



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN *SOLID LIPID NANOPARTICLES* (NANOPARTIKEL LIPID PADAT) UNTUK MENINGKATKAN LAJU DISOLUSI DAN PERMEASI GLIKLAZID SECARA *IN VITRO***

**TESIS**

**ANISA AMALIA**

**1006734180**

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KEFARMASIAN  
DEPOK  
JULI 2013**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN *SOLID LIPID NANOPARTICLES* (NANOPARTIKEL LIPID PADAT) UNTUK MENINGKATKAN LAJU DISOLUSI DAN PERMEASI GLIKLAZID SECARA *IN VITRO***

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Farmasi**

**ANISA AMALIA**

**1006734180**

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KEFARMASIAN  
DEPOK  
JULI 2013**

## **SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa tesis ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 4 Juli 2013



Anisa Amalia

## **HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Anisa Amalia

NPM : 1006734180

Tanda Tangan :

Tanggal : 4 Juli 2013

## HALAMAN PENGESAHAN

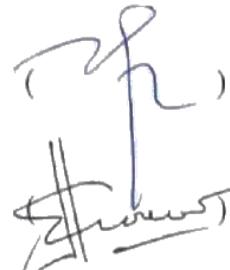
Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Anisa Amalia  
NPM : 1006734180  
Program Studi : Magister Ilmu Kefarmasian  
Judul Skripsi : Preparasi dan Karakterisasi Sediaan *Solid Lipid Nanoparticles* (Nanopartikel Lipid Padat) untuk Meningkatkan Laju Disolusi dan Permeasi Gliklazid secara *In Vitro*

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Farmasi pada Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt.



Pembimbing II : Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., Apt.



Penguji I : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, MS., Ph.D. (  )

Penguji II : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt. (  )

Penguji III : Dr. Arry Yanuar, M.Si., Apt. (  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 4 Juli 2013

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia;
2. Dr. Mahdi Jufri, M.Si. dan Prof. Dr. Effionora Anwar, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
3. Prof. Dr. Effionora Anwar, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah membantu dan mendukung saya dalam penyusunan tesis ini;;
4. Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt., selaku Sekretaris Program Studi pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah membantu dan mendukung saya dalam penyusunan tesis ini;
5. Staf Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah membantu dan mendukung saya dalam penyusunan tesis ini;
6. Staf Laboran dan Karyawan Lt.4 dan Lt. basement, Mas Wisnu, Pak Imi, Mas Adit, Pak Erry dan Mas Slamet yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan tesis ini;
7. Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, terutama Mba Lilis, Mba Arni, Mba Tini dan Pak Buang yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan tesis ini;
8. Orang tua, dan keluarga saya yang telah memberikan bantuan dukungan material, moral, dan doa; serta

9. Sahabat dan Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Farmasetika yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan tesis ini, Dina Rahmawanty, Mba Mira , Fiana, Nia, Radit, Nadia, Lia, Renny, Christy, Linda, Nina, Elis, Cici, Mba Emma, Mba Pulan, Mba Nina dan Mba Putri. Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membala segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2013

## **HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI**

### **TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anisa Amalia

NPM : 1006734180

Program Studi : Magister Ilmu Kefarmasian

Fakultas : Farmasi

Jenis Karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Preparasi dan Karakterisasi Sediaan *Solid Lipid Nanoparticles* (Nanopartikel Lipid Padat) untuk Meningkatkan Laju Disolusi dan Permeasi Gliklazid secara *In Vitro*

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 4 Juli 2013

Yang menyatakan



(Anisa Amalia)

## ABSTRAK

Nama : Anisa Amalia  
Program Studi : Pascasarjana Ilmu Kefarmasian  
Judul : Preparasi dan Karakterisasi Sediaan *Solid Lipid Nanoparticle* (Nanopartikel Lipid Padat) untuk Meningkatkan Laju Disolusi dan Permeasi Gliklazid secara *In Vitro*

*Solid lipid nanoparticle (SLN)* merupakan suatu sistem pembawa koloid yang menggunakan lipid padat sebagai bahan pembentuk matriks. Penelitian ini dilakukan untuk preparasi sediaan *SLN* gliklazid menggunakan metode *high shear homogenization* dan pengeringan beku. Formula *SLN* gliklazid terdiri atas: asam stearat sebagai bahan pembentuk matriks, Tween 80 dan PEG 400 sebagai surfaktan, etanol sebagai ko-solvent dan laktosa sebagai *cryoprotectant*. Karakterisasi sediaan *SLN* dilakukan sebelum dan setelah pengeringan beku yang meliputi: analisis ukuran partikel dan potensial zeta, analisis morfologi, efisiensi penjerapan, dan dilanjutkan dengan evaluasi pelepasan dan permeabilitas gliklazid secara *in-vitro*. Hasil menunjukkan gliklazid dapat diformulasikan kedalam bentuk sediaan *SLN* dengan bentuk partikel yang tidak sferis dan rata-rata ukuran partikel *SLN* sebesar  $878,0 \pm 246,3$  nm dan  $745,8 \pm 204,0$  nm. Nilai potensial zeta dari *SLN* adalah  $-3,96 \pm 0,45$  mV dan  $-5,32 \pm 2,13$  mV dengan efisiensi penjerapan  $84,055 \pm 3,876\%$  dan  $75,29 \pm 0,79\%$ . Evaluasi pelepasan obat pada sediaan secara *in-vitro* menunjukkan pada menit ke-25 gliklazid telah terdisolusi sebanyak  $99,739 \pm 0,310\%$  dan menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan gliklazid murni. Evaluasi permeabilitas sediaan secara *in-vitro* menunjukkan laju permeasi *SLN* gliklazid lebih tinggi dibandingkan gliklazid murni dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Kata Kunci : *solid lipid nanoparticle*, gliklazid, *high shear homogenization*, pengeringan beku, evaluasi pelepasan secara *in vitro*, evaluasi permeabilitas secara *in vitro*.

xvii + 103 hal. : 14 gambar; 5 tabel; 9 rumus; 41 lampiran

Daftar Acuan : 61 (1988 – 2011)

## **ABSTRACT**

Name : Anisa Amalia  
Study Program : Master of Pharmaceutical Science  
Title : Preparation and Characterization of a Solid Lipid Nanoparticles for Enhancing In-Vitro Dissolution and Permeation Rate of Gliclazide.

Solid lipid nanoparticle (SLN) have been proposed as colloidal carriers which used solid lipid as matrix material. In this study, gliclazide-loaded solid lipid nanoparticle has prepared with high shear homogenization and freeze drying method using stearic acid as lipid material, tween 80 and PEG 400 as surfactant, ethanol as co-solvent and lactose as cryoprotectant. Characterization performed on SLN dosage from before and after freeze drying, which includes the analysis of particle size and zeta potential, morphology analysis, entrapment efficiency, followed by evaluate in vitro release study and in vitro permeation study of gliclazide. Results indicate gliclazide can be formulated in SLN dosage form using high shear homogenization and freeze dry method. The morphology studies revealed that the prepared SLN were irregular in shape with mean particle size of  $878.0 \pm 246.3$  and  $745.8 \pm 204.0$ . Zeta potentials value of gliclazide-loaded SLN were found  $-3.96 \pm 0.45$  mV and  $-5.32 \pm 2.13$  mV with entrapment efficiency  $84.055\% \pm 3.876$  and  $75.29 \pm 0.79\%$ . The evaluation of the in vitro of Gliclazide-loaded SLN release study showed after 25 minutes of study,  $99.739 \pm 0.310\%$  gliclazide was dissolved and showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) with pure gliclazide. The in vitro permeation of gliclazide was improved when formulated as SLN and showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) with pure gliclazide.

Keywords : solid lipid nanoparticle, gliclazide, high shear homogenization, freeze drying, in vitro release study, invitro permeation study

xvii + 103 pages : 14 pictures; 5 tables; 9 formulas, 41 appendixes

Bibliography : 61 (1988 – 2011)

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR RUMUS .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Hipotesis.....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Solid lipid nanoparticle (SLN)</i> .....	4
2.1.1 Kelebihan dan Kekurangan <i>SLN</i> .....	4
2.1.2 Metode Pembuatan <i>SLN</i> .....	5
2.1.3 Tipe Nanopartikel Lipid Padat .....	6
2.1.4 Absorpsi <i>SLN</i> pada Saluran Cerna .....	7
2.2 Gliklazid .....	9
2.2.1 Deskripsi .....	9
2.2.2 Farmakologi .....	10
2.2.3 Farmakokinetik .....	11
2.2.4 Farmakodinamik .....	11
2.3 Komponen Pembentuk <i>SLN</i> .....	12
2.3.1 Asam Stearat .....	12
2.3.2 Tween 80 .....	13
2.3.3 Polietilen Glikol 400 .....	14
2.3.4 Etanol .....	15
2.3.5 Aqua destilasi .....	16
2.3.6 Laktosa .....	16
2.4 Pelepasan Obat.....	17
2.5 Uji Permeasi Menggunakan Sel Difusi Franz .....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	22
3.2 Bahan .....	22
3.3 Alat Penelitian .....	22

3.4 Cara Kerja .....	22
3.4.1 Pembuatan Emulsi <i>SLN</i> Gliklazid .....	22
3.4.2 Pengeringan <i>SLN</i> Gliklazid .....	23
3.4.3 Karakterisasi <i>SLN</i> .....	23
3.4.3.1 Penetapan Distribusi Ukuran Partikel .....	24
3.4.3.2 Penetapan Potensial Zeta .....	24
3.4.3.3 Pengukuran Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Emulsi <i>SLN</i> .....	24
3.4.3.4 Pengukuran Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Padatan <i>SLN</i> .....	25
3.4.4 Uji Perolehan Kembali .....	26
3.4.5 Uji Rekonstitusi <i>SLN</i> Padat .....	27
3.4.6 Mikroskop Transmisi Elektron .....	27
3.4.7 Uji Kelarutan Gliklazid .....	27
3.4.8 Uji Pelepasan Gliklazid secara <i>In Vitro</i> .....	27
3.4.9 Uji Permeasi Gliklazid secara <i>In Vitro</i> .....	29
3.4.10 Analisis Data secara Statistik .....	29
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
4.1 Pembuatan <i>SLN</i> Gliklazid .....	30
4.2 Karakterisasi <i>SLN</i> Gliklazid .....	33
4.2.1 Ukuran Partikel .....	33
4.2.2 Potensial Zeta .....	37
4.2.3 Penetapan Kadar dan Efisiensi Penjerapan Gliklazid .....	38
4.3 Uji Perolehan Kembali .....	40
4.4 Uji Rekonstitusi.....	40
4.5 Mikroskop Transmisi Elektron .....	41
4.6 Uji Kelarutan Gliklazid .....	43
4.7 Uji Pelepasan Gliklazid secara <i>In Vitro</i> .....	44
4.8 Uji Permeasi Gliklazid secara <i>In Vitro</i> .....	47
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>51</b>
5.1 Kesimpulan .....	51
5.2 Saran .....	51
<b>DAFTAR ACUAN .....</b>	<b>53</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>60</b>

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1.	Tipe Nanopartikel Lipid Padat .....	7
Gambar 2.2.	Struktur Kimia Gliklazid.....	10
Gambar 2.3.	Struktur Kimia Asam Stearat .....	12
Gambar 2.4.	Struktur Kimia Tween 80.....	13
Gambar 2.5.	Struktur Kimia Polietilen Glikol 400 .....	14
Gambar 2.6.	Struktur Kimia Etanol .....	15
Gambar 2.7.	Struktur Kimia Laktosa .....	16
Gambar 4.1.	Grafik Diameter Partikel Gliklazid .....	36
Gambar 4.2.	Mikrograf <i>TEM SLN</i> Gliklazid .....	42
Gambar 4.3.	Grafik Kelarutan Gliklazid dalam Aquadest .....	43
Gambar 4.4.	Profil Disolusi Gliklazid .....	45
Gambar 4.5.	Profil Permeasi Kumulatif Gliklazid.....	49
Gambar 4.6.	Fluks Penetrasi Rata-rata Gliklazid.....	50
Gambar 4.7.	Fluks Gliklazid .....	50

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1. Model Kinetika Pelepasan Obat .....	19
Tabel 3.1. Formula <i>SLN</i> Gliklazid .....	23
Tabel 4.1. Data Hasil Distribusi ukuran Partikel dan Indeks Polidispersi Gliklazid .....	35
Tabel 4.2. Hasil Pegujian Penetapan Kadar dan Efisiensi Penjerapan <i>SLN</i> Gliklazid .....	39
Tabel 4.3. Kinetika Pelepasan Gliklazid.....	46

## **DAFTAR RUMUS**

Rumus 2.1.	Hukum Noyes-Whitney .....	18
Rumus 2.2.	Hukum Ficks.....	20
Rumus 3.1.	Perhitungan Kadar Gliklazid dalam Emulsi <i>SLN</i> .....	25
Rumus 3.2.	Perhitungan Efisiensi Penjerapan Emulsi <i>SLN</i> .....	25
Rumus 3.3.	Perhitungan Kadar Gliklazid dalam Padatan <i>SLN</i> .....	26
Rumus 3.4.	Perhitungan Efisiensi Penjerapan Padatan <i>SLN</i> .....	26
Rumus 3.5.	Uji Perolehan Kembali .....	26
Rumus 3.6.	Rumus Kadar Gliklazid Terdisolusi .....	28
Rumus 3.7.	Rumus Persen Disolusi .....	28

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Bagan Alur Penelitian .....	61
Lampiran 2.	Alat Homogenizer .....	62
Lampiran 3.	Emulsi <i>SLN</i> Gliklazid .....	62
Lampiran 4.	Padatan <i>SLN</i> Gliklazid .....	63
Lampiran 5.	Alat Sel Difusi Franz .....	63
Lampiran 6.	Data Ukuran Partikel Gliklazid.....	64
Lampiran 7.	Data Rata-rata dan Distribusi Ukuran Partikel Emulsi <i>SLN</i> Gliklazid .....	68
Lampiran 8.	Data Rata-rata dan Distribusi Ukuran Partikel Padatan <i>SLN</i> Gliklazid .....	69
Lampiran 9.	Data Potensial Zeta Emulsi <i>SLN</i> Gliklazid .....	70
Lampiran 10.	Data Potensial Zeta Padatan <i>SLN</i> Gliklazid .....	73
Lampiran 11.	Spektrum Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Metanol – NaOH 0,1 N .....	76
Lampiran 12.	Spektrum Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Dapar Fosfat pH 7,4 .....	77
Lampiran 13.	Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Larutan Metanol-NaOH 0,1 N.....	78
Lampiran 14.	Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Dapar Fosfat pH 7,4 .....	78
Lampiran 15.	Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Larutan NaOH 0,1 N .....	79
Lampiran 16.	Data Serapan Gliklazid dalam Metanol – NaOH 0,1 N .....	80
Lampiran 17.	Data Serapan Gliklazid dalam Dapar Fosfat pH 7,4 .....	80
Lampiran 18.	Data Serapan Gliklazid dalam Larutan NaOH 0,1 N.....	80
Lampiran 19.	Data Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Emulsi <i>SLN</i> Gliklazid.....	81
Lampiran 20.	Data Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Padatan <i>SLN</i> Gliklazid .....	81
Lampiran 21.	Data Uji Kelarutan Gliklazid Murni .....	82
Lampiran 22.	Data Uji Kelarutan <i>SLN</i> Gliklazid .....	82
Lampiran 23.	Profil pelepasan dari Gliklazid .....	83
Lampiran 24.	Kinetika Pelepasan <i>SLN</i> .....	84
Lampiran 25.	Profil Permeasi Gliklazid berdasarkan Kadar Gliklazid Terpermeasi tiap Waktu Pengambilan berdasarkan Uji Permeasi selama 4 Jam .....	84
Lampiran 26.	Hasil Perhitungan Fluks Gliklazid berdasarkan Kadar Gliklazid Terpermeasi tiap Waktu Pengambilan berdasarkan Uji Permeasi Selama 4 Jam .....	85
Lampiran 27.	Perhitungan Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Padatan <i>SLN</i> Gliklazid .....	86
Lampiran 28.	Perhitungan Kelarutan Gliklazid dalam Medium Aquadest ...	88
Lampiran 29.	Contoh Perhitungan Kadar obat Terdisolusi/terpermeasi .....	90
Lampiran 30.	Contoh Perhitungan Nilai Koefisien Pelepasan dari Beberapa Model kinetika .....	91
Lampiran 31.	Contoh Perhitungan Fluks Gliklazid dari Sediaan <i>SLN</i> .....	92
Lampiran 32.	Uji Normalitas menurut Shapiro-Wilk terhadap Data Persen	

Lampiran 33.	Kadar Kumulatif Gliklazid Terdisolusi (SPSS 18.0) .....	93
Lampiran 34.	Uji Analisis Wilcoxon terhadap Data Persen Kadar Persen Kumulatif Gliklazid Terdisolusi (SPSS 18.0) .....	94
Lampiran 35.	Uji Normalitas menurut Shapiro-Wilk terhadap Data Persen Kadar Kumulatif Gliklazid Terpermeasi (SPSS 18.0) .....	95
Lampiran 36.	Uji Analisis T-test terhadap Data Persen Kadar Persen Kumulatif Gliklazid Terdisolusi (SPSS 18.0) .....	96
Lampiran 37.	Sertifikat Analisa Gliklazid .....	97
Lampiran 38.	Sertifikat Analisa Asam Stearat .....	98
Lampiran 39.	Sertifikat Analisa Tween 80 .....	99
Lampiran 40.	Sertifikat Analisa Etanol .....	100
Lampiran 41.	Sertifikat Analisa Aqua destilasi .....	101
	Sertifikat Analisa Laktosa . .....	103

## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Rute oral merupakan rute yang paling umum dan nyaman untuk penghantaran obat karena mudah dalam pemakaianya, lebih hemat biaya dan banyak terdapat bentuk sediaan yang dapat digunakan. Namun, tantangan utama sediaan oral terletak pada bioavailabilitas yang rendah. Kurangnya kelarutan obat dan permeabilitas obat yang rendah dalam menembus membran biologis merupakan faktor utama penyebab ketersediaan (bioavailabilitas) obat oral yang rendah sehingga diperlukan suatu teknologi yang dapat digunakan untuk meningkatkan laju disolusi dan laju penetrasi dari suatu bahan aktif sehingga kelarutan dan permeabilitasnya dapat meningkat (Bajaj, Bisht, Yadav dan Singh, 2011; Krishnaiah, 2010; Fricker *et all*, 2010).

Gliklazid merupakan salah satu obat anti-diabetes non insulin yang termasuk kedalam kelas sulfonilurea. Gliklazid memiliki tolerabilitas yang baik, risiko hipoglikemik yang rendah dan tingkat kegagalan sekunder yang rendah. Gliklazid termasuk dalam Kelas II dalam sistem klasifikasi biofarmaseutika (*BSC*), yaitu obat dengan kelarutan yang rendah dan permeabilitas yang baik. Proses absorpsi obat yang termasuk kedalam kelas II dalam sistem *BSC* terhalang oleh tahap disolusi obat sehingga bioavailabilitas (ketersediaan) obat tersebut menjadi berkurang untuk diabsorbsi. Sementara itu, absorpsi obat segera dalam saluran gastrointestinal (GI) diperlukan untuk penyerapan obat hipoglikemik oral untuk mencegah terjadinya peningkatan tingkat glukosa darah yang mendadak setelah asupan makanan pada pasien dengan diabetes melitus sehingga untuk mengatasinya diperlukan suatu bentuk formulasi sediaan yang ideal untuk meningkatkan absorpsi gliklazid pada GI dan nanopartikel lipid padat atau *solid lipid nanoparticles (SLN)* merupakan salah satu bentuk formulasi yang dapat digunakan untuk meningkatkan penetrasi gliklazid kedalam membran usus, yaitu tempat dimana gliklazid dapat terlarut dan terabsorbsi (Bandakar dan Khattab, 2011; Das dan Chaudhury, 2011). Berdasarkan penjelasan tersebut, maka dipandang perlu untuk melakukan penelitian tentang pembuatan dan karakterisasi

formulasi sediaan *SLN* gliklazid sehingga dapat meningkatkan disolusi dan penetrasi gliklazid pada saat absorpsi di saluran cerna.

*Solid lipid nanoparticles (SLN)* merupakan sistem penghantaran obat koloid yang menarik karena sistem ini memiliki keuntungan, baik karena merupakan emulsi lipid (dapat diproduksi dalam skala besar, tidak memerlukan pelarut organik dan memiliki risiko sistemik dan sitotoksik yang rendah) dan polimer nanopartikel (pelepasan obat yang dapat dikendalikan). *SLN* merupakan sistem pembawa alternatif untuk pembawa koloid lainnya (emulsi, liposom dan polimer mikro- dan nanopartikel) yang dapat digunakan untuk meningkatkan ketersediaan hayati dari obat dengan kelarutan yang rendah. Sistem ini mengandung lipid padat sebagai bahan matriks yang memiliki kemampuan adesif sehingga membuatnya dapat menempel pada dinding saluran cerna. Selain itu, formulasi sediaan berbasis lipid dapat melepaskan obat tepat pada tempat dimana obat tersebut dapat diabsorpsi karena lipid diketahui dapat meningkatkan absorpsi oral dari obat lipofilik dan obat pada umumnya sehingga zat aktif tersebut dapat berpenetrasi menembus membran lambung atau usus (Krishnaiah, 2010). Selain itu, formulasi lipid juga diketahui dapat mengurangi keterbatasan dalam hal laju disolusi yang lambat dan tidak sempurna dari obat dengan kelarutan yang rendah dengan cara memfasilitasi pembentukan fase terlarut di tempat penyerapan dapat terjadi (Nanjwade, Patel, Udhani dan Manvi, 2011).

Dalam penelitian ini, metode pembuatan yang digunakan adalah metode *high shear homogenization* dengan formula yang terdiri atas asam stearat sebagai fase lipid, tween 80 dan polietilen glikol 400 sebagai pengemulsi, dan aquadest. Asam stearat digunakan sebagai fase lipid karena berdasarkan pada penelitian sebelumnya (Zhang, Yie, Li, Yang dan Nagai, 2000) nanopartikel asam stearat dapat digunakan sebagai pembawa obat pada konsentrasi 1 – 3 % dan asam stearat merupakan komponen utama dari lemak sehingga asam lemak ini memiliki sifat biokompatibel yang lebih baik dan toksisitas yang lebih rendah. Selain itu titik leleh asam stearat lebih tinggi dari temperatur tubuh, yaitu sebesar 69,4°C sehingga saat penghantaran obat di dalam tubuh matriks lipid yang terbentuk masih berbentuk padat dan tetap menjerap bahan aktif (Cho, Lee dan Kim, 2007). Tween 80 dan PEG 400 digunakan sebagai pengemulsi karena merupakan

surfaktan yang tidak toksik sehingga dapat digunakan untuk penghantaran oral dan berdasarkan penelitian sebelumnya stabilitas sistem dispersi lebih baik saat digunakan kombinasi 2 jenis surfaktan (Casadei *et al.*, 2006; Rowe, Shesky dan Marian, 2009).

Pada dispersi *SLN*-gliklazid juga dilakukan pengeringan beku agar mempermudah penyimpanan dan penggunaan sediaan, meningkatkan stabilitas sistem dispersi dan untuk keperluan analisa karakterisasi *SLN*. Sebelum dikeringkan kedalam sistem dispersi ditambahkan laktosa untuk melindungi sistem dari agresasi dan penggabungan partikel selama proses pengeringan (Singh dan Shegokar, 2011).

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- a. Memformulasikan gliklazid kedalam bentuk sediaan *SLN* sehingga dapat mengecilkan ukuran partikel dari gliklazid.
- b. Mengkarakterisasi *SLN* gliklazid dalam bentuk cair dan padat.
- c. Mempelajari dan mengevaluasi laju disolusi dan laju permeasi dari *SLN* gliklazid secara *in vitro*.

## 1.3 Hipotesis

Pada penelitian ini penulis mengajukan hipotesis sebagai berikut :

- Gliklazid dapat diformulasikan kedalam bentuk sediaan *SLN* dan memiliki karakteristik yang baik.
- Sediaan *SLN* Gliklazid dapat meningkatkan laju disolusi dan laju permeasi gliklazid secara *in vitro*.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 *Solid Lipid Nanoparticle* (Nanopartikel Lipid Padat)**

Partikel koloid dengan ukuran antara 10 dan 1000 nm dikenal sebagai nanopartikel. Partikel ini dibuat dari polimer sintetis/alam dan ideal untuk mengoptimalkan penghantaran obat dan mengurangi toksisitas. Selama bertahun-tahun nanopartikel telah muncul sebagai variasi pengganti untuk liposom sebagai pembawa obat. Keberhasilan penggunaan nanopartikel untuk penghantaran obat tergantung pada kemampuan nanopartikel untuk menembus membran, pelepasan kandungan zat aktif dan stabilitas nanopartikel dalam ukuran nanometer. Namun kelangkaan dari polimer yang aman digunakan dan biaya yang tinggi telah membatasi aplikasi dari nanopartikel untuk kedokteran klinis. Dan untuk mengatasi keterbatasan nanopartikel polimer ini, lipid telah diajukan sebagai pembawa alternatif, khususnya untuk obat-obat lipofilik. Nanopartikel lipid ini dikenal sebagai nanopartikel lipid padat (*solid lipid nanoparticle (SLN)*), yang menarik perhatian luas dari formulator seluruh dunia. *SLN* adalah generasi baru emulsi lipid yang berukuran submikron dimana lipid cair (minyak) telah digantikan oleh lemak padat. *SLN* menawarkan sifat unik seperti ukuran partikel yang relatif kecil, luas area permukaan yang besar, tingkat penjerapan obat yang tinggi serta *SLN* berpotensi sebagai pembawa/sediaan yang dapat meningkatkan kinerja obat-obatan dan bahan *neutraceuticals* lainnya (Mukherjee, Ray dan Thakur, 2009; Sinha, Srivastava, Goel dan Jindal., 2010).

##### **2.1.1 Kelebihan dan Kekurangan *SLN***

*SLN* menggabungkan kelebihan dan menghindari kelemahan dari beberapa sistem koloid lainnya. Matriks nanopartikel lipid padat terbentuk dari nanopartikel lipid padat yang terbuat dari komponen lemak fisiologis sehingga dapat ditoleransi oleh tubuh sehingga dapat mengurangi potensi timbulnya toksisitas akut dan kronis. Keuntungan lain yang signifikan dari formulasi *SLN* adalah bahwa formulasi ini memiliki kemampuan untuk menjadi stabil selama 3 tahun, yang sangat penting sehubungan dengan pembawa obat koloid (Fricker *et all.*,

2010; Krishnaiah, 2010). Selain itu dalam proses produksinya, *SLN* tidak memerlukan pelarut organik dalam jumlah banyak dan memerlukan waktu yang relatif cepat serta efektif bahkan untuk produksi skala besar. Meskipun memiliki banyak kelebihan, kapasitas pemuatan obat dalam *SLN* mungkin terbatas karena pembentukan kristal matriks lipid. Selain itu, adanya struktur koloid lain dalam larutan dispersi dan perubahan sifat fisik lipid pada *SLN* dapat menyebab masalah stabilitas, misalnya perubahan ukuran partikel (Mukherjee, Ray, Thakur, 2009; Sinha, Srivastasa, Goel dan Jindal, 2010).

### **2.1.2 Metode Pembuatan *SLN***

#### *2.1.2.1 High shear homogenization*

*High shear homogenization* merupakan teknik dispersi yang pertama kali digunakan untuk produksi nanodispersi lipid padat. Metode ini dapat dikembangkan dan mudah untuk dilakukan. Namun, kualitas dispersi sering terganggu karena terbentuk pula partikel berukuran mikro. *High-speed homogenization* digunakan untuk memproduksi *SLN* menggunakan metode *melt emulsification* (Mukherjee, Ray, Thakur, 2009).

Proses yang terjadi pada metode ini meliputi: pelehan bahan inti (lipid), penambahan larutan surfaktan dan dispersi fase leahan pada temperature tinggi dengan cara pengadukan. Kelebihan dari metode ini adalah nanopartikel lipid dapat dibuat tanpa membutuhkan penggunaan surfaktan dengan jumlah banyak sehingga ukuran partikel dipengaruhi oleh kecepatan dan lama pengadukan (Sinha, Srivastasa, Goel dan Jindal, 2010).

#### *2.1.2.2 Pengeringan beku*

Perubahan bentuk *SLN* dari bentuk emulsi cair menjadi bentuk padat yang mudah diredispersikan dapat dilakukan untuk menghasilkan bentuk sediaan yang lebih praktis dalam penyimpanan dan pengemasan, serta dapat digunakan untuk meningkatkan stabilitas *SLN* selama penyimpanan. Pengeringan beku merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk merubah bentuk emulsi *SLN* menjadi bentuk padat yang lebih stabil secara fisik maupun kimia selama periode tertentu (Mäder, 2006; Singh dan Shegokar, 2011).

Pengeringan beku adalah proses yang banyak digunakan untuk pengeringan dan meningkatkan stabilitas produk farmasi yang meliputi: virus, vaksin, protein, peptida, pembawa koloid seperti: liposom, nanopartikel, nanoemulsions. Proses ini relatif lama dan mahal. Siklus pengeringan beku dapat dibagi menjadi tiga tahap: beku (pembekuan), pengeringan primer (sublimasi es) dan pengeringan sekunder (desorpsi air beku) (Mäder, 2006; Singh dan Shegokar, 2011; Abdelwahed, Degobert, Stainmesse dan Fessi, 2006). Pengeringan beku atau liofilisasi bekerja dengan cara membekukan bahan dan kemudian mengurangi tekanan yang berada disekitarnya sehingga memungkinkan air beku yang berada dalam bahan akan langsung menyublim dari bentuk padat menjadi bentuk gas sehingga massa air dari bahan menghilang dan terbentuk bentuk padat yang telah mengering. (Sinha, Srivastasa, Goel dan Jindal, 2010).

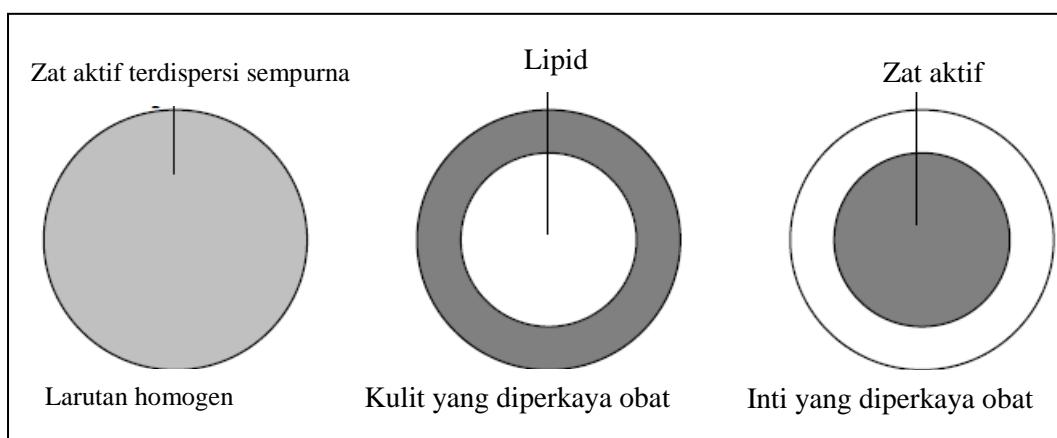
### **2.1.3 Tipe Nanopartikel Lipid Padat (Model Penggabungan Obat)**

Berdasarkan metode penggabungan obat kedalam nanopartikel lipid, pada umumnya terdapat tiga tipe nanopartikel lipid padat: (a) matriks homogen dari larutan padat, (b) lapisan/kulit yang diperkaya obat, dan (c) inti yang diperkaya obat. Pada tipe pertama, partikel-partikel molekul obat tersebar secara homogen dalam matriks lipid. Oleh karena itu, pelepasan obat terjadi melalui difusi dari matriks lipid padat dan/atau dengan degradasi matriks lipid dalam usus (Das dan Chaudhury, 2011; Pragati, Kuldeep, Ashok dan Satesh, 2009).

Pada kasus model kedua (kulit yang diperkaya obat), obat terkonsentrasi pada kulit terluar dari nanopartikel. Model ini dapat dijelaskan sebagai berikut. Selama proses homogeniasi panas, setiap tetesan nanoemulsi mengandung campuran obat dan lipid. Namun, selama pendinginan lipid akan mengendap lebih cepat dibandingkan obat sehingga membentuk inti bebas obat atau inti dengan kandungan obat yang sedikit. Selanjutnya, lipid dan obat secara bersamaan akan mengendap di kulit terluar dari partikel setelah mencapai suhu dan komposisi eutektik. Selain itu, kelarutan obat dalam larutan surfaktan meningkat pada suhu yang tinggi. Oleh karena itu, selama homogeniasi panas, sebagian obat dapat meninggalkan matriks lipid dan larut dalam fase berair. Namun, kelarutan obat dalam fase luar (larutan surfaktan) menurun selama pendinginan nanoemulsi.

Kemudian obat menunjukkan kecenderungan untuk berpartisi kembali ke dalam matriks lipid, yang mengarah kepada model kulit yang diperkaya obat karena inti partikel sudah mulai mengeras. Jenis nanopartikel ini menunjukkan ledakan pelepasan obat, yang diinginkan untuk beberapa obat (misalnya, formulasi cyclosporin A oral). Namun, pelepasan ini dapat dimodifikasi dengan memvariasikan kondisi formulasi seperti, suhu produksi (sebaiknya homogenisasi dingin) dan konsentrasi surfaktan (Das dan Chaudhury, 2011; Pragati, Kuldeep, Ashok dan Satesh, 2009).

Pada tipe inti diperkaya obat terbentuk saat pengendapan obat lebih cepat daripada lipid selama pendinginan dari nanoemulsi, berbeda dengan dengan tipe kulit diperkaya obat. Fenomena ini diamati ketika obat ini didispersikan pada kelarutan jenuhnya dalam lipid pada suhu produksi. Suatu super saturasi yang diikuti dengan pengendapan obat terjadi selama pendinginan. Umumnya, pelepasan obat dari tipe *SLN* ini cenderung lama (Das dan Chaudhury, 2011; Pragati, Kuldeep, Ashok dan Satesh, 2009).



[Sumber: Parhi dan Suresh, 2010, telah diolah kembali]

**Gambar 2.1.** Tipe Nanopartikel Lipid Padat - Model Penggabungan Obat

#### 2.1.4 Absorpsi *SLN* pada Saluran Cerna

Banyak obat telah teridentifikasi menunjukkan ketersediaan hayati yang buruk dan bervariasi karena kurangnya kelarutan obat tersebut di dalam air. Telah diketahui bahwa ko-administrasi makanan tinggi lemak dapat meningkatkan bioavailabilitas obat tersebut karena asupan makanan tinggi lemak menyebabkan

waktu tinggal yang lebih lama dalam saluran pencernaan, stimulasi sekresi empedu dan pankreas, stimulasi transportasi limfatik, peningkatan permeabilitas obat untuk melewati dinding usus, mengurangi dan menghalangi aktivitas metabolisme, dan perubahan pada aliran darah hati dan *mesenteric*, yang secara signifikan memberikan kontribusi meningkatkan bioavailabilitas oral obat. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikatakan desain formulasi berbasis lipid dapat mengurangi keterbatasan dan ketidaksempurnaan disolusi obat dengan kelarutan rendah dan memfasilitasi pembentukan fase yang terlarut sehingga dapat terjadi absorpsi. Efek peningkatan absorpsi dan sifat adesif dari nanopartikel lipid menyebabkan peningkatan absorpsi banyak obat dalam saluran GI, terutama obat hidrofobik. Setelah penempelan (adhesi) ke dinding usus, obat dilepaskan pada tempat penyerapan. Obat ini diserap pada saluran cerna bersama dengan lipid. Efek peningkatkan absorpsi oleh lipid dapat dideskripsikan sebagai berikut: lipid yang terdegradasi oleh enzim dalam usus akan membentuk permukaan aktif mono- dan di- gliserida pada permukaan tetesan lipid atau partikel lipid padat. Molekul-molekul ini membentuk dan melepaskan misel sehingga obat yang terdispersi dalam lipid menjadi bentuk yang terlarut selama proses pembentukan dan pelepasan misel. Misel ini kemudian berinteraksi dengan permukaan aktif garam empedu dan membentuk misel campuran. Selanjutnya obat ini diserap bersama dengan misel (Das dan Chaudhury, 2011; Kamboj, Bala dan Nair, 2010).

Bahan diserap di seluruh sel-sel epitel usus kecil melalui kapiler limfatik atau darah. Mayoritas obat oral mencapai sirkulasi sistemik dengan penyerapan kedalam portal darah. Namun, beberapa senyawa yang sangat lipofilik ( $\log P > 5$ ) mencapai sirkulasi sistemik melalui rute limfatik. Oleh karena itu, lipid dapat meningkatkan penyerapan limfatik beberapa obat, terutama obat lipofilik atau makromolekul dengan berat molekul besar. Selanjutnya, kapiler limfatik secara signifikan lebih *permeable* untuk nanopartikel daripada kapiler darah. Obat yang diserap melalui sistem limfatik usus dilindungi saat metabolisme fase pertama karena anatomi dan fisiologi yang unik. Bioavailabilitas obat-obatan oral yang mengalami metabolisme hepatis fase pertama yang tinggi dapat ditingkatkan secara signifikan dengan penghantaran melalui sistem limfatik. Namun, penyerapan limfatik tergantung pada panjang rantai asam lemak karena

trigliserida rantai panjang (asam lemak dengan rantai C-14 sampai C-18) lebih efektif meningkatkan penyerapan limfatik dibandingkan dengan trigliserida rantai sedang (Das dan Chaudhury, 2011; Kamboj, Bala dan Nair, 2010).

Secara singkat, proses penyerapan dari produk lipid yang telah dicerna di dalam usus terdiri atas (i) dispersi globul lemak (lipid yang terserap) untuk menghasilkan emulsi kasar dengan luas permukaan yang tinggi, (ii) hidrolisis enzimatik dari ester gliseril asam lemak (terutama lemak trigliserida) pada fase antarmuka minyak/air dan (iii) dispersi dari produk pencernaan lipid menjadi bentuk yang dapat diserap (Nanjwade, Patel, Udhani dan Manvi, 2011).

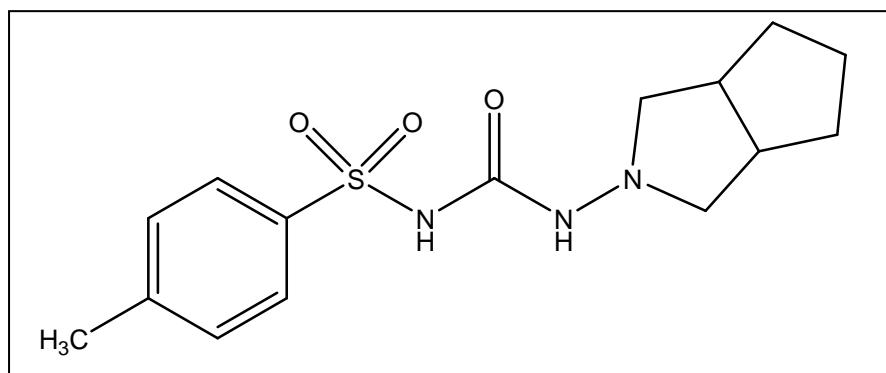
Konstituen dari fase misel campuran dapat memodifikasi permeabilitas senyawa lipofil dalam usus melalui tiga mekanisme. Pertama, kehadiran produk pencernaan lipid dan garam empedu dapat mengubah permeabilitas intrinsik obat dalam melewati membran usus, menyebabkan peningkatan penyerapan melalui rute paracellular atau transelular. Kedua, solubilisasi obat lipofilik dalam misel garam empedu campuran dapat memfasilitasi difusi melalui lapisan difusi air sehingga meningkatkan penyerapan. Ketiga, dan sebaliknya, solubilisasi obat dapat mengurangi intermicellar 'bebas' fraksi obat, yang berpotensi menyebabkan penurunan penyerapan. Efek divergen cenderung memprovokasi dan kadang-kadang bertentangan dengan laporan tentang penyerapan obat setelah pemberian sebagai sistem sediaan terlarut berbasis surfaktan (Nanjwade, Patel, Udhani dan Manvi, 2011).

## 2.2 Gliklazid

### 2.2.1 Deskripsi

Gliklazid merupakan kristal padat berwarna putih atau hampir putih. Gliklazid mengandung 99 % sampai 101 % (bentuk kering) 1(Hexahydrocycloepenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)-3-[(4methylphenyl)sulphonyl]urea. Berat molekul dari gliklazid adalah 323,4 dengan pKa 5,8 dan rumus kimia  $C_{15}H_{21}N_3O_5S$  serta memiliki struktur kimia seperti yang terlihat pada Gambar 2.2. Titik leleh dari gliklazid adalah 165 – 170 °C (British Pharmacopoeia, 2009). Gliklazid praktis tidak larut dalam air, larut dalam metilen klorida, sedikit larut dalam etanol (96%)

dan aseton (British Pharmacopoeia, 2009; Ingle, Bankar, Gaikwad dan Pawar, 2011; Biswal, Sahoo, Murthy, Giradkar dan Avari, 2008).



[Sumber: British Pharmacopoeia, 2009, telah diolah kembali]

**Gambar 2.2.** Struktur Kimia Gliklazid

### 2.2.2 Farmakologi

Gliklazid merupakan obat golongan sulfonilurea. Obat golongan ini menstimulasi sel beta pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan. Pada umumnya mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea adalah :

- a) Menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan (*stored insulin*)
- b) Menurunkan ambang sekresi insulin
- c) Meningkatkan sekresi insulin sebagai akibat rangsangan glukosa (Bandarkar dan Khattab, 2011; Sarkar, Tiwari, Bhasin dan Mitra, 2011).

Gliklazid merupakan obat hipoglemik oral yang digunakan dalam pengobatan diabetes non insulin. Obat ini memiliki tolerabilitas yang baik, risiko hipoglikemia dan tingkat kegagalan sekunder yang rendah, dan berpotensi untuk memperlambat perkembangan retinopati diabetes sehingga gliklazid dapat digunakan dalam terapi yang diperpanjang untuk mengontrol terapi diabetes non insulin (Bandarkar dan Khattab, 2011; Sarkar, Tiwari, Bhasin dan Mitra, 2011).

Obat ini diresepkan pada kisaran dosis 40-320 mg per hari sebagai tablet, 1-3 kali sehari. Variabilitas dalam penyerapan dapat disebabkan oleh sifat fisikokimia gliklazid yang termasuk kelas II dari sistem klasifikasi biofarmasi, yaitu memiliki kelarutan yang rendah dan permeabilitas yang tinggi, dimana laju dari absorpsi oral tergantung pada laju disolusi pada saluran cerna

(Ingle, Bankar, Gaikwad dan Pawar, 2011; Biswal, Sahoo, Murthy, Giradkar dan Avari, 2008; Tjay dan Rahardja, 2003; Sarkar, Tiwari, Bhasin dan Mitra, 2011).

### 2.2.3 Farmakokinetik

Absorpsi oral dari gliklazid pada penderita diabetes dan sukarelawan sehat hampir sama, tetapi terjadi perbedaan pada waktu untuk mencapai konsentrasi puncak ( $t_{max}$ ). Usia berpengaruh pada perbedaan konsentrasi puncak dalam plasma ( $C_{max}$ ) dan  $t_{max}$ . Dosis tunggal 40 sampai 120 mg gliklazid menghasilkan  $C_{max}$  sebesar 2,2 sampai 8,0  $\mu\text{g/ml}$  dalam waktu 2 sampai 8 jam.  $T_{max}$  dan  $C_{max}$  meningkat setelah pemberian kembali gliklazid. Konsentrasi konstan dapat terjadi setelah dua hari pemberian dari 40 sampai 120 mg gliklazid. Volume distribusi gliklazid pada penderita diabetes ataupun sukarelawan sehat relatif rendah (13 sampai 24 L) yang disebabkan oleh afinitas ikatan protein yang tinggi (85 sampai 97%). Waktu paruh eliminasi ( $t_{1/2}$ ) gliklazid pada penderita diabetes dan sukarelawan sehat sekitar 8,1 sampai 20,5 jam setelah pemberian oral gliklazid dengan dosis 40 sampai 120 mg. Selain itu, plasma klirens dari gliklazid adalah 0,78 L/jam (13 mL/menit). Gliklazid secara ekstensif termetabolisme menjadi 7 metabolit dan terekresi di dalam urin sehingga efek farmakokinetik dari gliklazid tidak ada lagi. Variabilitas dari absorpsi gliklazid dapat disebabkan karena gliklazid melarut terlebih dahulu di dalam lambung sehingga menyebabkan variabilitas pada absorpsi gliklazid didalam usus. Proses ini menghasilkan bioavailabilitas yang rendah dari bentuk sediaan konvensional (Sarkar, Tiwari, Bhasin dan Mitra, 2011)

### 2.2.4 Farmakodinamik

Gliklazid menurunkan kadar glukosa darah pada pasien dengan diabetes melitus yang tidak bergantung insulin (*non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)*) dengan cara memperbaiki sekresi insulin yang bermasalah dan resistensi insulin perifer. Sekresi insulin yang terstimulasi dan tidak terstimulasi dari sel  $\beta$  prankeas meningkat setelah pemberian gliklazid, yang dipengaruhi fase pertama dan kedua dari sekresi insulin. Hal ini dapat terjadi karena terjadi ikatan antara gliklazid dengan reseptor spesifik di sel  $\beta$  prankeas sehingga menurunkan

eflukus kalium dan menyebabkan depolarisasi pada sel. Setelah itu, kanal kalsium terbuka sehingga meningkatkan kalsium intraseluler dan menginduksi pelepasan insulin. Selain itu, gliklazid juga meningkatkan sensitifitas sel  $\beta$  terhadap glukosa. Gliklazid mungkin dapat memiliki efek yang berlebih pada pankreas sehingga dapat memperbaiki sensitifitas insulin perifer, yaitu seperti mengurangi produksi glukosa hepatis dan meningkatkan klirens glukosa dan sintesis glikogen otot rangka. Efek ini tidak nampaknya dimediasi efek dari jumlah, afinitas dan fungsi reseptor insulin. Ada beberapa bukti bahwa gliklazid dapat meningkatkan aktifitas hematologi yang bermasalah pada pasien dengan *NIDDM* (Sarkar, Tiwari, Bhasin dan Mitra, 2011).

### 2.3 Komponen Pembentuk SLN

#### 2.3.1 Asam stearat (Rowe, Shesky dan Marian, 2009; MSDS)

##### 2.3.1.1 Kegunaan

Pembentuk matriks lipid.

##### 2.3.1.2 Organoleptis

Deskripsi : Asam stearat merupakan campuran dari asam stearat ( $C_{18}H_{36}O_2$ ) dan asam palmitat ( $C_{16}H_{32}O_2$ ), dimana kandungan asam stearat tidak kurang dari 40,0% dan jumlah dari kedua asam tidak kurang dari 90,0%.

Bentuk : Serbuk atau kristal

Warna : Putih

Bau : Berbau atau hampir seperti lipid

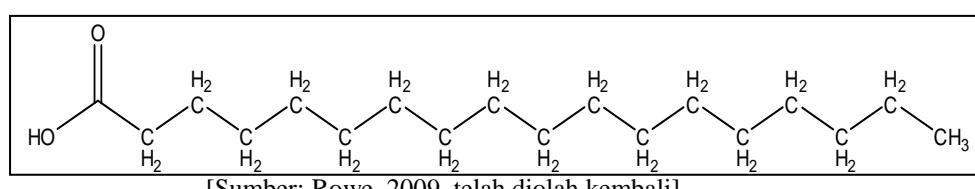
##### 2.3.1.3 Sifat Kimia

Titik leleh :  $69,4^{\circ}\text{C}$

Berat jenis :  $0.980 \text{ g/cm}^3$  dan nilai HLB 15

Rumus kimia :  $C_{18}H_{36}O_2$

Struktur kimia :



**Gambar 2.3.** Struktur Kimia Asam Stearat

#### 2.3.1.4 Sinonim

Octadecanoic acid

#### 2.3.1.5 Kelarutan

Larut dalam 5 bagian benzene, dalam 6 bagian karbon tetraklorida, 2 bagian kloroform, 15 bagian etanol dan 3 bagian eter. Praktis tidak larut dalam air.

#### 2.3.1.6 Stabilitas

Asam stearat merupakan bahan yang stabil namun dapat ditambahkan antioksidan (0,005 % b/b butylated hydroxitoluene). Serbuk asam stearat harus disimpan dalam kemasan yang tertutup rapat pada tempat yang dingin dan kering.

#### 2.3.1.7 Toksisitas

Asam stearat dapat digunakan pada formulasi obat untuk pemakaian oral dan topikal juga dapat digunakan pada produk makanan dan kosmetik. Asam stearat pada umumnya merupakan bahan yang tidak toksik dan tidak menimbulkan iritasi.

### 2.3.2 Tween 80 (Rowe, Shesky dan Marian, 2009; MSDS)

#### 2.3.2.1 Kegunaan

Surfaktan

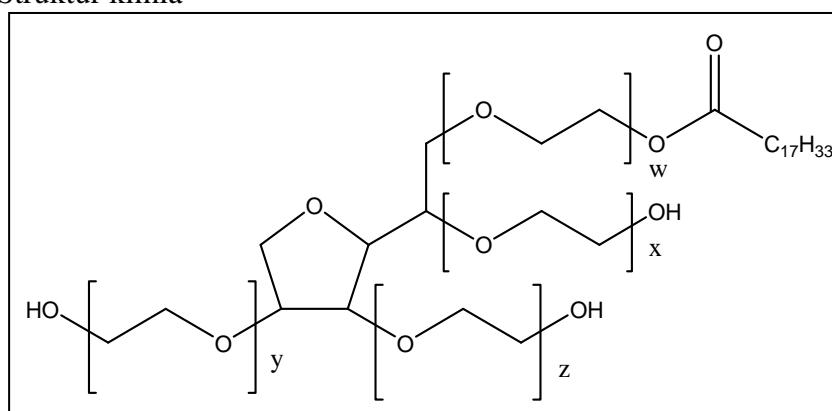
#### 2.3.2.2 Organoleptis

Bentuk : Cairan

Warna : Kuning

Bau : Bau khas lemah

#### 2.3.2.3 Struktur kimia



[Sumber: Rowe, 2009, telah diolah kembali]

**Gambar 2.4.** Struktur Kimia Tween 80

#### 2.3.2.4 Sinonim

Polysorbate 80

#### 2.3.2.5 Berat jenis

$1,08 \text{ g/cm}^3$  dan nilai HLB 15

#### 2.3.2.6 Kelarutan

Tween 80 larut dalam etanol dan air. Tidak larut dalam minyak mineral dan minyak nabati.

#### 2.3.2.7 Stabilitas

Tween 80 stabil terhadap elektrolit dan asam/basa lemah; terjadi penyabunan jika bereaksi dengan asam atau basa kuat. Sensitif terhadap oksidasi. Tween harus disimpan dalam kemasan tertutup rapat, terlindung dari cahaya, pada udara sejuk dan tempat kering.

### 2.3.3 Polietilen Glikol 400 (Rowe, Shesky dan Marian, 2009; MSDS)

#### 2.3.3.1 Kegunaan

Kosurfaktan

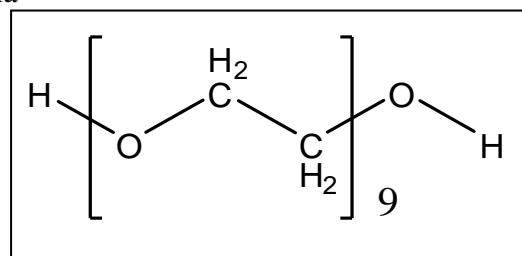
#### 2.3.3.2 Organoleptis

Bentuk : Cairan

Warna : Kuning

Bau : Bau khas lemah

#### 2.3.3.3 Struktur kimia



[Sumber: Rowe, 2009, telah diolah kembali]

**Gambar 2.5.** Struktur Kimia PEG 400

#### 2.3.3.4 Sinonim

Carbowax, Macrogel 400, PEG 400

#### 2.3.3.5 Berat jenis

$1,11 - 1,14 \text{ g/cm}^3$  dan nilai HLB 11,6

### 2.3.3.6 Kelarutan

PEG 400 larut dalam air dingin dan air panas. Dapat larut dalam hidrokarbon aromatik. Sedikit larut dalam hidrokarbon alifatik.

### 2.3.3.7 Stabilitas

PEG 400 pada umumnya stabil. Namun tidak dapat bercampur dengan pengoksidasi kuat dan tidak stabil bila terpapar panas yang berlebih.

## 2.3.4 Etanol (Rowe, Shesky dan Marian, 2009; MSDS)

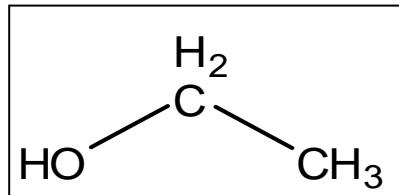
### 2.3.4.1 Kegunaan

Ko-solvent

### 2.3.4.2 Organoleptis

Bentuk	: Cairan volatil
Warna	: Jernih, tidak berwarna
Bau	: Bau khas lemah
Rasa	: memiliki rasa seperti terbakar

### 2.3.4.3 Struktur kimia



[Sumber: Rowe, 2009, telah diolah kembali]

**Gambar 2.6.** Struktur Kimia Etanol

### 2.3.4.4 Sinonim

Alkohol, etil alkohol

### 2.3.4.5 Berat jenis

0,8119 – 0,8139 pada 20°C

### 2.3.4.6 Kelarutan

Etanol tidak dapat bercampur dengan kloroform, eter, gliserin dan air (tergantung pada suhu dan volume).

### 2.3.5 Aquadest (Departemen Kesehatan, 1995)

Aquadest adalah air yang dimurnikan yang diperoleh dengan destilasi, perlakuan menggunakan penukar ion, osmosis balik, atau proses lain yang sesuai. Dibuat dari air yang memenuhi persyaratan air minum. Tidak mengandung zat tambahan lain.

#### 2.3.5.1 Organoleptis

Bentuk	: cairan jernih
Warna	: tidak berwarna
Bau	: tidak berbau

### 2.3.6 Laktosa (Rowe, Shesky dan Marian, 2009)

#### 2.3.6.1 Kegunaan

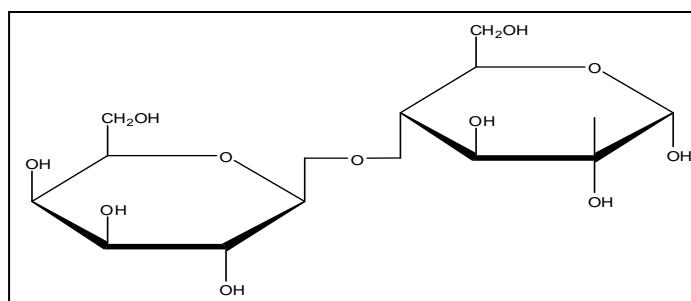
Pelindung saat pengeringan beku

#### 2.3.6.2 Organoleptis

Bentuk	: Serbuk atau kristal
Warna	: Putih atau hampir putih

#### 2.3.6.3 Sifat Kimia

Struktur kimia :



[Sumber: Rowe, 2009, telah diolah kembali]

**Gambar 2.7.** Struktur Kimia Laktosa

Berat molekul : 342.30

Rumus kimia : C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>

#### 2.3.6.4 Kelarutan

Laktosa larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol absolut (96%).

## 2.4 Pelepasan Obat

Efektivitas terapi obat tergantung pada kemampuan bentuk sediaan untuk menghantarkan obat ke tempat kerjanya dan melepaskan obat tersebut pada tingkat dan jumlah yang cukup untuk mendapat respon farmakologi yang diinginkan. Kemampuan dari bentuk sediaan untuk menghantarkan obat ke tempat kerjanya disebut sebagai ketersediaan fisiologis, ketersediaan biologis atau bioavailabilitas. Terutama untuk bahan obat yang memiliki kelarutan yang rendah, laju disolusi obat merupakan faktor penentu ketersediaan obat untuk diabsorpsi kedalam sirkulasi sistemik atau tempat kerjanya untuk menghasilkan respon farmakologis (Ansel, 1989; Bajaj, Bisht, Yadav dan Singh, 2011). Uji disolusi *in vitro* seringkali digunakan untuk mengukur laju dan jumlah pelarutan obat dalam suatu media sehingga dapat menggambarkan profil pelepasan dari obat tersebut.

Mekanisme pelepasan obat dari formulasi lipid padat pada umumnya dapat terjadi dengan cara sebagai berikut:

- Disolusi dari komponen eksipien yang larut dalam air
- Difusi lipid dan/atau obat ke medium larutan
- Miselisasi atau emulsifikasi lipid
- Dalam beberapa kasus dapat terjadi pencernaan lipid (Vasantha vada dan Serajuddin, 2007; Mäder, 2006).

Dan prinsip umum pelepasan obat dari nanopartikel lipid adalah sebagai berikut:

- Ada hubungan terbalik antara pelepasan obat dan koefisien partisi obat.
- Luasnya permukaan karena ukuran partikel yang lebih kecil dalam rentang nanometer menyebabkan pelepasan obat yang lebih tinggi.
- Pelepasan obat lambat dapat dicapai ketika obat ini tersebar merata dalam matriks lipid. Hal ini tergantung pada jenis dan model penjerapan obat oleh SLN.
- Sifat kristalisasi pembawa lipid dan mobilitas obat yang tinggi menyebabkan pelepasan obat yang cepat. Ada hubungan terbalik antara tingkat kristalisasi dan mobilitas obat (Üner dan Gülgün, 2007).

Model penggabungan obat atau tipe nanopartikel berpengaruh pada pola pelepasan obat karena berhubungan dengan komposisi dan metode produksi SLN yang digunakan. Pelepasan obat yang berkepanjangan dapat terjadi karena

molekul obat yang tersebar di partikel koloid sangat terbatas. *Burst release* dapat terjadi pada 5 menit awal pada nanopartikel dengan tipe lapisan diperkaya obat, yaitu sekitar 100% dalam waktu kurang dari 5 menit sebagai akibat dari penempatan obat sebagian besar berada pada permukaan partikel sehingga luas permukaan menjadi lebih besar. *Burst release* dapat berkurang dengan meningkatnya ukuran partikel dan pelepasan yang diperpanjang dapat terjadi ketika partikel lipid berukuran mikro. Dalam model ini diperkaya obat, pelepasan obat adalah dikendalikan membran dan diatur oleh hukum difusi Fick karena lipid mengelilingi obat sebagai membran (Üner and Gülgün, 2007; Das dan Chaudhury, 2011; Pragati, Kuldeep, Ashok dan Satesh, 2009). Jenis dan konsentrasi surfaktan, perlu dicatat sebagai faktor penting lainnya, karena konsentrasi surfaktan yang rendah menyebabkan pelepasan yang dihambat dan berkepanjangan (Üner and Gülgün, 2007).

Prinsip dasar evaluasi dari kinetika pelepasan digambarkan oleh Noyes dan Whitney dengan persamaan:

$$\boxed{\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{h} (C_s - C_t)} \quad (2.1)$$

Keterangan :

- dC/dt = laju disolusi obat
- D = tetapan laju disolusi
- S = luas permukaan partikel
- h = tebal lapisan stagnan
- C<sub>s</sub> = konsentrasi obat yang terlarut dalam larutan jenuh
- C = konsentrasi obat dalam medium disolusi pada waktu t.

Ada beberapa model kinetika yang dapat menggambarkan proses pelepasan obat dari sediaan. Perubahan pada formula, baik secara kualitatif maupun kuantitaif dapat mengubah proses pelepasan obat sehingga diperlukan investigasi untuk mengetahui kinetika dari pelepasan obat. Metode yang dapat digunakan untuk mengetahui model kinetika pelepasan obat adalah metode berdasarkan model kinetika pelepasan. Pada metode ini mekanisme dan kecepatan pelepasan zat aktif dari sediaan dapat dianalisis dengan cara mencocokkan profil

pelepasan obat dengan persamaan beberapa model kinetika, seperti yang tercantum pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1.** Model Kinetika Pelepasan Obat

Model	Persamaan
Orde nol	$Q_t/Q_o = k_o t$
Orde Satu	$\ln Q_t/Q_o = k_1 t$
Higuchi	$Q_t/Q_o = k_H t^{1/2}$
Korsmeyer-Peppas	$Q_t/Q_o = k t^n$

Keterangan:

$Q_t/Q_o$  = fraksi obat yang dilepas pada waktu tertentu;

$k_0$ ,  $k_1$ ,  $k_H$  dan  $k$  = konstanta pelepasan obat;

$n$  = eksponen difusi Peppas

Pelepasan obat dari sediaan yang mengikuti kinetika orde nol memiliki kecepatan pelepasan yang konstan, yaitu pelepasan obat dalam jumlah yang sama dari waktu ke waktu tanpa terpengaruh oleh konsentrasi obat dalam sediaan dan pelepasan obat berlangsung lambat. Kinetika pelepasan ini adalah pelepasan obat yang ideal yang diinginkan dari suatu sediaan pelepasan yang dimodifikasi, seperti beberapa sediaan transdermal dan tablet dengan pelepasan zat aktif yang terkendali. Sediaan yang menunjukkan profil pelepasan obat yang mengikuti kinetika orde satu menandakan bahwa pelepasan obat dari dalam sediaan tersebut bergantung dari konsentrasi obat yang tersisa di dalam sediaan. Kinetika Higuchi menjelaskan kecepatan pelepasan obat dari sistem matriks yang konstan sebanding dengan akar waktu. Obat dengan pelepasan yang sesuai dengan kinetika Higuchi dapat diasumsikan pelepasannya melalui mekanisme difusi terkendali. Persamaan Korsmeyer-Peppas menjelaskan mekanisme pelepasan obat dari sediaan yang berdasarkan mekanisme difusi Fickian, mekanisme erosi/disolusi atau mekanisme difusi-erosi. Nilai  $n$  (eksponen difusi Peppas) pada persamaan ini dapat menunjukkan karakter dari mekanisme pelepasan bahan aktif. Nilai  $n$  yang lebih besar dari 0,45 menandakan pelepasan obat yang berdasarkan mekanisme difusi Fickian, sedangkan jika nilai  $0,45 < n < 0,89$  menandakan mekanisme non-Fickian, yaitu mekanisme pelepasan yang disebabkan oleh proses difusi dan tererosinya polimer pembawa sediaan. Nilai  $n =$

0,89 juga menandakan bahwa profil pelepasan obat pada sediaan tersebut mendekati kinetika orde nol ( $Q_t/Q_0 = k_o t$ ), nilai  $n$  yang lebih dari 0,89 menandakan profil pelepasan yang juga berdasarkan mekanisme non-Fickian, sedangkan nilai  $n$  yang mendekati 0,5 menandakan profil pelepasan yang mengikuti mekanisme difusi Fickian pada sediaan tersebut (Dash, Murthy, Nath dan Chowdhury, 2010; Ansel, 1989; Shargel dan Andrew, 1988).

## 2.5 Uji Permeasi Obat Menggunakan Sel Difusi Franz

Uji permeasi dilakukan untuk menentukan kecepatan dan jumlah obat yang dapat melintasi membran serta untuk menentukan laju permeasi (fluks) dari senyawa obat (baik dalam bentuk senyawa tunggal ataupun yang telah diformulasikan). Formulasi berbasis lipid telah diketahui dapat meningkatkan permeabilitas suatu obat untuk melewati membran usus sehingga dapat dengan mudah diabsorpsi dan untuk mengetahui karakteristik proses absorpsi dan permeasi obat dari suatu sediaan secara *in vitro* dapat dilakukan uji permeasi obat menggunakan sel difusi Franz. Sel difusi Franz terdiri atas dua bagian yang dibatasi oleh membran, yaitu kompartemen donor pada bagian atas dan kompartemen reseptor pada bagian bawah, seperti pada gambar yang tertera pada Lampiran 5.

Difusi merupakan proses lewatnya molekul-molekul obat melalui suatu membran dan proses absorpsi dikendalikan oleh perbedaan konsentrasi antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor. Dalam hal ini obat akan berdifusi dari daerah yang berkonsentrasi tinggi (kompartemen donor) ke daerah yang berkonsentrasi rendah (kompartemen reseptor). Difusi pasif dapat digambarkan dengan Hukum Fick's pertama (Persamaan 2.2), yang menyatakan bahwa laju difusi (fluks) sebanding dengan perbedaan konsentrasi pada kedua sisi membran (Ansel, 1989; Martin, 1993; Shargel dan Andrew, 1988). Fluks atau laju permeasi dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Fluks} = \frac{P}{L} \cdot A \cdot \frac{\Delta C}{\Delta X} \quad (2.2)$$

Keterangan:

- J = Fluks ( $\text{mg.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ ).  
M = Jumlah kumulatif gliklazid yang melalui membran (mg).  
S = Luas area difusi ( $\text{cm}^2$ ).  
t = Waktu (jam).  
 $C_d$  = Jumlah gliklazid yang berada pada kompartemen donor.  
 $C_r$  = Jumlah gliklazid yang berada pada kompartemen reseptor.

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Lokasi penelitian adalah di Laboratorium Farmaseutika, Laboratorium Farmasi Fisik, Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Fakultas Farmasi UI. Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret 2012 hingga Juni 2013.

#### **3.2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Gliklazid (PT. Dexa Medica, Indonesia), Asam stearat (PT. Sumi Asih, Indonesia), Tween 80 (PT. Brataco, Indonesia), PEG 400, Etanol (PT. Brataco, Indonesia), Aquadest (PT. Brataco, Indonesia), Laktosa (PT. Btataco, Indonesia), NaCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaOH dan pereaksi kimia lainnya.

#### **3.3. Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *homogenizer* (Omni – Multimic Inc., Malaysia), pengaduk magnetik (IKA® C-MAG HS 7, Jerman), batang pengaduk magnet, neraca analitik (Shimadzhu EB-330, Jepang), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzhu 1600, Jepang), pengering beku (Scavac, Denmark), *particle size analyzer* (Delsa™ Nano, Amerika Serikat), *zeta potensial analyzer* (Delsa™ Nano, Amerika Serikat), mikroskop transmisi elektron JEM-1400 (JEOL Ltd., Jepang), pH meter (Eutech Intstrument pH 510, Singapura), dan alat-alat gelas.

#### **3.4. Cara Kerja**

##### **3.4.1. Pembuatan Emulsi SLN Gliklazid**

Pembuatan fase lipid dilakukan dengan cara melelehkan asam stearat (2% b/v) pada suhu 75°C dan selanjutnya gliklazid (0,28% b/v) dan etanol (10% b/v) ditambahkan kedalam lelehan lipid. Campuran kemudian diaduk sampai mencapai suhu 75°C. Pembuatan fase air dilakukan dengan cara melarutkan Tween 80 (5%

b/v) dan PEG 400 (5% b/v) dalam aquadest (77,72% b/v) dan dipanaskan mendekati suhu peleahan lipid. Larutan surfaktan selanjutnya ditambahkan kedalam fase lipid dan dipanaskan kembali hingga mendekati suhu 75°C lalu diaduk menggunakan *homogenizer* pada kecepatan 30.000 rpm selama 5 menit.

**Tabel 3.1.** Formula SLN Gliklazid

Komponen	Formula (% b/v)
Gliklazid	0,28
Asam Stearat	2,0
Tween 80	5,0
PEG 400	5,0
Aquadest	77,72

Emulsi yang terbentuk selanjutnya didispersikan dalam aquadest dingin (4°C) yang mengandung laktosa 8%, dengan perbandingan 1 : 1 sambil dihomogenisasi pada 5.000 rpm selama 5 menit untuk mendinginkan. Dispersi selanjutnya disimpan dalam refrigerator pada temperatur 4°C (Abdelbary dan Rania, 2009; de Souza *et al.*, 2011; Triplett dan Rathman, 2009).

### 3.4.2 Pengeringan SLN Gliklazid

Pada dispersi SLN yang terbentuk kemudian dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan metode pengeringan beku. Sebelum dilakukan proses pengeringan beku, dispersi SLN dibekukan terlebih dahulu dalam refrigerator pada suhu 2°C dan selanjutnya diiofilisasi selama 48 jam pada suhu -100°C. (Bourezg, Bourgeois, Pressenda, Shehada dan Fessi, 2012; El-Kamel, Al-Fagih dan Alsarra, 2007).

### 3.4.3. Karakterisasi SLN Gliklazid

Karakterisasi yang dilakukan terhadap SLN Gliklazid meliputi analisis ukuran partikel, potensial zeta serta pengukuran kadar gliklazid yang terjerap dan efisiensi penyerapan. Karakterisasi dilakukan pada SLN gliklazid sebelum dan setelah pengeringan beku.

### 3.4.3.1 Penetapan Distribusi Ukuran Partikel

Penentuan ukuran partikel, distribusi ukuran partikel dan indeks polidispersi dilakukan dengan cara mendispersikan *SLN* di dalam aquadest dengan perbandingan 1 : 15 (v/v) pada suhu 25°C. Pengukuran distribusi ukuran partikel dan indeks polidispersi dilakukan menggunakan alat *particle size analyzer* (El-Kamel, Al-Fagih dan Alsarra, 2007).

### 3.4.3.2 Penetapan Potensial zeta

Nilai potensial zeta diukur menggunakan *zeta potential analyzer* pada suhu 25°C. Sampel di dilusi menggunakan air destilasi sebelum analisis dan konduktivitas dari larutan ditingkatkan menjadi 50 µS/cm menggunakan larutan natrium klorida untuk pengukuran potensial zeta (Nimbalkar, Dhoka dan Sonawane, 2011).

### 3.4.3.3 Pengukuran Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Gliklazid dalam Emulsi *SLN* Gliklazid menggunakan Spektrofotometer UV - Vis

Larutan standar dibuat dengan cara menimbang dengan seksama 100 mg gliklazid dan dimasukkan kedalam labu tentukur 100 mL yang telah berisi metanol sebanyak 10 mL. Gliklazid kemudian dilarutkan dalam metanol dan setelah melarut kedalam labu tentukur ditambahkan larutan NaOH 0,1 N hingga mencapai garis batas, dan dihomogenkan dan disaring. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan larutan NaOH 0,1 N hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm dan diukur serapannya pada panjang gelombang 200 – 400 nm dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 N sebagai blanko. Dari serapan yang terbaca, ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

Dari larutan standar dibuat larutan dengan konsentrasi 5; 7,5; 10; 15 dan 20 ppm, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dari data tersebut dibuat kurva kalibrasinya dan dihitung persamaan regresi liniernya.

Sebanyak 4 mL emulsi *SLN* Gliklazid di sentrifugasi pada 4000 rpm selama 60 menit. Endapan yang dihasilkan kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol dan dimasukkan kedalam labu tentukur 100 mL, kemudian cukupkan volumenya dengan larutan NaOH 0,1 N hingga mencapai garis batas lalu dihomogenkan. Sebanyak 5 ml dari larutan tersebut dipipet dan dimasukkan

kedalam labu tentukur 10 mL, kemudian cukupkan volumenya dengan larutan NaOH 0,1 N hingga 10 mL. Larutan kemudian disaring dan kandungan gliklazid diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Prajapati, Tripathi, Ubaidulla dan Anand, 2008). Efisiensi penjerapan (%) dan penetapan kadar gliklazid dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{W_F}{W_T} \times 100 = \text{Efisiensi Penjerapan} \quad (3.1)$$

$$\frac{W_F}{W_{\text{Lipid}}} \times 100 = \text{Penetapan Kadar Gliklazid} \quad (3.2)$$

Keterangan:

$W_T$  = Jumlah total obat pada *SLN*

$W_F$  = Jumlah obat yang terjerap dalam *SLN*, yang dihitung dari nilai konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi medium metanol-NaOH 0,1 N pada analisis spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

$W_{\text{Lipid}}$  = Jumlah dari seluruh bahan yang terkandung dalam *SLN* gliklazid

#### 3.4.3.4 Pengukuran Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Gliklazid dalam padatan *SLN* Gliklazid menggunakan Spektrofotometer UV - Vis

Larutan standar dibuat dengan cara menimbang dengan seksama 100 mg gliklazid lalu dimasukkan kedalam labu tentukur 100 mL dan ditambahkan larutan NaOH 0,1 N untuk melarutkan gliklazid. Larutan kemudian diencerkan dengan larutan NaOH 0,1 N hingga garis batas lalu dihomogenkan dan disaring. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan larutan NaOH 0,1 N hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm dan diukur serapannya pada panjang gelombang 200 – 400 nm dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 N sebagai blanko. Dari serapan yang terbaca, ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

Dari larutan standar dibuat larutan dengan konsentrasi 10, 20, 30, 35 dan 40 ppm, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dari data tersebut dibuat kurva kalibrasinya dan dihitung persamaan regresi liniernya.

Sebanyak 500 mg *SLN* Gliklazid yang telah dikeringkan ditimbang dengan seksama dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Pada padatan *SLN* ditambahkan 5 mL larutan NaOH 0,1 N untuk melarutkan gliklazid yang tidak terjerap di dalam *SLN*, larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring. Kertas saring dijenuhkan terlebih dahulu menggunakan, kemudian larutan sampel disaring dan 2 – 3 mL filtrat pertama dibuang. Proses pelarutan gliklazid yang tidak terjerap dilakukan sebanyak 3 kali menggunakan NaOH 0,1 N. Filtrat yang dihasilkan disaring kembali lalu di pipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL. Volume kemudian dicukupkan hingga 10 mL. Efisiensi penjerapan (%) dan penetapan kadar gliklazid dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\boxed{\quad \quad \quad} \quad (3.3)$$

$$\boxed{\quad \quad \quad} \quad (3.4)$$

Keterangan:

$W_T$  = Jumlah total obat pada *SLN*

$W_B$  = Jumlah obat bebas yang dihitung dari nilai konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi medium NaOH 0,1 N pada analisis spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

$W_{\text{Lipid}}$  = Jumlah dari seluruh bahan yang terkandung dalam *SLN* gliklazid

#### 3.4.4 Uji Perolehan Kembali (UPK) *SLN* Padat

Uji perolehan kembali dihitung berdasarkan jumlah padatan yang dihasilkan dari pengeringan beku yang dibagi dengan semua massa padat yang digunakan dalam formulasi *SLN*. Uji perolehan kembali dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\boxed{UPK = \frac{\text{berat hasil pengeringan}}{\text{berat massa padat yang digunakan dalam formula}} \times 100\%} \quad (3.5)$$

### **3.4.5 Uji Rekonstitusi *SLN* Padat**

Rekonstitusi *SLN* dilakukan dengan cara pengocokan manual menggunakan tangan sampai dihasilkan dispersi yang sempurna.

### **3.4.6 Mikroskop Transmisi Elektron**

Mikroskop transmisi elektron digunakan untuk menguji morfologi nanopartikel. Sebelum dilakukan pengujian, padatan *SLN* di dispersikan terlebih dahulu di dalam aquadest dan disonifikasi selama 1 menit untuk menghasilkan dispersi partikel yang lebih baik dan untuk mencegah aglomerasi dari partikel. 1 tetes larutan *SLN* disebar ke atas *carbon-coated copper grid* yang kemudian dikeringkan pada suhu kamar untuk analisis TEM.

### **3.4.7 Uji Kelarutan Gliklazid**

Uji laju pelarutan dilakukan terhadap gliklazid dan *SLN* Gliklazid yang telah dikeringkan. Ditimbang 32 mg gliklazid dan 1,5 gram *SLN* gliklazid kemudian dimasukkan kedalam gelas piala 100 mL yang telah berisi 100 mL aquadest. Kemudian dilarutkan dengan bantuan *magnetic stirrer* pada suhu  $37 \pm 0,5$  °C selama 1 jam dengan kecepatan 100 rpm. Larutan kemudian disaring dan filtrat yang dihasilkan diencerkan dan dianalisis secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Demirtürk dan Öner, 2004). Sampel dianalisis menggunakan metode spektrofotometer UV pada panjang gelombang 225,4 nm. Pengujian kelarutan gliklazid dilakukan sebanyak tiga kali dan dirata-ratakan untuk menetapkan laju pelarutan obat kumulatif dan diplotkan kedalam kurva kalibrasi gliklazid dalam medium NaOH 0,1 N.

### **3.4.8 Uji Pelepasan Gliklazid secara *In Vitro***

Larutan standar dibuat dengan cara menimbang dengan seksama 100 mg gliklazid lalu dimasukkan kedalam labu tentukur 100 mL dan ditambahkan sebanyak lebih kurang 50 mL dapar fosfat pH 7,4 untuk melarutkan gliklazid. Larutan kemudian diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,4 hingga garis batas lalu dihomogenkan dan disaring. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan

larutan dapar fosfat pH 7,4 hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm dan diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 200 – 400 nm dengan menggunakan larutan dapar fosfat pH 7,4 sebagai blanko. Dari serapan yang terbaca, ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

Dari larutan standar dibuat larutan dengan konsentrasi 10, 15, 20, 30 dan 35 ppm, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dari data tersebut dibuat kurva kalibrasinya dan dihitung persamaan regresi liniernya.

Laju pelepasan obat dilakukan dengan menggunakan membran difusi yang telah dimodifikasi (menyerupai kantong teh) dalam 100 ml medium dapar fosfat 7,4 selama 4 jam. Sebanyak 1 gram *SLN* gliklazid dan 30 mg gliklazid ditimbang dan masing-masing ditempatkan dalam membran disolusi. Membran kemudian digantung pada labu disolusi dan diputar pada kecepatan konstan (100 rpm) pada  $37 \pm 0,5$  °C. Pengambilan 10 ml cuplikan menggunakan *syringe filter* (0,45 µm) dilakukan pada menit ke-5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120, 180 dan 240. Dapar fosfat pH 7,4 (10 ml) yang telah dihangatkan pada suhu  $37 \pm 0,5$  °C, ditambahkan kedalam medium disolusi setelah setiap dilakukan sampling untuk mempertahankan volume medium disolusi tetap konstan. Sampel dianalisis menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 225,6 nm. Pengujian disolusi dilakukan sebanyak tiga kali dan dirata-ratakan untuk menetapkan pelepasan obat kumulatif dan diplotkan kedalam kurva kalibrasi pelepasan obat (Abdelbary dan Fahmi, 2009). Jumlah obat yang terdisolusi dihitung menggunakan Persamaan (3.6) dan (3.7).

$$W_t = (V_1 \cdot C) + (V_2 \cdot \sum_{10}^{t(n-1)} C) \quad (3.6)$$

$$\% \text{ Disolusi} = \frac{W_t}{W_o} \times 100 \% \quad (3.7)$$

Keterangan :

$W_t$  = Jumlah kumulatif gliklazid yang terdisolusi pada waktu t

$W_o$  = Banyaknya gliklazid yang terdapat dalam *SLN*

C = Konsentrasi gliklazid yang terdisolusi pada waktu t

$V_1$  = Volume medium disolusi

$V_2$  = Volume cairan yang dipipet

### 3.4.9 Uji Permeasi Gliklazid secara *In-Vitro*

Permeabilitas dari SLN Gliklazid ditentukan dengan cara mengukur kemampuan gliklazid menembus usus kambing sebagai membran penghalang menggunakan sel difusi Franz dengan luas area difusi  $1,76 \text{ cm}^2$  dan volume reseptor 12 ml. Usus kambing yang diperoleh dari tempat pemotongan hewan sebelumnya dicuci menggunakan larutan NaCl dan larutan dapar fosfat pH 7,4. Usus (dengan panjang 5 cm dan lebar 1 cm) kemudian direndam dalam dapar fosfat pH 7,4 selama 8 jam. Mukosa usus digunakan sebagai membran penghalang dan dipasang diantara kompartemen donor dan reseptör dengan posisi bagian dalam usus menghadap ke atas. Sejumlah SLN gliklazid dan larutan gliklazid (2 mg/ml) yang ekuivalen dengan 5 mg gliklazid, ditempatkan pada bagian atas usus yang telah dipasang pada sel difusi Franz (kompartemen donor). Selama pengujian, suhu larutan pada reseptör kompartemen tetap dijaga pada  $37 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kemudian pada menit ke-5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 dan 240 diambil sampel sebanyak 1 mL dari kompartemen reseptör menggunakan *syringe* dan segera digantikan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sejumlah volume yang sama. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4 yang digunakan. Sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 225,6 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali. Jumlah kumulatif gliklazid yang terpermeasi dihitung dengan Persamaan (3.6) dan (3.7), seperti perhitungan kumulatif pelepasan (disolusi) obat.

### 3.4.10 Analisis Data secara Statistik

Data yang didapatkan pada uji pelepasan dan permeasi gliklazid secara *in vitro* dianalisis secara statistik menggunakan program uji t-test pada SPSS 18.0, signifikansi statistik diterima pada tingkat kepercayaan  $P < 0,05$  untuk melihat hubungan antar dua kelompok variabel pengujian, yaitu antara SLN gliklazid dan gliklazid murni.

## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Pembuatan SLN Gliklazid**

Banyak pengujian telah dilakukan dan terbukti dapat meningkatkan bioavailabilitas obat, terutama untuk sediaan oral. Salah satu sistem pembawa yang terbukti dapat meningkatkan bioavailabilitas obat oral adalah nanopartikel lipid padat (Surjnarayan, Pratik, Gunjan, Doli dan Rajesh, 2011). Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan dalam pembuatan nanopartikel lipid padat (*solid lipid nanoparticle*), dan metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode homogenisasi dengan kecepatan tinggi (*high shear homogenization*). Metode ini merupakan metode yang paling mudah untuk dilakukan, tidak memerlukan surfaktan dalam jumlah besar dan tidak memerlukan pelarut organik dalam proses pembuatannya. Prinsip dari metode ini adalah mencampurkan fase lelehan lipid yang mengandung zat aktif dengan fase larutan surfaktan yang dipanaskan pada suhu 5 – 10 °C diatas titik leleh lipid, menggunakan pengadukan mekanik dengan kecepatan tinggi sehingga terjadi gesekan antar partikel yang akan menyebabkan terjadinya pengurangan atau pengecilan ukuran partikel (Mäder dan Mehnert, 2005; Sinha, Srivastava, Goel dan Jindal, 2010).

Model obat yang digunakan adalah gliklazid. Dalam sistem klasifikasi biofarmasi/*biopharmaceutical classification systems (BCS)*, gliklazid termasuk dalam kelas II (Bandarkar dan Khattab, 2011; Sarkar, Tiwari, Bhasin dan Mitra, 2011) dan untuk bahan obat yang termasuk kedalam BCS kelas II, yaitu obat dengan kelarutan rendah dan permeabilitas yang baik, laju disolusi obat merupakan faktor penghambat dalam proses absorpsi obat sehingga diperlukan suatu bentuk sediaan yang dapat meningkatkan laju disolusinya dan formulasi berbasis lipid telah diketahui dapat mengurangi keterbatasan dalam hal laju disolusi yang lambat dan tidak sempurna dari obat dengan kelarutan yang rendah dengan cara memfasilitasi pembentukan fase terlarut di tempat penyerapan dapat terjadi (Nanjwade, Patel, Udhani dan Manvi, 2011).

Tahap awal dari penelitian ini adalah optimasi metode dan formula. Pada optimasi metode, dilakukan variasi kecepatan dan waktu pengadukan. Kecepatan

pengadukan yang digunakan adalah 5.000 – 30.000 rpm selama 5 – 15 menit. Hasil yang diperoleh dari optimasi metode adalah semakin lama pengadukan makin banyak emulsi yang hilang dari gelas piala karena pendeknya batang mata pisau dari alat homogenisasi yang digunakan (dapat dilihat pada Lampiran 2) sehingga bila pengadukan dilakukan untuk waktu yang lebih lama maka makin banyak jumlah emulsi yang hilang. Oleh karena itu, kecepatan yang dipilih pada penelitian ini adalah 30.000 rpm selama 5 menit karena makin tinggi kecepatan pengadukan maka waktu yang diperlukan untuk homogenisasi semakin pendek. Selain itu, pada penelitian yang telah dilakukan oleh Triplet II dan Rathman (2009) kecepatan yang digunakan untuk menghasilkan *solid lipid nanoparticle* yang paling optimum dengan menggunakan metode *high shear homogenization* adalah pada kecepatan 30.000 rpm selama 150 detik.

Setelah diperoleh metode yang paling optimal maka dilakukan optimasi formula. Optimasi formula dilakukan dengan memvariasikan jumlah dan konsentrasi surfaktan yang digunakan pada kecepatan pengadukan 30.000 rpm selama 5 menit. Pada penggunaan surfaktan sebanyak 5%, emulsi yang terbentuk tidak stabil karena setelah 24 jam pada emulsi terjadi pemisahan sehingga surfaktan ditingkatkan konsentrasi menjadi 10%. Selanjutnya, berdasarkan diagram tiga fase, jumlah surfaktan dan ko-surfaktan yang digunakan divariasikan dengan perbandingan 1 : 9, 2 : 8, 3 : 7, 4 : 6, 5 : 5, 6 : 4, 7 : 3, 8 : 2 dan 9 : 1. Hasil yang diperoleh dari pengujian ini adalah formulasi yang paling optimum adalah formulasi dengan perbandingan surfaktan:ko-surfaktan 5 : 5 karena apabila salah satu surfaktan jumlahnya lebih banyak daripada surfaktan yang lain, pada emulsi terbentuk busa yang tebal dan baru menghilang setelah ± 7 hari pembuatan dan selama masa penyimpanan pada emulsi *SLN* juga terjadi pemisahan sehingga emulsi yang dihasilkan menjadi tidak stabil secara fisik. Berdasarkan hasil tersebut maka konsentrasi surfaktan yang digunakan dalam pembuatan *SLN* gliklazid adalah 10% dengan perbandingan surfakatan dengan ko-surfaktan 5 : 5.

Pada pembuatan *SLN*-Gliklazid pertama-tama dilakukan pelelehan lipid pada suhu 75°C dan kedalamnya ditambahkan gliklazid dan etanol sehingga kelarutan gliklazid dalam asam stearat dapat meningkat. Dalam gelas piala yang berbeda, Tween 80 dan PEG 400 dilarutkan dalam aquadest dan selanjutnya

dipanaskan sampai mencapai suhu 75°C. Fase air kemudian ditambahkan kedalam fase lelehan lipid lalu dibiarkan sampai mencapai suhu 75°C kembali. Dalam proses pembuatan *SLN*, suhu harus tetap pada 75°C supaya asam stearat tetap dalam keadaan cair dan mencegah terjadinya kristalisasi lipid. Setelah mencapai suhu 75°C, campuran kemudian di homogenisasi pada 30.000 rpm selama 5 menit. Emulsi yang terbentuk kemudian di dinginkan dengan cara di dispersikan dalam aquadest dingin (~4°C) kemudian dihomogenisasi pada 5.000 rpm selama 5 menit supaya dapat mempercepat solidifikasi dan mengecilkan ukuran partikel sehingga *SLN* dapat terbentuk.

Emulsi *SLN* yang terbentuk berupa larutan koloid berwarna putih seperti susu, seperti yang terlihat pada Lampiran 3, tidak berbau dan berasa agak pahit. Larutan koloid berwarna putih susu mungkin disebabkan karena asam stearat telah mengkristal kembali segera setelah emulsi di dispersikan kedalam aquadest dingin (~4°C) sehingga warna emulsi menjadi seperti warna asam stearat, yaitu putih seperti susu. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Zhang, Yie, Li, Yang dan Nagai (2000), yang juga menggunakan asam stearat sebagai fase lipid dalam pembuatan nanopartikel cyclosporine A, yang juga menghasilkan larutan koloid berwarna putih seperti susu.

Pada *SLN* yang terbentuk kemudian dilakukan proses pengeringan untuk menghasilkan bentuk sediaan yang lebih praktis dalam penyimpanan dan pengemasan serta dapat meningkatkan kestabilan sistem dispersi. Ada dua metode pengeringan yang dapat digunakan, yaitu semprot kering dan pengeringan beku. Pada penelitian ini metode pengeringan yang digunakan adalah metode pengeringan beku karena pada percobaan pendahuluan menggunakan metode semprot kering dengan penambahan HPMC sebagai massa padat dan penstabil tidak memberikan hasil yang diinginkan, yaitu produk kering dari emulsi *SLN* gliklazid. Pada percobaan ini konsentrasi HPMC yang digunakan bervariasi antara 0.5 – 2 %. Suhu inlet di optimasi pada suhu 100 - 200°C dan suhu inlet 50 – 100°C. Namun, pada saat dilakukan semprot kering tidak ada padatan yang dihasilkan. Hal ini mungkin dikarenakan pada saat penggunaan HPMC sebanyak 0,5 dan 1 %, jumlah fase cair yang digunakan dalam formula masih terlalu banyak sehingga pada saat udara panas disemprotkan, tidak ada massa padat yang berhasil

dikeringkan. Sedangkan pada penggunaan HPMC sebanyak 2%, sampel terlalu kental sehingga mengganggu pada saat proses penyemprotannya.

Pengeringan beku merupakan metode yang dapat digunakan untuk menstabilkan dan memfasilitasi proses pengeringan sistem koloid. Pada proses pengeringan beku diperlukan suatu *cryoprotectant* untuk melindungi sistem *SLN* dari agregasi dan penggabungan partikel. Salah satu *cryoprotectant* yang dapat digunakan adalah laktosa. Laktosa dapat bertindak sebagai *cryoprotectant* karena laktosa dapat membentuk lapisan cangkang pelindung di sekeliling *SLN* karena terbentuk ikatan hidrogen diantara gugus -OH dari laktosa dengan gugus -COO<sup>-</sup> hasil hidrolisis asam karboksilat dari matriks lipid (Nimbalkar, Dhoka dan Sonawane, 2011). Laktosa yang ditambahkan adalah sebanyak 8%, dan dilarutkan terlebih dahulu kedalam aquadest dingin sebelum proses homogenisasi. Setelah dikeringkan selama 48 jam, bentuk padat yang dihasilkan adalah berupa padatan putih agak kekuningan yang agak basah dan harus disimpan dalam wadah yang tertutup rapat karena laktosa bersifat higroskopis dan akan berubah warna menjadi coklat bila terkena udara, seperti terlihat di Lampiran 4.

## **4.2 Karakterisasi *SLN* Gliklazid**

### **4.2.1 Ukuran Partikel**

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel merupakan salah satu parameter terpenting dalam penentuan kualitas nanopartikel. Ukuran partikel secara signifikan berpengaruh pada stabilitas fisik, nasib partikel lipid di dalam tubuh dan laju pelepasan obat yang terjerap di dalam partikel lipid.

Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam bentuk indeks polidispersi. Semakin kecil nilai PI, maka dispersi nanopartikel makin homogen. Rentang nilai untuk indeks polidispersi adalah antara 0 sampai dengan 1. Nilai indeks polidispersi semakin mendekati nilai 0 menunjukkan dispersi yang homogen. Banyak peneliti menyetujui nilai optimum untuk PI adalah kurang dari 0,3 (Das dan Chaudhury, 2011).

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel dari emulsi *SLN* sebelum dan setelah dikeringkan diukur menggunakan alat *particle size analyzer* Beckman coulter. Nilai rata-rata ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel dari emulsi

*SLN* sebelum dan setelah dikeringkan adalah  $878,0 \pm 246,3$  nm dan  $745,8 \pm 204,0$  nm dengan nilai indeks polidispersi 0,316 dan 0,766, seperti yang tercantum pada Tabel 4.1. Nilai indeks polidispersi yang dihasilkan menunjukkan emulsi *SLN* yang terbentuk merupakan dispersi yang cukup homogen karena nilai PI lebih mendekati nilai 0. Sedangkan nilai indeks polidispersi *SLN* setelah pengeringan beku cukup tinggi, yaitu 0,776 yang menunjukkan dispersi yang kurang homogen. Hal ini mungkin dapat disebabkan karena pada saat rekonstitusi, padatan *SLN* gliklazid yang dihasilkan belum cukup terdispersi dengan baik dan menghasilkan larutan yang kurang homogen sehingga mungkin diperlukan proses penggocokan yang lebih lama atau perlu dilakukan proses sonikasi untuk meningkatkan kelarutannya di dalam medium redispersi.

Berdasarkan hasil penetapan ukuran partikel yang dapat dilihat pada Tabel 4.1 juga dapat dilihat hasil pengukuran distribusi ukuran partikel *SLN* sebelum dan setelah dikeringkan, dan hasil yang diperoleh menunjukkan sebagian besar partikel emulsi *SLN* (90% partikel) berukuran 1122,40 nm sehingga dapat dikatakan partikel *SLN* yang dihasilkan sudah tidak termasuk dalam rentang ukuran nanometer, yaitu partikel dengan ukuran 10 – 1000 nm (Mukherjee, Ray dan Thakur, 2009; Sinha, Srivastava, Goel dan Jindal., 2010). Hal ini dapat disebabkan karena kecepatan dan waktu pengadukan yang digunakan belum cukup optimal untuk mengecilkan ukuran partikel dari *SLN* Gliklazid menjadi ukuran dalam rentang nanometer. Selain itu, hal ini mungkin dapat disebabkan karena pengukuran ukuran partikel *SLN* tidak dilakukan segera setelah *SLN* terbentuk sehingga terjadi ketidakstabilan fisika pada emulsi dan menyebabkan terjadinya peningkatan ukuran partikel selama penyimpanan.

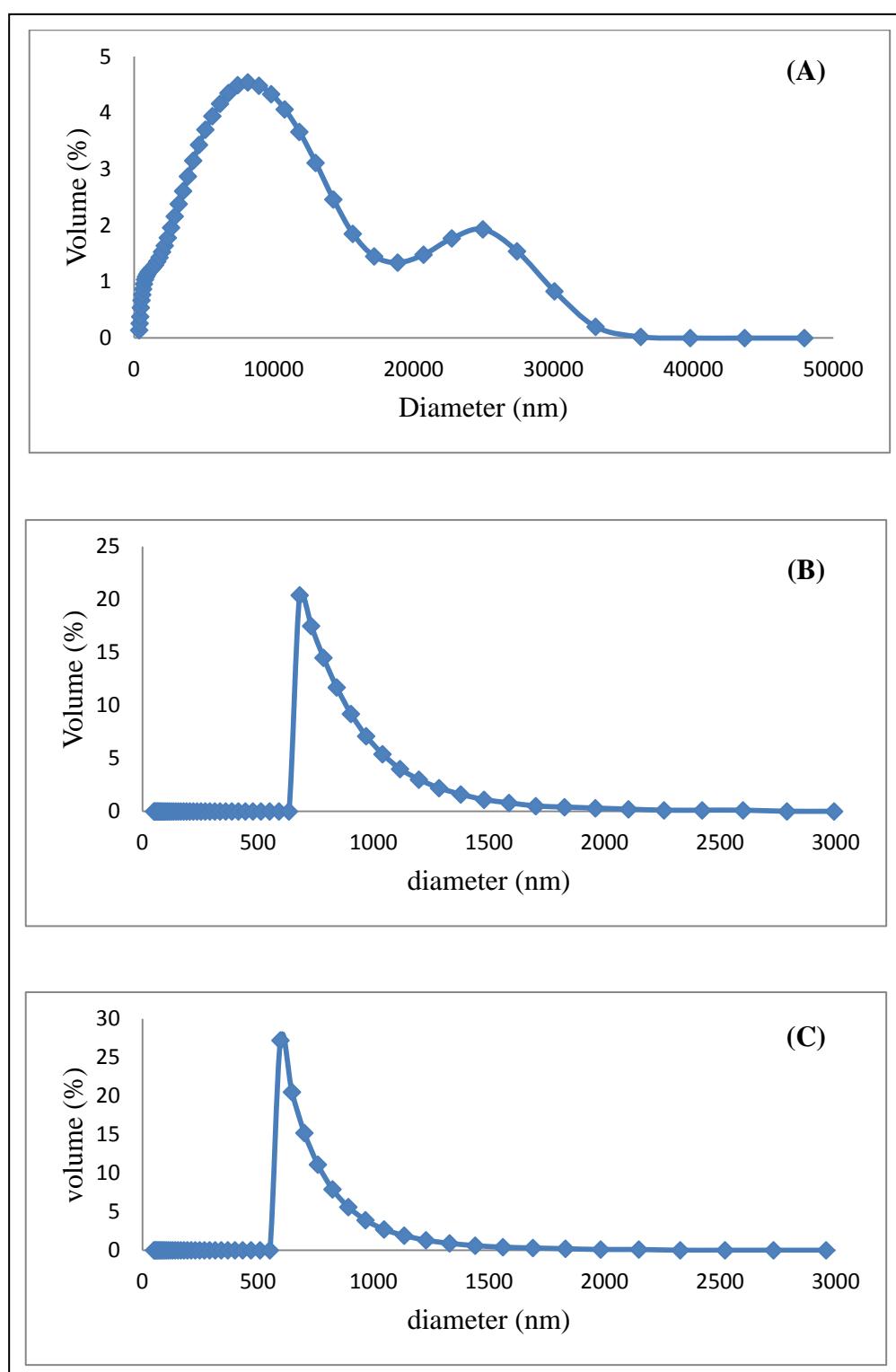
Berbeda dengan hasil pengukuran distribusi ukuran partikel emulsi *SLN* sebelum dikeringkan, nilai D (90%) pada emulsi *SLN* setelah dikeringkan adalah 935,9 nm sehingga dapat dikatakan partikel dari *SLN* yang dikeringkan berada pada rentang ukuran nanometer. Hal ini mungkin dikarenakan segera setelah dibentuk, emulsi *SLN* langsung dibekukan dan dikeringkan menggunakan pengeringan beku sehingga *SLN* menjadi lebih stabil secara fisik dan tidak mengalami peningkatan ukuran partikel selama penyimpanan. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari analisis ukuran partikel *SLN* gliklazid maka dapat dikatakan

dengan mengubah bentuk emulsi *SLN* menjadi bentuk yang kering dapat meningkatkan kestabilan *SLN* secara fisik selama masa penyimpanan.

**Tabel 4.1.** Data Hasil Distribusi Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersi Gliklazid

<b>Sampel</b>	<b>Rata-rata</b>	<b>Distribusi</b>		<b>Indeks Polidispersi</b>
		<b>Ukuran Partikel</b>	<b>Ukuran Partikel</b>	
Emulsi <i>SLN</i>	$878,0 \pm 246,3$ nm	$D(10\%) = 656,20$ nm		0,316
		$D(50\%) = 774,40$ nm		
		$D(90\%) = 1122,40$ nm		
Padatan <i>SLN</i>	$745,8 \pm 204,0$ nm	$D(10\%) = 567,70$ nm		0,776
		$D(50\%) = 654,60$ nm		
		$D(90\%) = 935,90$ nm		
Gliklazid Murni	$8,196 \pm 6,92$ $\mu\text{m}$	$D(10\%) = 1,241$ $\mu\text{m}$	$D(50\%) = 6,456$ $\mu\text{m}$	
		$D(90\%) = 17,84$ $\mu\text{m}$		

Pada pembuatan *SLN* dengan metode *high shear homogenization*, ukuran partikel *SLN* dapat dipengaruhi kecepatan dan waktu pengadukan karena meskipun sebagian besar partikel dari emulsi *SLN* sebelum dikeringkan memiliki ukuran yang tidak berada pada rentang nanometer, ukuran partikel *SLN* gliklazid lebih kecil bila dibandingkan dengan gliklazid murni tanpa perlakuan. Pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.1 dapat terlihat bahwa sebagian besar partikel gliklazid berukuran 5.000 – 30.000 nm (10 – 30  $\mu\text{m}$ ) dan memiliki nilai rata-rata ukuran partikel sebesar 8,196  $\mu\text{m}$  dengan nilai D (90%) 17,84  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan dengan menggunakan pengadukan mekanik pada 30.000 rpm selama 5 menit dapat menyebabkan terjadinya pengurangan atau pengecilan ukuran partikel. Hal ini disebabkan karena pengadukan mekanik dengan kecepatan tinggi dapat menimbulkan adanya kekuatan atau tenaga yang cukup untuk memecahkan droplet sehingga dapat membentuk partikel dengan ukuran nanometer (Sharma, Jindal, Aggarwal dan Jain, 2010).



**Gambar 4.1.** Grafik Diameter Partikel Gliklazid  
(A) Gliklazid murni, (B) Emulsi *SLN*, (C) Padatan *SLN*

#### 4.2.2 Potensial Zeta

Potensial zeta mengindikasi muatan dari partikel dalam medium spesifik. Stabilitas dari nanodispersi selama penyimpanan dapat di prediksi dari nilai potensial zeta. Potensial zeta mengindikasi besarnya gaya tolak menolak antara muatan partikel yang sama dan berdekatan. Pada umumnya, nilai potensial zeta yang tinggi (negatif atau positif) mencegah terjadinya agregasi dari partikel karena adanya gaya tolak menolak dan adanya stabilisasi secara elektrik dari dispersi nanopartikel. Namun apabila nilai potensial zeta dari suatu partikel terlalu kecil terjadi gaya tarik menarik yang lebih besar dibandingkan gaya tolak menolak sehingga menyebabkan terjadinya koagulasi dan flokulasi. Meskipun demikian, asumsi ini tidak dapat diaplikasikan untuk dispersi koloid, terutama pada dispersi yang mengandung penstabil sterik. Nilai potensial zeta (+/-) 30 mV sudah cukup untuk stabilitas yang baik dari nanodispersi (Das dan Chaudhury, 2011).

Hasil pengujian potensial zeta dari emulsi *SLN* adalah  $-3,96 \pm 0,45$  mV. Hal ini menunjukkan *SLN* yang terbentuk bermuatan negatif dan nilainya masih relatif kecil. Muatan negatif pada *SLN* pada penelitian disebabkan karena gliklazid terjerap di dalam lipid yang memiliki gugus karboksil (COOH), yang bila di dispersikan dalam aquadest dapat terhidrolisis menjadi bentuk terionnya yang memiliki muatan negatif ( $\text{COO}^-$ ) sehingga saat dilakukan pengukuran potensial zeta muatan yang terukur pada alat zetasizer adalah muatan negatif dari asam stearat. Nilai potensial zeta yang relatif kecil menunjukkan *SLN* yang dihasilkan tidak cukup stabil dalam bentuk dispersi cair. Hal ini dapat disebabkan karena penggunaan asam stearat dengan konsentrasi yang relatif kecil, yaitu sebanyak 2 %. Selain itu, nilai potensial yang relatif kecil juga dapat disebabkan karena penggunaan polietilen glikol sebagai surfaktan dan polietilen glikol diketahui merupakan surfaktan sterik sehingga surfaktan ini tidak hanya menempel pada bagian polar dari fase lipid tapi mengelilingi fase lipid tersebut sehingga dapat menyebabkan tidak terjadinya gaya tolak menolak antar partikel yang bermuatan. Dispersi padat dengan nilai potensial minimal (+/-) 8-9 mV sudah dapat dikatakan stabil (El-Kamel, Al-Fagih Alsarra, 2007). Meskipun hasil yang diperoleh masih relatif kecil, hasil ini sesuai dengan hasil yang diperoleh

oleh Zhang, Yie, Li, Yang dan Nagai (2000), yang menganalisa nilai potensial zeta nanopartikel asam stearat dengan konsentrasi asam stearat sebesar 1,2; 2 dan 3% dengan nilai potensial zeta – 3,45 ± 0,19, – 2,60 ± 0,12 dan – 4,02 ± 0,26.

Pada pengujian potensial zeta dari padatan *SLN*, sampel didispersikan terlebih dahulu kedalam aquadest. Hasil yang diperoleh dari pengujian potensial zeta sampel setelah dikeringkan adalah nilai potensial zeta sebesar – 5,32 ± 2,13 mV. Sama halnya dengan potensial zeta dari emulsi *SLN*, nanopartikel asam stearat setelah dikeringkan bermuatan negatif dan memiliki nilai potensial zeta yang masih terlalu kecil sehingga dapat dikatakan *SLN* yang dihasilkan belum cukup stabil dalam bentuk padatan. Meskipun demikian, nilai potensial zeta dari *SLN* padat sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan emulsi *SLN*, sehingga dapat dikatakan dengan dilakukan proses pengeringan stabilitas dari sediaan *SLN* dapat ditingkatkan.

#### **4.2.3 Penetapan Kadar dan Efisiensi Penjerapan Gliklazid**

Pengujian penetapan kadar dan efisiensi penjerapan gliklazid dilakukan untuk menentukan jumlah gliklazid yang terjerap dalam *SLN*. Analisa dilakukan menggunakan spektrofotometri UV karena pada gliklazid terdapat gugus kromofor, yaitu gugus C = O dan benzene sehingga gliklazid dapat terdeteksi pada panjang gelombang maksimum 225,4 nm. Sebelum dilakukan pengujian, terlebih dahulu dilakukan pembuatan kurva kalibrasi. Persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi pada panjang gelombang 225,4 adalah  $y = 0,033x + 0,043$  dengan nilai  $r = 0,9997$ .

Pada pengujian efisiensi penjerapan dan penetapan kadar, pertama-tama dilakukan pemisahan antara fase lipid dan fase air dari emulsi *SLN*. Setelah sentrifugasi pada 4000 rpm selama 60 menit terjadi pemisahan fase, dengan endapan fase lipid berada pada lapisan bawah. Setelah penyaringan, endapan yang diperoleh kemudian dilarutkan dalam metanol supaya asam stearat dan gliklazid dapat larut dan kemudian ditambahkan NaOH untuk melarutkan gliklazid dan mengendapakan asam stearat. Sampel kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 225,4 dan hasil yang diperoleh adalah kadar gliklazid dalam

sediaan adalah  $2,89 \pm 0,087\%$  dengan efisiensi penjerapan  $84,055\% \pm 3,876\%$ , seperti yang tercantum dalam Tabel 4.2. Hasil ini menunjukkan gliklazid yang terjerap dalam asam stearat cukup besar sehingga dapat dikatakan bahwa asam stearat memiliki kemampuan menjerap obat lipofil dengan jumlah yang cukup besar, yaitu lebih dari 80%. Hal ini mungkin disebabkan karena kelarutan gliklazid dalam asam stearat cukup besar dan penggunaan etanol sebagai ko-solvent.

Sama halnya dengan emulsi *SLN*, efisiensi penjerapan dari padatan *SLN* juga dianalisa pada panjang gelombang 225,4 menggunakan spektrofotometri UV. Pengujian efisiensi penjerapan pada padatan *SLN* gliklazid dilakukan dengan cara mencuci atau melarutkan gliklazid yang tidak terjerap dalam *SLN* menggunakan larutan NaOH 0,1 N. Hasil pencucian dikumpulkan dengan cara penyaringan dan filtrat yang dihasilkan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 225,4 nm. Hasil yang diperoleh dari pengujian efisiensi penjerapan untuk padatan *SLN* adalah  $75,29 \pm 0,79\%$  dengan kadar gliklazid yang terjerap sebesar  $2,007 \pm 0,022$ . Hasil ini menunjukkan efisiensi penjerapan dan kadar gliklazid yang terjerap dalam *SLN* setelah dikeringkan sedikit lebih kecil dibandingkan kadar gliklazid yang terjerap dan efisiensi penjerapan dari emulsi *SLN* gliklazid.

**Tabel 4.2.** Hasil Pengujian Penetapan Kadar dan Efisiensi Penjerapan *SLN* Gliklazid

<b>Sampel</b>	<b>Kadar Gliklazid yang Terjerap (%)</b>	<b>Efisiensi Penjerapan (%)</b>
Emulsi <i>SLN</i> Gliklazid	$2,89 \pm 0,087$	$84,055 \pm 3,876$
Padatan <i>SLN</i> Gliklazid	$2,007 \pm 0,022$	$75,29 \pm 0,79$

Hasil pengujian efisiensi penjerapan ini menunjukkan selama proses pengeringan beku terjadi pengurangan jumlah obat yang terjerap, tetapi nilainya

relatif kecil. Hal ini dapat disebabkan karena sebelum dilakukan pengeringan beku kedalam emulsi *SLN* ditambahkan laktosa yang bertindak sebagai pelindung selama proses pengeringan karena laktosa dapat membentuk lapisan pelindung yang mengelilingi *SLN* karena gugus hidroksil dari laktosa dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus polar (asam karboksilat/ - COOH) dari lipid yang berada pada permukaan partikel *SLN* karena pada hasil analisis morfologi *TEM* (Gambar 4.2) dapat terlihat gliklazid terjerap dan tersebar di dalam matriks lipid (Nimbalkar, Dhoka dan Sonawane, 2011). Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Zhang, Lei, Yu dan Chen (2008) yang membandingkan proses pengeringan beku dengan atau tanpa pelindung dan menunjukkan bahwa proses pengeringan beku tanpa penambahan pelindung menyebabkan penurunan persentase efisiensi penjerapan dari  $91,26 \pm 1,18$  menjadi  $75,56 \pm 1,21$ , sedangkan dengan penambahan pelindung hasil pengujian efisiensi penjerapan hasilnya tidak terlalu berbeda jauh dengan emulsi cair, yaitu sebesar  $90,82 \pm 1,16$ .

#### **4.3 Uji Perolehan Kembali**

Uji perolehan kembali diukur untuk memastikan jumlah massa padat yang diperoleh setelah proses pengeringan. Persen perolehan kembali dari *SLN* gliklazid adalah 108,3%. Hasil yang diperoleh lebih dari 100%, dan hal ini mungkin dikarenakan padatan yang dihasilkan masih terlalu lembab dan memiliki kadar air lebih dari 10% sehingga berat sampel setelah dikeringkan masih mengandung massa cair.

#### **4.4 Uji Rekonstitusi**

Uji rekonstitusi dilakukan untuk menentukan kemudahan dan kecepatan sampel untuk di dispersikan kembali kedalam aquadest. Saat di dispersikan kembali kedalam aquadest, sampel dengan cepat dapat dilarutkan kembali kedalam aquadest hanya dengan cara penggocokan manual dengan tangan. Hal ini dapat disebabkan karena ukuran partikel dari padatan *SLN* yang berukuran nanometer sehingga luas permukaan partikel menjadi lebih besar dan menyebabkan padatan *SLN* lebih mudah di dispersikan kembali. Selain itu,

*cryoprotectant* yang digunakan, yaitu laktosa, memiliki kelarutan yang baik dalam air sehingga mempermudah proses rekonstitusi dari padatan *SLN* gliklazid.

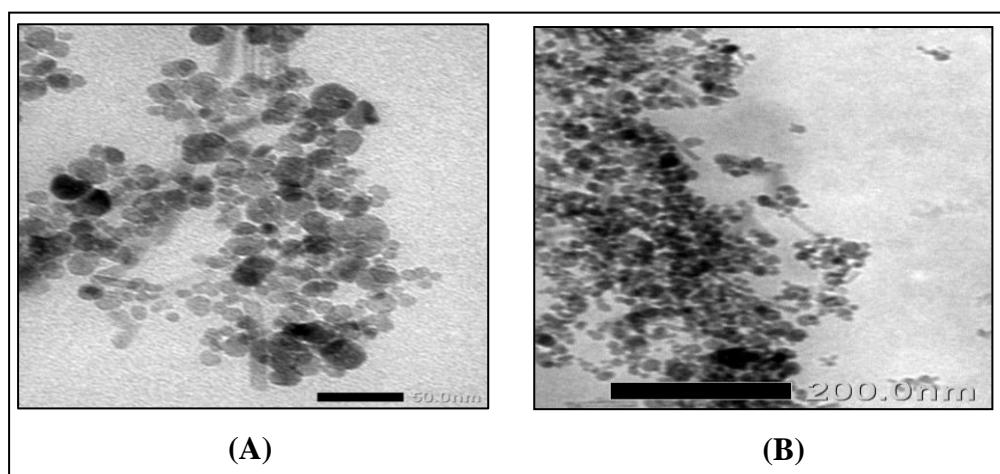
#### 4.5 Mikroskop Transmisi Elektron

Mikroskop transmisi elektron (*Transmission Electron Microscopy / TEM*) merupakan teknik yang dapat digunakan untuk menentukan bentuk dan morfologi dari nanopartikel lipid. Pada *TEM*, sampel yang disiapkan sangat tipis sehingga elektron dapat menembusnya kemudian hasil dari tembusan elektron tersebut yang diolah menjadi gambar.

Resolusi pada *TEM* lebih superior dibandingkan dengan *SEM* (*Scanning Electron Microscopy*), yaitu 0,1 – 0,2 nm, lebih besar dari *SEM* (1 - 3 nm) sehingga gambar yang dihasilkan memiliki tingkat resolusi yang jauh lebih tinggi daripada mikroskop cahaya sehingga dapat melihat sesuatu yang memiliki ukuran 10.000 kali lebih kecil daripada ukuran objek terkecil yang bisa terlihat di mikroskop cahaya. Pada perbesaran kecil, gambar *TEM* akan kontras karena absorpsi elektron pada material akibat dari ketebalan dan komposisi material. Pada perbesaran tinggi, maka gambar yang dihasilkan akan menampilkan data yang lebih jelas pada analisa struktur kristal, dan lainnya.

Sebelum dianalisa, sampel sebelumnya dilarutkan terlebih dahulu di dalam aqua bidestilasi dan diberikan pewarnaan. Pada Gambar 4.2 dapat terlihat bahwa beberapa partikel *SLN* gliklazid ada yang berbentuk sferis dan sebagian besar partikel berbentuk tidak sferis dan dapat terlihat terjadinya penggabungan partikel. Salah satu penyebab terjadinya penggabungan partikel dan bentuk partikel yang tidak sferis adalah karena metode pengeringan yang digunakan untuk mengeringkan emulsi *SLN* adalah pengeringan beku. Pada pengeringan beku yang terjadi adalah sublimasi fase air sehingga selama pengeringan, partikel akan lebih cenderung membentuk suatu sistem (terjadi pengendapan) dibandingkan membentuk satu partikel saja. Hal inilah yang menyebabkan bentuk morfologi *SLN* gliklazid menjadi tidak sferis dan terjadi penggabungan partikel. Selain itu, berdasarkan hasil yang diperoleh dari pengukuran nilai potensial zeta menunjukkan nilai potensial yang relatif kecil sehingga dapat dikatakan gaya tarik-menarik partikel-partikel yang terdapat pada sediaan cenderung lebih besar

dibandingkan gaya tolak-menolak partikel. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya penggabungan partikel karena adanya gaya tarik-menarik antar partikel yang cukup kuat sehingga bentuk dan ukuran partikel dalam sediaan *SLN* gliklazid menjadi kurang homogen. Pada Gambar 4.2 dapat terlihat gliklazid (yang berwarna lebih gelap) terjerap di dalam nanopartikel lipid padat (yang berwarna terang) sehingga dapat dikatakan tipe nanopartikel lipid padat yang dihasilkan merupakan tipe pertama, yaitu zat aktif tersebar dalam partikel matriks lipid. Namun, pada Gambar 4.2 dapat terlihat penyebaran gliklazid dalam beberapa partikel kurang merata. Hal ini mungkin dapat disebabkan pada saat proses pendinginan, sebagian lipid mengendap terlebih dahulu sehingga gliklazid hanya terjerap pada bagian tertentu dalam matriks lipid yang mengendap secara bersama-sama dengan gliklazid.



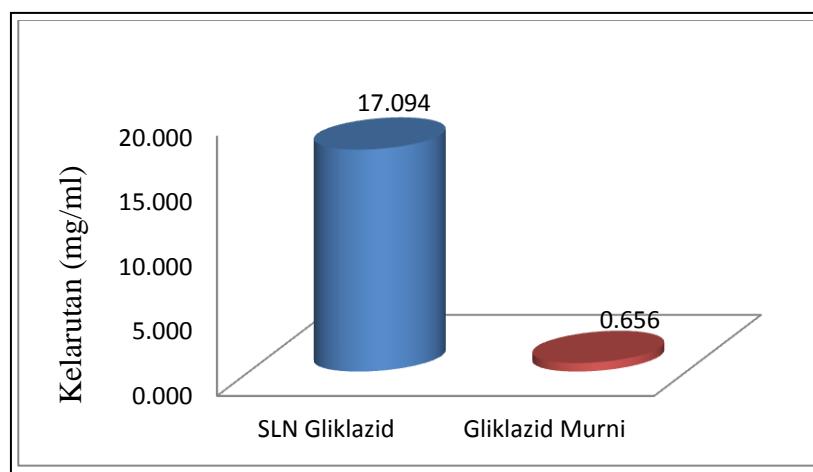
**Gambar 4.2.** Mikrograf TEM *SLN* gliklazid  
 (A) skala 50 nm dan perbesaran 80.000 x, (B) skala 200 nm dan perbesaran  
 20.000 x

Mikroskop transmisi elektron juga dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Berdasarkan hasil analisis menggunakan *TEM*, *SLN* gliklazid memiliki ukuran partikel relatif kecil dan berada pada rentang nanometer, yaitu sebesar 50 nm – 200 nm. Hasil ini berbeda dengan hasil yang diperoleh dari analisis ukuran partikel menggunakan alat *particle size analyzer* yang menunjukkan hasil rata-rata ukuran partikel sebesar  $878,0 \pm 246,3$  nm dan  $745,8 \pm 204,0$  nm untuk *SLN* gliklazid sebelum dan setelah pengeringan beku. Hal ini mungkin dapat disebabkan karena pada preparasi

sampel sebelum dilakukan analisis menggunakan *TEM*, yaitu pada saat pelarutan sampel padatan *SLN* dilakukan proses sonikasi dan proses sonikasi diketahui merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghasilkan sediaan dengan ukuran nanometer (Mäder dan Mehnert, 2005).

#### 4.6 Uji Kelarutan Gliklazid

Klarutan zat aktif telah diketahui dapat mempengaruhi bioavailitas (ketersediaan) obat untuk diabsorpsi sehingga dapat menimbulkan efek farmakologis yang diinginkan. *Solid lipid nanoparticles* diketahui dapat digunakan untuk meningkatkan ketersediaan dari obat dengan klarutan yang rendah karena *SLN* dapat meningkatkan laju disolusi yang lambat dan tidak sempurna dari obat dengan klarutan yang rendah dengan cara memfasilitasi pembentukan fase terlarut di tempat absorpsi dapat terjadi dan untuk membuktikan kemampuan *SLN* dalam meningkatkan klarutan dari gliklazid maka dilakukan uji klarutan gliklazid dengan cara membandingkan klarutan gliklazid murni dan *SLN* gliklazid dalam medium aquadest.



**Gambar 4.3.** Grafik Klarutan Gliklazid (mg/mL) dalam 100 mL Aquadest

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari uji klarutan gliklazid (Gambar 4.4), maka dapat dikatakan bahwa dengan diformulasikan kedalam bentuk sediaan *SLN* klarutan dari gliklazid mengalami peningkatan klarutan sebanyak 17 kali bila dibandingkan dengan gliklazid murni. Peningkatan klarutan ini mungkin dapat disebabkan karena ukuran partikel dari *SLN* lebih kecil dari gliklazid murni sehingga memperbesar luas permukaan dari gliklazid dan memudahkan gliklazid

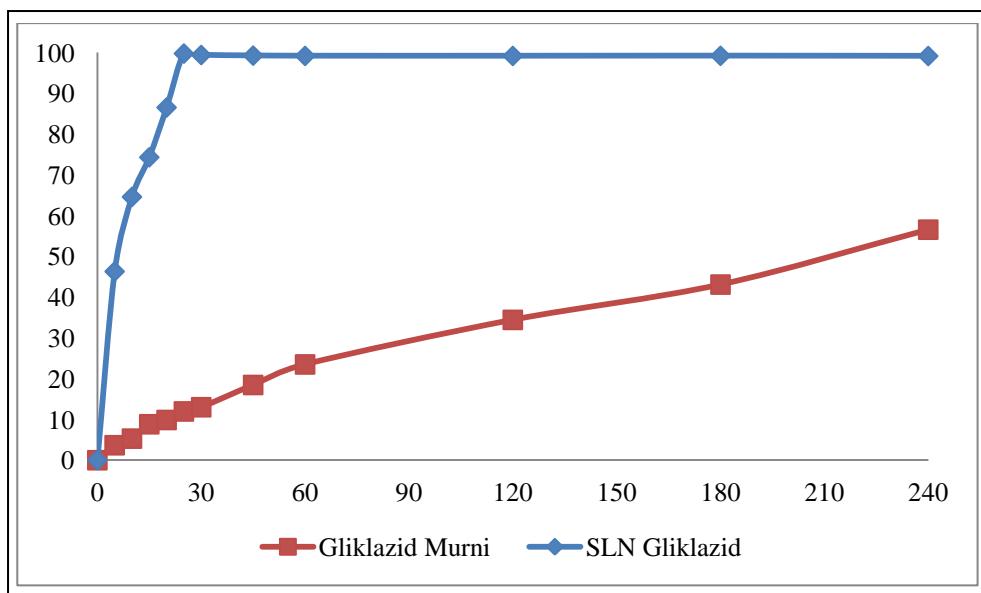
untuk melarut. Selain itu dalam formulasi *SLN* juga terdapat surfaktan yang juga diketahui dapat meningkatkan obat dengan kelarutan yang rendah dengan cara menurunkan tegangan permukaan antara fase air dengan fase lipid sehingga kedua fase dapat bercampur.

#### **4.7 Uji Pelepasan Gliklazid secara *In Vitro***

Uji pelepasan gliklazid dari sistem *SLN* dilakukan dengan metode difusi yang dimodifikasi menggunakan membran seperti kantong teh dalam medium dapar fosfat pH 7,4 karena gliklazid dapat terlarut pada pH sedikit basa dan gliklazid baru dapat terabsorbsi bila telah mencapai usus. Sebelum pengujian pelepasan obat, dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linier :  $y = 0,020 x - 0,004$  dengan nilai  $r = 0,9997$ . Pengujian pelepasan gliklazid dilakukan selama 4 jam dan pengambilan sampel dilakukan pada menit ke-5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120, 180 dan 240 menit. Tiap sampel kemudian dianalisa menggunakan spektroskopi UV pada panjang gelombang 225,6 nm. Setelah didapat nilai serapan kemudian persen disolusi dapat dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Pengujian uji disolusi dilakukan dengan membandingkan laju disolusi gliklazid tanpa atau dengan perlakuan (gliklazid murni dan *SLN* gliklazid).

Pada Gambar 4.6 dan Lampiran 23 dapat dilihat hasil uji pelepasan obat dari Gliklazid murni dan *SLN* Gliklazid. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat pada *SLN* Gliklazid terjadi *burst release* pada 5 menit awal uji pelepasan obat, yaitu sebanyak  $48,283\% \pm 8,288$  gliklazid telah terdisolusi. Hal ini mungkin dapat dikaitkan dengan hasil analisa morfologi menggunakan TEM karena model penggabungan obat atau tipe nanopartikel berpengaruh pada profil pelepasan dari *SLN* dan tipe nanopartikel dapat ditentukan dari hasil analisa morfologi menggunakan TEM. Berdasarkan hasil analisa TEM, seperti yang tertera pada Gambar 4.2., dapat terlihat gliklazid terdispersi di dalam partikel asam stearat, namun sebagian partikel menunjukkan gliklazid tidak terdispersi secara merata. Gliklazid lebih banyak terkonsentrasi pada bagian tertentu dari partikel *SLN* dan mungkin bagian tersebutlah yang terdisolusi terlebih dahulu. Hal inilah yang mungkin menyebabkan terjadinya *burst release* pada menit awal uji pelepasan

obat, yaitu pada menit ke-5 gliklazid telah terdisolusi sebanyak  $48,283 \pm 8,288\%$  dan  $99,739\% \pm 0,310$  gliklazid telah terdisolusi dari sistem *SLN* setelah 25 menit pengujian. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan diformulasikan kedalam bentuk sediaan *SLN*, laju disolusi gliklazid menjadi meningkat dan memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan gliklazid murni. Pada gliklazid murni, jumlah gliklazid yang terdisolusi hanya  $56,544 \pm 2,883$ .



**Gambar 4.4.** Profil Disolusi Gliklazid

*SLN* dapat meningkatkan laju disolusi dari gliklazid karena ukuran partikel dari *SLN* lebih kecil dari gliklazid murni sehingga memperbesar luas permukaan dan mempercepat proses pelarutan. Selain itu, dalam formula *SLN* juga terdapat eksipien yang dapat larut dalam air sehingga pelepasan obat dapat terjadi karena proses pelarutan dari komponen eksipien tersebut. Penggunaan surfaktan juga diketahui dapat menurunkan tegangan permukaan diantara dua fase, yaitu antara fase lipid dan fase air, sehingga kelarutan bahan aktif yang tidak larut dalam air dapat meningkatkan.

Profil disolusi yang diperoleh selanjutnya dapat dianalisa untuk mengetahui mekanisme pelepasan obat dari sediaan *SLN*, yaitu dengan cara menghitung nilai linieritas dari beberapa persamaan pelepasan obat seperti kinetika orde nol, orde satu, Higuchi, dan Korsmeyer-Peppas. Analisis kinetika pelepasan gliklazid dari sistem *SLN* dilakukan terhadap pelepasan obat hingga jam

ke-4, namun analisis mekanisme pelepasan obat agak sulit dilakukan hingga jam ke-4 karena setelah menit ke-25 persen kadar gliklazid yang terdisolusi sudah tidak terjadi peningkatan lagi karena seluruh gliklazid sudah habis terdisolusi. Apabila analisis mekanisme pelepasan obat tetap dilakukan hingga jam ke-4 akan menyebabkan nilai linieritas ( $r$ ) yang kecil sehingga tidak diperoleh linieritas yang baik dan tidak dapat diambil kesimpulan yang valid. Oleh karena itu, analisis hanya dilakukan pada profil pelepasan obat hingga menit ke-25 untuk *SLN* gliklazid.

**Tabel 4.3.** Kinetika Pelepasan Gliklazid

<b>Sampel</b>	<b>Kinetika</b>	<b>Parameter</b>		
		<b>r</b>	<b>k</b>	<b>n</b>
SLN Gliklazid (25 menit)	Orde nol	0,939 ± 0,014	0,036 ± 0,002	-
	Orde pertama	0,971 ± 0,038	0,035 ± 0,007	-
	Higuchi	0,992 ± 0,005	0,194 ± 0,010	-
	Korsmeyer-Peppas	0,978 ± 0,015	0,278 ± 0,061	0,433 ± 0,060

Dari hasil analisa mekanisme pelepasan obat dapat dilihat kinetika pelepasan dari *SLN* gliklazid. Pada Tabel 4.3 dapat dilihat *SLN* gliklazid menunjukkan linieritas (nilai  $r$ ) yang paling baik saat dianalisa menggunakan persamaan Higuchi. Sediaan dengan kinetika pelepasan mengikuti kinetika Higuchi, pelepasannya dapat terjadi karena jumlah obat di dalam matriks sediaan lebih besar dibandingkan jumlah obat yang berada dalam medium disolusi sehingga gliklazid dapat berdifusi dari daerah yang berkonsentrasi tinggi ke daerah yang berkonsentrasi rendah setelah medium disolusi (dapat fosfat pH 7,4) memasuki matriks lipid dan melarutkan obat. Selain itu, partikel obat yang berukuran lebih kecil dapat mempermudah partikel obat untuk melewati atau menembus matriks (Dash, Murthy, Nath dan Chowdhury, 2010). Hal ini sesuai dengan jenis pelepasan dari nanopartikel tipe pertama dari sistem *SLN*, yaitu pelepasan obat terjadi melalui difusi dari matriks dan/atau degradasi matriks lipid.

#### **4.8 Uji Permeasi Gliklazid secara *In-Vitro***

Uji permeasi gliklazid dilakukan untuk membandingkan permeabilitas dari gliklazid murni dan *SLN* gliklazid untuk menembus/berpenetrasи melewati membran *barrier*. Sebelum pengujian, perlu dilakukan isolasi organ dan organ yang diambil untuk pengujian penetrasi pada penelitian ini adalah adalah organ usus (yeyunum) kambing karena salah satu mekanisme peningkatan absorpsi obat oleh sistem *SLN* adalah dengan peningkatan permeabilitas zat aktif melewati membran usus sehingga meningkatkan penetrasinya.

Penggunaan usus kambing sebagai membran *barrier* karena usus kambing dapat digunakan untuk pengujian parameter absorpsi dari transport aktif glukosa dan kelebihan dari penggunaan usus kambing sebagai membran *barrier* adalah usus kambing mudah didapatkan, stabil hingga 7 sampai 9 jam dan usus dapat diperoleh dari tempat pemotongan hewan sehingga tidak ada hewan yang dikorbankan hanya untuk melakukan percobaan ini (Tembhurne & Sakarkar, 2008). Usus kambing yang akan digunakan pada uji permeasi direndam terlebih dahulu dalam larutan medium dapar fosfat pH 7,4 dengan tujuan supaya usus kembali pada kondisi semula dan disimpan dalam lemari es selama 8 jam sebelum digunakan sebagai membrane barrier uji permeasi.

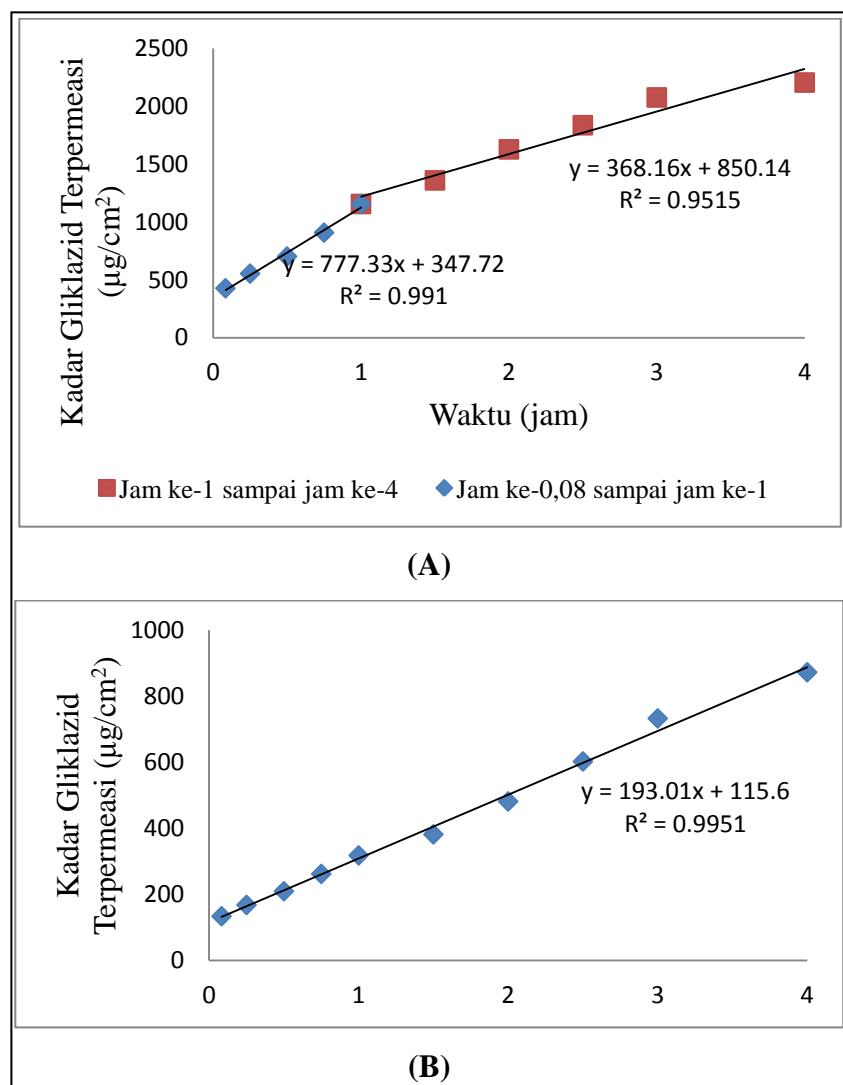
Pengujian kemampuan permeasi gliklazid dilakukan selama 4 jam dan pengambilan sampel dilakukan pada menit ke-5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 dan 240. Sampel setiap kali diambil sebanyak 1,0 ml dan diencerkan dalam labu ukur 10,0 mL sehingga telah terjadi pengenceran sebanyak 10 kali. Tiap sampel kemudian diukur serapannya menggunakan spektroskopi UV pada panjang gelombang 225,6 nm.

Pada Gambar 4.5 dan Lampiran 25 dapat terlihat hasil pengujian permeasi gliklazid. Hasil yang diperoleh menunjukkan hingga menit ke-240 gliklazid telah terpenetrasи sebanyak  $99,857 \pm 5,694\%$  dari sistem *SLN*, sedangkan gliklazid murni baru terpenetrasи sebanyak  $66,528 \pm 12,834\%$ . Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dikatakan *SLN* dapat meningkatkan jumlah gliklazid yang terpermeasi dan memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan gliklazid murni. Efek peningkatan permeasi ini mungkin disebabkan karena ukuran partikel dari *SLN* lebih kecil dari gliklazid murni sehingga partikel lebih mudah untuk bergerak

menembus membran usus dan menyebabkan gliklazid yang telah diformulasikan kedalam bentuk sediaan gliklazid memiliki kemampuan berpenetrasi per satuan luas membran difusi yang lebih baik dibandingkan dengan gliklazid murni dan memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), seperti yang tertera pada Gambar 4.5 dan Lampiran 27.

Laju penetrasi/fluks gliklazid dalam menembus membran usus dapat dipastikan menggunakan hukum Ficks (Persamaan 2.2). Fluks kumulatif dihitung dengan cara memplot kadar obat yang terpenetrasi per satuan luas (sumbu y) terhadap waktu (x). Fluks rata-rata kumulatif dapat dihitung dengan memplot jumlah gliklazid yang terpenetrasi per satuan luas (Lampiran 27) terhadap waktu (jam). Nilai fluks rata-rata kumulatif masing-masing sampel diperoleh dari kemiringan/slope dari kurva linier. Pada gliklazid murni kemiringan/slope dari kurva linier mulai dihitung mulai jam ke-0,08 hingga jam ke-4, sedangkan pada *SLN* gliklazid kemiringan/slope dari kurva linier dihitung mulai jam ke-1 hingga jam ke-4, setelah tercapainya *steady state*. Meski kondisi *steady-state* diperoleh sejak jam kesatu, namun fluks permeasi dalam satu jam pertama tidak dapat diabaikan karena telah terjadi *burst release* pada satu jam pertama sehingga obat yang terpenetrasi telah mencapai 40%. Dengan demikian, fluks permeasi gliklazid pada satu jam pertama tetap harus diperhitungkan.

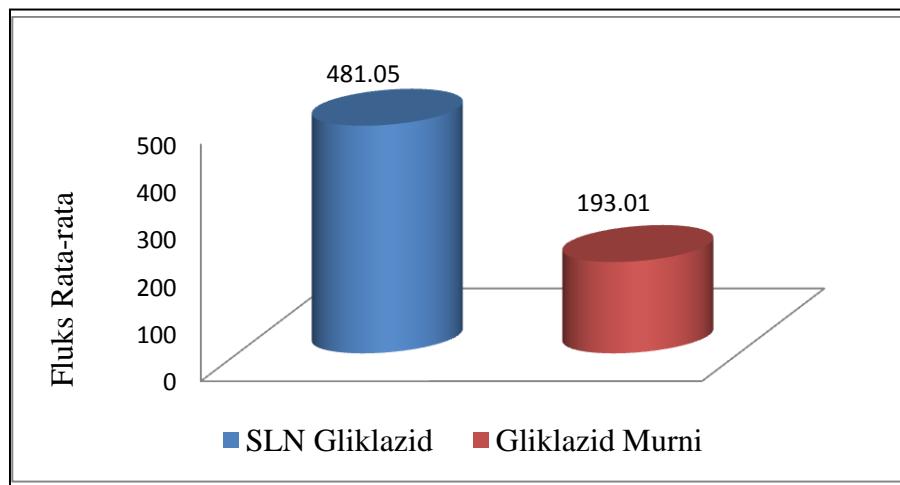
Nilai fluks rata-rata kumulatif *SLN* gliklazid dan gliklazid murni dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Gambar 4.6. Berdasarkan nilai kemiringan/slope dari persamaan regresi linier pada Gambar 4.5, maka nilai fluks dari *SLN* gliklazid pada satu jam pertama adalah  $777,73 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$  dan nilai fluks pada jam ke-1 hingga ke-4 adalah  $368,16 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ , sedangkan nilai fluks dari gliklazid murni adalah  $193,01 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ . Hasil ini menunjukkan gliklazid yang diformulasikan kedalam bentuk sediaan *SLN* memiliki kecepatan permeasi yang lebih tinggi dibandingkan gliklazid murni sehingga dapat disimpulkan dengan memformulasikan gliklazid kedalam bentuk sediaan *SLN* dapat meningkatkan permeasi gliklazid sehingga absorpsi di dalam saluran cerna juga dapat meningkat.



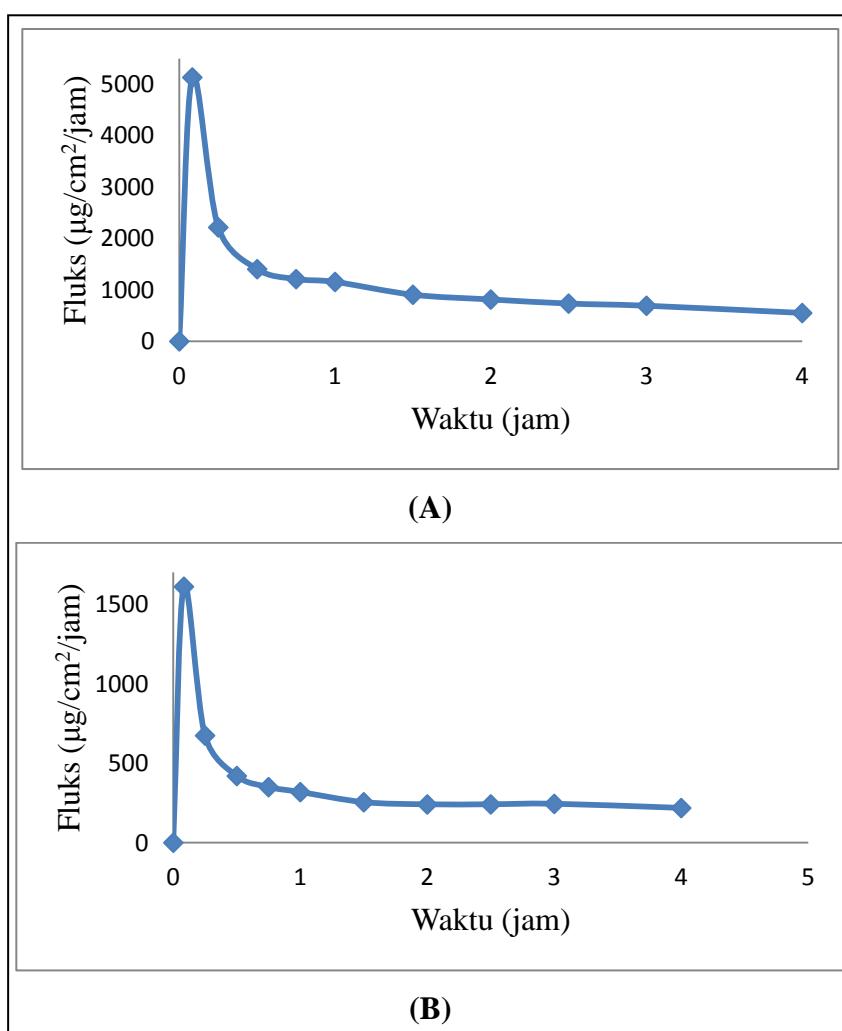
**Gambar 4.5.** Profil Permeasi Kumulatif Gliklazid:  
 (A) SLN Gliklazid dan (B) Gliklazid murni

Hasil perhitungan fluks penetrasi gliklazid seperti yang terlihat pada Gambar 4.7 dan Lampiran 28, dan nilai fluks penetrasi rata-rata gliklazid pada Gambar 4.6, juga menunjukkan nilai intersep dari gliklazid murni dan SLN gliklazid yang bernilai positif. Hasil ini menunjukkan baik pada SLN gliklazid dan gliklazid murni tidak terjadi *lag time* untuk gliklazid berpenetrasi menembus membran usus dan hasil ini juga menunjukkan adanya *burst release* pada menit awal pengujian, sama seperti hasil pada pengujian pelepasan obat yang juga menunjukkan *burst release* pada menit awal pengujian sehingga absorpsi segera yang diharapkan dari gliklazid untuk mencegah terjadinya peningkatan glukosa yang mendadak setelah asupan makanan pada pasien diabetes mellitus dapat

tercapai karena dengan adanya *burst release* ketersediaan gliklazid di tempat kerjanya menjadi meningkat.



**Gambar 4.6.** Fluks Penetrasi Rata-rata Gliklazid



**Gambar 4.7.** Fluks Gliklazid: (A) SLN Gliklazid dan (B) Gliklazid murni

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian hal diperoleh maka dapat disimpulkan hal sebagai berikut :

1. Gliklazid dapat diformulasikan kedalam bentuk sediaan *solid lipid nanoparticle* dengan menggunakan metode *high shear homogenization*, dapat dikeringkan dengan cara pengeringan beku dan memiliki ukuran yang lebih kecil dari gliklazid murni.
2. Karakterisasi dari *SLN* Gliklazid sebelum dan setelah pengeringan cukup baik, yaitu memiliki rata-rata ukuran partikel  $878,0 \text{ nm} \pm 246,3$  dan  $745,8 \text{ nm} \pm 204,0$ ; nilai potensial zeta  $-3,96 \pm 0,45 \text{ mV}$  dan  $-5,32 \pm 2,13 \text{ mV}$ ; nilai efisiensi penjerapan  $84,055 \pm 3,88 \%$  dan  $75,29 \pm 0,79 \%$ ; dan memiliki bentuk morfologi yang irregular.
3. Pada uji *in vitro*, sediaan *SLN* gliklazid memiliki daya untuk terdisolusi dan terpemeasi yang lebih besar dengan nilai persen gliklazid terdisolusi dan terpermeasi berturut-turut sebesar  $99,739 \pm 0,310 \%$  dan  $99,857 \pm 5,694 \%$ ; serta memiliki perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan gliklazid murni.

#### **5.2 SARAN**

Dari hasil penelitian yang diperoleh maka penulis menyarankan hal sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk melakukan optimasi formula dan metode pembuatan sediaan *solid lipid nanoparticle* sehingga diperoleh nanopartikel dengan ukuran partikel yang lebih kecil dan memiliki karakteristik sediaan yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* sehingga dapat diketahui efektifitas sediaan *SLN* gliklazid dalam menurunkan kadar glukosa darah.
3. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya seperti pengukuran kadar gliklazid di dalam darah pada hewan coba untuk mengetahui bioavailabilitasnya dalam darah.

4. Perlu digunakan metode analisa yang memiliki sensitivitas yang lebih tinggi untuk analisa sampel seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi sehingga diperoleh hasil analisa sampel yang lebih spesifik dan sensitif.

## DAFTAR ACUAN

- Abdelbary, G dan Rania H. Fahmy. (2009). Diazepam-Loaded Solid Lipid Nanoparticles: Design and Characterization. *AAPS PharmScitech*; 10 (1); 211-219.
- Abdelwahed, Wassim., Degobert, Ghania., Stainmesse, Sergie dan Hatem Fessi. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 58; 1688-1714.
- Ansel, Howard C. Alih bahasa Farida Ibrahim. (1989). Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Jakarta: Universitas Indonesia (UI) Press; 110-142.
- Bajaj, Himani., Bisht, S., Yadav, M dan Vinod Singh. (2011). Bioavailability enhancement : A Review. *IJPBS*; 2 (2); 202-216.
- Bandarkar, Farzana S dan Ibrahim. S. Khattab. (2011). Lyophilized Gliclazide-Poloxamer Solid Dispersions for Enhancement of in vitro and in vivo Bioavailability. *Int J Pharm Pharm Sci*; 3 (2); 122-127.
- Biswal, S., Sahoo, J., Murthy, PN., Giradkar, RP dan JG Avari. (2008). Enhancement of dissolution rate of Gliclazide using solid dispersions with Polyethylene Glycol 6000. *AAPS PharmSciTech*; 9(2); 563-570.
- Bourezg, Z., Bourgeois, S., Pressenda, S., Shehada, T dan Hatem Fessi. (2012). Redispersible lipid nanoparticles of Spironolactone obtained by three drying methods. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*; xxx; xxx-xxx.
- British Pharmacopoeia Commission. (2009). *Gliclazide*. British Pharmacopoeia. London: The Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA).
- Casadei, MA., Cerreto F., Cesa, S., Giannuzzo M., Feeney, M., Marianelli, C dan Patrizia Paolicelli. (2006). Solid lipid nanoparticles incorporated in dextran hydrogels: A new drug delivery system for oral formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 325, 140-146.
- Cavalli, R., Caputo, O., Carlotti, ME., Trotta, M., Scarneccchia, C dan Maria RG. (1997). *International Journal of Pharmaceutics*; 148; 47-54.
- Cho, Seong Min., Lee, Hyun Yong., dan Kim Jin-Chul. (2007). Characterization and In-vitro Permeation Study of Stearic Acid Nanoparticles containing Hinokitiol. *J Am Oil Chem Soc*, 84, 859–863.

- Christensen, K.L., Pedersen, G.P dan H.G. Kristensen. (2001). Preparation of redispersible dry emulsions by spray drying. *International Journal of Pharmaceutics*; 212; 187–194.
- Das, Surajit and Anumita Chaudhury. (2011). Recent Advances in Lipid Nanoparticle Formulations with Solid Matrix for Oral Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech*; 12 (1); 62-76.
- Dash, Survakanta., Murthy, Padala Narasimha., Nath, Lilakanta dan Prasanta Chowdhury. (2010). Review: Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Release*, 67 (3), 217-223.
- Demirtürk, Esra dan Levent Öner. 2004. Solubility and Dissolution Properties of Gliclazide. *FABAD J. Pharm. Sci*; 29, 21-25.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal: 1124-1206.
- Demirtürk, Esra dan Levent Öner. (2004). Solubility and Dissolution Properties of Gliclazide. *FABAD J. Pharm. Sci*; 29: 21-25
- de Souza, ALR., Andreani, T., Nunes, FM., Cassimiro, DL., de Almeida, AE., Ribeiro, CA., Sarmento, VHV., Gremião, MPD. Silva, AM dan Eliana B. Souto. (2011). Loading of Praziquantel in the crystal lattice of solid lipid nanoparticles. *J. Therm Anal Calorim*, DOI 10.1007/s10973-011-1871-4.
- Doijad, R. C., Manvi, F. V., Godhwani, D. M., Joseph, R dan N. V. Deshmukh. (2008). Formulation and Targeting Efficiency of Cisplatin Engineered Solid Lipid Nanoparticles. *Indian J Pharm Sci*; 70(2): 203–207.
- El-Kamel, Amal H., Al-Fagih, Iman M dan Ibrahim A. Alsarra. (2007). Testosterone solid lipid nanoparticles for transdermal drug delivery. Formulation and physicochemical characterization. *Journal of Microencapsulation*; 24(5); 457-475.
- European Pharmacopoeia Commission. (2005). *Gliclazide*. European Pharmacopoeia 5<sup>th</sup>. pp: 1660-1662.
- Fricker, Gert., Kromp, Torsten., Wendel, Armin., Blume, Alfred., Zirkel, Jürgen., Rebmann, Herbert., Setzer, Constanze., Quinkert, Ralf-Olaf., Martin, Frank dan Christel Müller-Goymann. (2010). Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery. *Pharm Res*; 27; 1469–1486.
- Garg, Yogesh dan Kamla Pathak. (2011). Design and In Vitro Performance Evaluation of Purified Microparticles of Pravastin Sodium for Intestinal Delivery. *AAPS PharmSciTech*; 12 (2); 673-682.

- Handoko, Tony dan B. Suhart. (2005). *Insulin, Gukagon dan Anti Diabetik Oral, Bab 32*, Farmakologi dan Terapi edisi 4. Bagian Farmakologi FKUI. Hal: 467-481.
- Ingle, US., Bankar, VH., Gaikwad, PD dan Sunil P. Pawar. (2011). Solubility enhancement of oral hypoglycemic agent by solid dispersion technique. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology IIJABPT*; 2 (2); 301-306.
- Jain, Nitin Kumar dan Alpana Ram. (2011). Development and characterization of nanostructured lipid carriers of oral hypoglycemic agent: selection of surfactants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*; 7(2); 125-130.
- Jannin, V. Jannin., Musakhanian, J dan D. Marchaud. (2008). Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 60; 734–746.
- Kamboj, Sunil., Bala, Suman dan Anoop B Nair. (2010). Solid Lipid Nanoparticles : An Effective Lipid Based Technology for Poorly Water Soluble Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*; 5(2); 78-90.
- Kishore,Narra., Raja, MD., Dhanalekshmi, UM., Bhavani, Saranya dan P. Neelakanta Reddy. (2011). Formulation and Evaluation of NSAID - Loaded Tristearin Solid Lipid Nanoparticles. *Int J Med Res*; 1(4); 217-223.
- Krishnaiah, Yellela S.R. (2010). Pharmaceutical Technologies for Enhancing Oral Bioavailability of Poorly Soluble Drugs. *JBB*; 2( 2); 028-036.
- Luo, Yi Fan., Chen, Da Wei., Ren, Li Xiang., Zhao, Xiu Li dan Jing Qin. (2006). Solid lipid nanoparticles for enhancing vincristine's oral bioavailability. *Journal of Controlled Release*; 114; 53-59.
- Mäder, Karsten. (2006). Nanoparticulates as Drug Carriers. *Chapter 9 : Solid Lipid Nanoparticles as Drug Carriers*. Imperial College Press : London, 187-209.
- Mäder, Karsten dan Wolfgang Mehnert. (2005). Liposomes in Drug Targets and Delivery. *Chapter 1 : Solid Lipid Nanoparticles – Concepts, Procedures, and Physicochemical Aspects*. CRC Press LLC, 1-25.
- Martin, A. (1993). Physical pharmacy: 1077-1119, 1143-1183.
- Mehnert, Wolfgang dan Karsten Mäder. (2001). Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 47; 165–196.

- Mukherjee, S., Ray, S dan RS Thakur. (2009). Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. *Indian J Pharm Sci*; 71(4); 349-58.
- Mukherjee, Swarupananda., Ray, Subharata dan RS Thakur. (2009). Design and evaluation of Itraconazole loaded Solid Lipid Nanoparticulate system for improving the antifungal therapy. *Pak. J. Pharm. Sci*; 22(2); 131-138.
- Nanjwade, Basavaraj K., Patel, DJ., Udhani, RA dan Fakirappa V. Manvi. (2011). Functions of Lipids for Enhancement of Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drug. *Sci Pharm*, 79; 705 – 727.
- Nimbalkar, U.A., Dhoka, M.V dan P.A Sonawane. (2011). Solid Lipid Nanoparticles for Enhancement of Oral Bioavailability of Cefpodoxime Proxetil. *IJPS*; 2 (11); 2974 – 2982.
- Nnamani, PO., Attama, AA., Ibezim, EC dan MU Adikwu. (2010). SRMS142-based solid lipid microparticles: Application in oral delivery of glibenclamide to diabetic rats. *EJPB*; 76; 68-74.
- Parhi, Rabinarayan dan Padilama Suresh. (2010). Production of Solid Lipid Nanoparticles-Drug Loading and Release Mechanism. *J. Chem. Pharm. Res*; 2(1); 211-227.
- Pragati, S., Kuldeep, S., Ashok, S dan M. Satesh. (2009). Solid Lipid Nanoparticles: A Promising Drug Delivery Technology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*; 2(1).
- Prajapati, SK., Tripathi, p., Ubaidulla, U dan Vikas Anand. (2008). Design and Development of Gliclazide Mucoadhesive Microcapsules: In Vitro and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech*; 9(1); 224-230.
- Reddy TN, Madhusudhana., P, Nagakannan., Hunasagi, Rayappa, M Onkaramurthy., Gowda KP, Shivalinge dan Syed Mansoor Ahmed. (2011). Isolated Goat Ileum Preparation – An Alternative to Isolated Ileum Preparation for The Three Point Bioassay of Acetylcholine. *IJRPC*; 1(2); 199-201.
- Rowe, RC., Shesky, PJ dan Marian EQ (Ed.). (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipient, 6<sup>th</sup> Ed. London : Pharmaceutical Press. pp: 17-19, 359-361, 517-521, 549-553, 697-699.
- Sarkar, A., Tiwari, A., Bhasin, PS dan Mobby Mitra. (2011). Pharmacological and Pharmaceutical Profile of Gliclazide: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*; 01 (09); 11-19.

- Schwarz, C dan W. Mehnert. (1997). Freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*; 157; 171-179.
- Shahgaldian, Patrick., Gualbert, Jérôme., Aïssa, Kaïs dan Anthony W. Coleman. (2003). A study of the freeze-drying conditions of calixarene based solid lipid nanoparticles. *EJPB*; 55; 181-184.
- Shargel, Leon dan Andrew B.C Yu. Alih bahasa Fasich, Siti Sjamsiah. (1988). Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan. Surabaya: Airlangga University Press; 85-112, 137-163.
- Sharma, A., Jindal, M., Aggarwal, G dan S. Jain. (2010). Development of a Novel Method for Fabrication of Solid Lipid Nanoparticles: using High Shear homogenization and Ultrasonication. *RJPBCS*; 1(2); 265-274.
- Singh, Kamainder K dan Ranjita Shegokar. (2011). Conversion of Staduvine Lipid Nanoparticles into Dry Powder. *IJPBS*; 2(1); 443-457.
- Sinha, VR., Srivastava, S., Goel, H dan Vinay Jindal. (2010). Solid Lipid Nanoparticles (SLN's) – Trends and Implications in Drug Targeting. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*, 1, 212-238.
- Surjyanarayan, Mandal., Pratik, Shah., Gunjan, Shah., Doli, Khatri dan K. S. Rajesh. (2011). Brain Targetting of flunarizine HCl by Solid Lipid Nanoparticles for Prophylaxis of Migraine. *IRJP*; 2(9); 99-102.
- Tembhurne, SV dan Sakarkar DM. (2008). Tranport of glucose in isolated goat ileum preparation: an alternative research tool for absorption study. *J Physiol Pharmacol*; 52(2); 211-213.
- Tiyaboonchai, Waree., Tungpradit, Watcharaphorn dan Pinyupa Plianbangchang. (2007). Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*; 337; 299-306.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja. (2003). Bab 47: *Insulin dan Antidiabetika Oral*. Obat-Obat Penting. Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya. Jakarta : PT. Gramedia. Hal: 693-713.
- Triplett II, Michael D dan James F. Rathman. (2009). Optimization of  $\beta$ -carotene loaded solid lipid nanoparticles preparation using high shear homogenization technique. *J Nanopart Res*, 11, 601 – 614.
- Üner, Melike dan Yener Gülgün. (2007). Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspectives. *International Journal of Nanomedicine*, 2(3), 289–300.

- Vasanthavada, Madhav dan Abu T. M. Serajuddin. (2007). *Chapter 7 : Lipid-Based Self-Emulsifying Solid Dispersions*. Oral Lipid-Based Formulations-Enhancing the Bioavailabilityof Poorly Water-Soluble Drug. Informa Healthcare USA, Inc. pp: 149-184.
- Vivek, K., Reddy, H dan Ramachandra SRM. (2007). Investigation of the Effect of the Lipid Matrix on Drug Entrapment, In Vitro Release, and Physical Stability of Olanzapine-Loaded Solid Lipid Nanoparticles. *AAPS PharmSciTech*; 8(4); 1-9.
- Zhang, Lijuan., Lei, Liu., Yu, Qian., dan Yun Chen. (2008). The effects of cryoprotectants on the freeze-drying of ibuprofen-loaded solid lipid microparticles (SLM). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*; 69; 750–759.
- Zhang, Qiang., Yie, Guoqin.g, Li, Yie., Yang, Qingsong dan T. Nagai. (2000). Studies on the cyclosporine A loaded stearic acid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*; 200; 153-159.
- Zhang, X., Pan, W., Gan, L., Zhu, C, Gan, Y dan Shufang Nie. (2008). Preparation of Dispersible PEGylate Nanostructured Lipid Carriers (NLC) Loaded with 10-Hydroxycamptothecin by Spray-Drying. *Chem. Pharm. Bull*; 56(12); 1645-1650.

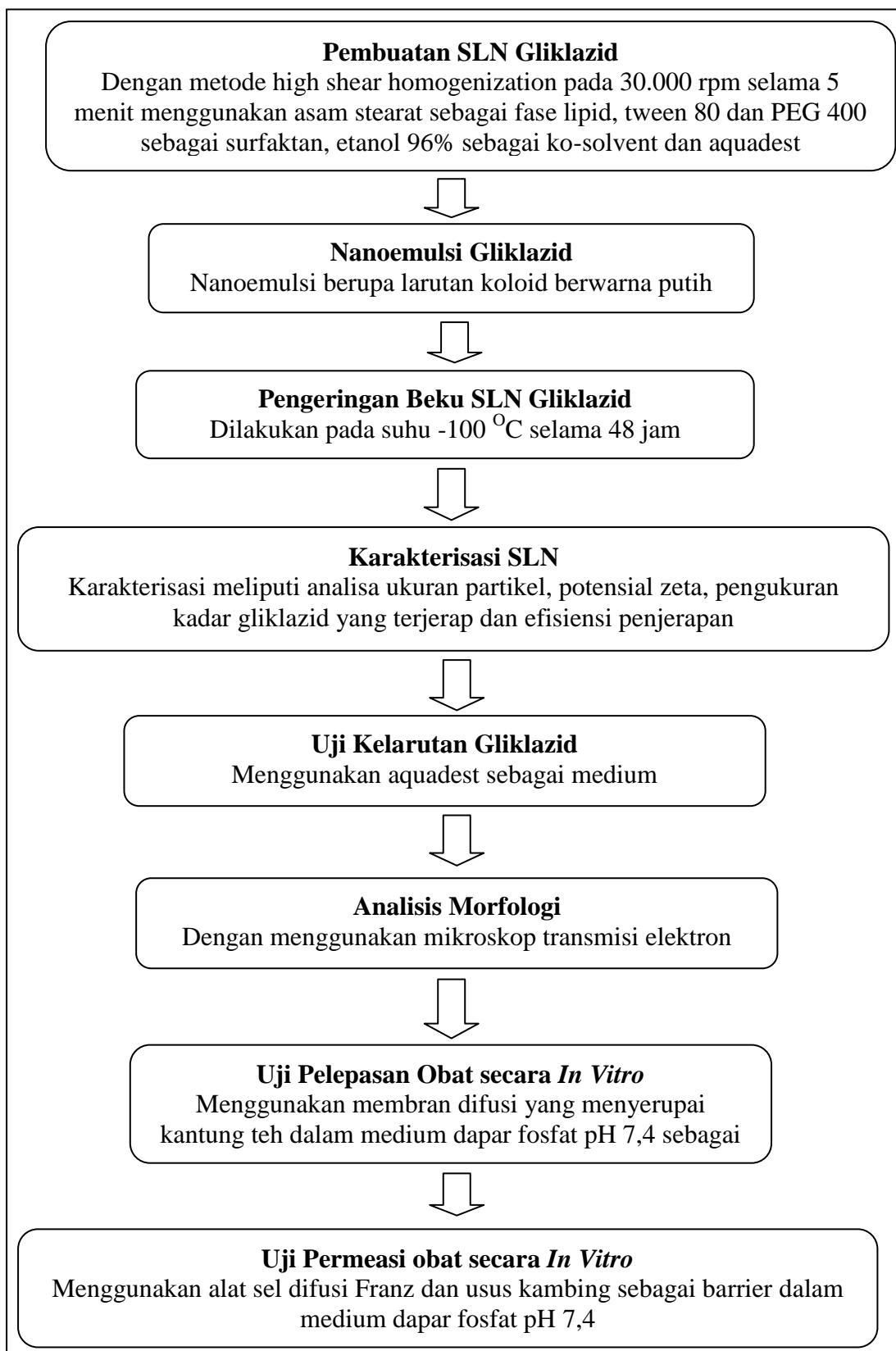
# **LAMPIRAN**

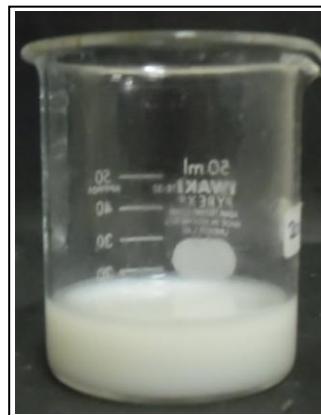
## Daftar Lampiran

Lampiran Gambar.....	61 - 79
Lampiran Tabel.....	80 - 85
Lampiran Perhitungan .....	86 - 96
Lampiran Sertifikat.....	97 - 103

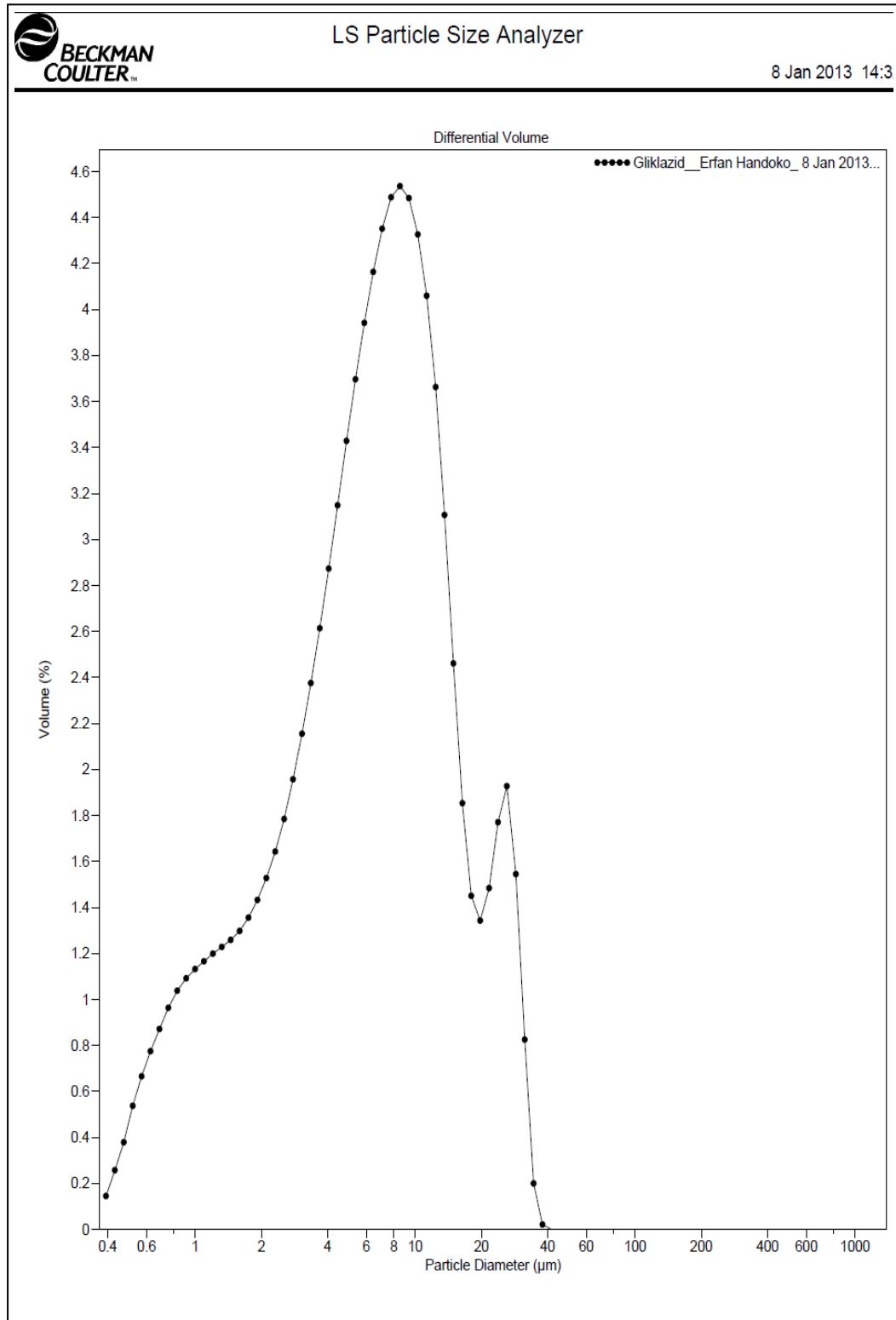
## Lampiran 1

### Bagan Alur Penelitian



**Lampiran 2****Alat homogenizer****Lampiran 3.****Emulsi SLN Gliklazid**

**Lampiran 4****Padatan SLN Gliklazid****Lampiran 5****Alat Sel Difusi Franz**

**Lampiran 6****Data Ukuran Partikel Gliklazid**

(Lanjutan)



**BECKMAN  
COULTER™**

### LS Particle Size Analyzer

8 Jan 2013 1

#### Volume Statistics (Arithmetic) Gliklazid\_Erfan Handoko\_8 Jan 2013...

Calculations from 0.375  $\mu\text{m}$  to 948.3  $\mu\text{m}$

Volume:	100%							
Mean:	8.196 $\mu\text{m}$	S.D.:	6.920 $\mu\text{m}$					
Median:	6.456 $\mu\text{m}$	Variance:	47.88 $\mu\text{m}^2$					
D(3,2):	3.242 $\mu\text{m}$	Skewness:	1.416 Right skewed					
Mode:	8.536 $\mu\text{m}$	Kurtosis:	1.780 Leptokurtic					
$d_{10}$ :	1.241 $\mu\text{m}$	$d_{50}$ :	6.456 $\mu\text{m}$	$d_{90}$ :	17.84 $\mu\text{m}$			
<1 $\mu\text{m}$	<2 $\mu\text{m}$	<4 $\mu\text{m}$	<6 $\mu\text{m}$	<8 $\mu\text{m}$	<10 $\mu\text{m}$	<20 $\mu\text{m}$	<40 $\mu\text{m}$	
7.29%	16.7%	31.9%	46.8%	60.0%	70.8%	91.7%	100%	

#### Surface Area Statistics (Arithmetic) Gliklazid\_Erfan Handoko\_8 Jan 2013...

Calculations from 0.375  $\mu\text{m}$  to 948.3  $\mu\text{m}$

Surface Area:	100%							
Mean:	3.242 $\mu\text{m}$	S.D.:	4.008 $\mu\text{m}$					
Median:	1.563 $\mu\text{m}$	Variance:	16.06 $\mu\text{m}^2$					
D(3,2):	3.242 $\mu\text{m}$	Skewness:	2.839 Right skewed					
Mode:	0.755 $\mu\text{m}$	Kurtosis:	11.07 Leptokurtic					
$d_{10}$ :	0.558 $\mu\text{m}$	$d_{50}$ :	1.563 $\mu\text{m}$	$d_{90}$ :	8.095 $\mu\text{m}$			
<1 $\mu\text{m}$	<2 $\mu\text{m}$	<4 $\mu\text{m}$	<6 $\mu\text{m}$	<8 $\mu\text{m}$	<10 $\mu\text{m}$	<20 $\mu\text{m}$	<40 $\mu\text{m}$	
34.9%	56.7%	73.7%	83.6%	89.8%	93.7%	98.9%	100%	

#### Number Statistics (Arithmetic) Gliklazid\_Erfan Handoko\_8 Jan 2013...

Calculations from 0.375  $\mu\text{m}$  to 948.3  $\mu\text{m}$

Number:	100%							
Mean:	0.753 $\mu\text{m}$	S.D.:	0.601 $\mu\text{m}$					
Median:	0.599 $\mu\text{m}$	Variance:	0.362 $\mu\text{m}^2$					
D(3,2):	3.242 $\mu\text{m}$	Skewness:	8.120 Right skewed					
Mode:	0.520 $\mu\text{m}$	Kurtosis:	133.1 Leptokurtic					
$d_{10}$ :	0.424 $\mu\text{m}$	$d_{50}$ :	0.599 $\mu\text{m}$	$d_{90}$ :	1.148 $\mu\text{m}$			
<1 $\mu\text{m}$	<2 $\mu\text{m}$	<4 $\mu\text{m}$	<6 $\mu\text{m}$	<8 $\mu\text{m}$	<10 $\mu\text{m}$	<20 $\mu\text{m}$	<40 $\mu\text{m}$	
85.7%	97.3%	99.4%	99.8%	99.9%	99.97%	99.998%	100%	

(lanjutan)

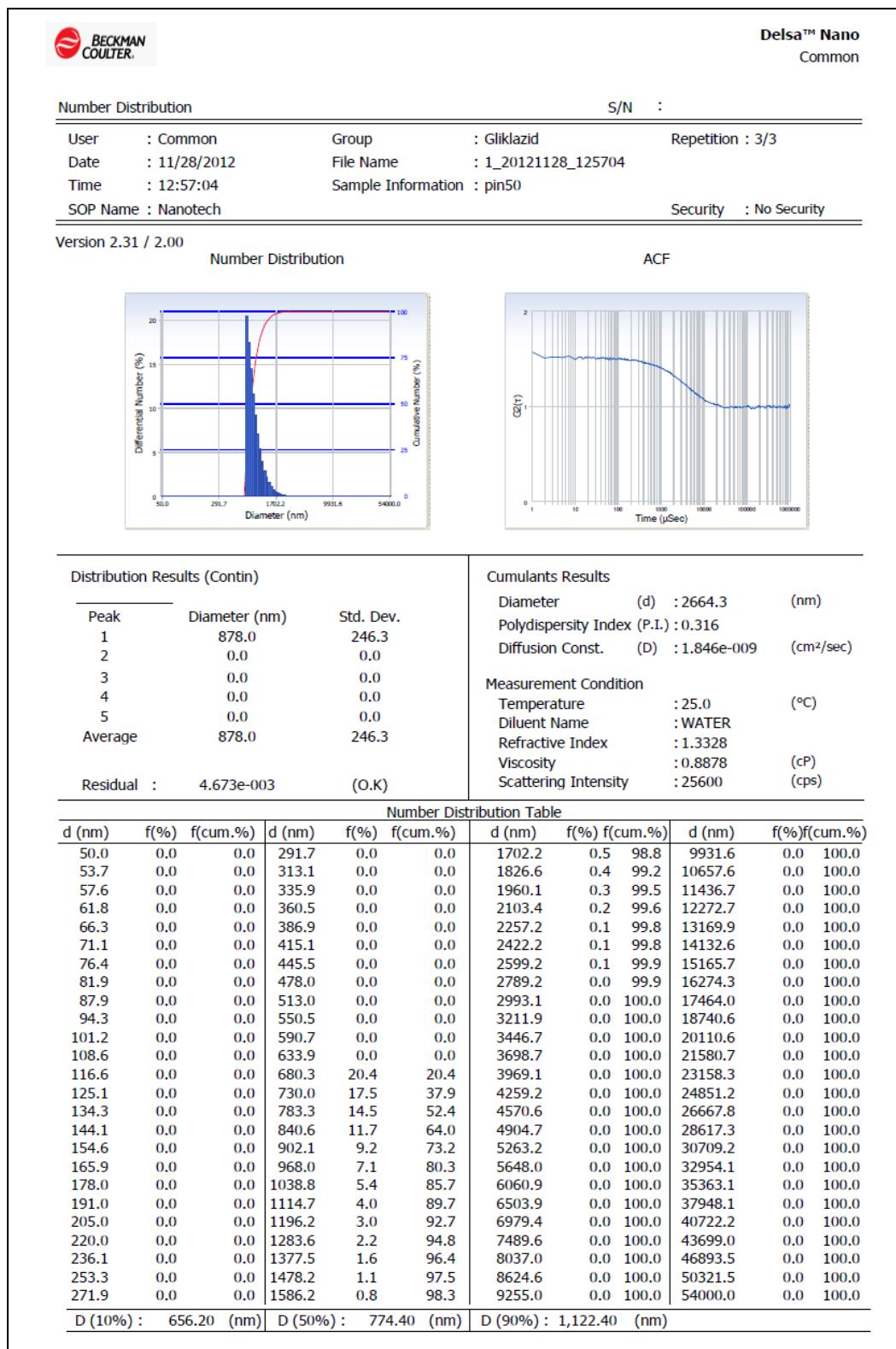
LS Particle Size Analyzer							
Gliklazid_Erfan Handoko_8 Jan 2013...							
Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Surface Area %	Diff. Number %	Cum. < Volume %	Cum. < Surface Area %	
1	0.375	0.14	1.20	7.19	0	0	
2	0.412	0.26	1.93	9.65	0.14	1.20	
3	0.452	0.38	2.59	10.7	0.40	3.13	
4	0.496	0.54	3.35	11.5	0.78	5.72	
5	0.545	0.67	3.78	10.8	1.32	9.07	
6	0.598	0.77	4.01	9.48	1.98	12.9	
7	0.656	0.87	4.11	8.06	2.76	16.9	
8	0.721	0.96	4.14	6.74	3.63	21.0	
9	0.791	1.04	4.06	5.48	4.59	25.1	
10	0.868	1.09	3.89	4.36	5.63	29.2	
11	0.953	1.13	3.67	3.42	6.72	33.0	
12	1.047	1.17	3.45	2.66	7.85	36.7	
13	1.149	1.20	3.23	2.07	9.02	40.2	
14	1.261	1.23	3.01	1.60	10.2	43.4	
15	1.384	1.26	2.81	1.24	11.4	46.4	
16	1.520	1.30	2.64	0.97	12.7	49.2	
17	1.668	1.36	2.51	0.76	14.0	51.9	
18	1.832	1.43	2.42	0.61	15.4	54.4	
19	2.011	1.53	2.35	0.49	16.8	56.8	
20	2.207	1.64	2.30	0.40	18.3	59.2	
21	2.423	1.78	2.28	0.33	20.0	61.5	
22	2.660	1.96	2.28	0.27	21.7	63.7	
23	2.920	2.16	2.28	0.23	23.7	66.0	
24	3.205	2.38	2.29	0.19	25.9	68.3	
25	3.519	2.61	2.30	0.16	28.2	70.6	
26	3.863	2.87	2.30	0.13	30.8	72.9	
27	4.240	3.15	2.30	0.11	33.7	75.2	
28	4.655	3.43	2.28	0.089	36.9	77.5	
29	5.110	3.70	2.24	0.072	40.3	79.8	
30	5.610	3.94	2.17	0.058	44.0	82.0	
31	6.158	4.16	2.09	0.047	47.9	84.2	
32	6.760	4.35	1.99	0.037	52.1	86.3	
33	7.421	4.49	1.87	0.029	56.5	88.3	
34	8.147	4.54	1.72	0.022	60.9	90.1	
35	8.943	4.48	1.55	0.016	65.5	91.9	
36	9.818	4.33	1.36	0.012	70.0	93.4	
37	10.78	4.06	1.17	0.0085	74.3	94.8	
38	11.83	3.66	0.96	0.0058	78.3	95.9	
39	12.99	3.11	0.74	0.0037	82.0	96.9	
40	14.26	2.46	0.53	0.0022	85.1	97.6	
41	15.65	1.85	0.37	0.0013	87.6	98.2	

(lanjutan)

Gliklazid_Erfan Handoko_8 Jan 2013...						
Channel Number	Channel Diameter (Lower μm)	Diff. Volume %	Diff. Surface Area %	Diff. Number %	Cum. < Volume %	Cum. < Surface Area %
42	17.18	1.45	0.26	0.00075	89.4	98.5
43	18.86	1.34	0.22	0.00052	90.9	98.8
44	20.71	1.48	0.22	0.00044	92.2	99.0
45	22.73	1.77	0.24	0.00039	93.7	99.2
46	24.95	1.93	0.24	0.00032	95.5	99.5
47	27.39	1.54	0.17	0.00020	97.4	99.7
48	30.07	0.83	0.085	0.000079	99.0	99.9
49	33.01	0.20	0.019	0.000015	99.8	99.98
50	36.24	0.021	0.0018	0.000001	99.98	99.998
51	39.78	0	0	0	100	100
52	43.67	0	0	0	100	100
53	47.94	0	0	0	100	100
54	52.62	0	0	0	100	100
55	57.77	0	0	0	100	100
56	63.41	0	0	0	100	100
57	69.61	0	0	0	100	100
58	76.42	0	0	0	100	100
59	83.89	0	0	0	100	100
60	92.09	0	0	0	100	100
61	101.1	0	0	0	100	100
62	111.0	0	0	0	100	100
63	121.8	0	0	0	100	100
64	133.7	0	0	0	100	100
65	146.8	0	0	0	100	100
66	161.2	0	0	0	100	100
67	176.9	0	0	0	100	100
68	194.2	0	0	0	100	100
69	213.2	0	0	0	100	100
70	234.0	0	0	0	100	100
71	256.9	0	0	0	100	100
72	282.1	0	0	0	100	100
73	309.6	0	0	0	100	100
74	339.9	0	0	0	100	100
75	373.1	0	0	0	100	100
76	409.6	0	0	0	100	100
77	449.7	0	0	0	100	100
78	493.6	0	0	0	100	100
79	541.9	0	0	0	100	100
80	594.8	0	0	0	100	100
81	653.0	0	0	0	100	100
82	716.8	0	0	0	100	100
83	786.9	0	0	0	100	100
84	863.9	0	0	0	100	100
	948.3				100	100

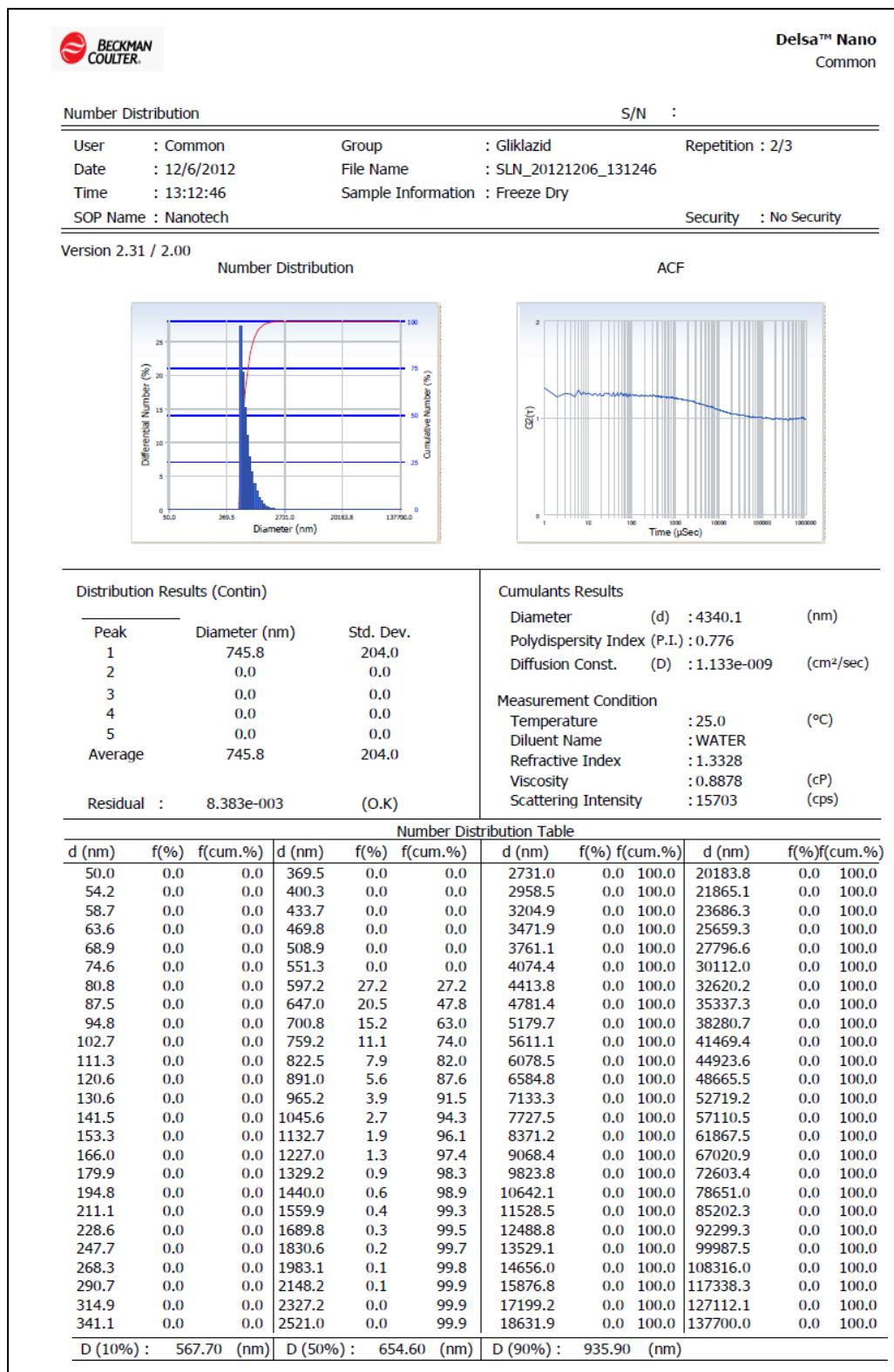
## Lampiran 7

### Data Rata-rata dan Distribusi Ukuran Partikel Emulsi SLN Gliklazid



## Lampiran 8

### Data Rata-rata dan Distribusi Ukuran Partikel Padatan SLN Gliklazid



## Lampiran 9

### Data Potensial Zeta Emulsi SLN Gliklazid

		Delsa™ Nano Common																									
Peak Value Table																											
S/N :																											
User : Common	Group : Anisa Amalia	Repetition : 1/3																									
Date : 12/3/2012	File Name : Zeta_20121203_110624																										
Time : 11:06:24	Sample Information : Putih																										
SOP Name : Nanotech			Security : No Security																								
Version 2.31 / 2.00																											
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th></th> <th>Mobility (cm<sup>2</sup>/Vs)</th> <th>Zeta Potential (mV)</th> <th>Electric Field (V/cm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Peak Value</td> <td>-3.330e-005</td> <td>-4.27</td> <td>16.23</td> </tr> </tbody> </table>					Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)	Peak Value	-3.330e-005	-4.27	16.23																
	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)																								
Peak Value	-3.330e-005	-4.27	16.23																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Cell Position</th> <th>Mobility (cm<sup>2</sup>/Vs)</th> <th>Zeta Potential (mV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.7 (6.755mm)</td> <td>-2.826e-005</td> <td>-3.62</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.35 (6.58mm)</td> <td>-6.699e-006</td> <td>-0.86</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>0 (6.405mm)</td> <td>-4.727e-005</td> <td>-6.06</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>-0.35 (6.23mm)</td> <td>1.027e-005</td> <td>1.32</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>-0.7 (6.055mm)</td> <td>-5.580e-005</td> <td>-7.15</td> </tr> </tbody> </table>				No.	Cell Position	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)	1	0.7 (6.755mm)	-2.826e-005	-3.62	2	0.35 (6.58mm)	-6.699e-006	-0.86	3	0 (6.405mm)	-4.727e-005	-6.06	4	-0.35 (6.23mm)	1.027e-005	1.32	5	-0.7 (6.055mm)	-5.580e-005	-7.15
No.	Cell Position	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)																								
1	0.7 (6.755mm)	-2.826e-005	-3.62																								
2	0.35 (6.58mm)	-6.699e-006	-0.86																								
3	0 (6.405mm)	-4.727e-005	-6.06																								
4	-0.35 (6.23mm)	1.027e-005	1.32																								
5	-0.7 (6.055mm)	-5.580e-005	-7.15																								

(lanjutan)

	Delsa™ Nano Common		
Peak Value Table	S/N :		
User : Common	Group : Anisa Amalia		
Date : 12/3/2012	File Name : Zeta_20121203_110624		
Time : 11:06:24	Sample Information : Putih		
SOP Name : Nanotech	Security : No Security		
Version 2.31 / 2.00			
	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	-2.686e-005	-3.44	16.23
No.	Cell Position	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.755mm)	-3.027e-005	-3.88
2	0.35 (6.58mm)	-1.258e-005	-1.61
3	0 (6.405mm)	-2.770e-005	-3.55
4	-0.35 (6.23mm)	-4.066e-005	-5.21
5	-0.7 (6.055mm)	-2.357e-005	-3.02

(lanjutan)

	Delsa™ Nano Common		
Peak Value Table	S/N :		
User : Common	Group : Anisa Amalia		
Date : 12/3/2012	File Name : Zeta_20121203_110624		
Time : 11:06:24	Sample Information : Putih		
SOP Name : Nanotech	Security : No Security		
Version 2.31 / 2.00			
	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	-3.246e-005	-4.16	16.24
No.	Cell Position	Mobility (cm <sup>2</sup> /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.755mm)	-3.379e-005	-4.33
2	0.35 (6.58mm)	-2.628e-005	-3.37
3	0 (6.405mm)	1.408e-005	1.81
4	-0.35 (6.23mm)	-6.712e-005	-8.61
5	-0.7 (6.055mm)	-2.393e-005	-3.07

## Lampiran 10

### Data Potensial Zeta Padatan SLN Gliklazid

	Delsa™ Nano Common			
Condition Summary	S/N :			
User : Common	Group : Gliklazid			
Date : 12/6/2012	File Name : SLN_20121206_134919			
Time : 13:49:19	Sample Information : Freeze Dry			
SOP Name : Nanotech	Security : No Security			
Version 2.31 / 2.00				
Measurement Condition				
Sampling Time : 400	(μs)	Correlation Method : TD		
Correlation Channel : 512	(ch)	Accumulation times : 10	(times)	
Scattering Angle : 15.0	(°)	Temperature : 25.1	(°C)	
Intensity : 41266	(cps)	Attenuator 1 : 100.0	(%)	
Cell Center : X: 7.210	(mm)	Attenuator 2 : 2.170	(%)	
	Z: 6.310	(mm)	Pinhole : 50	(μm)
Cell Constant : 70.000	(1/cm)			
Apply Voltage Type : NEGATIVE				
Electric Field				
Avg. Electric Field : -16.25	(V/cm)	Avg. Current : -0.10	(mA)	
Diluent Properties				
Diluent Name : WATER		Dielectric Constant : 78.3		
Refractive Index : 1.3328		Viscosity : 0.8858	(cP)	
Analysis Results				
Zeta Potential : -7.35	(mV)	Zeta Potential of Cell (Upper) : 6.91	(mV)	
Mobility : -5.743e-005	(cm²/Vs)	Zeta Potential of Cell (Lower) : 8.99	(mV)	
Conductivity : 0.1192	(mS/cm)	Base Frequency : 123.2	(Hz)	
Analysis Parameters				
Lorentz Fitting : 1 peak				
Conversion Equation : Smoulchowski				
Peak Value Table				
No.	Cell Position	Electric Field (V/cm)	Mobility (cm²/Vs)	
1	0.70 mm	-16.2	-5.450e-005	
2	0.35 mm	-16.3	-3.619e-005	
3	0.00 mm	-16.2	-3.846e-006	
4	-0.35 mm	-16.2	-2.796e-005	
5	-0.70 mm	-16.2	-7.282e-005	

(lanjutan)

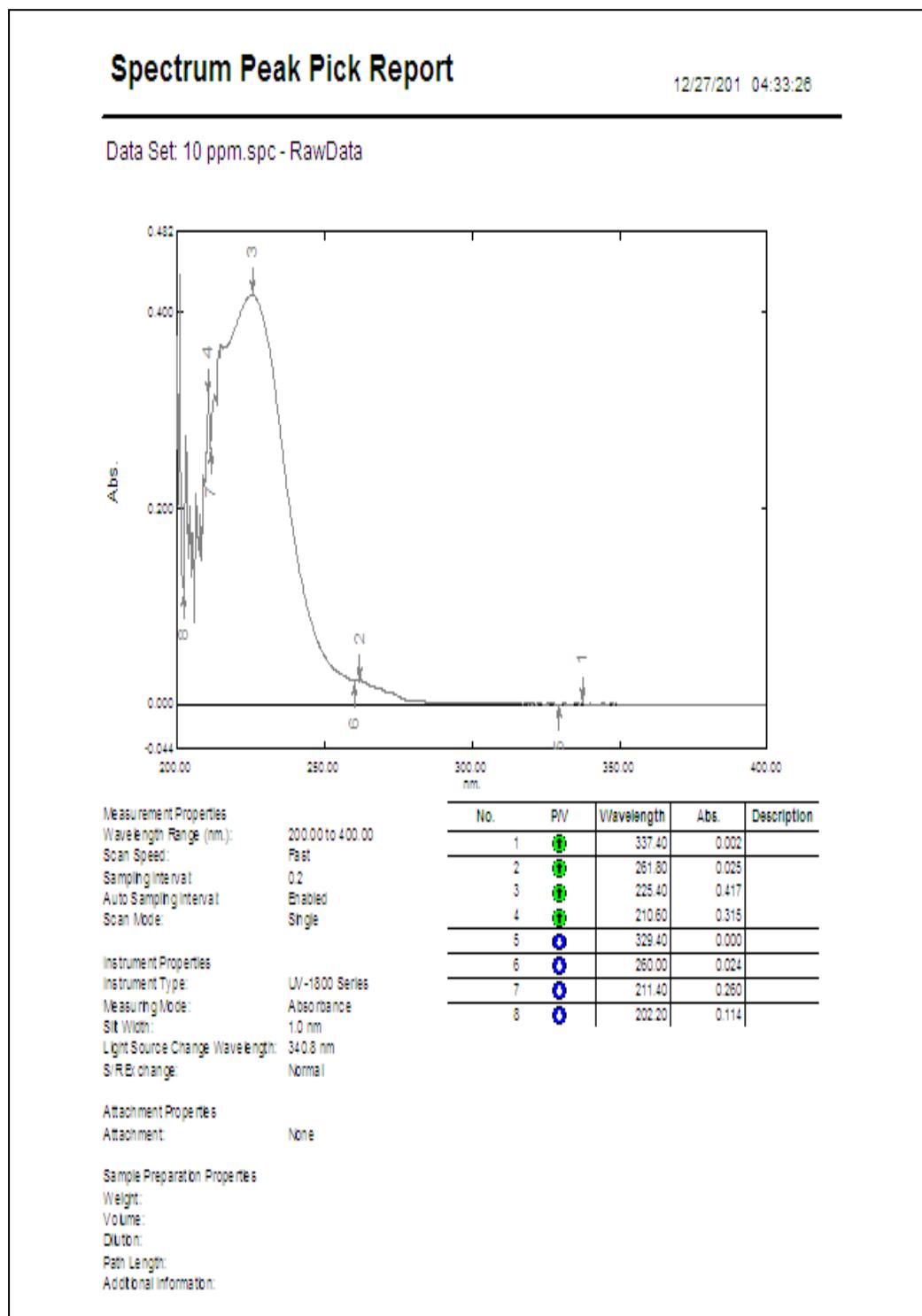
 BECKMAN COULTER.	<b>Delsa™ Nano</b> Common		
<b>Condition Summary</b>			S/N : 2/3
User : Common	Group : Gliklazid	Repetition : 2/3	
Date : 12/6/2012	File Name : SLN_20121206_134919		
Time : 13:49:19	Sample Information : Freeze Dry		
SOP Name : Nanotech		Security : No Security	
Version 2.31 / 2.00			
<b>Measurement Condition</b>			
Sampling Time : 400	(μs)	Correlation Method : TD	
Correlation Channel : 512	(ch)	Accumulation times : 10	(times)
Scattering Angle : 15.0	(°)	Temperature : 25.0	(°C)
Intensity : 42270	(cps)	Attenuator 1 : 100.0	(%)
Cell Center : X: 7.210	(mm)	Attenuator 2 : 2.170	(%)
	Z: 6.310	Pinhole : 50	(μm)
Cell Constant : 70.000	(1/cm)		
Apply Voltage Type : NEGATIVE			
<b>Electric Field</b>			
Avg. Electric Field : -16.25	(V/cm)	Avg. Current : -0.10	(mA)
<b>Diluent Properties</b>			
Diluent Name : WATER		Dielectric Constant : 78.3	
Refractive Index : 1.3328		Viscosity : 0.8878	(cP)
<b>Analysis Results</b>			
Zeta Potential : -3.10	(mV)	Zeta Potential of Cell (Upper) : 1.08	(mV)
Mobility : -2.416e-005	(cm²/Vs)	Zeta Potential of Cell (Lower) : -5.28	(mV)
Conductivity : 0.1170	(mS/cm)	Base Frequency : 123.2	(Hz)
<b>Analysis Parameters</b>			
Lorentz Fitting : 1 peak			
Conversion Equation : Smoulchowski			
<b>Peak Value Table</b>			
No.	Cell Position	Electric Field (V/cm)	Mobility (cm²/Vs)
1	0.70 mm	-16.2	-5.013e-005
2	0.35 mm	-16.3	-1.964e-005
3	0.00 mm	-16.2	-3.654e-005
4	-0.35 mm	-16.2	-4.442e-005
5	-0.70 mm	-16.2	5.684e-006
Average		-16.2	-2.901e-005

(lanjutan)

 BECKMAN COULTER				Delsa™ Nano	Common
Condition Summary				S/N	:
User : Common	Group : Gliklazid		Repetition : 3/3		
Date : 12/6/2012	File Name : SLN_20121206_134919				
Time : 13:49:19	Sample Information : Freeze Dry				
SOP Name : Nanotech			Security : No Security		
Version 2.31 / 2.00					
<u>Measurement Condition</u>					
Sampling Time : 400	(μs)	Correlation Method : TD			
Correlation Channel : 512	(ch)	Accumulation times : 10	(times)		
Scattering Angle : 15.0	(°)	Temperature : 25.0	(°C)		
Intensity : 41644	(cps)	Attenuator 1 : 100.0	(%)		
Cell Center : X: 7.210	(mm)	Attenuator 2 : 2.170	(%)		
	Z: 6.310 (mm)	Pinhole : 50	(μm)		
Cell Constant : 70.000	(1/cm)				
Apply Voltage Type : NEGATIVE					
<u>Electric Field</u>					
Avg. Electric Field : -16.25	(V/cm)	Avg. Current : -0.10	(mA)		
<u>Diluent Properties</u>					
Diluent Name : WATER		Dielectric Constant : 78.3			
Refractive Index : 1.3328		Viscosity : 0.8878	(cP)		
<u>Analysis Results</u>					
Zeta Potential : -5.52	(mV)	Zeta Potential of Cell (Upper) : 2.06	(mV)		
Mobility : -4.306e-005	(cm²/Vs)	Zeta Potential of Cell (Lower) : -0.85	(mV)		
Conductivity : 0.1179	(mS/cm)	Base Frequency : 123.2	(Hz)		
<u>Analysis Parameters</u>					
Lorentz Fitting : 1 peak					
Conversion Equation : Smoulchowski					
<u>Peak Value Table</u>					
No.	Cell Position	Electric Field (V/cm)	Mobility (cm²/Vs)		
1	0.70 mm	-16.2	-6.107e-005		
2	0.35 mm	-16.2	-2.831e-005		
3	0.00 mm	-16.3	-3.194e-005		
4	-0.35 mm	-16.3	-6.332e-005		
5	-0.70 mm	-16.3	-2.366e-005		
Average				-16.3	-4.166e-005

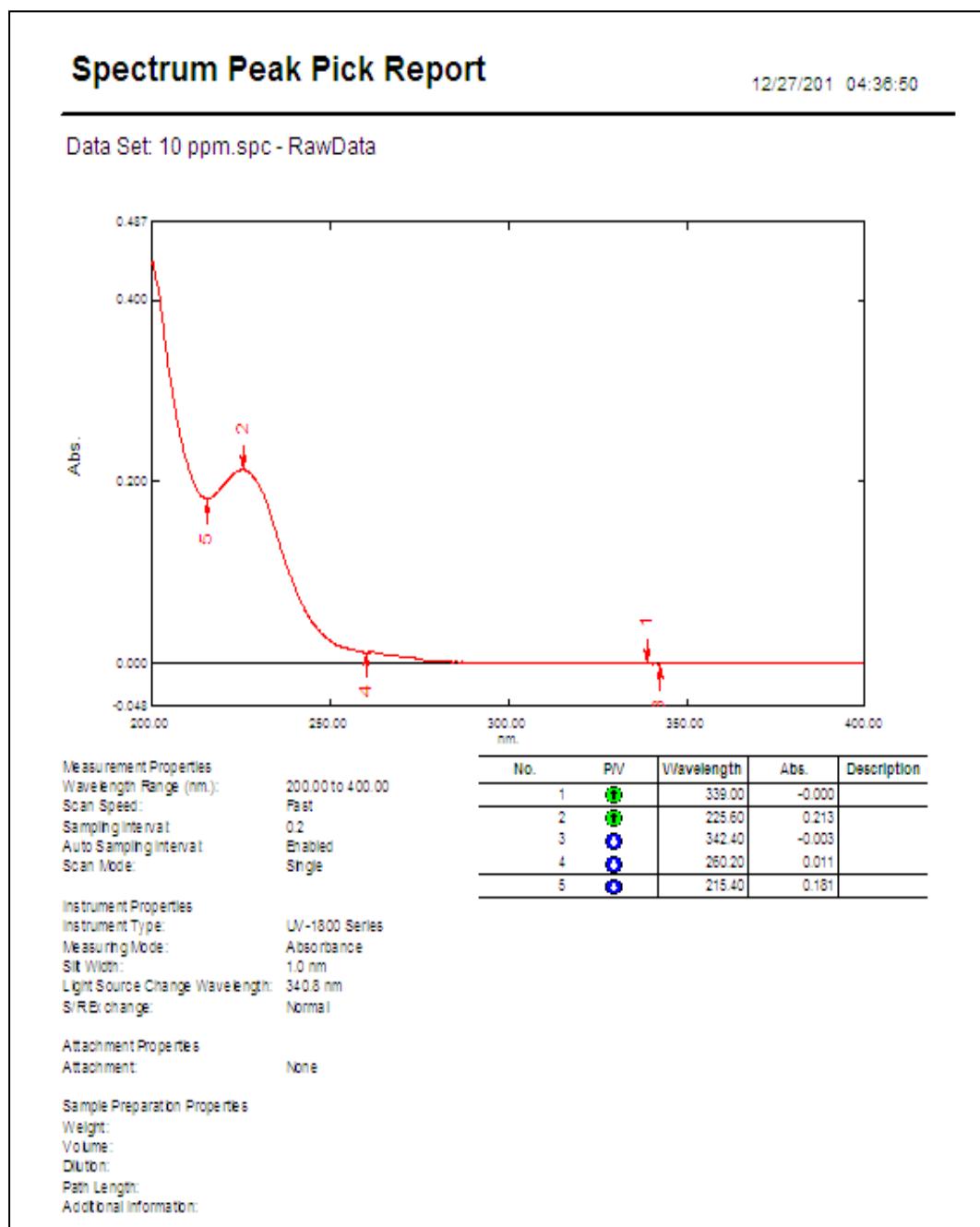
## Lampiran 11

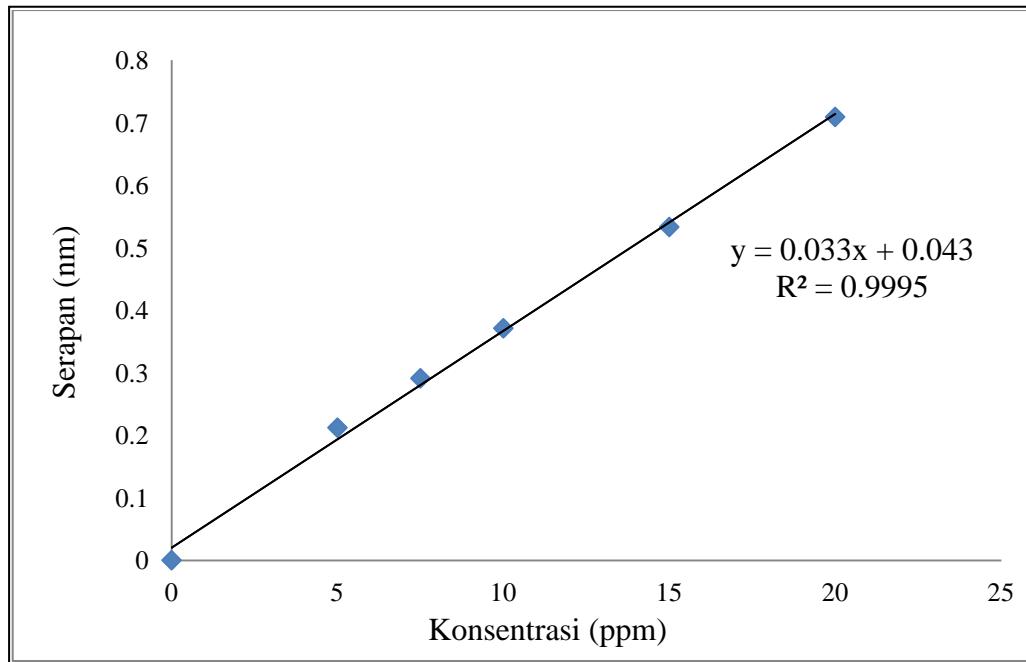
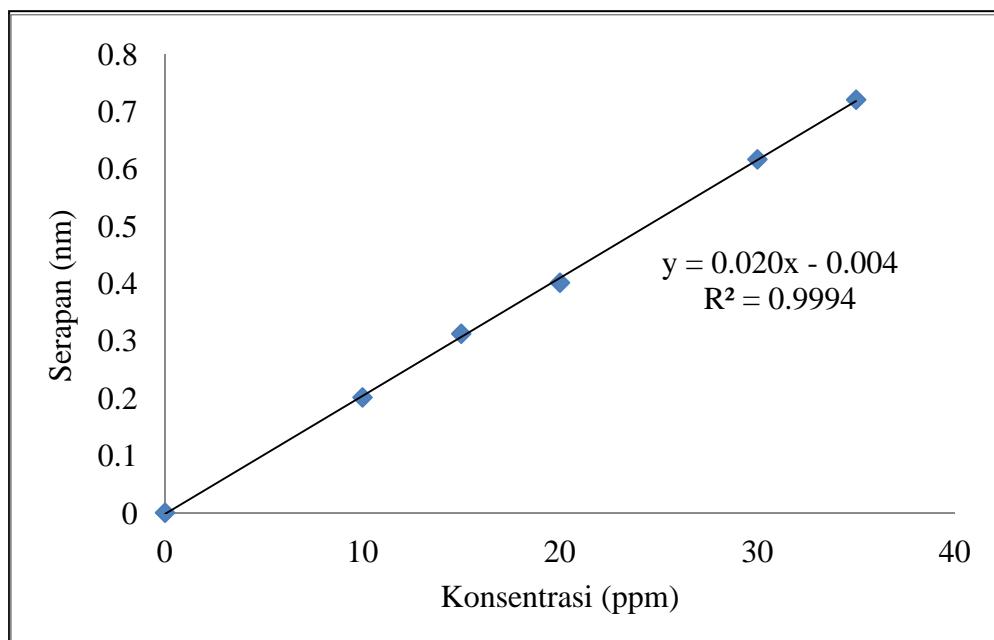
### Spektrum Kurva kalibrasi Gliklazid dalam Metanol – NaOH 0,1 N

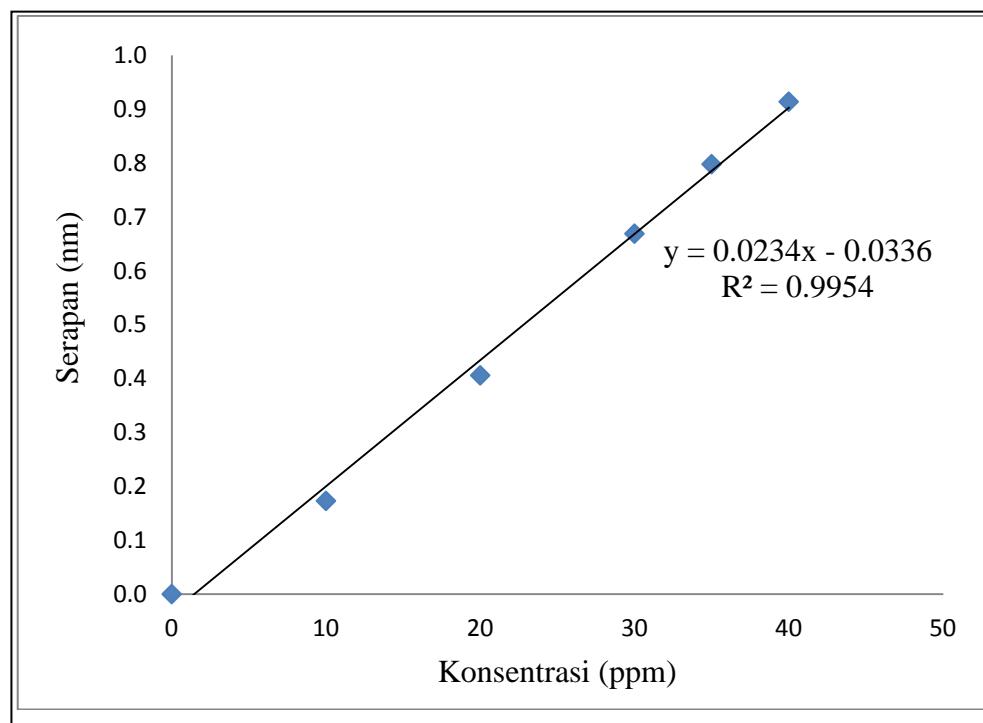


## Lampiran 12

### Spektrum Kurva kAlibrasi Gliklazid dalam Dapar Fosfat pH 7,4



**Lampiran 13****Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Metanol – NaOH 0,1 N****Lampiran 14****Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Dapar Fosfat pH 7,4**

**Lampiran 15****Kurva Kalibrasi Gliklazid dalam Larutan NaOH 0,1 N**

**Lampiran 16****Data Serapan Gliklazid dalam Metanol – NaOH 0,1N**

Konsentrasi	Serapan
0	0
5	0,212
7,5	0,291
10	0,371
15	0,533
20	0,709

**Lampiran 17****Data Serapan Gliklazid dalam Dapar Fosfat pH 7,4**

Konsentrasi	Serapan
0	0
10	0,201
15	0,312
20	0,401
30	0,616
35	0,72

**Lampiran 18****Data Serapan Gliklazid dalam Larutan NaOH 0,1 N**

Konsentrasi	Serapan
0	0
10	0,173
20	0,406
30	0,669
35	0,798
40	0,914

### Lampiran 19

#### Data Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Emulsi SLN Gliklazid

Serapan	C	W <sub>F</sub>	W <sub>Lipid</sub>	Kadar Gliklazid yang Terjerap (%)	Efisiensi Penjerapan (%)
		(mg)	(mg)		
0,452	12,394	4,958	259,054	2,991	88,528
0,8	22,939	4,588	259,054	2,842	81,926
0,798	22,879	4,576	259,054	2,837	81,710
<b>Rata-rata</b>				2,89	84,055
<b>SD</b>				0,087	3,876

### Lampiran 20

#### Data Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Padatan SLN Gliklazid

Serapan	C (ppm)	W <sub>F</sub> - W <sub>B</sub> (mg)	W <sub>Lipid</sub> (mg)	Kadar Gliklazid yang Terjerap (%)	Efisiensi Penjerapan (%)
0,786	178,043	9,896	507	1,986	74,75
0,721	163,913	10,108	509	2,029	76,19
0,754	171,087	10,001	509	2,008	74,89
<b>Rata-rata</b>				2,007	75,29
<b>SD</b>				0,022	0,79

**Lampiran 21****Data Uji Kelarutan Gliklazid Murni**

<b>Serapan</b>	<b>ppm (<math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>)</b>	<b>Kelarutan (mg/ml)</b>
0,713	64,870	0,649
0,725	65,913	0,659
0,727	66,087	0,661
Rata-rata	65,623	0,656
SD	0,658	0,006

**Lampiran 22****Data Uji Kelarutan SLN Gliklazid**

<b>Serapan</b>	<b>ppm (<math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>)</b>	<b>Kelarutan (mg/ml)</b>
0,727	165,217	16,522
0,752	170,652	17,065
0,781	176,957	17,696
Rata-rata	170,942	17,094
SD	5,875	0,588

## Lampiran 23

### Profil Pelepasan dari Gliklazid

Waktu (menit)	Kadar Gliklazid Terdisolusi (%) (n=3)	
	SLN Gliklazid	Gliklazid
0	0	0
5	48,283 ± 8,288	3,674 ± 0,860
10	64,576 ± 2,337	5,292 ± 0,611
15	74,294 ± 5,775	8,819 ± 0,186
20	86,499 ± 3,363	9,869 ± 0,476
25	99,739 ± 0,310	11,963 ± 0,577
30	99,378 ± 0,309	12,999 ± 0,317
45	99,228 ± 0,216	18,450 ± 2,115
60	99,157 ± 0,166	23,493 ± 3,430
120	99,150 ± 0,166	34,415 ± 5,401
180	99,174 ± 0,270	43,078 ± 7,142
240	99,129 ± 0,209	56,544 ± 2,883

## Lampiran 24

### Kinetika Pelepasan Gliklazid

Sampel	Pengulangan	Orde Nol		Orde Pertama		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
		r	k	r	k	r	k	r	k	n
<b>SLN</b> <b>Gliklazid</b> <b>(25 menit)</b>	1	0,925	0,034	0,995	0,030	0,986	0,186	0,978	0,328	0,212
	2	0,953	0,038	0,927	0,043	0,996	0,205	0,963	0,211	0,327
	3	0,938	0,035	0,991	0,033	0,994	0,191	0,994	0,295	0,240
	rata-rata	0,939	0,036	0,971	0,035	0,992	0,194	0,978	0,278	0,260
	SD	0,014	0,002	0,038	0,007	0,005	0,010	0,015	0,061	0,060

## Lampiran 25

### Profil Permeasi Gliklazid berdasarkan Kadar Gliklazid Terpemeasi tiap Waktu Pengambilan berdasarkan Uji Permeasi selama 4 jam

Waktu (jam)	Kadar Gliklazid Terpermeasi ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )				Kadar Gliklazid Terpermeasi (%)							
	SLN Gliklazid		Gliklazid		SLN Gliklazid		Gliklazid					
0,08	427,757	$\pm$	0,989	134,160	$\pm$	0,367	19,431	$\pm$	4,084	10,221	$\pm$	2,046
0,25	554,012	$\pm$	1,355	168,416	$\pm$	0,503	25,061	$\pm$	5,040	12,857	$\pm$	1,817
0,50	701,899	$\pm$	9,762	209,780	$\pm$	0,699	31,782	$\pm$	2,277	16,004	$\pm$	2,675
0,75	907,824	$\pm$	13,595	262,237	$\pm$	0,952	41,075	$\pm$	3,257	19,989	$\pm$	3,968
1,00	1155,188	$\pm$	17,726	318,246	$\pm$	1,213	52,253	$\pm$	4,300	24,235	$\pm$	5,705
1,50	1358,869	$\pm$	19,178	381,884	$\pm$	1,765	61,521	$\pm$	4,490	29,067	$\pm$	7,457
2,00	1626,745	$\pm$	22,138	481,449	$\pm$	2,474	73,673	$\pm$	5,099	36,591	$\pm$	11,346
2,50	1835,284	$\pm$	16,363	602,552	$\pm$	1,668	83,310	$\pm$	2,045	45,737	$\pm$	16,371
3,00	2075,057	$\pm$	26,799	732,712	$\pm$	2,257	93,999	$\pm$	5,672	55,938	$\pm$	8,810
4,00	2203,934	$\pm$	26,671	872,305	$\pm$	2,257	99,857	$\pm$	5,694	66,528	$\pm$	12,834

## Lampiran 26

### Hasil Perhitungan Fluks Gliklazid berdasarkan Kadar Gliklazid Terpemeasi tiap Waktu Pengambilan berdasarkan Uji Permeasi selama 4 jam

Waktu (jam)	Fluks Gliklazid ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{jam}$ )					
	SLN Gliklazid			Gliklazid		
0,08	5133,086	$\pm$	11,867	1609,916	$\pm$	4,403
0,25	2216,050	$\pm$	5,420	673,662	$\pm$	2,011
0,50	1403,799	$\pm$	1,952	419,559	$\pm$	1,398
0,75	1210,432	$\pm$	1,813	349,649	$\pm$	1,269
1,00	1155,188	$\pm$	1,773	318,246	$\pm$	1,213
1,50	905,912	$\pm$	1,279	254,589	$\pm$	1,176
2,00	813,372	$\pm$	1,107	240,724	$\pm$	1,237
2,50	734,113	$\pm$	0,655	241,021	$\pm$	0,667
3,00	691,686	$\pm$	0,893	244,237	$\pm$	0,752
4,00	550,984	$\pm$	0,692	218,076	$\pm$	0,564

## Lampiran 27

### Contoh Perhitungan Kadar Gliklazid yang Terjerap dan Efisiensi Penjerapan Gliklazid

Persamaan regresi:  $y = 0,023 x + 0,033$

Banyaknya padatan *SLN* gliklazid yang diambil adalah  $\pm 0,5$  g



Pada sistem *SLN* kemudian ditambahkan 5 ml larutan NaOH 0,1 N untuk melarutkan gliklazid yang tidak terjerap. Pelarutan dilakukan sebanyak tiga kali sehingga total larutan menjadi 15 mL



Larutan tersebut kemudian disaring secara kuantitatif dengan menggunakan kertas saring. Kertas saring dijenuhkan terlebih dahulu dengan aquadest, kemudian larutan sampel disaring dan 2 – 3 ml filtrat pertama dibuang.



Filtrat yang dihasilkan dipipet sebanyak 2 ml dan diencerkan dalam labu ukur sampai 10,0 ml dengan NaOH 0,1 N

Keterangan:

$W_T$  = Jumlah total obat pada *SLN*

$W_F$  = Jumlah obat yang terjerap dalam *SLN*, yang dihitung dari nilai konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi medium metanol-NaOH 0,1 N pada analisis spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

$W_B$  = Jumlah obat bebas yang dihitung dari nilai konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi medium NaOH 0,1 N pada analisis spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

$W_{\text{Lipid}}$  = Jumlah dari seluruh bahan yang terkandung dalam *SLN* gliklazid

- Data 1

Serapan yang terukur ( $y$ ) = 0,786

Faktor pengenceran = 5

Jumlah seluruh bahan ( $W_{\text{Lipid}}$ ) = 507 mg

Konsentrasi gliklazid secara teori = 12,739 mg

Konsentrasi gliklazid dalam filtrat ( $W_B$ ) = 2,671 mg

Kadar gliklazid yang terjerap = \_\_\_\_\_

Konsentrasi gliklazid sebenarnya ( $W_T$ ) = \_\_\_\_\_

Efisiensi penjerapan gliklazid = \_\_\_\_\_

(lanjutan)

- Data 2

Serapan yang terukur (y) = 0,721

Faktor pengenceran = 5

Jumlah seluruh bahan ( $W_{Lipid}$ ) = 509 mg

Konsentrasi gliklazid secara teori = 12,789 mg

Konsentrasi gliklazid dalam filtrat = 2,459 mg

Kadar gliklazid yang terjerap = \_\_\_\_\_

Konsentrasi gliklazid sebenarnya ( $W_T$ ) = \_\_\_\_\_

Efisiensi penjerapan gliklazid = \_\_\_\_\_

- Data 3

Serapan yang terukur (y) = 0,754

Faktor pengenceran = 5

Jumlah seluruh bahan ( $W_{Lipid}$ ) = 509 mg

Konsentrasi gliklazid secara teori = 12,789 mg

Konsentrasi gliklazid dalam filtrat = 2,566 mg

Kadar gliklazid yang terjerap = \_\_\_\_\_

Konsentrasi gliklazid sebenarnya ( $W_T$ ) = \_\_\_\_\_

Efisiensi Penjerapan = \_\_\_\_\_

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar gliklazid yang terjerap} &= \frac{(1,986 + 2,029 + 2,008)\%}{3} \\ &= 2,007 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata efisiensi penjerapan gliklazid} &= \frac{(74,75 + 76,191 + 74,895)\%}{3} \\ &= 75,29 \% \end{aligned}$$

Jadi rata-rata efisiensi penjerapan gliklazid dan kadar gliklazid yang terjerap dalam padatan *SLN Gliklazid* adalah sebesar 75,29 % dan 2,007 %.

## Lampiran 28

### Contoh Perhitungan Kelarutan Gliklazid dalam Medium Aquadest

Persamaan regresi:  $y = 0,023 x + 0,033$

Banyaknya SLN gliklazid padat yang diambil adalah  $\pm 1,5$  g  
(mengandung 30,11 mg gliklazid)

↓  
SLN padat dimasukkan kedalam gelas piala yang telah mengandung 100 mL aquadest dan diaduk dengan pengaduk magnetik selama 1 jam (60 menit) pada suhu  $37^\circ\text{C} \pm 0,5$

↓  
Larutan tersebut kemudian disaring secara kuantitatif dengan menggunakan kertas saring. Kertas saring dijenuhkan terlebih dahulu dengan aquadest, kemudian larutan sampel disaring dan 2 – 3 ml filtrat pertama dibuang.

↓  
Filtrat yang dihasilkan kemudian dipipet sebanyak 5 ml dan diencerkan dalam labu ukur sampai 10,0 ml dengan NaOH 0,1 N

- Data 1

Serapan yang terukur ( $y$ ) = 0,727

Faktor pengenceran = 5

Konsentrasi gliklazid yang terukur = 165,217 ppm

Kelarutan gliklazid = \_\_\_\_\_

- Data 2

Serapan yang terukur ( $y$ ) = 0,752

Faktor pengenceran = 5

Konsentrasi gliklazid yang terukur = 170,652 ppm

Kelarutan gliklazid = \_\_\_\_\_

- Data 3

Serapan yang terukur ( $y$ ) = 0,781

Faktor pengenceran = 5

Konsentrasi gliklazid yang terukur = 176,957 ppm

Kelarutan gliklazid = \_\_\_\_\_

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata kelarutan (\%)} \text{ gliklazid} &= \frac{(16,522 + 17,065 + 17,696)\%}{3} \\ &= 17,094 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

Jadi rata-rata kelarutan gliklazid dalam SLN Gliklazid adalah sebesar 17,094 mg/ml

## Lampiran 29

### Contoh Perhitungan Kadar Gliklazid Terlarut/terdisolusi/terpermeasi

Rumus untuk menghitung kadar obat terdisolusi/terpermeasi:

$$W_t = (V_1 \cdot C) + (V_2 \cdot \sum_{10}^{t(n-1)} C)$$

$$\% \text{ Disolusi} = \frac{W_t}{W_o} \times 100 \%$$

Keterangan :

$W_t$  = Jumlah kumulatif gliklazid yang terdisolusi pada waktu t

$W_o$  = Banyaknya gliklazid yang terdapat dalam SLN

C = Konsentrasi gliklazid yang terdisolusi pada waktu t

$V_1$  = Volume medium disolusi

$V_2$  = Volume cairan yang dipipet

Data pelepasan gliklazid dari SLN pada medium dapar fosfat

Waktu (menit)	Serapan	C	W
5	0,457	55,821	11,164
10	0,490	59,734	12,505
15	0,535	65,242	14,204
20	0,621	75,604	16,929
25	0,722	84,275	20,120

Volume medium difusi = 200 mL ; volume sampel = 10 ml

Jumlah SLN sebenarnya = 20,15 mg

Faktor pengenceran = 2

Persamaan regresi linier gliklazid dalam medium dapar pH 7,4:

$$y = 0,0207 x + 0,0048$$

$$C_5 = \{(0,457 - 0,0048)/0,0207\} \times 2,5 = 55,821 \mu\text{g/ml}$$

$$W_5 = (200 \text{ ml} \times 55,821 \mu\text{g/ml}) = 11164,251 \mu\text{g} \rightarrow 11,164 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Disolusi} = 11,164 \text{ mg}/20,15 \text{ mg} \times 100\% = 55,411 \%$$

$$C_{10} = \{(0,490 - 0,0048)/0,0207\} \times 2,5 = 59,734 \mu\text{g/ml}$$

$$W_{10} = (200 \text{ ml} \times 59,734 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 55,821 \mu\text{g/ml}) = 12505,072 \mu\text{g} \rightarrow$$

$$12,505 \text{ mg}$$

(lanjutan)

$$\% \text{ Disolusi} = 12,505 \text{ mg}/20,15 \text{ mg} \times 100\% = 62,066 \% \\ C_{15} = \{(0,535 - 0,0048)/0,0207\} \times 2,5 = 65,242 \mu\text{g/ml}$$

$$W_{15} = (200 \text{ ml} \times 65,242 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 59,734 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 55,821 \mu\text{g/ml}) = 14203,865 \mu\text{g} \rightarrow 14,204 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Disolusi} = 14,204 \text{ mg}/20,15 \text{ mg} \times 100\% = 70,498 \%$$

$$C_{20} = \{(0,621 - 0,0048)/0,0207\} = 75,604 \mu\text{g/mL}$$

$$W_{20} = (200 \text{ ml} \times 75,604 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 65,242 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 59,734 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 55,821 \mu\text{g/ml}) = 16928,744 \mu\text{g} \rightarrow 16,929 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Disolusi} = 16,929 \text{ mg}/20,15 \text{ mg} \times 100\% = 84,022 \%$$

$$C_{25} = \{(0,722 - 0,0048)/0,0207\} = 84,275 \mu\text{g/mL}$$

$$W_{25} = (200 \text{ ml} \times 87,778 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 75,604 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 65,242 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 59,734 \mu\text{g/ml}) + (10 \text{ ml} \times 55,821 \mu\text{g/ml}) = 20119,565 \mu\text{g} \rightarrow 20,120 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Disolusi} = 20,120 \text{ mg}/20,15 \text{ mg} \times 100\% = 99,859\%$$

### Lampiran 30

#### Contoh Perhitungan Nilai Koefisien Pelepasan dari Beberapa Model Kinetika

Persamaan Umum	$y = bx + a$
Orde nol	$Q_t/Q_o = k_o t$
Orde Satu	$\ln Q_t/Q_o = k_1 t$
Higuchi	$Q_t/Q_o = k_H t^{1/2}$
Korsmeyer-Peppas	$\ln Q_t/Q_o = n \ln t + \ln k$

Dengan mengolah data hasil disolusi menjadi persamaan  $y = bx + a$ , maka dapat dihitung nilai-nilai koefisien sebagai berikut:

$$k_o, k_1 \text{ dan } k_H = b$$

$$\ln k = a \rightarrow k = e^a$$

$$n = b$$

Contoh perhitungan Model Kinetika Korsmeyer-Peppas dari SLN Gliklazid:

Waktu (menit)	$Q_t/Q_o$	$\ln t (x)$	$\ln Q_t/Q_o (y)$
5	0,483	1,609	-0,728
10	0,646	2,303	-0,437
15	0,743	2,708	-0,297
20	0,865	2,996	-0,145
25	0,997	3,219	-0,003

$$y = 0,438 x - 1,445$$

$$n = b = 0,438$$

$$\ln k = -1,445 \rightarrow k = 0,236$$

## Lampiran 31

### Contoh Perhitungan Fluks Gliklazid dari Sediaan SLN

Data pelepasan gliklazid dari SLN pada medium dapar fosfat

<b>Waktu (jam)</b>	<b>C (<math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>)</b>	<b>W (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>kadar terpermeasi</b>
5	51,787	621,449	15,304
15	68,599	874,976	21,547
30	96,812	1282,126	31,573
45	122,995	1693,140	41,695
60	152,754	2173,237	53,517

Kecepatan permeasi gliklazid (fluks; J,  $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ jam}^{-1}$ ) dihitung dengan rumus:

$$J = M/(S \times t)$$

Dimana:

J = Fluks ( $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ jam}^{-1}$ )

M = Jumlah kumulatif gliklazid yang melalui membran ( $\mu\text{g}$ )

S = Luas area difusi ( $\text{cm}^2$ )

t = Waktu (jam)

Diketahui: (data kadar gliklazid terpermeasi menit ke-5)

M = 621,449  $\mu\text{g}$

S = 1,766  $\text{cm}^2$

t = 0,08 jam

$$J = \underline{\hspace{10em}}$$

$$= 4222,161$$

## Lampiran 32

### **Uji Normalitas menurut Shapiro-Wilk terhadap Data Persen Kadar Kumulatif Gliklazid Terdisolusi (SPSS 18.0)**

Tujuan : untuk mengetahui apakah data persen kumulatif gliklazid terdisolusi terdistribusi normal

Hipotesa :

$H_0$  : data persen kumulatif gliklazid terdisolusi terdistribusi normal

$H_a$  : data persen kumulatif gliklazid terdisolusi tidak terdistribusi normal

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$  maka  $H_0$  diterima

Jika nilai signifikansi  $< 0,05$  maka  $H_0$  ditolak

<b>Tes Normalitas</b>			
<b>Shapiro-Wilk</b>			
	Statistik	Derajat Kebebasan	Signifikansi
SLN Gliklazid	0,713	11	0,001
Gliklazid Murni	0,871	11	0,08

Kesimpulan: Data persen kumulatif gliklazid terdisolusi tidak terdistribusi normal  
sehingga analisa data dilanjutkan dengan uji wilcoxon

### Lampiran 33

#### **Uji Analisis Wilcoxon terhadap Data Persen Kadar Kumulatif Gliklazid Terdisolusi (SPSS 18.0)**

Tujuan : untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan data persen kadar gliklazid terdisolusi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni

Hipotesa :

$H_0$  : data persen kadar gliklazid terdisolusi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni tidak berbeda secara bermakna

$H_a$  : data persen kadar gliklazid terdisolusi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni berbeda secara bermakna

#### Pengambilan keputusan

Jika nilai signifikansi  $\leq 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada taraf signifikan 5% ( $H_0$  ditolak)

Jika nilai signifikansi  $> 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada taraf signifikan 5% ( $H_0$  diterima)

<b>Uji Wilcoxon</b>	
<b>Signifikansi</b>	0,003

Kesimpulan : Data persen kadar gliklazid yang terdisolusi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni memiliki perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

### Lampiran 34

#### **Uji Normalitas menurut Shapiro-Wilk terhadap Data Persen Kadar Kumulatif Gliklazid Terpermeasi (SPSS 18.0)**

Tujuan : untuk mengetahui apakah data persen kumulatif gliklazid terpermeasi terdistribusi normal

Hipotesa :

- Ho : data persen kumulatif gliklazid terpermeasi terdistribusi normal  
 Ha : data persen kumulatif gliklazid terpermeasi tidak terdistribusi normal

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$  maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi  $< 0,05$  maka Ho ditolak

<b>Tes Normalitas</b>			
<b>Sampel</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Statistik</b>	<b>Derajat Kebebasan</b>	<b>Signifikansi</b>
SLN Gliklazid	0,943	10	0,586
Gliklazid Murni	0,924	10	0,39

Kesimpulan: Data persen kumulatif gliklazid terdisolusi terdistribusi normal sehingga analisa data dapat dilanjutkan dengan uji t-test

### Lampiran 35

#### **Uji Analisis T-test terhadap Data Persen Kadar Kumulatif Gliklazid Terpermeasi (SPSS 18.0)**

Tujuan : untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan data kadar gliklazid terpermeasi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni

Hipotesa :

$H_0$  : data kadar gliklazid terpermeasi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni tidak berbeda secara bermakna

$H_a$  : data kadar gliklazid terpermeasi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni berbeda secara bermakna

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi  $\leq 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada taraf signifikan 5% ( $H_0$  ditolak)

Jika nilai signifikansi  $> 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada taraf signifikan 5% ( $H_0$  diterima)

<b>Uji t-test</b>	
<b>Signifikansi</b>	0,000

Kesimpulan : Data persen kadar gliklazid yang terpermeasi antara *SLN* gliklazid dan gliklazid murni memiliki perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

## Lampiran 36

### Sertifikat Analisa Gliklazid

<b>Certificate of Analysis</b>				
Item Number : C-30240-00 Description : GLICLAZIDE MICRONIZED Batch No. : 400140515		Manufacturing Date : 01-AUG-12 Expired Date : 31-JUL-17		
NUMBER	CHARACTERISTIC	SPECIFICATION	ACTUAL RESULTS	MEASURE
10	Appearance	A white or almost white crystalline, powder.	Conform	
20	Solubility	Practically insoluble in water, freely soluble in methylene chloride, sparingly soluble in acetone, slightly soluble in ethanol 96%	Conform	
30	Infrared absorption spectrophotometry	Positive	Positive	
40	Loss on drying	<= 0.25 %	0.07	%
50	Melting range	162 deg C - 166 deg C	165	deg C
60	Sulphated ash	<= 0.1 %	0.0	%
70	Heavy metals	<= 10 ppm(Method II)	<= 10	ppm
80	Assay	99.0 % - 101.0 % (calculated on the dried basis)	100.4	%

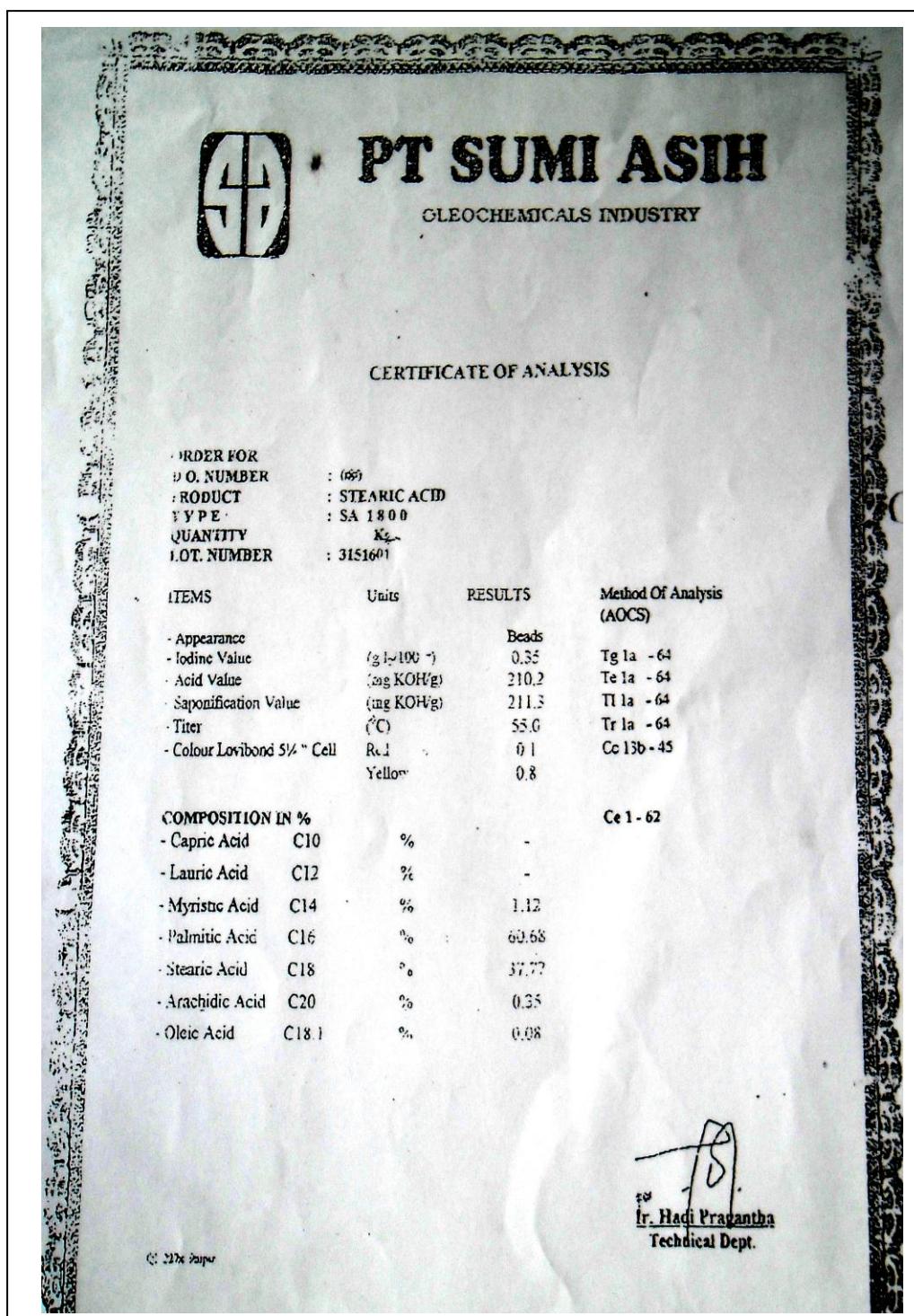
30 October 2012


  
 Effendi S.Si, Apt  
 Quality Manager

DIS - FORM - QAS - 071 (Rev.00) Effective Date 2007

## Lampiran 37

## Sertifikat Analisa Asam Stearat



## Lampiran 38

## Sertifikat Analisa Tween 80

**HASIL PEMERIKSAAN**

Nama Bahan : Tween 80  
 Batch : J 0817/11 (2193)  
 Ex : Kao  
 Grade : farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan F.I / IV	Hasil
Pemerian	Cairan kental,jernih, berwarna kuning muda hingga coklat, berbau khas lemah	cairan,kuning muda,jernih, bau khas lemah
Kelarutan	Larut dalam air, dalam etanol 95%, dalam etil asetat P, tidak larut dalam minyak mineral	sesuai
Identifikasi	Menurut cara identifikasi pada F.I. ed.IV	sesuai
pH	6 - 8	7.0
Bobot Jenis	1,06 g/ml – 1,09 g/ml	1,076
Bilangan asam	Tidak lebih dari 2,2	0.84
Bilangan sabun	45-55	49.50

Kesimpulan : Memenuhi syarat

Pemeriksa

Tatang Suhartono  
Analisis



HEAD OFFICE : Jl. Cigene Baru No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (Hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : ptbrataco@ptbrataco.com  
 BRANCH OFFICE :  
 • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No.5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290113 (hunting 3 lines) Fax. : (021) 6292430  
 • BANDUNG : Jl. Radenwan Raya Blok Y No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4522692-04 Fax. (021) 4522615  
 • SEMARANG : Jl. Kalidereng No. 8, Bending Tipe. (022) 8077129, 6030609 Fax. (022) 6031979  
 • YOGYA : Jl. Tendean Jakarta No. 77G, Bandung Tipe. (022) 7102771, 7510308-309 Fax. (022) 7210310  
 • SURABAYA : Jl. Braga, Kediri No. 19 Telp. (034) 8416272, 8416999 Fax. (024) 8414900  
 • MEDAN : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 5322647, 53226057 Fax. (031) 6310465  
 SUB BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDDOARJO, DENPASAR, PALEMBANG, MAKASSAR

The Nationwide Chemicals and Ingredients Distributor  
 FORM : PT.BRATACO FAX NO. : 021-8934659. 11 Jan. 2012 9:32PM - PI

## Lampiran 39

## Sertifikat Analisa Etanol

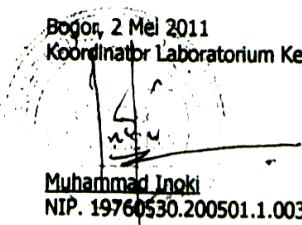
DM : PT BRATACO	FAX NO. : 0218934659	9 Feb. 2012 12:09PM P1
WP : Nurik RMTY	Up AH April 29/12 - 2011	Up: Bayar 10/2 2012
DL : Nov 11	Up. Pujji Solo 29/12/2011	
<b>PT. BRATACO</b>		
<b>HASIL PEMERIKSAAN</b>		
Name	: Alcohol 96%	
No Batch	: J 0961/11 (07102011)	
Ex	: Lokal	
ED	: 09/2014	
Grade	: Farma	
Jenis Pemeriksaan	Syarat F1 IV	Hasil
Pemerian	Cairan jernih mudah menguap, tidak berwarna, bau khas, mudah terbakar	sesuai
Kelar...	Bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organic	sesuai
Identifikasi	5 ml etanol tambah beberapa tetes iod 0.1 N tambah 5 ml NaOH 1N; Endapan kuning iodoform (bau)	sesuai
Methanol test	Tidak ungu	negatif
Zat T... Dalam Ai.	tetap jernih setelah ditambahkan air dengan volume sama	sesuai
Berat Jenis	0.800 - 0.813 g/ml	0,802 g/ml
Kadar	94.9 -98.1%	97.7 %
Indeks Bias	1.360 - 1.362	1.362
<b>Kesimpulan : Memenuhi Syarat</b>		
Pemeriksa  <i>Suhartono</i> Analisis		
HEAD OFFICE : V. Cileung Barat No. 78 Jakarta Pusat 10160. Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : bcaek@brataco.com		
BRANCH OFFICE :	<ul style="list-style-type: none"> <li>* JAKARTA : Jl. Mengka Besar V No. 6, Jakarta 11180 Telp. (021) 6590113 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6292430</li> <li>* Jl. Boulevard Raya Blok T82 No. 5, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584 6892-94 Fax. (021) 453.2618</li> <li>* Jl. Kelantang No. 8, Bandung Telp. (022) 8077129, 8 030807, 6030808 Fax. (022) 0331979</li> <li>* Tamanan, Jakarta No. 77G Bandung Telp. (022) 7101277, 7210308 - 300 Fax (022) 7210310</li> </ul>	

## Lampiran 40

### Sertifikat Analisa Aqua destilasi

 <b>PEMERINTAH KOTA BOGOR</b> <b>DINAS KESEHATAN</b> <b>UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah</b> <small>Jl. Kesehatan No. 3 Tanah Sareal Kota Bogor 16161 Telp/Fax : (0251) 8385082 Terakreditasi ISO/IEC 17025:2005; Register Akreditasi No. LP-443-IDN</small>	 <small>VAKIN Komite Akreditasi Nasional Laboratorium Pengujian LP - 443 - IDN</small>	
F/T9-1.0.2KM/11/07	<b>LAPORAN HASIL PENGUJIAN</b>	Hal 1 dari 2 halaman
<p>Nomor Laporan Hasil Pengujian : 141/UPTD Labkesda-KM/5/11          Nomor Laboratorium : 26/KM/4/11          Nama Pemohon : PT BRATACO          Alamat : Jl. Paledang No 25          Jenis Pengujian : Air          Tanggal Penerimaan Contoh Uji : 11 April 2011          Kondisi Contoh Uji : Dikemas dalam Botol Plastik 1L          Tanggal Selesai Analisis : 30 April 2011          Tanggal Terbit Laporan Hasil Pengujian : 2 Mei 2011</p> <p style="text-align: right;">           Koordinator Mutu UPTD Labkesda Kota Bogor  <b>Hendra Susanto, S.Si</b>          NIP : 19760117.200501.1.005       </p>		

(lanjutan)

 <p><b>PEMERINTAH KOTA BOGOR</b>  <b>DINAS KESEHATAN</b>  <b>UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah</b>          Jl. Kesehatan No. 3 Tanah Sareal Kota Bogor 16161 Telp/ Fax : (0251) 8386082          Terakreditasi ISO/IEC 17025:2005; Register Akreditasi No. LP-443-IDN</p>			
F/T9-1.0.2KM/11/07	<b>LAPORAN HASIL PENGUJIAN</b>		Hal 2 dari 2 halaman
No. Laporan Hasil Pengujian : 141/UPTD Labkesda-KM/5/11 Identitas Contoh Uji : Air Bersih			
Parameter	Satuan	Hasil Pemeriksaan	Metode
<b>Fisika</b>			
1. Bau**	-	1	Organoleptik
2. Kekeruhan**	NTU	<1	Spectroquant NOVA
3. Konduktivitas**	µS	2,026	Elektrometri
4. Warna	Skala TCU	<5	Visual
<b>Kimia</b>			
1 Alkalinitas**			
- HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	6,1	Titrimetri
- CO <sub>2</sub>	-	3,14	Titrimetri
2 Klorida (Cl <sup>-</sup> )	-	8,14	Titrimetri
3 COD**	mg/L	29,63	Titrimetri Reflik Tertutup
4 Derajat Keasaman (pH)	mg/L	4,56	Potensiometri
5 Sulfat (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	-	<10	Spektrofotometri
<b>Mikrobiologi</b>			
1. Total Bakteri **	CFU/mL	1,59x10 <sup>4</sup>	MPN
2. <i>E. Coli</i>	MPN 100mL	<3	MPN
3. <i>Salmonella Sp</i> **		Negatif	Blaikan
Keterangan: • (***) di luar lingkup akreditasi • Pengambilan sampel diluar tanggung jawab UPTD Labkesda Kota Bogor			
Bogor, 2 Mei 2011 Koordinator Laboratorium Kesehatan Masyarakat  <u>Muhammad Inoki</u> NIP. 19760530.200501.1.003			

## Lampiran 41

### Sertifikat Analisa Laktosa

<b>PT.BRATACO</b>		<b>Certified</b>
<b>HASIL DE PENJALASAN</b>		
Nama Bahan	laktosa	
No Batch	1010771100040017	
Ex	12/07/2018	
ED	07/08/2018	
Grade	A	
Jenis Pen	white	penjelasan Fisik
Pengaruh	tidak ada adanya pengaruh pada laktosa	tidak ada
Kedutan	tidak adanya kedutan atau ubagan pada laktosa dalam bentuk halus dan bersifat benar dengan karakteristiknya	tidak ada
Transparansi	tidak adanya transparansi pada laktosa kecuali terdapat perbedaan pada ukuran sisa yang menggunakan	tidak ada
	Larutan jenuh tambah NaOH, panas dan dingin	
Koheribilitas dan warna larutan	tidak dalam 10 ml air mendidih; terbentuk kristal jernih, tidak berwarna	tidak ada
Keasamitasan	> 1.5 mL NaOH 0.1M	tidak ada
Kadar Air	Tidak lebih dari 5,5%	tidak ada
pH (10% EA)	4,0 - 6,5	tidak ada
<i>Kesimpulan / Maksud Uyut</i>		
<i>Petunjuk</i>		
<i>Tatated Sulendro</i>		
HEAD OFFICE	Jl. Cikapayang No. 7B, Jakarta Pusat 10121, Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. (021) 3522724, E-mail: braw@brataco.com	
BRANCH OFFICE	<ul style="list-style-type: none"> <li>* JAKARTA : Jl. Ahmad Yani V No.5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6790113 (hunting) 3 line/Fax. (021) 3329333</li> <li>* BANDUNG : Jl. Ahmad Yani Blok 102 No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 45940002/45940003/45940004 (022) 227201</li> <li>* SEMARANG : Jl. Kebon Jeruk No. 8, Bandung Telp. (022) 607728, 6000999 Fax. (022) 610117</li> <li>* YOGYAKARTA : Jl. Taman Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210304-309 Fax. (022) 7210310</li> <li>* DEPOK : Jl. Pangeran Diponegoro No. 19 Telp. (024) 8415272, 8415999 Fax. (024) 8414991</li> <li>* DENPASAR : Jl. Pemuda No. 45, Yogyakarta Telp. (0274) 542340, 515370 Fax. (0274) 5423110</li> <li>* SURABAYA : Jl. Dr. Soeharto No. 200, Surabaya Telp. (031) 8322688, 8329977 Fax. (031) 8311485</li> <li>* MAKASSAR : Jl. Dr. Ir. Soekarno, KM 8, Makassar Telp. (0916) 414872/4123166 Fax. (0916) 4123166</li> </ul>	
SALES OFFICE	JL. HAMMAMAHUH, BLOK D, GARDEN GARDEN TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TULUNGAGUNG, JAWA TIMUR 61311	
The Worldwide Chemicals and Ingredients Distributor		

