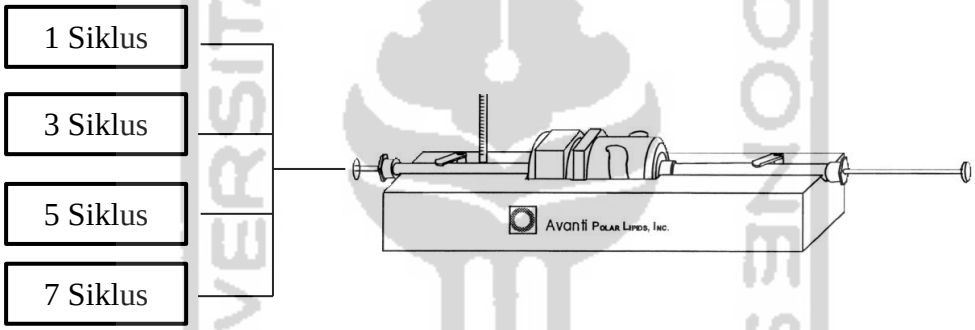
3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi lapis tipis

Liposom diformulasikan dengan campuran dari 2 fase, yakni fase non polar dan fase polar. Fase non-polar terdiri dari Lipoid S75, Lipoid DMPG-Na, Kolesterol, serta campuran Metanol: Kloroform (1:1). Sedangkan fase polar meliputi 3OEAA dan PBS pH 7,4. Liposom dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis. Formula liposom yang dibuat dapat dilihat pada **Tabel 3.1** (Nugroho, B.H., et al., 2019). Semua bahan yang termasuk fase lipid ditimbang sesuai formulasi kemudian dilarutkan dalam campuran Metanol: Kloroform kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan ini selanjutnya disebut campuran A. Kemudian di tambahkan laktosa monohidrat sebanyak 5% dari total formula ke dalam labu alas bulat, lalu dimasukkan campuran A. Larutan kemudian diuapkan hingga membentuk karamel dengan kondisi vakum dalam *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan kecepatan putaran 150 rpm selama 1 jam. Lapisan lipid yang terbentuk diinkubasi pada suhu ruangan agar mencapai kesetimbangan dengan lingkungan dan supaya pelarut dapat hilang sempurna. Selanjutnya membuat campuran B yaitu *3-O-ethyl ascorbic acid* yang dilarutkan dalam 10 ml larutan PBS pH 7,4. Setelah dibiarkan beberapa saat, lapisan tipis dihidrasi menggunakan campuran B dengan kecepatan *rotary evaporator* 150 rpm dan suhu 40°C selama 30 menit tanpa dikondisikan dalam keadaan vakum. Suspensi yang terbentuk dimasukkan ke dalam vial. Kemudian, suspensi disimpan di dalam lemari pendingin. Liposom yang telah terbentuk diseragamkan ukurannya dengan memakai alat *mini extruder set* menggunakan membran polikarbonat berukuran 0,4 μm dan 0,1 μm. Hasil ekstrusi dimasukkan ke dalam vial lain kemudian disimpan di dalam lemari es atau dapat langsung diuji (Hwang et al., 2013).

Tabel 3.1. Formulasi Nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid*

Nama Bahan	Jumlah
Lipoid S75 95% (mg)	431,67
Lipoid DMPG-Na 5% (mg)	18,62
Kolesterol (mg)	9,66
3-O-ethyl ascorbic acid (mg)	40
Metanol (ml)	5
Kloroform (ml)	5
Phosphate-buffered saline (ml)	10



Gambar 3.2. Variasi siklus ekstrusi pada extruder

3.4.2 Purifikasi Liposom

Sediaan liposom dipurifikasi menggunakan kromatografi filtrasi dengan Sephadex-50 sebagai kolomnya. Sampel diambil lalu dialirkan ke kolom *sephadex* yang dibantu dengan cairan PBS (Shashi K, et al, 2012).

3.4.3 Penentuan Ukuran Partikel

Pengukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *particle size analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100) dengan hasil ukuran yang bervariasi dari perbandingan siklus sediaan Liposom. Pembacaan PSA dapat dilakukan menggunakan sediaan yang telah mengalami *top down* ukuran oleh alat extruder yang dilarutkan dalam *Phosphate-buffered saline*.

3.4.4 Penentuan zeta potensial

Zeta potensial liposom dievaluasi dengan menggunakan *zeta-sizer.* Sampel liposom diencerkan dengan pengenceran 1 tetes dalam 10 ml larutan pendispersi,

yaitu dapar fosfat 7,4. Sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan dianalisis pada suhu 25°C.

3.4.5 Uji Stabilitas Sediaan

Hasil suspensi liposom ditempatkan dalam vial lalu disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2-8°C. Sampel diambil pada hari ke-30. Lalu diuji ukuran partikel dan indeks polidispersitas dari sediaan tersebut.

3.4 Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari hasil penelitian seperti nilai indeks polidispersitas, ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, serta nilai zeta potensial dibahas secara deskriptif dengan membandingkan pada jurnal-jurnal penelitian sebelumnya.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Nanoliposom

Berikut merupakan tampilan visual hasil preparasi nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid 3* dengan variasi 1 siklus; 3 siklus; dan 5 siklus; 7 siklus. Hasil yang diperoleh dari preparasi nanoliposom berbentuk larutan suspensi putih. Hasil organoleptis dapat dilihat pada **Gambar 4.1.**



a **b** **c** **d**

Gambar 4.1. Suspensi nanoliposom dengan 1 siklus (a); 3 siklus (b) ; 5 siklus (c) ; 7 siklus (d) ekstrusi

Hasil yang diperoleh dari preparasi nanoliposom yang memiliki variasi ekstrusi 1 siklus; 3 siklus; 5 siklus; dan 7 siklus sebagai upaya memperkecil ukuran partikel mempengaruhi tingkat kejernihan sediaan. Pada jumlah siklus ekstrusi yang terkecil yakni 1 siklus, sediaan bewarna putih susu pekat. Pada upaya memperkecil ukuran partikel dengan 3 siklus ditemukan bahwa sediaan bewarna putih susu sedikit bening. Sedangkan pada jumlah siklus ketiga yakni 5 siklus, sediaan bewarna putih susu jernih. Pada jumlah siklus terbanyak yakni 7 siklus, sediaan bewarna putih susu lebih jernih.

Sebuah penelitian menyatakan bahwa penurunan ukuran partikel sediaan liposom yang berbeda signifikan terjadi pada dua siklus ekstrusi. Ukuran partikel yang diperoleh dari 380 nm berkurang menjadi 200 nm. Namun, jumlah siklus ekstrusi lebih lanjut tidak menyebabkan penurunan ukuran partikel yang cukup besar. Selain itu, peningkatan laju aliran pada proses ekstrusi ditemukan mampu memberikan usaha yang lebih dalam proses pengecilan ukuran sediaan liposom (Ong et al., 2016).

4.2 Karakterisasi Nanoliposom

Data yang diperoleh untuk karakterisasi sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid 3* dengan metode lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder pada optimasi pertama sebagaimana **Tabel 4.1.**

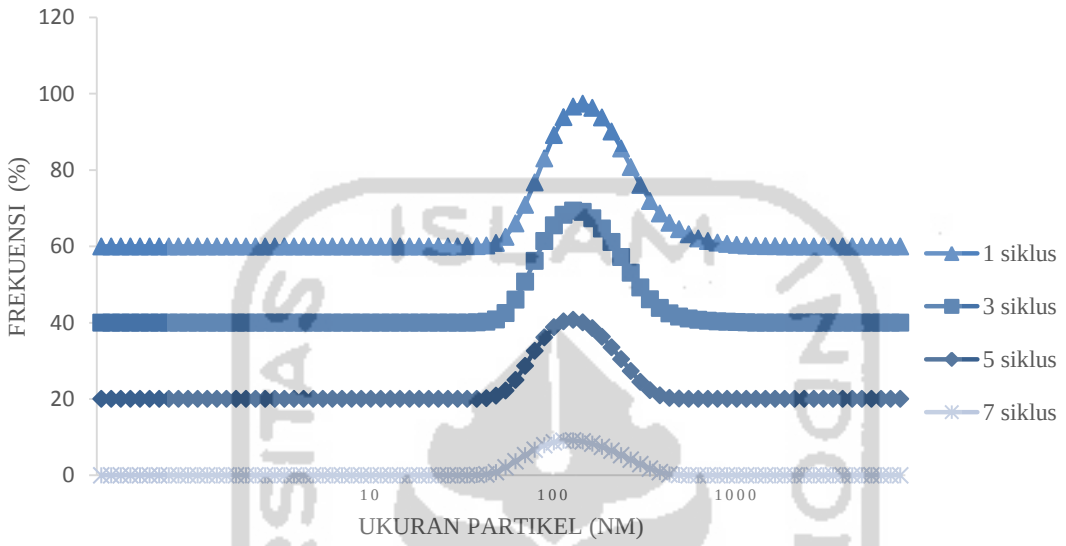
Tabel 4.1. Data Optimasi nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* (N=3)

Jumlah siklus	Warna	Ukuran Partikel (nm)	Index Polidispersitas (Đ)	Zeta Potensial (mV)
1	Putih susu	184,73 ± 1,07	0,22 ± 0,04	-20,20 ± 0,95
3	Putih susu agak jernih	139,97 ± 2,9	0,16 ± 0,03	-19,63 ± 0,78
5	Putih susu cukup jernih	119,83 ± 0,61	0,26 ± 0,03	-24,77 ± 0,68
7	Putih susu jernih	110,07 ± 1,56	0,22 ± 0,03	-27,47 ± 0,45

4.2.1. Ukuran partikel dan distribusi partikel

Ukuran partikel menjadi faktor penting karena dapat mempengaruhi jumlah penjerapan obat dalam suatu sistem penghantaran obat (Segale *et al*., 2016). **Gambar 4.2 dan Gambar 4.3.** menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan terhadap ukuran partikel antar variasi siklus. Sehingga nilai yang diperoleh berada dalam rentang 100-200nm. Proses pembentukan nanoliposom disebabkan oleh proses siklus ekstrusi, yakni ketika larutan suspensi liposom melewati membran filter polikarbonat berukuran 0,4 μm dan 0,1 μm melalui *original syringe* dan *alternate syringe* (Nomani and Samy, 2016). Semakin banyak jumlah siklus maka semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan. Liposom merupakan salah satu bagian dari Nanocarrier berkarakteristik ukuran partikel <500nm yang mana dapat diaplikasikan pada permukaan kulit untuk mencapai efek lokal melalui penghantaran dermal serta efek sistemik melalui penghantaran transdermal (Montenegro, 2014; Su et al., 2018). Kemudian Nanovesikel dengan diameter <300nm dapat menghantarkan zat yang terkandung didalamnya ke lapisan kulit yang lebih dalam (Danaei et al., 2018). Spesifiknya,

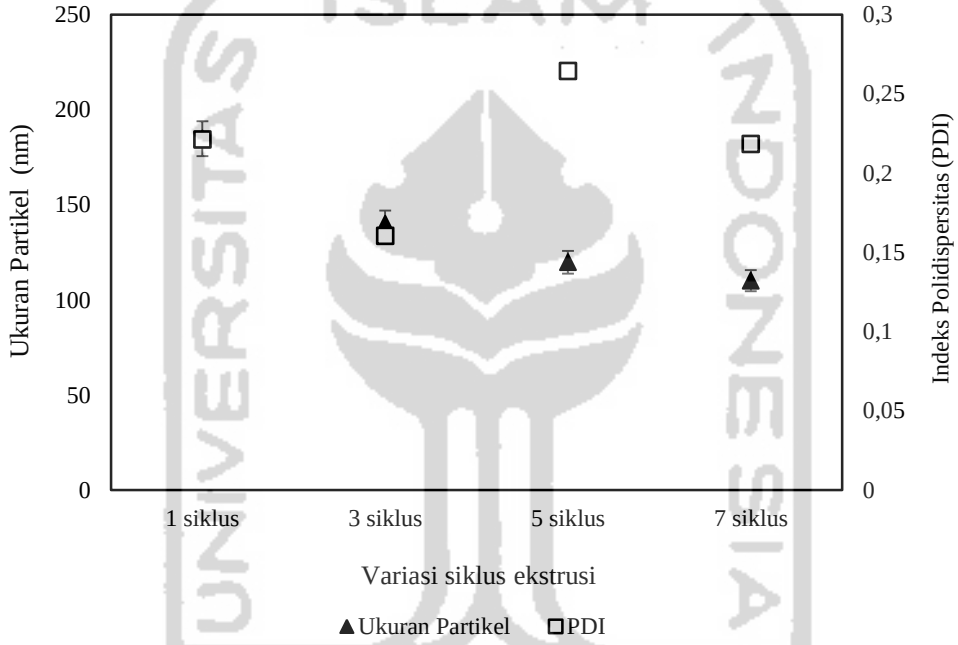
pada sediaan nano-kosmetik memiliki persyaratan untuk mampu menembus lapisan kulit melalui bukaan folikel rambut dan pori-pori kulit yakni dengan ukuran partikel >100nm (Lohani et al., 2014).



Gambar 4.2. Distribusi partikel suspensi nanoliposom

Keseragaman ukuran partikel dan distribusi partikel pada puncak yang sempit terjadi akibat kemampuan teknik ekstrusi yang melewatkan sediaan liposom melalui filter membran polikarbonat pada tekanan yang jauh lebih rendah yakni <100psi (Dwivedi and Verma, 2013; Wagner and Vorauer-Uhl, 2011). Teknik ekstrusi menggunakan salah satu alat mikrofluidik yang secara pasif mampu mengeksploitasi hidrodinamika aliran fluida pada volume terbatas untuk memungkinkan liposom merakit diri dari *bottom-up*. Sehingga mampu menstabilkan sediaan nanoliposom dengan kemampuan menjerap obat yang sangat baik (Corrêa et al., 2019). Pertambahan siklus ekstrusi tidak memberikan perbedaan distribusi ukuran yang berbeda jauh seperti pada **Gambar 4.2.** terhadap variasi 1 siklus; 3 siklus; 5 siklus; 7 siklus. Namun, semakin kecil jumlah siklus ekstrusi menghasilkan puncak yang sempit yang menandakan tingkat homogenitas yang lebih baik. Semakin landai puncak grafik menunjukkan banyaknya variasi ukuran partikel yang terbentuk Hal ini sejalan dengan studi yang telah dilakukan sebelumnya bahwa tidak ada perbedaan yang jelas dalam distribusi ukuran

partikel antara *batch* yang diekstrusi sebanyak 21 kali melalui membran pori berukuran 100 nm dan 50 nm dibandingkan dengan *batch* yang diekstrusi sebanyak 43 kali melalui membran pori 50 nm saja. Tetapi ukuran vesikel yang sedikit lebih besar diperoleh untuk *batch* yang diekstrusi sebanyak 21 kali melalui membran pori 50 nm saja. Sehingga dapat disimpulkan jika hanya menggunakan 1 jenis membran pori maka kurang efisien untuk memperkecil ukuran vesikel (Hinna et al., 2016).



Gambar 4.3. Indeks polidispersitas Nanoliposom terhadap jumlah siklus

Nilai numerik angka indeks polidispersitas berkisar dari 0,0 (untuk sampel dengan partikel ukuran yang seragam secara sempurna) hingga 1,0 (untuk sampel yang sangat polidispersi dengan populasi ukuran partikel yang banyak). Dalam aplikasi penghantaran obat menggunakan pembawa berbasis lipid, seperti formulasi nanoliposom, angka indeks polidispersitas ≤0,3 dianggap dapat diterima dan menunjukkan populasi vesikel fosfolipid yang homogen (Danaei et al., 2018). Hubungan antara ukuran partikel dan Nilai angka indeks polidispersitas dapat dilihat pada **Gambar 4.4** yang menunjukan bahwa hasil distribusi ukuran partikel memenuhi nilai persyaratan index polidispersitas yakni ≤0,3 , sehingga tiap

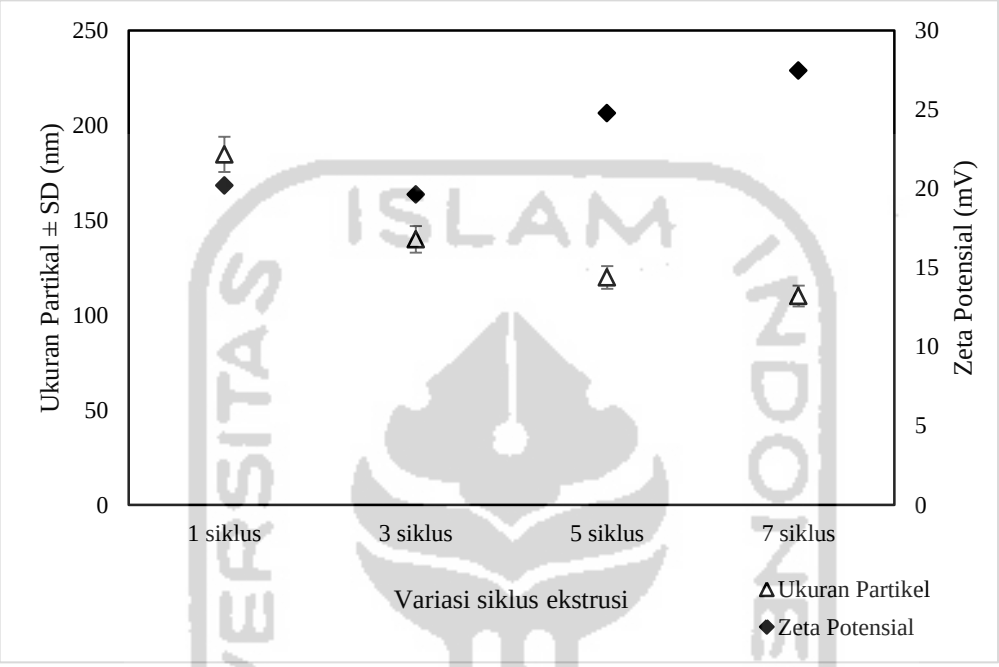
formula dengan berbagai variasi siklus dapat dikatakan memiliki keseragaman ukuran yang baik dan homogen. Hal ini disebabkan oleh angka indeks polidispersitas yang cenderung mendekati 0 seperti yang tercantum pada **Tabel 4.1** (Suhaimi et al., 2015). Semakin banyak siklus, ukuran partikel yang dihasilkan semakin mendekati ,<200nm dan angka indeks polidispersitas semakin mendekati nilai 0 sehingga hubungan yang dihasilkan keduanya semakin baik. Pada **Gambar 4.2 dan Gambar 4.3.** terlihat muncul satu puncak yang tinggi dan sempit. Hal ini dapat memperkuat bukti keseragaman ukuran yang baik dan homogen.

4.2.2. Nilai zeta potensial

Zeta potensial merupakan nilai potensial elektrokinetik yang berhubungan dengan besarnya muatan pada permukaan suatu partikel yang menyatakan perbedaan potensial antara media dispersi dan lapisan stasioner dari cairan yang melekat pada partikel yang terdispersi (Honary and Zahir, 2013). Pada **Gambar 4.4.** terlihat bahwa variasi siklus yang diberikan pada proses ekstrusi mampu memberikan pengaruh terhadap nilai zeta potensial. Hasil preparasi sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* menunjukkan muatan permukaan partikel adalah negatif. Tentunya hal ini menjadi kabar gembira untuk pembuatan sediaan nanoliposom yang bertujuan sebagai formulasi dermatologi. Karena sediaan nanoliposom bermuatan partikel negatif terbukti mampu meningkatkan penetrasi zat aktif berupa turunan asam askorbat kedalam kulit.

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa Enkapsulasi Asam Askorbat dalam liposom bermuatan negatif adalah formulasi dermatologis berkinerja tinggi yang mampu menangani permasalahan kulit dengan meremajakan dan merevitalisasi kulit (Maione-Silva et al., 2019). Nilai Zeta Potensial yang baik yaitu lebih dari +25 mV atau kurang dari -25 mV. Pada **Tabel 4.1** dapat terlihat bahwa dihasilkan nilai zeta potensial bermuatan negatif yang bervariasi antara -19,63 dan -27,47 yang dianggap sebagai potensi optimal untuk memastikan stabilitas partikel. Maka sediaan dinyatakan cukup stabil karna mendekati +/-25mV terutama pada variasi 5 dan 7 siklus ekstrusi. Diamati bahwa zeta potensial

pada liposom memiliki muatan yang cukup untuk menghambat agregasi vesikel (Evans et al., 2018; Honary and Zahir, 2013; Tiwari et al., 2019)



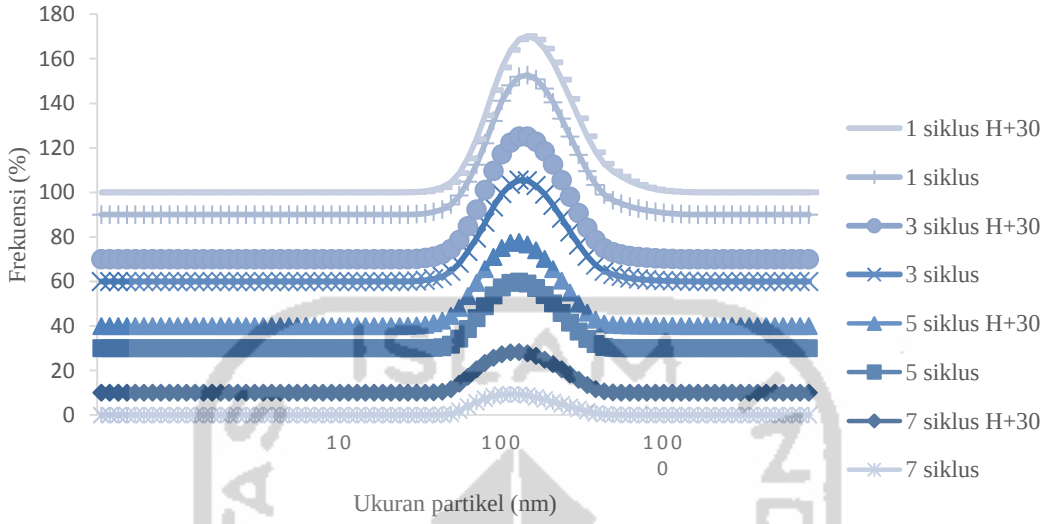
Gambar 4.4. Zeta Potensial suspensi nanoliposom terhadap jumlah siklus

4.3 Uji Stabilitas

Data hasil yang diperoleh untuk penyimpanan sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder dengan kondisi penyimpanan pada suhu 2-8℃ sebagai berikut :

Tabel 4.2. Data Hari ke-0 dan hari ke-30 (N=3)

Jumlah siklus	Ukuran Partikel (nm)		Index Polidispersitas (Đ)	
	Hari ke-0	Hari ke-30	Hari ke-0	Hari ke-30
1	185,43 ± 2,47	182,4 ± 0,95	0,39 ± 0,04	0,27 ± 0,08
3	144,83 ± 1,61	143,27 ± 1,96	0,16 ± 0,06	0,15 ± 0,07
5	125,46 ± 2,16	119,17 ± 0,64	0,26 ± 0,08	0,13 ± 0,04
7	123,93 ± 0,7	118,3 ± 1,08	0,18 ± 0,09	0,21 ± 0,07



Gambar 4.5. Perbandingan distribusi partikel suspensi nanoliposom hari ke-0 dan hari ke-30

Uji stabilitas yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi penyimpanan terhadap stabilitas sediaan Nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid*. Ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, dan penampakan fisik suspensi liposom merupakan indikator untuk menguji stabilitas kinetik sediaan liposom (Nitesh and Ranjan, 2018). Nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-8°C selama satu bulan. Kemudian dievaluasi nilai ukuran partikel dan indeks polidispersitas pada hari ke-0 dan hari ke-30. Pada **Tabel 4.2.** menunjukkan hasil ukuran partikel <200nm dan nilai indeks polidispersitas yang memenuhi persyaratan baik yaitu <0,3 pada hari ke-0 dan hari ke-30. **Gambar 4.5** memperlihatkan langsung perbandingan distribusi ukuran partikel antar variasi siklus terhadap hari uji ke-0 dan hari ke-30 yang tidak menunjukkan perbedaan secara drastis. Selain itu, tidak terjadi perubahan warna maupun pembentukan agregasi pada sediaan. Sehingga, sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dapat dinyatakan cukup stabil. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya selama 2-4 minggu dalam suhu 4-5°C sediaan liposom tidak mengalami perubahan yang signifikan terhadap ukuran

partikel, distribusi ukuran partikel serta penampakan fisik masih terlihat seperti putih susu dan sedikit keruh. (Nitesh and Ranjan, 2018 ; Haeri et al., 2014).

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa preparasi dan karakterisasi sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder diperoleh formula optimum pada variasi 5 dan 7 siklus dengan karakterisasi sediaan suspensi nanoliposom yang meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial secara berturut-turut adalah 119,83 ± 0,61 nm dan 110 ± 1,56 nm, 0,26 ± 0,03 Đ dan 0,22 ± 0,03 Đ serta –24,77 ± 0,68 mV dan -27,47 ± 0,45 mV.

5.2 Saran

Pengujian morfologi serta stabilitas sediaan nanoliposom *3-O-ethyl ascorbic acid* dengan metode hidrasi lapis tipis menggunakan *down sizing* extruder diperlukan untuk kelengkapan data lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejati-Koshki, K., 2013. Liposome: classification, preparation, and applications. Nanoscale Res. Lett. 8, 102. https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102

Auwal, S.M., Zarei, M., Tan, C.P., Saari, N., 2018. Comparative physicochemical stability and efficacy study of lipoid S75-biopeptides nanoliposome composite produced by conventional and direct heating methods. Int. J. Food Prop. 21, 1646–1660. https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1504064

Bozzuto, G., 2015. Giuseppina Bozzuto1,2 Agnese Molinari2. Int. J. Nanomedicine 25.

Brandelli, A., Pinilla, C. M. B. Lopes, N.A., 2017. Nanoliposomes as a platform for Delivery of Antimicrobials. In A Mahendra Rai and Carolina Alves dos Santos (Ed). *Nanotechnology Applied to Pharmaceutical Technology* (pp.60). Switzerland : Springer Nature

Corrêa, A.C.N.T.F., Pereira, P.R., Paschoalin, V.M.F., 2019. Preparation and Characterization of Nanoliposomes for the Entrapment of Bioactive Hydrophilic Globular Proteins. J. Vis. Exp. 59900. https://doi.org/10.3791/59900

Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., Mozafari, M., 2018. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. Pharmaceutics 10, 57. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057

Dwivedi, C., Verma, S., 2013. Review on Preparation and Characterization of Liposomes with Application 2, 23.

Evans, K., Compton, D., Appell, M., 2018. Determination of pH Effects on Phosphatidyl-Hydroxytyrosol and Phosphatidyl-Tyrosol Bilayer Behavior. Methods Protoc. 1, 41. https://doi.org/10.3390/mps1040041

Fernando, A. 2013. Pengaruh Metode Extrusi dan Sonikasi terhadap arakteristik Liposom Meropenem Steril. Fakultas Farmasi. Jakarta : Universitas Indonesia

Golonka, I., Oleksy, M., Junka, A., Matera-Witkiewicz, A., Bartoszewicz, M., Musiał, W., 2017. Selected Physicochemical and Biological Properties of Ethyl Ascorbic Acid Compared to Ascorbic Acid. Biol. Pharm. Bull. 40, 1199–1206. https://doi.org/10.1248/bpb.b16-00967

Haeri, A., Alinaghian, B., Daeihamed, M., Dadashzadeh, S., 2014. Preparation and Characterization of Stable Nanoliposomal Formulation of Fluoxetine as a Potential Adjuvant Therapy for Drug-Resistant Tumors 13.

Hinna, A., Steiniger, F., Hupfeld, S., Stein, P., Kuntsche, J., Brandl, M., 2016. Filter-extruded liposomes revisited: a study into size distributions and morphologies in relation to lipid-composition and process parameters. J.

Liposome Res. 26, 11–20. https://doi.org/10.3109/08982104.2015.1022556

Holzschuh, S., Kaeß, K., Bossa, G.V., Decker, C., Fahr, A., May, S., 2018. Investigations of the influence of liposome composition on vesicle stability and drug transfer in human plasma: a transfer study. J. Liposome Res. 28, 22–34. https://doi.org/10.1080/08982104.2016.1247101

Honary, S., Zahir, F., 2013. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 1). Trop. J. Pharm. Res. 12, 255–264. https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19

Hosta-Rigau, L., Zhang, Y., Teo, B.M., Postma, A., Städler, B., 2013. Cholesterol – a biological compound as a building block in bionanotechnology. Nanoscale 5, 89–109. https://doi.org/10.1039/C2NR32923A

Hwang, S.-J., Karn, P.R., Won Kyung Cho, Hee Jun Park, Park, J.S., 2013. Characterization and stability studies of a novel liposomal cyclosporin A prepared using the supercritical fluid method: comparison with the modified conventional Bangham method. Int. J. Nanomedicine 365. https://doi.org/10.2147/IJN.S39025

Iliopoulos, F., Sil, B.C., Moore, D.J., Lucas, R.A., Lane, M.E., 2019. 3-O-ethyl-l-ascorbic acid: Characterisation and investigation of single solvent systems for delivery to the skin. Int. J. Pharm. X 1, 100025. https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2019.100025

Janbadhu, N, V., Ranjan M., M., 2018. Comparative Physical and Chemical Stability Studies of Orlistat Liposomal Drug Delivery Systems. Asian Journal of Pharmaceutics • Jul-Sep 2018 (Suppl) • 12 (3)Kalepu, S., 2013. Liposomal drug delivery system - A Comprehensive Review 14.

Kalepu, S., 2013. Liposomal drug delivery system - A Comprehensive Review 14.

Khosravi-Darani, K., Mozafari, M.R., 2010. Nanoliposome Potentials in Nanotherapy: A Concise Overview 12.

Lohani, A., Verma, A., Joshi, H., Yadav, N., Karki, N., 2014. Nanotechnology-Based Cosmeceuticals. ISRN Dermatol. 2014, 1–14. https://doi.org/10.1155/2014/843687

Li, Y., Dong, C., Cun, D., Liu, J., Xiang, R., Fang, L., 2016. Lamellar Liquid Crystal Improves the Skin Retention of 3-O-Ethyl-Ascorbic Acid and Potassium 4-Methoxysalicylate In Vitro and In Vivo for Topical Preparation. AAPS PharmSciTech 17, 767–777.

Maione-Silva, L., de Castro, E.G., Nascimento, T.L., Cintra, E.R., Moreira, L.C., Cintra, B.A.S., Valadares, M.C., Lima, E.M., 2019. Ascorbic acid encapsulated into negatively charged liposomes exhibits increased skin permeation, retention and enhances collagen synthesis by fibroblasts. Sci. Rep. 9, 522. https://doi.org/10.1038/s41598-018-36682-9

M.J. Lawrence. 1994. Production of vesicles of defined size. In A D.J. Wedlock (Ed). *Controlled Particle, Droplet and Bubble Formation* (pp. 298). Oxford : Butterworth-Heinemann

Montenegro, L., 2014. Nanocarriers for skin delivery of cosmetic antioxidants 20.

Nkanga, C.I., Bapolisi, A.M., Okafor, N.I., Krause, R.W.M., 2019. General Perception of Liposomes: Formation, Manufacturing and Applications 25.

Nomani, S., Samy, J.G., 2016. Nanoliposome: An alternative approach for drug delivery system 2016, 10.

Nugroho, B.H., Ningrum, A.D.K., Pertiwi, D.A., Syukri, Y., 2019. Pemanfaatan Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* L.) Berbasis Nanoteknologi Liposom Sebagai Pengobatan Antihiperglikemia. Eksakta 19(2): 216-229

Ong, S., Chitneni, M., Lee, K., Ming, L., Yuen, K., 2016. Evaluation of Extrusion Technique for Nanosizing Liposomes. Pharmaceutics 8, 36. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics8040036

Rahman A, Uahengo V, Likius D. 2018. Mini review on emerging methods of preparation of liposome and its application as Liposome drug delivery systems. Open J Pharmacol Pharmacother 3(1): 005-021. DOI: 10.17352/ojpp.000007

Shashi, K et al. A Complete Review On : Liposomes. IRJP 2012; 3(7): 10-16

Su, C., Liu, Y., He, Y., Gu, J., 2018. Analytical methods for investigating in vivo fate of nanoliposomes: A review. J. Pharm. Anal. 8, 219–225. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.07.002

Suhaimi, S.H., Hasham, R., Rosli, N.A., 2015. Effects of Formulation Parameters on Particle Size and Polydispersity Index of Orthosiphon Stamineus Loaded Nanostructured Lipid Carrier 1, 5.

Stamford NP. Stability, transdermal penetration, and cutaneous effects of ascorbic acid and its derivatives. J Cosmet Dermatol. 2012 Dec;11(4):310-7

Tai, A., Aburada, M., Ito, H., 2014. A simple efficient synthesis and biological evaluation of 3- *O* -ethylascorbic acid. Biosci. Biotechnol. Biochem. 78, 1984–1987. https://doi.org/10.1080/09168451.2014.946396

Tiwari, G., Tiwari, R., Wal, P., Wal, A., 2019. Development and Optimization of Liposomes Containing 5 Fluorouracil and Tretinoin for Skin Warts: 32 Experimental Design 11.

van Hoogevest, P., Wendel, A., 2014. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients: The use of natural and synthetic phospholipids. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 116, 1088–1107. https://doi.org/10.1002/ejlt.201400219

Wagner, A., Vorauer-Uhl, K., 2011. Liposome Technology for Industrial Purposes. J. Drug Deliv. 2011, 1–9. https://doi.org/10.1155/2011/591325

Yandrapati, R.K., 2012. Effect of lipid composition on the physical properties of liposomes: a light scattering study 61.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan formulasi Nanoliposom *3-O-Ethyl-Ascorbic Acid*

Rasio fosfolipid : zat lainnya (95 % : 5%)

Total Lipid : 100 % = 50 mMol/ml

50 mMol = $5x10^{-4}$ mol

- Lipoid S75 95% (mg)

  Bahan yang dibutuhkan yakni 95% dari 50 mMol Lipoid, maka :

  Massa (g) = $\frac{5}{10.000}$ x 908,779 g/mol

  Massa (g) = 0,0005 x 908,779 g/mol

  Massa (g) = 0,45438 g

  Massa (mg) = 454,389 mg

  95% dari 454,389 mg yakni $\frac{5}{100}$ x 454,389 mg = 431,67 mg

- Lipoid DMPG-Na 5% (mg)

  Bahan yang dibutuhkan yakni 95% dari 5 mMol Lipoid, maka :

  Massa (g) = $\frac{5}{10.000}$ x 744,9 g/mol

  Massa (g) = 0,0005 x 744,9 g/mol

  Massa (g) = 0,37245 g

  Massa (mg) = 372,45 mg

  5% dari 372,45mg yakni $\frac{5}{100}$ x 372,45 mg = 18,62 mg

- Kolesterol 5% (mg)

  Bahan yang dibutuhkan yakni 95% dari 5 mMol Lipoid, maka :

  Massa (g) = $\frac{5}{10.000}$ x 386,65 g/mol

  Massa (g) = 0,0005 x 386,65 g/mol

  Massa (g) = 0,19325 g

  Massa (mg) = 193,25 mg

  5% dari 193,25 mg yakni $\frac{5}{100}$ x 193,25 mg = 9,66 mg

- Laktosa Monohidrat 5%

  Massa (g) = $\frac{5}{10.000}$ x 342,30 g/mol

  Massa (g) = 0,0005 x 342,30 g/mol

  Massa (g) = 0,17115 g

  Massa (mg) = 171,15 mg

  5% dari 171,15 mg yakni $\frac{5}{100}$ x 171,15 mg = 8,6 mg

- *3-O-ethyl ascorbic acid* (mg)

  40mg sudah termasuk 1% dari sediaan yang ada dipasaran dan zat aktif larut dalam PBS

Lampiran 2. Hasil Pembacaan Ukuran Partikel dari berbagai variasi siklus menggunakan *Particle Size of Analyzer*

Jumlah Siklus	Ukuran	Rata-rata	SD	RSD
1	185,9	184.73	1.0693	0.0058
	184,5			
	183,8			
3	139,9	139.97	2.9006	0.0207
	137,1			
	142,9			
5	119,3	119.83	0.611	0.0051
	119,7			
	120,5			
7	111,7	110.07	1.5567	0.0141
	109,9			
	108,6			

Setelah 1 Bulan dalam kondisi 2-8°C

Jumlah Siklus	Ukuran	Rata-rata	SD	RSD
1	182,5	182,40	0,9539	0,0052
	183,3			
	181,4			
3	141,4	143,27	1,9553	0,0136
	143,1			
	145,3			
5	118,9	119,17	0,6429	0,0054
	119,9			
	118,7			
7	118,6	118,30	1,0817	0,0091
	119,2			
	117,1			

Lampiran 3. Hasil Perhitungan Indeks Polidispersitas dari berbagai variasi siklus menggunakan *Particle Size of Analyzer*

Jumlah Siklus	P.I	Rata-rata	SD	RSD
1	0,183	0,22	0,0358	0,1618
	0,226			
	0,254			
3	0,186	0,16	0,0316	0,1973
	0,17			
	0,125			
5	0,234	0,26	0,0273	0,1034
	0,287			
	0,272			
7	0,212	0,22	0,0271	0,1239
	0,195			
	0,248			

Setelah 1 Bulan

Jumlah Siklus	P.I	Rata-rata	SD	RSD
1	0,367	0,27	0,0832	0,3071
	0,219			
	0,227			
3	0,231	0,15	0,0715	0,4788
	0,098			
	0,119			
5	0,182	0,13	0,0442	0,3363
	0,101			
	0,111			
7	0,239	0,21	0,0733	0,3459
	0,129			
	0,268			

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Zeta Potensial dari berbagai variasi siklus menggunakan *Zeta sizer*

Jumlah Siklus	Zeta Potensial	Rata-rata	SD	RSD
1	-21,1	-20,20	0,9539	-0,0472
	-20,3			
	-19,2			
3	-19,4	-19,63	0,7767	-0,0396
	-20,5			
	-19,0			
5	-25,0	-24,77	0,6807	-0,0275
	-25,3			
	-24,0			
7	-27,0	-27,47	0,4509	-0,0164
	-27,9			
	-27,5			

Lampiran 5. Certificate of Analysis 3-O-Ethyl-Ascorbic Acid

CORUM

Advance through Knowledge

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT: Et-VC ™

BATCH NUMBER: NT022515

CHARACTERISTICS

Appearance	White crystalline powder
Odour	Characteristic

SPECIFICATIONS	RESULTS	MIN	MAX
Purity by HPLC (area%)	99.98	99.00	
Loss on drying (%)	0.10		1.00
PH (3% aq)	4.31	3.50	5.00
Heavy metal	Pass	Less than 20 ppm	

Product meet specifications
Manufacturing Date : 29/Oct/2014
Retest Date : 29/Oct/2016

Quality Department

6F, No.360, Ruei Guang Rd., Neihu, Taipei 11492, Taiwan, R.O.C.
Tel: 886-2-8751-6060 Fax: 886-2-8751-6363