

BAB VI Hasil dan Pembahasan

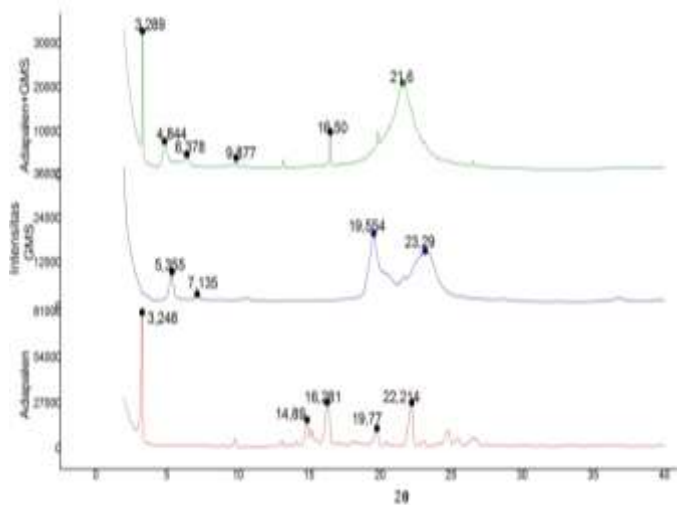
VI.1 Uji Pendahuluan

VI.1.1 Penyiapan dan Pemeriksaan Bahan

Penelitian diawali dengan melakukan pengumpulan bahan baku berupa zat aktif yang diperoleh dari industri farmasi PT. Zat aktif yang diperoleh kemudian dilakukan pemeriksaan kelengkapan data dan informasi dari *certificate of analysis (COA)* Adapalen. Dilakukan hal tersebut untuk memastikan bahwa zat aktif yang digunakan benar adapalen.

VI.1.2 X-RD (X-Ray Diffraction)

Analisis X-RD digunakan untuk mengetahui perubahan kristalinitas zat aktif dan lipid padat GMS. Bahan yang diuji berupa lipid padat GMS tunggal, adapalen tunggal, dan campuran adapalen + GMS. Pola difraksi puncak intensitas tinggi menandakan sifat kristalnya. Puncak deformasi menandakan obat telah hilang kristalinitasnya dan dirubah kedalam bentuk amorf(Shamma & Aburahma, 2014).

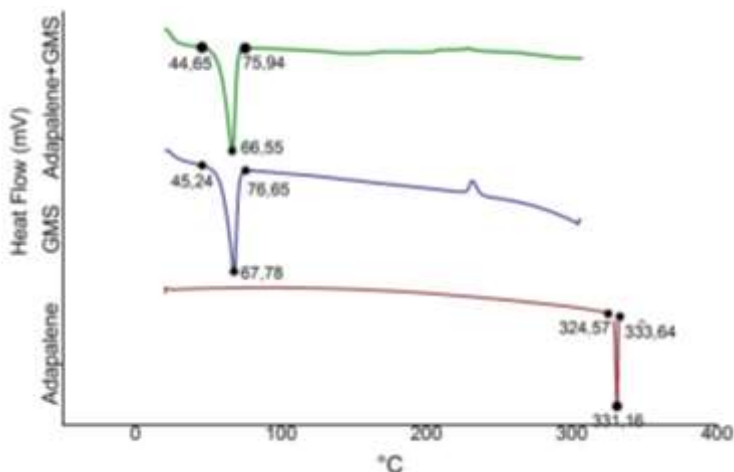


Gambar VI 1: Difraktogram X-RD adapalene, GMS, dan adapalene-GMS

Berdasarkan hasil difraktogram adapalene memiliki beberapa puncak pada 3,248; 14,89; 16,281; 19,77 dan 22,214 yang spesifik tajam dan menandakan bahwa adapalene memiliki sifat kristal. Untuk lipid padat GMS pada 5,355; 19,554 dan 23,29 sehingga memiliki sifat yang amorf dan campuran adapalene + GMS memiliki intensitas 3,258; 4,844; 16,50 dan 21,6. Hasil difraktogram adapalene+GMS memiliki puncak deformasi yang menandakan bahwa telah terjadi perubahan puncak. Adapalene telah terdispersi secara molekuler(melarut) dalam lipid dan obat telah kehilangan kristalnya ke keadaan amorf.

VI.1.3 Uji DSC (Differential Scanning Calorimetry)

DSC merupakan metode yang digunakan untuk mengevaluasi keadaan fisik matriks lipid yang mempengaruhi sifat fisikokimia dan stabilitas termodinamika dari distribusi NLC.

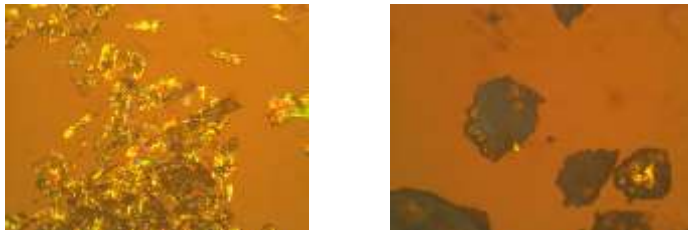


Gambar VI 2: Termogram DSC adapalene, cutina/GMS, dan adapalene-GMS

Hasil pengukuran untuk adapalene menunjukkan sifat endotermik dengan puncak titik leleh 349,81°C. Untuk termogram GMS menunjukkan kurva endotermik pada suhu onset 45,24°C-76,65°C dengan puncak titik leleh 67,78°C. Untuk termogram adapalene+GMS membentuk kurva endotermik pada pengaruh suhu onset 20,35°C-75.94°C dengan puncak titik leleh 66,55°C. Hasil ini menunjukkan bahwa adapalene sepenuhnya telah terserap kedalam matriks lipid (Tofani dkk., 2016).

VI.1.4 Uji HSM (*Hot Stage Microscopy*)

Metode HSM merupakan pengujian yang paling tepat dikombinasikan dengan data DSC. HSM juga digunakan untuk menyajikan materi melebur dan tidak melelehnya lipid dan bahan aktif dengan pengamatan secara visual.



(a)

(b)

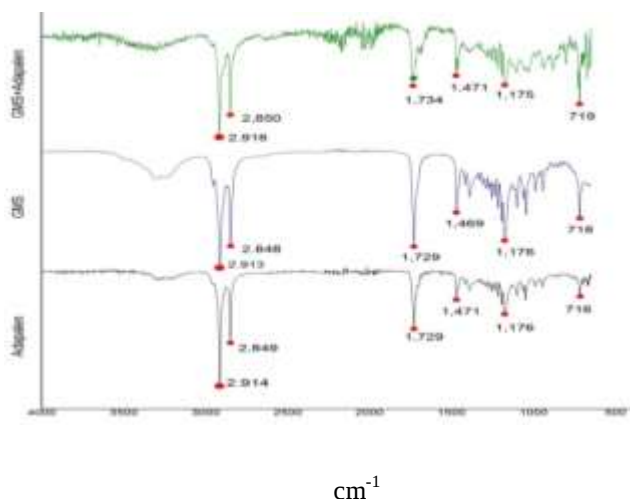
Gambar VI 3: HSM (a) adapalen dan (b) GMS adapalen

Gambar tersebut menunjukkan pebesaran dari GMS dan bahan aktif. Terlihat yang mengkilat tersebut merupakan kristalin dari bahan aktif sedangkan yang berwarna gelap merupakan lipid padat. Bahan aktif tersebut telah terserap didalam lipid pembawanya yang dapat berinteraksi dengan kulit ketika lipid padat tersebut telah melarut pada suhu tubuh (Phatsawee dkk., 2019).

VI.1.5 Uji FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*)

Uji FTIR dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya interaksi molekul antara Adapalen dan GMS. Adanya puncak spektrum baru dengan ditandai puncak serapan baru maka pada sampel akan terjadi

interaksi molekular yang menunjukkan bahwa campuran bahan tersebut inkompatibilitas (Tofani dkk., 2016).



Gambar VI 4: Spektra FTIR dari adapalen, GMS dan Adapalen-GMS

Bahan yang diuji terdiri dari adapalen, GMS, dan campuran adapalen-GMS. Adapalen menunjukkan spektrum puncak tajam di 2914, 2849, 1729, 1471, 1176, 716 cm^{-1} . Spektrum puncak GMS terletak pada 2913, 2848, 1729, 1469, 1176, 718 cm^{-1} . Spektrum campuran adapalen+GMS terletak pada 2916, 2850, 1734, 1471, 1175, 719 cm^{-1} . Campuran tersebut diamati dan tidak terdapat puncak spektrum baru. Seperti yang diharapkan, kondisi ini menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara komponen dan menunjukkan hasil yang kompatibel (Phatsawee et al., 2019).

VI.1.6 Uji Fenomena Kelarutan Dan Solidifikasi

Dilakukan uji terlarut dan tersolidifikasi kembali pada suhu ruang dari lipid padat dan lipid cair yang akan digunakan yaitu lipid padat GMS dan lipid cair asam oleat dan myritol.

Formula umum NLC terdiri dari lipid padat, lipid cair dan surfaktan. Lipid yang digunakan merupakan lipid yang biokompatibel, biodegradabel dan stabil secara kimia. GMS telah banyak digunakan dalam kosmetik, makanan, dan formulasi farmasi. Ini juga digunakan sebagai pengemulsi nonionik, stabil, emolient.

Lipid padat dan lipid cair dilelehkan dan dibiarkan hingga tersolidifikasi kembali pada suhu ruang. Lipid cair yang akan digunakan berupa asam oleat dan myritol. Dalam pemilihan lipid cair dilihat dari kemampuan larut dan dapat tersolidifikasi kembali.

Tabel VI 1: Fenomena larut lipid padat dan lipid cair

Bahan		Pengamatan	
Lipid Padat	Lipid Cair	Terlarut	Tersolidifikasi
GMS	Asam	√	√
	Oleat		
	Myritol	√	√

Setelah dilakukan uji fenomena larut dan tersolidifikasi kembali, kemudian dilakukan uji fenomena larut dan tersolidifikasi kembali terhadap lipid padat dan lipid cair yang ditambahkan dengan

adapalene. Adapalene tersebut harus mampu larut dan tersolidifikasi didalam lipid padat dan lipid cair.

Tabel VI 2: Fenomena larut lipid padat dan zat aktif adapalene

Bahan			Pengamatan	
Lipid Padat	Lipid Cair	Bahan Aktif	Terlarut	Tersolidifikasi
GMS	Asam	Adapalene	√	√
	Oleat			
	Myritol		√	√

Keberadaan lipid cair mampu meningkatkan efisiensi penjejakan obat. Hal ini dikarenakan lipid cair menyebabkan kerusakan kristal dalam lipid padat dan terjadi ketidak sempurnaan matrik kristal sehingga akan memberikan cukup ruang yang lebih besar untuk memuat bahan aktif(Shah dkk., 2017).

Kelarutan zat aktif adapalene pada lipid yang akan digunakan berpengaruh terhadap jumlah obat yang akan terserap dan efisiensi enkapsulasi. Kompatibilitas antara lipid padat dan bahan aktif diperlukan formula yang diperoleh stabil. Karena pada beberapa kombinasi menunjukkan pemisahan fasa. Pasangan lipid yang akan digunakan adalah lipid yang mampu melarutkan bahan aktif. Oleh sebab itu pasangan lipid tersebut akan digunakan selanjutnya (Shah dkk., 2017).

VI.1.6 Optimasi Surfaktan

Tabel VI 3: Optimasi Surfaktan

Bahan Aktif	Bahan	Pengamatan	
	Surfaktan	Terlarut	Tidak Terlarut
Adapalene	Cremophore® RH40	-	√
	Plantacare®	-	√
	Tegocare®	-	√

Dalam pembuatan NLC, penggunaan surfaktan sangat enting karena untuk mendispersikan fase yang tidak dapat bercampur dengan fase yang lain. Surfaktan juga dapat mencegah terjadinya agregasi dengan membentuk lapisan di atas permukaan sehingga akan stabil.

Surfaktan Cremophore RH40, Plantacare dan Tegocare merupakan surfaktan yang nonionik. Surfaktan nonionik memiliki toksisitas atau potensi iritasi yang rendah dibandingkan dengan yang ionik. Partikel-partikel distabilkan oleh tolakan sterik yang cukup sensitif terhadap konsentrasi elektrolit sehingga interaksi antar partikel dapat berkurang (Tamjidi dkk., 2013)

Pemilihan surfaktan dilihat berdasarkan tidak melarutnya bahan aktif didalam surfaktan karena fungsi dari surfaktan untuk menstabilkan dan menghindari pembentukan globul dengan menurunkan energi bebas yang terbentuk karena pengecilan ukuran partikel. Apabila zat aktif larut dalam surfaktan maka surfaktan mampu mendorong perpindahan zat aktif sehingga akan terjadi perpindahan zat aktif ke

matriks surfaktan. Dari pengamatan yang telah dilakukan adapalen tidak dapat larut dalam surfaktan sehingga Cremophore®, Plantacare® dan Tegocare® akan digunakan ketahap selanjutnya.

VI.2 Formulasi NLC

VI.2.1 Pembuatan NLC

NLC adapalen terdiri dari lipid padat, lipid cair, surfaktan, aquadeion dan zat aktif. Namun sebelum melakukan pembuatan NLC adapalen dilakukan pemilihan basis NLC. Basis NLC sendiri hanya terdiri dari lipid padat, lipid cair, surfaktan dan aquadeion.

Lipid padat yang digunakan sebanyak 4,5%. Secara umum rata-rata ukuran partikel meningkat ketika lipid padat yang digunakan lebih tinggi. Namun ketika konsentrasi lipid padat meningkat lebih dari 5% maka akan memberika ukuran partikel yang lebih besar dan distribusi ukuran partikel yang lebih luas(Shah dkk., 2017). Pada penelitian (Hang dkk., 2008), GMS konsentrasi 4,5% memberikan keadaan yang lebih baik dibandingkan konsentrasi 5%. Sedangkan lipid cair yang digunakan sebanyak 2% karena berdasarkan penelitian (Tofani dkk., 2016) dengan konsentrasi 2% tidak merubah konsistensi dari lipid padat karena jika diberikan lipid cair yang berlebih maka akan menyebabkan eksplusif. NLC sendiri telah menjadi nanocarier yang menarik karena mampu distabilkan dengan konsentrasi surfaktan yang sedikit dengan diikuti efisiensi penjejakan dan profil pelepasan obat yang diinginkan. Bahkan bahkan NLC sangat stabil dengan menggunakan konsentrasi 1%(Shah dkk., 2017)

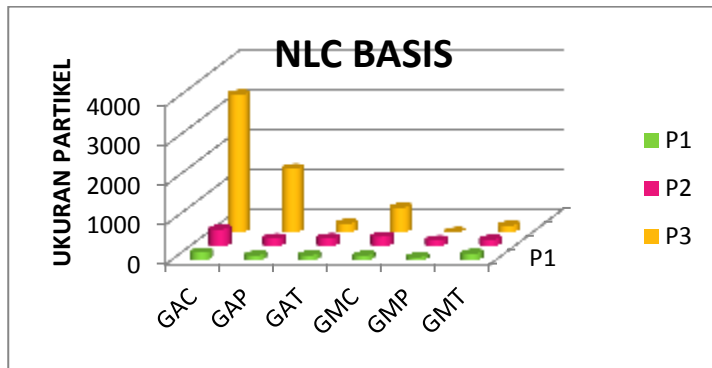
Teknik homogenisasi panas membentuk preemulsi. Teknik ini lebih disukai karena kelebihanannya seperti skalabilitas, menghindari pelarut organik, peningkatan kapasitas pemuatan obat (Shah dkk., 2017) Selanjutnya diikuti dengan sonikasi. sonikasi memanfaatkan getaran mekanik hasil gelombang ultrasonik yang menyebabkan kavitasi. Selama proses sonikasi akan timbul gelembung uap yang dapat pecah dengan keras pada ukuran kritis tertentu. Pecahnya gelembung uap ini menimbulkan energi yang sangat tinggi sehingga dapat membuat partikel berukuran mikro pecah menjadi berukuran nanometer (Gupta dan Kompella, 2006).

VI.2.2 Karakterisasi Basis NLC blanko dan NLC Adapalen

VI.2.2.1. Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Telah dilakukan pembuatan basis NLC dengan konsentrasi 4,5% lipid padat, 2% lipid cair, 1% surfaktan dan di add 30ml menggunakan aqua deion dengan menggunakan berbagai macam lipid cair dan surfaktan. Alasan penggunaan aquadeion karena untuk menghindari berlebihnya ion dalam formula yang dapat menyebabkan iritasi.

Diagram VI. 1: Ukuran Partikel NLC Basis



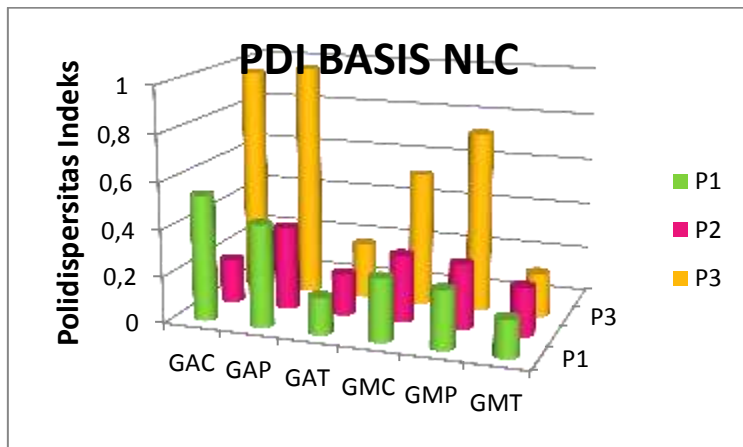
Asam oleat merupakan lipid cair yang paling banyak digunakan dalam pembuatan produk NLC. Asam oleat rentan terhadap oksidasi. Asam oleat juga mengandung beragam asam lemak jenuh dan tak jenuh sehingga asam lemak bebas lebih banyak rentan terhadap oksidasi. Selain itu asam lemak bebas lebih aktif dan terakumulasi pada antar muka minyak-air yang kemudian rentan terhadap oksidasi. GMS yang dikombinasikan dengan asam oleat memberikan hasil yang kurang baik sebab GMS inkompatibilitas dengan asam oleat. Myritol sendiri merupakan lipid cair golongan trigliserida yang mengandung setidaknya 95% asam lemak jenuh sehingga tidak mudah untuk teroksidasi.

Ukuran partikel berpengaruh signifikan terhadap pengiriman obat kedalam kulit. Partikel dengan diameter $>600\text{nm}$ tidak mampu mengirimkan bahan aktif kelapisan kulit yang lebih dalam. Partikel

cenderung berada pada lapisan stratum korneum (Danaei dkk., 2018).

Sedangkan pada pengujian menggunakan surfaktan cremophore dan plantacare mendapatkan hasil yang kurang baik dengan perolehan ukuran partikel lebih dari 500nm selama penyimpanan 3 bulan. Tidak seperti yang diharapkan, selama proses penyimpanan berlangsung terjadi aglomerasi yang menyebabkan membesarnya ukuran partikel.

Diagram VI. 2: Polidispersitas Indeks NLC Basis



Pdi memiliki efek penting pada bentuk fisik dan sebanyak mungkin harus rendah. Nilai Pdi lebih besar dari 0,5 menunjukkan distribusi partikel/globul yang sangat luas. Semakin rendah nilai Pdi maka semakin tinggi keseragaman ukuran partikel/globul.

Ketidakstabilan formula diduga disebabkan karena surfaktan tidak mampu menurunkan energi bebas partikel lipid sehingga terjadi aglomerasi pada formula dan sediaan menjadi lebih semisolid.

Hal ini juga diduga karena surfaktan tegocare cocok dengan formula tersebut dan mampu menjaga kestabilan formula selama 3 bulan dengan konsentrasi tersebut. Sehingga formula GAT dan GMT dipilih untuk dilakukan pengujian lanjut dengan adapalene.

VI.3.Evaluasi NLC Adapalene

VI.3.1 Ukuran Partikel dan Polidispersitas Indeks

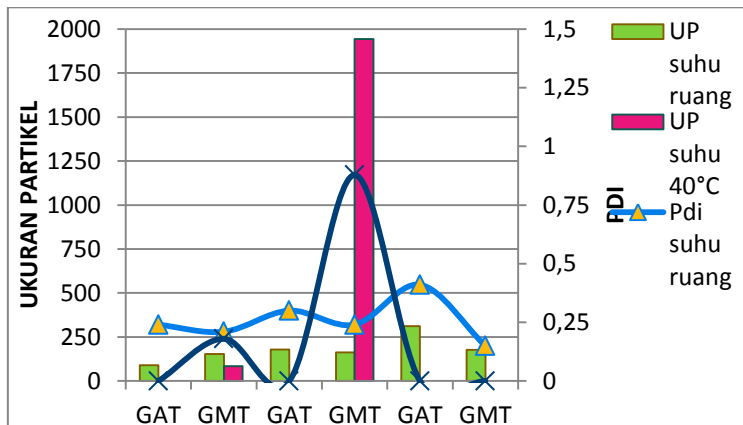
Setelah didapat formula terbaik pada basis, kemudian dilakukan pembuatan NLC Adapalene yang kemudian dilakukan uji stabilitas selama 3 bulan penyimpanan pada suhu ruang (25°C) dan suhu 40°C dengan RH 75%. Tujuan dengan diujikan pada suhu ekstrim tersebut agar dapat melihat kekuatan formula dapat bertahan.

Laju reaksi akan lebih cepat bila partikel memiliki ukuran partikel yang kecil dan juga dipengaruhi oleh sudut kontak yang sangat luas. Sehingga jika diperoleh partikel dengan ukuran nano maka semakin tinggi tingkat reaksinya.

Secara umum, suhu mampu mempengaruhi kecepatan laju reaksi. Sehingga dengan kenaikan suhu maka akan meningkat laju reaksi. Dengan kenaikan suhu maka dapat menyebabkan molekul bergerak lebih cepat sehingga akan menyebabkan tumbukan diantara molekul yang kemudian dapat menyebabkan terjadinya proses aglomerasi.

Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh data yang menunjukkan bahwa pada stabilitas suhu ruang memberikan ukuran partikel yang stabil selama penyimpanan 3 bulan. Tetapi pada sampel GAT memberikan hasil yang buruk pada stabilitas suhu 40°C yang kemudian sampel tersebut tidak dapat diukur yang menandakan bahwa sampel tersebut memiliki viskositas yang tinggi atau telah terjadinya proses aglomerasi.

Diagram VI. 3: Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas NLC Adapalene Suhu Ruang dan Suhu 40°C

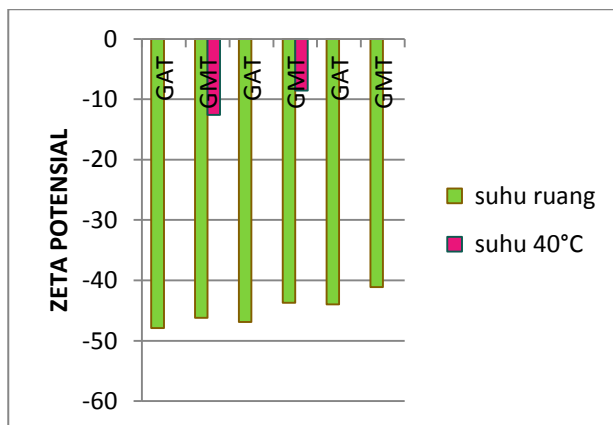


Namun pengukuran pertama antara suhu ruang dan 40°C terdapat perbedaan perolehan hasil dengan teori yang ada yaitu pada sampel GMT. Pada sampel GMT diperoleh ukuran partikel yang lebih kecil dan distribusi ukuran partikel yang seragam.

VI.3.2 Zeta Potensial

Pada pengujian stabilitas suhu 40°C diperoleh ukuran partikel yang sangat besar. Hal ini berkaitan dengan nilai zeta potensial. Baik pengukuran pertama ataupun yang ke dua, semua formula memberikan nilai zeta potensial yang sangat rendah. Zeta potensial adalah parameter muatan listrik antara partikel koloid. Partikel yang memiliki nilai zeta potensial $\pm 30\text{mV}$ memiliki kestabilan yang baik dan dapat mencegah agregasi (Prihapsara, 2018). Semakin tinggi nilai zeta potensial maka akan semakin mencegah proses aglomerasi. Sedangkan nilai zeta potensial yang rendah mengakibatkan terjadinya proses tarik menarik antar partikel yang dapat menyebabkan terjadinya proses aglomerasi.

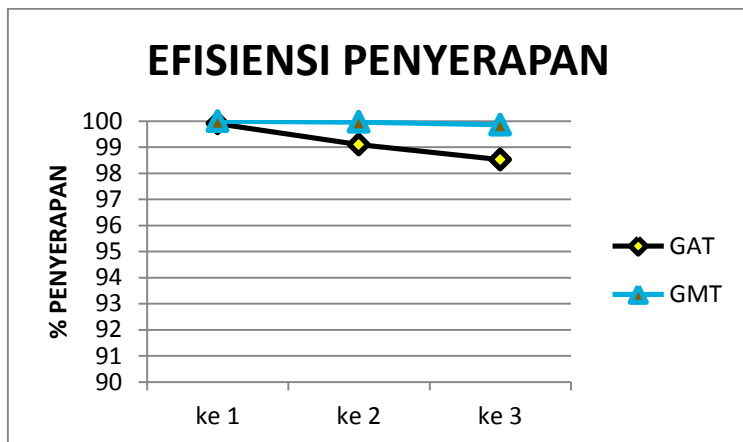
Diagram VI. 4: Zeta Potensial NLC Adapalene Suhu Ruang dan Suhu 40°C



VI.3.3 Efisiensi Penyerapan

Efisiensi penyerapan dilakukan untuk dapat melihat seberapa banyak bahan aktif adapalen yang terserap didalam formula tersebut. Konsentrasi bahan aktif yang diukur merupakan bahan aktif yang tidak terserap akan mengendap setelah pemisahan dengan sentrifugasi. *Loading capacity* berhubungan dengan jumlah obat dalam suatu nanopartikel. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible dengan panjang gelombang 231nm.

Diagram VI. 5: efisiensi penyerapan NLC adapalene



Konsentrasi lipid sangat berpengaruh terhadap efisiensi penyerapan bahan aktif. Semakin bertambahnya konsentrasi dari lipid maka akan memberikan *loading capacity* yang besar pula.

Dari hasil perolehan data efisiensi penyerapan diketahui bahwa nilai pada pengukuran pertama memberikan nilai yang baik yaitu mendekati 100% yang menandakan bahwa hampir semua bahan aktif terserap di fase lipid. Namun terlihat perbedaan pada pengukuran ke 3, GMT memberikan efisiensi penyerapan yang stabil tetapi pada GAT memberikan penurunan efisiensi penyerapan. Hal ini terjadi diduga karena pengaruh perbesaran ukuran partikel karena terjadinya proses ekplusif atau keluarnya bahan aktif dari fase lipid yang menyebabkan efisiensi penyerapan GAT lebih kecil dibandingkan dengan GMT.

Oleh sebab itu berdasarkan data pengujian ukuran partikel, polidispersitas indek, zeta potensial dan efisiensi penyerapan formula GMT memiliki karakteritik yang baik dengan ukuran partikel $<500\text{nm}$, Pdi $<0,5$ dan zeta potensial $>\pm 30\text{mV}$ dan efisiensi yang mendekati 100%.