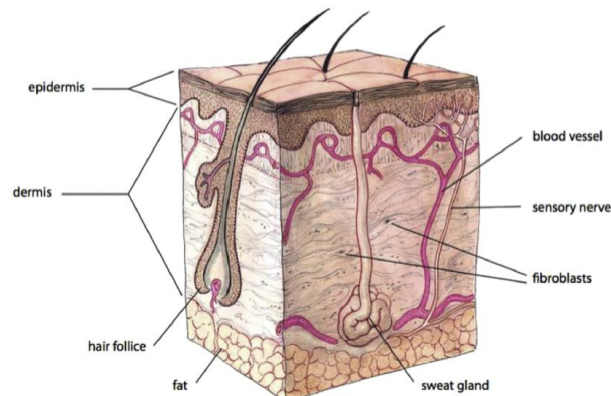


BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan bagian terbesar dalam tubuh, memiliki luas permukaan sekitar 1,8 m² dan menempati 8% dari total massa tubuh orang dewasa. Selain itu, kulit menyediakan fungsi fisiologis penting termasuk pertahanan kekebalan, termoregulasi, masukan sensorik dari mekanoreseptor dan mekanisme endokrin dan metabolisme untuk mempertahankan kesehatan yang optimal (Lephart, 2016). Fungsi utama kulit termasuk perlindungan terhadap tekanan mekanis, pencegahan kehilangan air yang berlebihan; memfasilitasi pendinginan transpirasi, dan mencegah penyerapan benda asing. Secara mikroskopis, terdapat tiga lapisan kulit yaitu lapisan luar (epidermis), lapisan tengah (dermis) dan lapisan dalam (jaringan lemak subkutan).



Gambar 2. 1. Skema representasi struktur kulit

1. Epidermis

Epidermis terbagi menjadi 2 bagian: stratum korneum (epidermis yang tidak dapat hidup) dan epidermis yang dapat hidup. Terdiri atas 70% air dan sel epitel keratinisasi yang mampu mensintesis stratum korneum. Stratum korneum adalah lapisan terluar kulit dan terlibat dalam fungsi homeostatis dan pelindung kulit. Stratum korneum merupakan produk akhir dari diferensiasi epidermis yang memiliki tebal sekitar 10-20 mm sehingga dianggap tidak aktif secara metabolik (Jain et al., 2018). Lapisan epidermis mengandung konsentrasi antioksidan tertinggi dan merupakan garis pertahanan antioksidan utama di kulit, Sementara epidermis memberikan garis pertahanan pertama, dermis memberikan perancah atau serat struktural kulit. Secara umum, dermis adalah lapisan jaringan ikat padat dan tidak teratur, setebal 2 hingga 3mm, yang menyusun sebagian besar ketebalan kulit Lapisan dermal juga mengandung molekul lain seperti penghambat jaringan matriks metaloproteinase (TIMP), metaloproteinase ses (MMPs), elastase dan banyak molekul lain yang menjaga kesehatan kulit (Lephart, 2016).

2. Dermis

Dermis adalah jaringan ikat suportif, kompresibel, dan elastis yang melindungi epidermis. Ini terdiri dari protein berserat (kolagen dan elastin) dan gel interfibrilar glikosaminoglikan, garam, dan air. Pembuluh darah dan limfatik, ujung saraf, folikel rambut, kelenjar sebaceous, dan kelenjar keringat tertanam di dalam dermis. Jaringan vaskular yang luas di dermis memainkan peran penting dalam nutrisi kulit, perbaikan, respon imun, dan regulasi termal. Folikel rambut dan saluran keringat membentuk jalur penghubung langsung dari dermis ke permukaan kulit, melewati stratum korneum dan selanjutnya terlibat dalam menyediakan rute tambahan permeasi kulit (Jain et al., 2018).

3. Jaringan "Lemak" Subkutan

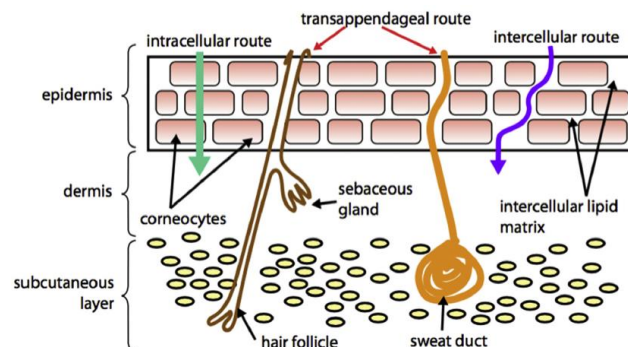
Jaringan lemak SC yang terletak di bawah dermis terdiri dari sel-sel yang mengandung lemak dalam jumlah besar, membuat sitoplasma bersifat lipoidal. Kolagen antara sel-sel lemak menyediakan hubungan epidermis dan dermis dengan struktur di bawah kulit. Fungsi utama jaringan lemak SC adalah sebagai isolator panas dan peredam kejutan (Jain et al., 2018).

2.1.1 Sistem Penghantaran Obat Dalam Kulit

Molekul obat menembus kulit apabila memiliki sifat fisikokimia yang menguntungkan seperti ukuran kurang dari 500 Da, tidak bermuatan, dan cukup lipofilik, yaitu memiliki logaritma koefisien partisi ($\log P$) antara 1 dan 3. Molekul menembus kulit melalui salah satu dari tiga jalur yang telah ditetapkan, yaitu, rute transelular, interseluler, dan transappendageal. Lintasan molekul obat melalui keratinosit (yaitu, sel-sel di epidermis) disebut jalur transeluler, dan jalur melalui matriks lipid disebut jalur interseluler. Jalur transappendageal melintasi folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebaceous. Pengiriman melalui kulit dapat dibagi menjadi pengiriman topikal dan transdermal; obat topikal aktif dimaksudkan untuk bertindak secara lokal, sedangkan transdermal rute bertujuan pengiriman sistemik. Manfaat penghantaran yang ditawarkan oleh pengiriman kulit termasuk melewati metabolisme hati, menghindari efek samping yang terkait dengan pengiriman obat oral yang bekerja pada kulit, pengangkatan obat mudah dalam kasus overdosis, pelepasan obat berkelanjutan, dan kepatuhan pasien (Smith and Maibach, 2016).

Ketangguhan penghalang stratum korneum dapat mencegah penetrasi agen terapeutik dan hidrofilik yang besar melalui kulit. Penelitian ekstensif telah dilakukan untuk memungkinkan pengiriman melalui kulit dan penggunaan metode yang berbeda termasuk penambahan penetrasi dan teknik peningkatan aktif seperti iontophoresis, elektroporasi, fonoforesis, dan mikroporasi (Smith and Maibach, 2016). Obat yang dioleskan secara topical pada kulit akan diserap kulit bagian stratum korneum, epidermis, papilla dermis dan vaskular. Jalur penyerapan

penetrasi kulit perkutan dapat terjadi melalui 2 rute yang berbeda: jalur transepidermal (antarseluler dan intraseluler) dan transappendageal (folikel rambut, saluran keringat, dan kelenjar sebacea) hal tersebut dapat terlihat pada gambar 2 (Jain et al., 2018).



Gambar 2. 2 Jalur untuk penyerapan perkulitan

1. Jalur Transepidermal

Jalur transepidermal terdiri dari jalur interseluler dan intraseluler. Melibatkan difusi zat terlarut melalui domain lipid antar sel melalui jalur berliku-liku (melalui sel cornified stratum korneum, epidermis yang layak, dan dermis). Studi telah memberikan bukti bahwa lipid antar sel, dan bukan protein korneosit, adalah permeabilitas epidermis utama penghalang. Jalur interseluler awalnya ditolak sebagai mekanisme permeasi kulit yang dominan karena hunian volumenya yang kecil. Namun, kemudian fraksi volume antar sel ditemukan jauh lebih besar dari perkiraan semula. Studi-studi ini menunjukkan bahwa jalur antar sel memberikan resistensi utama untuk permeasi kulit. Jalur intraseluler (transseluler) melibatkan permeasi melalui korneosit diikuti oleh lipid interseluler. Senyawa yang menembus melalui rute ini memanfaatkan ketidaksempurnaan dalam korneosit yang menciptakan lubang yang terdiri dari air. Oleh karena itu, rute ini diyakini lebih menyukai senyawa hidrofilik untuk pengiriman. (Jain et al., 2018).

2. Jalur Transappendageal

Dalam jalur transappendageal, penetrasi melintasi stratum korneum melalui jalur "shunt" yang disediakan oleh folikel rambut atau kelenjar keringat. Secara khusus, folikel rambut memainkan kontributor utama untuk jalur ini karena distribusi folikel yang lebih tinggi. Meskipun luas permukaan yang tersedia untuk rute folikel diasumsikan terbatas pada sekitar 0,1% dari total luas permukaan kulit, baru-baru ini telah disarankan bahwa jumlah folikel, diameter pembukaan, dan volume folikel merupakan pertimbangan penting untuk menentukan perpanjangan persalinan. Juga, folikel rambut meluas jauh ke dalam dermis dengan peningkatan

yang signifikan pada luas permukaan aktual yang tersedia untuk penetrasi. Banyak penelitian telah menunjukkan relevansi jalur ini dalam permeasi kulit (Jain et al., 2018).

2.2 Penuaan Pada Kulit

Penuaan merupakan hilangnya progresif struktur anatomi dan fungsi fisiologis di beberapa organ. Seiring bertambahnya usia manusia, kulit menipis, mengering, keriput, menjadi berpigmen tidak merata dengan usia atau flek hitam (lentigo), dan penyembuhan luka tertunda (Lephart, 2016). Secara khusus, munculnya kerutan di sekitar mata dan mulut, dan garis kerutan di sepanjang dahi terlihat dengan warna kulit yang tidak merata dan hilangnya warna kulit secara umum (penampilan pucat). Kulit kendur dan kulit tipis disebabkan oleh hilangnya kolagen terutama serat elastin pada lapisan dermal yang memberikan sifat rekoil penuh, kuat dan elastis pada kulit awet muda.

Tanda-tanda penuaan pada kulit terjadi sekitar usia 30 terutama setelah menopause, di mana terjadi kekeringan pada kulit, penurunan kekencangan kulit dan hilangnya elastisitas. Sebuah penelitian jelas menunjukkan bahwa hilangnya elastisitas kulit terkait usia sebenarnya mendahului pembentukan kerutan yang terlihat. Terdapat 2 faktor terjadinya penuaan, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Penuaan intrinsik terjadi karena penuaan secara kronis yang dimana dapat berasal dari faktor usia. Penuaan ekstrinsik terjadi akibat dari paparan lingkungan seperti terpapar radiasi sinar UV, polutan dan asap rokok.

Faktor-faktor proses penuaan antara lain sebagai berikut:

1. Penuaan Intrinsik atau kronis

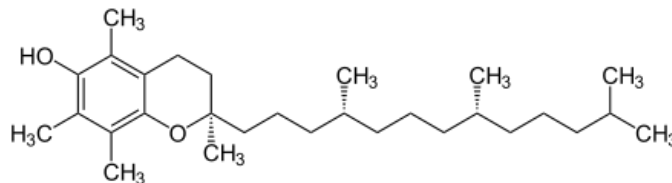
Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi dalam penuaan intrinsik, yaitu variasi anatomi dan perubahan hormonal, dan etnis. Efek faktor etnis berkaitan dengan perbedaannya pigmentasi kulit, menurut Ramos-e-Silva et al., 2013 tingginya pigmentasi melanin dapat melindungi kulit dari efek kumulatif *photoaging*. Sedangkan etnis memiliki kulit yang lebih gelap memiliki struktur kulit yang lebih padat dan juga memiliki jumlah lipid yang lebih banyak sehingga resisten terhadap penuaan. Sedangkan pada etnis Asia cenderung memiliki pembentukan kerutan yang lebih rendah dibandingkan etnis Kaukasian (Ramos-e-Silva et al., 2013).

2. Penuaan Ekstrinsik

Penuaan ekstrinsik dapat disebabkan dari faktor luar tubuh yang dapat dikendalikan, faktor tersebut di antara lain yaitu paparan sinar matahari, merokok, dan lingkungan, serta faktor gaya hidup seperti diet, pola tidur dan kondisi kesehatan (Ramos-e-Silva et al., 2013).

2.3 Tokoferol

Tokoferol merupakan kelompok antioksidan fenolik lipofilik yang terbentuk secara alami pada berbagai tumbuhan. Masing-masing molekul strukturnya berbentuk tokoferol alfa, beta, gama dan delta yang terdiri dari cincin chromanol yang terhung ke rantai samping karbon panjang. Tokoferol memiliki struktur yang bervariasi dengan jumlah dan posisi dari kelompok metil pada cincinya.



Gambar 2. 3 Struktur Alfa Tokoferol

2.4 Monografi Alfa Tokoferol

Vitamin E merupakan gambaran dari alfa tokoferol dengan struktur kimia $C_{29}H_{50}O_2$. Berat molekul : 430.7

Pemerian : Hampir tidak berbau dan tidak berasa, morfologi alfa tokoferol dan alfa tokoferol asetat berwarna jernih, minyak kental, memiliki warna kuning atau kuning kehijauan, dan hampir tidak berbau. *d*-alfa tokoferol asetat dapat memadat pada suhu dingin. Alfa tokoferol bentuk- *dl* meleleh pada suhu sekitar 70°C.

Stabilitas : Gugus alfa tokoferol tidak dapat stabil pada udara ataupun cahaya, panas yang berlebihan, bahan yang tidak kompatibel. Reaktif dengan zat pengoksidasi, logam, alkali. Alfa tokoferol dan esternya tidak dapat stabil dalam kondisi basa.

Kelarutan : Tidak larut air; sedikit larut pada larutan alkali; Larut etanol, eter, aseton dan minyak nabati. Sangat larut kloroform.

Penyimpanan : Simpan pada kedap udara, terlindungi cahaya. Bantuk *d*-atau *dl*-alfa tokoferol dilindungi dengan gas inert.

Penandaan : Label menunjukkan bentuk kimia *d*-atau *dl*-. Aktivitas vitamin E dapat dinyatakan sebagai jumlah ekuivalen *d*- α - tokoferol dalam mg/g berdasarkan unit dan rasio bobot. (Kemenkes RI,2014)

Keterangan khusus tentang reaktivitas: tidak stabil terhadap udara dan cahaya. Tokoferol menurun perlahan pada paparan sinar UV dan udara. Tokoferol stabil dengan tidak adanya oksigen, asam kuat, dan cahaya tampak. Tokoferol tidak stabil terhadap sinar UV, alkalidan oksidasi. Juga tidak sesuai dengan besi, perak, garam logam, zat pengoksidasi. (Material Safety Data Sheet (MSDS)Vitamin E,2013).

2.5 Mekanisme Tokoferol Sebagai Antioksidan

Menurut Rahman, 2007 tokoferol dapat membantu mencegah oksidasi asam lemak. Radikal bebas menyerang asam lemak melalui penambahan atom oksigen di sepanjang rantai karbo. Setelah teroksidasi, asam lemak membentuk lebih banyak radikal bebas yang memulai reaksi berantai dari oksidasi lebih lanjut.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat oksidasi yaitu dengan cara menunda pementukan radikal bebas atau mengganggu penyerapan radikal bebas. Tokoferol adalah antioksidan karena mereka dapat menyumbangkan atom hidrogen fenoliknya kepada radikal bebas mengubahnya menjadi bentuk yang stabil dan non-reaktif. Hal ini dapat mencegah radikal bebas menyerang asam lemak. Dalam lemak dan minyak aktivitas antioksidan dari tokoferol yang berbeda menurun dengan urutan $\delta > \gamma > \beta > \alpha$.

2.6 Nanoteknologi

Menurut National Nanotechnology Initiative, nanoteknologi umumnya didefinisikan sebagai "pemahaman dan kontrol materi pada skala nano, pada dimensi antara sekitar 1 dan 100 nm, di mana fenomena unik memungkinkan aplikasi baru". Nanoteknologi mengacu pada bidang ilmu baru yang termasuk sintesis dan pengembangan berbagai nanomaterial. Nanopartikel dapat didefinisikan sebagai objek dengan ukuran mulai dari 1-1000 nm yang karena ukurannya mungkin berbeda dari material curah. Nanopartikel digunakan untuk berbagai tujuan, mulai dari perawatan medis, menggunakan di berbagai cabang industri produksi seperti baterai bahan bakar surya dan oksida untuk penyimpanan energi, hingga penggabungan yang luas ke dalam beragam bahan penggunaan sehari-hari seperti kosmetik atau pakaian (Tamjidi et al., 2013).

Ada beberapa jenis Nanoteknologi yaitu:

1. Liposoms

Liposom adalah pembawa yang fleksibel, dapat mengandung senyawa yang dapat terlarut dalam air dan tidak terlarut dalam air secara bersamaan dan memberikan targetabilitas, tetapi saat ini biaya yang tinggi, muatan rendah, kebocoran obat dan pelepasan yang cepat merupakan kelemahan utama dari pengiriman system ini. Menggunakan nanocarrier ini mungkin dapat menimbulkan masalah stabilitas selama penyimpanan (Tamjidi et al., 2013).

2. Nanoemulsi

Sebuah nano- atau mini-emulsi dapat dianggap sebagai emulsi yang mengandung tetesan yang sangat kecil dengan jari-jari rata-rata antara sekitar 10 sampai 100 nm. Tetesan biasanya

distabilkan oleh lapisan yang terdiri dari campuran surfaktan dan co-surfaktan. nanoemulsi (dan juga liposom) tidak stabil secara termodinamika, stabil secara kinetik dalam jangka panjang (Tamjidi et al., 2013). Ini adalah perbedaan utama antara nanoemulsi dan mikroemulsi. Nanoemulsi memiliki keamanan toksikologi, kandungan fase lipid yang tinggi dan kemungkinan produksi skala besar. Namun, mereka masih mengalami ketidakstabilan seperti pematangan Ostwald, flokulasi, permeabilitas membran dan pelepasan obat, creaming, pembentukan gel, dan agregasi partikel selama penyimpanan. Selain itu nanoemulsi tidak stabil dalam kondisi asam dan pelepasan obat terkontrol dari nanoemulsi sangat tidak mungkin karena ukurannya yang kecil dan keadaan cair pembawa (Fathi et al., 2013).

3. Niosom

Niosom adalah vesikel yang terutama terdiri dari non-ionik terhidrasi surfaktan selain, dalam banyak kasus, kolesterol (CHOL) atau turunannya. Struktur unik niosom membuatnya mampu mengenkapsulasi zat hidrofilik dan lipofilik. Ini dapat dicapai dengan menjebak hidrofilik dalam inti berair vesikular atau teradsorpsi pada permukaan bilayer sementara zat lipofilik dienkapsulasi oleh partisi mereka ke dalam domain lipofilik dari bilayer (Moghassemi and Hadjizadeh, 2014).

4. Transfersom

Transfersome merupakan vesikel lipid yang paling lunak dari vesikel lainnya. Transfersom biasanya digunakan secara topikal. Vesikel tersebut terdiri atas fosfolipid dan surfaktan rantai tunggal *edge activator* (EA). Keunggulan Transfersom yaitu biokompatibel, biodegradable, mudah dibuat, melindungi obat dari degradasi lingkungan, mengangkut obat melalui celah sempit antar sel dan digunakan menjadi berbagai bahan seperti peptida, protein, analgesik dan senyawa alami. Namun, transfersom memiliki kekurangan, yaitu sulit diproduksi dalam skala besar, sistem pembawa tidak stabil oksidasi dan obat dosis besar tidak dapat diangkur setiap hari. (Kumar et al., 2012).

5. Etosom

Etosom adalah sistem pembawa berbentuk vesikel yang lembut dan elastis terdiri dari komponen utama fosfolipid, konsentrasi alkohol (etanol atau isopropil alkohol) yang relatif tinggi (20-45%) dan air. Etosom adalah pembawa yang sangat menarik karena memiliki kemampuan untuk menembus kulit karena deformabilitasnya yang tinggi. Sifat fisikokimia etosom digunakan sebagai transport senyawa aktif yang baik melalui kulit dalam jumlah dan kedalaman apabila dibandingkan dengan liposom konvensional. Selain itu, etosom juga digunakan untuk menghantarkan obat hidrofilik, lipofilik atau amfifilik (Rakesh and Anoop, 2012).

6. SLN

SLN (*Solid Lipid Nanoparticle*) merupakan tetesan lipid berminyak yang distabilkan surfaktan yang padat pada suhu tubuh. SLN dapat melindungi bahan yang dienkapsulasi dari degradasi, digunakan untuk pelepasan terkontrol agen kosmetik dalam jangka panjang dan telah terbukti mampu meningkatkan penetrasi bahan aktif ke dalam stratum korneum. Hasil studi in-vivo menyatakan formulasi yang mengandung SLN lebih efisien dalam hidrasi kulit daripada plasebo. SLN juga telah terbukti menunjukkan stabilitas tahan UV, ini ditingkatkan dengan memperkenalkan dan menguji tabir surya molekuler. Peningkatan pemblokiran UV oleh 3,4,5-trimethoxybenzoylchitin (penyerap UV yang baik) diamati ketika dimasukkan ke dalam SLN (Raj et al., 2012).

7. NLC

NLC (*Nanostructured Lipid Carriers*) adalah SLN yang dimodifikasi di mana fase lipid mengandung lipid padat (lemak) dan cair (minyak) pada suhu kamar (Müller et al., 2002). Tujuan formulasi NLC adalah untuk menghasilkan partikel di mana minyak dimasukkan ke dalam inti lipid padat; ini mengarah pada kapasitas pemuatan yang lebih tinggi dan pelepasan obat yang terkontrol karena obat larut dalam minyak dan secara bersamaan terenkapsulasi dalam lipid padat (Tamjidi et al., 2013).

2.7 NLC (Nanostructured Lipid Carriers)

Nanopartikel lipid terdiri dari matriks lipofilik padat pada molekul aktif dimana dapat digabungkan. Partikel ukurannya antara 150-300 nm, atau lebih kecil <1000 nm atau ukuran yang lebih besar hingga 1000 nm dapat diperoleh juga untuk kebutuhan khusus (H. Muller et al., 2011). Nanopartikel lipid dapat diturunkan dari nanoemulsi minyak dalam air, di mana lipid cair dari tetesan minyak digantikan oleh lipid padat, yaitu padat pada suhu tubuh. Karena itu, nanopartikel lipid tetap padat setelah diberikan ke tubuh. Dua generasi nanopartikel lipid dibedakan menjadi beberapa generasi, generasi pertama adalah nanopartikel lipid padat (SLN), generasi kedua adalah pembawa lipid berstruktur nano (NLC).

SLN terdiri dari campuran lipid padat dengan surfaktan sedangkan NLC terdiri dari campuran lipid padat, cair, surfaktan dan menjadi campuran padat pada suhu tubuh dengan rasio campuran yang bervariasi dari 70:30 hingga 99,9:0,1 dengan kandungan total NLC yang bervariasi yaitu sekitar 5-40% . Tujuan penambahan lipid cair yaitu untuk memberikan pengurangan titik leleh lipid padat namun masih tetap pada suhu kamar. Penetrasi senyawa aktif ke dalam kulit sangat bergantung pada hidrasi kulit yang dipengaruhi oleh senyawa oklusif.

Aplikasi dari oklusif dapat mencegah penguapan air dari kontak kulit dengan udara sehingga air dapat dipertahankan dikulit. Namun kebanyakan oklusif memiliki hasil yang buruk sehingga membutuhkan system oklusif yang inovatif. Besarnya sifat oklusif tergantung akan berbagai faktor missal seperti ukuran partikel dan konsentrasi lipid. NLC memiliki kelebihan yaitu risiko pengeluaran obat yang diminimalkan dari waktu ke waktu. Lipid murni, seperti yang ditemukan di SLN, mengalami perubahan polimorfik. Secara umum NLC memiliki stabilitas fisik yang lebih tinggi daripada SLN.

Menurut Shah et al., 2015, NLC (*Nanostructured Lipid Carriers*) memiliki beberapa kelebihan (Shah et al., 2015) :

1. Dapat meningkatkan *Loading Capacity* obat

Adanya lipid cair dalam matriks NLC dapat memberikan efek meningkatkan kelarutan obat dibandingkan system SLN. Kandungan lipid cair pada NLC juga dapat meningkatkan *entrapment efficiency* obat. Hal ini dapat terjadi karena lipid cair yang merusak lipid padat dan menyebabkan struktur kristal lipid padat. Dimana struktur kristal yang awalnya teratur menjadi tidak teratur, namun hal tersebut dapat memberikan ruang cukup untuk obat sehingga *loading capacity* dan *entrapment efficiency* obat lebih besar.

2. Modulasi profil pelepasan obat

Profil pelepasan NLC adalah biphasic yaitu pelepasan awal diikuti pelepasan berkelanjutan dengan tingkat konstan. Tahap awal, lipid cair yang didalamnya mengandung obat mengalami pelepasan obat dengan tiba-tiba, pelepasan tersebut di ikuti dengan pelepasan berkelanjutan dengan laju konstan dari inti lipid padat. Fungsi matriks lipid pada NLC yaitu untuk mengatur pelepasan obat sehingga pola pelepasan obat dapat diperbaiki dan dimodulasi dengan cara mengatur jumlah kandungan lipid cair dan lipid padat.

3. Stabilitas jangka panjang selama penyimpanan

NLC terdiri dari campuran lipid padat dan lipid cair sehingga dapat menyebabkan partikel dapat memadat setelah pendinginan namun tidak terjadi pengkristalan. Lipid cair yang terdapat pada lipid padat NLC dapat mencegah permasalahan stabilitas jangka panjang yang di timbulkan akibat fenomena polimorfisme, lipid cair memiliki peran penting dalam mencegah terjadinya kristalisasi. Kristalisasi tersebut dapat terjadi karena keadaan supersaturasi dan lipid cair yang diduga dapat menyebabkan kondisi subsaturasi dari lipid padat sehingga mengurangi kristalisasi.

4. Dapat mengurangi penggunaan surfaktan

Nanocariers unik yang dimiliki NLCs dapat distabilkan menggunakan surfaktan dengan konsentrasi rendah namun dengan peningkatan *entrapment efficiency* dan profil pelepasan obat

dapat di modulasi. Terlebih NLC yang sangat stabil dapat menjerat obat lipofilik hanya dengan menggunakan konsentrasi surfaktan 0,5% - 1%. Dan hampir semua jenis surfaktan yang tersedia dapat diterima pada system NLC sebagai pembanding. Kisaran akseptabilitas surfaktan untuk emulsi lipid dan formulasi lainnya yang sempit. Sehingga NLC adalah pendekatan formulasi yang lebih disukai dibandingkan emulsi lipid dimana penggunaan surfaktan dengan konsentrasi tinggi dan pemilihan surfaktan yang sempit merupakan masalah yang menjadi perhatian.

5. Meningkatkan penetrasi pada kulit

Hasil studi *in vitro* pada penetrasi dengan menggunakan sel difusi franz NLC Alfa tokoferol dengan Nano emulsi (NE) Alfa tokoferol menunjukkan hasil penetrasi NLC Alfa tokoferol lebih tinggi $762.3 \text{ ng mL} \pm 184.6$ dibandingkan Nano Emulsi (NE) sebesar $182.3 \text{ ng mL} \pm 52.7$ (Abla and Banga, 2014)

6. Melindungi degradasi UV

Uji *nanocarrier* dapat melindungi terjadinya degradasi UV pada NLC Alfa Tokoferol menggunakan simulator sinar UV. Tokoferol dalam minyak mineral dan tokoferol bebas dalam methanol dapat terdegradasi hingga 94% dan 88% ketika terkena sinar UV dengan menggunakan solar simulator. NLC Alfa Tokoferol dan NE menghasilkan hasil setelah terpapar simulator sinar UV sebesar $92,9 \pm 2,6\%$ dan $95,9 \pm 8,8\%$ (Abla and Banga, 2014).

Terdapat Tiga jenis struktur NLC dimana salah satu strukturnya diperoleh tergantung pada komposisi formulasi dan parameter produksi, hal tersebut dapat dilihat pada gambar II.4.

Tiga jenis struktur NLC

1. NLC tipe tidak sempurna (matriks padat terstruktur tidak sempurna)

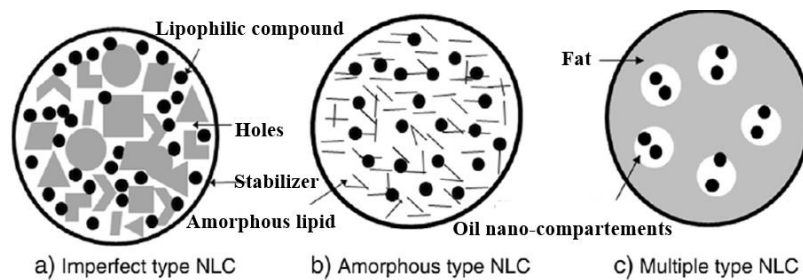
Jarak antara rantai asam lemak gliserida dan ketidaksempurnaan umum dalam Kristal, yang merupakan prasyarat untuk akomodasi obat yang baik, dapat ditingkatkan dengan menggunakan gliserida yang terdiri dari asam lemak yang sangat berbeda (misalnya panjang rantai C, campuran asam jenuh dan asam tak jenuh). Untuk mencapai 'ketidakcocokan tertinggi' daripada menggunakan lipid padat Sedangkan untuk SLN, NLC diproduksi dengan mencampur lipid padat dengan lipid cair (minyak) yang sangat berbeda secara kimia. Ketidaksempurnaan/lubang ini menampung obat dalam bentuk molekul dan gugus amorf; meningkatkan muatan obat (Müller et al., 2002). Oleh karena itu, NLC tipe tidak sempurna diperoleh dengan mencampur lipid yang berbeda secara spasial, dapat dilihat pada Gambar II.4a (Tamjidi et al., 2013).

2. NLC tipe amorf (matriks amorf padat tanpa struktur)

Jenis NLC ini dapat diproduksi dengan mencampur lipid padat dengan lipid khusus seperti hydroxyoctacosanylhydroxystearate, isopropylmyristate atau MCT. Pengurangan mobilitas lipid (yaitu keadaan padat) dan tidak adanya proses peleburan dapat diverifikasi oleh resonansi magnetik nuklir (NMR) dan pengukuran DSC berturut-turut, dapat dilihat pada Gambar II.4 (Tamjidi et al., 2013).

3. Beberapa jenis NLC (multiple oil-in-fat-in-water (O/F/W) carrier)

Biasanya, kelarutan senyawa bioaktif lipofilik lebih tinggi dalam lipid cair (minyak) dibandingkan dengan lipid padat. Berdasarkan hal ini, NLC tipe ganda dikembangkan, di mana matriks padat dari nanopartikel lipid mengandung kompartemen nano cair kecil dari minyak. Dalam kompartemen nano minyak ini, kelarutan obat lebih tinggi, sehingga meningkatkan kapasitas pemuatan obat total. Kompartemen nano dikelilingi oleh matriks lipid padat, memungkinkan pelepasan obat yang terkontrol. Matriks padat ini mencegah kebocoran obat, dapat dilihat pada Gambar II.4 (Tamjidi et al., 2013).



Gambar 2. 4 Tiga tipe struktur NLC dimodifikasi dari Ref

2.8 NLC Untuk Penggunaan Topikal

Bentuk sediaan konvensional pada aplikasi kulit biasanya memiliki konsistensi semi padat termasuk gel berair atau hidrogel, salep dan gel hidrofobik atau oleogel, atau campuran keduanya, seperti air dalam minyak (W/O) atau minyak dalam air (O/W). Dalam sistem ini, formulasi fase eksternal mengatur pelepasan molekul. Sehingga hidrogel dan krim O/W memberikan pelepasan yang cepat, sedangkan formulasi hidrofobik menghasilkan pelepasan yang berkepanjangan. Selanjutnya, formulasi yang mengandung air lebih mudah diaplikasikan, oleh karena itu, lebih disukai oleh konsumen daripada formulasi lipid dengan viskositas tinggi. Karena sifat reologinya (yaitu perilaku viskoelastik), formulasi semi-padat berada di lokasi aplikasi untuk waktu yang lama, untuk memperpanjang pengiriman molekul. Selain itu, bentuk sediaan ini mudah diterapkan dan dapat mengangkut berbagai macam zat (Hatahet et al., 2016).

Dalam era nanoteknologi, nanopartikel lipid yaitu SLN dan NLC sangat dikenal oleh para peneliti. Sejak pembentukannya, pada tahun sembilan puluhan, jumlah kelompok penelitian yang mempelajari sistem ini telah berkembang. Alasan untuk ini adalah metode produksinya

yang mudah diakses dan keunggulan dibandingkan pembawa koloid lainnya, khususnya, non-toksitas. Seperti nanoemulsi minyak dalam air (O/W), dispersi nanopartikel lipid adalah sistem heterogen dengan fase lipid dan fase berair eksternal, yang distabilkan oleh satu atau dua surfaktan. Namun, bertentangan dengan nanoemulsi, nanopartikel lipid memiliki fase lipid padat bagian dalam, karena nanopartikel ini sepenuhnya untuk SLN terutama NLC yang disusun oleh lipid yang padat pada suhu kamar. Matriks padat ini memungkinkan pelepasan terkontrol dari molekul yang dienkapsulasi dan melindunginya dari degradasi, sekaligus meningkatkan system stabilitas jangka panjang (Mehnert and Mader, 2020).

Penggunaan nanopartikel lipid pada kulit memberikan beberapa keuntungan, seperti perlindungan kimia dari zat yang masuk, memungkinkan aplikasi kulit dari molekul labil yang sulit untuk diangkut dalam formulasi semi-padat tradisional; peningkatan bioavailabilitas obat, terkait dengan kemungkinan pelepasan molekul modulasi, mempromosikan penetrasi dan retensi kulit. Yang terakhir telah dijelaskan nanopartikel lipid mudah menempel pada SC, sehingga memungkinkan molekul yang dienkapsulasi mencapai lapisan kulit yang lebih dalam. Sifat-sifat ini terkait dengan komposisi lipid fisiologis SLN dan NLC yang dapat berinteraksi dengan SC, menciptakan penataan ulang lipid, yang memudahkan penetrasi molekul. Selain itu, ukuran nanopartikel yang kecil juga berkontribusi untuk meningkatkan daya rekat dan permukaannya area kontak, mempromosikan masuknya obat melalui kulit. Meskipun demikian, penting untuk diingat bahwa sifat fisikokimia molekul juga memainkan peran penting pada kinerja penetrasi kulit (Kim et al., 2018).

Terbatasnya permeabilitas obat melalui kulit pada stratum korneum (SC) menjadi salah satu alasan dikembangkannya system nanopartikel dimana system ini dapat meningkatkan absorpsi obat pada kulit. Ukuran partikelnya yang kecil sehingga dapat meningkatkan penetrasi obat dengan SC. Partikel yang berukuran nano akan berikatan dengan permukaan SC antar korneosit dan menyebabkan zat aktif yang menyebar. Ukuran nanopartikel yang kecil juga berkontribusi untuk meningkatkan daya rekat pada permukaan area kontak, meningkatkan masuknya obat melalui kulit.

Nanopartikel lipid memiliki kemampuan pengiriman obat melalui folikel rambut. Karena setiap folikel rambut terhubung ke kelenjar sebaceous yang melepaskan sebum, media ini membantu menyerap partikel nanolipid saat menyediakan lingkungan yang kaya lipid. NLC terdiri atas lipid biodegradable dan tertoleransi baik oleh tubuh. Maka dari itu, NLC dapat digunakan untuk mengurangi terjadinya iritasi pada kulit.

2.9 Formula Umum NLC

Memilih campuran lipid yang tepat sangat penting untuk keberhasilan produksi NLC dengan sifat fisik dan kimia yang tepat. Campuran lipid telah dilaporkan memiliki dampak yang signifikan pada stabilitas kimia bahan bioaktif sensitif. Persyaratan untuk ketika memilih campuran lipid yang tepat, adalah:

1. Kelarutan senyawa aktif dalam matriks lipid sangat penting, sebelum mencoba memasukkan molekul ke dalam nanocarrier lipid, karena hal ini selalu mempengaruhi kapasitas pemuatan obat, efisiensi enkapsulasi, dan kegunaan NLC untuk selanjutnya (Tamjidi et al., 2013).
2. Molekul lipid cair dan padat harus sedapat mungkin tidak kompatibel secara spasial, ini berarti bahwa molekul minyak tidak boleh berpartisipasi dalam matriks kristal padat lipid padat dan kristal lipid padat tidak boleh larut dalam lipid cair (Tamjidi et al., 2013).
3. Fase lipid harus lebih stabil terhadap degradasi kimia seperti oksidasi dan lipolisis.
4. Lipid harus biodegradable dan mampu menghasilkan partikel dalam skala nanometric (Tamjidi et al., 2013).
5. Lipid harus memiliki profil toksikologi yang dapat diterima dan tidak menyebabkan produksi residu beracun selama pembuatan NLC (Müller et al., 2007) .

Penggunaan lipid padat pada formulasi umum NLC.

Menurut (Aljuffali et al., 2014) fase lipid padat yang digunakan dalam sediaan NLC ialah lipid yang biokompatibel/fisiologis dan biodegradable, yang biasanya digunakan secara independen (dalam SLN) atau sebagai campuran dua atau lebih lipid dalam rasio tertentu (NLC). Itu Berbagai macam lipid yang digunakan dalam formulasi nanopartikel lipid topikal dapat diklasifikasikan sebagai asam lemak, lilin, steroid, gliserida parsial, dan trigliserida. Lipid ini meleleh selama pembuatan nanopartikel pada suhu tinggi, yaitu di atas 80°C.

1. Precirol

Precirol atau gliseril palmito-stearat dapat digunakan sebagai basa pada gliserida yang digunakan untuk pembuatan bentuk sediaan (*Sustained release*) memiliki titik leleh pada kisaran 52-55°C, dengan kelaruutan bebas larut dalam kloroform dan diklorometna; praktis tidak larut dalam etanol 95%, minyak mineral dan air, memiliki kandungan air <1,0% (Malkin, 2006). *Glyceryl Palmitostearate* dapat dipengaruhi oleh suhu, sehingga perlu diperhatikan stabilitas sistem yang mengandung *Glyceryl Palmitostearate* dari penambahan komponen penstabil.

2. Compritol

Compritol atau *Glyceryl Behenate*. Dalam kosmetik, gliseril behenate digunakan sebagai agen pengkondisi kulit, emolien dan agen peningkatan viskositas dalam emulsi. Ini juga dapat meningkatkan stabilitas panas emulsi dan merupakan agen pembentuk gel untuk berbagai minyak. Untuk formulasi topikal, digunakan sebagai bahan pengental untuk fase berminyak. Ini juga digunakan sebagai surfaktan atau agen pengemulsi, memiliki nilai HLB 2 dengan titik lebur 65-77 °C (Malkin, 2006).

3. Geleol

Geleol atau *Glyceryl Monostearate*. Terdapat banyak turunan gliseril monostearat yang digunakan sebagai nonionik pengemulsi, penstabil, dan emoliens pada berbagai makanan, farmasi, dan aplikasi kosmetik biasanya berfungsi sebagai stabilizer atau sebagai pelarut untuk senyawa polar maupun senyawa nonpolar yang dapat membentuk air dalam minyak atau minyak dalam air (emulsi) karena sifatnya ini geleol juga berguna menjadi agen pendispersi untuk pigmen dalam minyak atau padatan. Geleol juga digunakan sebagai bahan matriks untuk bentuk sediaan biodegradable, implan, terkontrol (Fatima et al., 2019).

Penggunaan lipid cair pada formulasi umum NLC

1. Myritol

Myritol atau Medium-chain Triglycerides dengan kategori fungsional Agen pengemulsi; pelarut; agen penangguhan; terapeutik agen. Dalam kosmetik dan sediaan farmasi topikal, trigliserida rantai menengah digunakan sebagai komponen salep, krim, dan emulsi cair. Trigliserida memiliki sejumlah keunggulan dalam formulasi farmasi, yang meliputi sifat penyebaran yang lebih baik pada kulit, tidak ada impedansi pernapasan kulit, sifat penetrasi yang baik, sifat emolien dan kosmetik yang baik, tidak ada film yang terlihat di permukaan kulit, kompatibilitas yang baik, sifat pelarut yang baik, dan stabilitas oksidasi baik. Memiliki viskositas (20°C) 27-33 mPas, densitas (20°C) 0,945-0,949 g/cm³, dan titik beku <-5 °C (Malkin, 2006).

2. Asam oleat

Asam oleat atau Oleic acid, memiliki fungsi sebagai agen pengemulsi; penetran kulit. Asam oleat juga digunakan sebagai penambah penetrasi dalam formulasi transdermal, untuk meningkatkan bioavailabilitas obat yang sukar larut dalam air (Malkin, 2006).

Surfaktan adalah senyawa yang ter-adsorpsi pada antarmuka dan mereduksi tegangan antarmuka. Ketika surfaktan hadir dalam jumlah kecil, dapat meningkatkan stabilitas dengan menurunkan tingkat surfaktan yang disebut sebagai agen aktif permukaan. Surfaktan menurunkan energi bebas permukaan atau antarmuka dan menurunkan tegangan permukaan atau antarmuka antara dua fase. Ada beberapa factor yang harus dilihat saat memilih surfaktan

yaitu seperti rute pemberian, nilai HLB pada surfaktan (Sharma and Baldi, 2018). Menurut Campos et al konsentrasi stabil pada surfaktan adalah 0,5 – 5% (Campos et al., 2020).

Penggunaan surfaktan pada formulasi umum NLC :

1. Tegocare

Tegocare yang memiliki nama kimia Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearate ini berupa pellet yang berwarna kuning cerah dalam bentuk emulsi stabil dari pH 4,5 hingga 8,5. Tegoare memiliki nilai HLB 12 dan termasuk golongan surfaktan nonionik yang cocok digunakan pada pembuatan emulsi tipe minyak dalam air sering digunakan pada produk perawatan kulit. Sifat pengaplikasiannya juga dapat disesuaikan dengan memvariasikan jumlah fase minyak. Zat dengan sifat tertentu, seperti filter UV, ekstrak tumbuhan, turunan protein dan pelembab. Emulsi dengan pemanasan tinggi sangat cocok untuk dibuat formulasi. TEGO® Care 450 dapat membentuk emulsi stabil pada semua jenis lipid yang digunakan untuk produk perawatan kulit, termasuk minyak polar. Dapat dikatakan bahwa terdapat kemungkinan untuk menyesuaikan sifat aplikasi emulsi dengan pilihan minyak: semakin baik sifat penyebaran dan semakin rendah viskositas minyak, semakin "ringan" emulsi yang dihasilkan. TEGO® Care 450 memberikan sifat pelembab sekaligus meningkatkan status hidrasi kulit (Evonik, 2015).

2. Plantacare

Plantacare merupakan surfaktan nonionic yang memiliki efek pembusaan baik dengan kompatibilitas dermatologis yang baik. sehingga plantacare tepat digunakan sebagai basis surfaktan dasar maupun co-surfaktan terutama pada pembuatan sediaan kosmetik (Allen, L. V, 2009).

3. Cremophor RH 40

Memiliki nama kimia Polyethoxylated castor oil merupakan turunan minyak jarak polioksietilen merupakan pelarut nonionik dan agen pengemulsi yang digunakan dalam formulasi farmasi oral, topikal, dan parenteral biasanya digunakan sebagai bahan pengemulsi dan agen pelarut, sangat cocok untuk produksi sediaan cair berair yang mengandung minyak atsiri, larut dalam lemak; vitamin, dan zat hidrofobik lainnya. Turunan minyak jarak polioksietilen digunakan dalam berbagai oral, formulasi farmasi topikal, dan parenteral. Dalam kosmetik, terutama digunakan sebagai: agen pelarut untuk basis parfum dan minyak atsiri dalam pengiriman zat aktif obat ke target mengandung 30–50% v/v alkohol (etanol atau propan-2-ol) (Allen, L. V, 2009).

Tabel 2. 1 Bahan yang dapat digunakan dalam Formulasi NLC

Type	Name
Solid Lipids	Glyceryl monostearate

Liquid Lipids	Glyceryl tridecanote
	Glyceryl tripalmitate
	Glyceryl behenate (Compritol [®] 888 ATO)
	Stearic acid
	Glyceryl distearate (Precirol [®] ATO 5)
	Oleic acid
	Alpha-tocopherol acetate
	Squalene
	Mediun chain triglycerides (MCT)/ caprylic and capric triglyceride
	PEG-8 caprylic/capric glycerides (Labrasol [®])
Surfactants	Propylene glycol dicaprylocaprates (Labrafac [™] PG)
	Soy lecithin (Epikuron [™] 200)
	Soybean phosphatidylcholine
	Hydrogenated soybean phosphatidylcholine
	Lecithin
	solutol [®] HS 15 (poly-oxyethylene esters of 12-hydroxystearic acid)
	Soy lecithin (Epikuron [™] 200)
	Pluronic [®] F-68 (Poloxamer 188)
	Pluronic F127 (Poloxamer 407)
	Tween [®] 80
	Cremophor [®] RH 40 (PEG-40 Hydrogenated Castor Oil)
	Kolliphor [®] EL (Polyoxyl castor oil)

2.10 Metode Pembuatan NLC

Pembuatan NLC mirip dengan SLN, ada beberapa metode untuk produksi nanopartikel. Metode- metode tersebut menurut Tamjidi dkk yaitu:

1. Metode homogenisasi panas (*Hot homogenization method*)

Homogenisasi panas adalah metode yang paling banyak digunakan untuk fabrikasi SLN dan NLC. Dalam metode ini, obat pertama-tama dilarutkan atau didispersikan dalam campuran lipid. Campuran lipid adalah suhu 5-10 °C lebih tinggi dari suhu lipid dengan titik leleh tertinggi. Selanjutnya lipid di dispersikan dalam larutan pengemulsi berair dengan suhu yang sama dengan kecepatan tinggi. Emulsi suhu tinggi yang dihasilkan dihomogenisasi pada suhu

yang sama menggunakan instrumen Homogenizer tekanan tinggi (HPH), Probe/jet/bath Ultrasonik intensitas tinggi untuk menghasilkan nanoemulsi suhu tinggi. Selain itu, NLC diproduksi dengan mendinginkan nanoemulsi panas didalam air dingin, suhu kamar atau dengan penukar panas untuk dapat mengkristalkan tetesan lipid dan mengendapkan nanopartikel lipid. HPH biasanya menghasilkan polidispersi yang rendah, yaitu biasanya $<0,2$ (Tamjidi et al., 2013).

Kerugian dari teknik homogenisasi panas adalah:

- a. Suhu pemanasan yang tinggi sehingga dapat mendorong degradasi senyawa aktif yang labil.
- b. Suhu yang tinggi dapat mengurangi kemampuan pengemulsi dan menyebabkan NLC tidak stabil
- c. Partisi obat hidrofilik ke fase air menghasilkan efisiensi jebakan yang rendah selama proses homogenisasi

Namun metode ini juga memiliki banyak keunggulan yaitu scale up yang mudah, penggunaan pelarut organik yang tidak terlalu banyak dan waktu produksinya singkat dibandingkan dengan metode lain.

2. Metode homogenisasi dingin (*Cold homogenization method*)

Homogenisasi dingin adalah suspensi bertekanan tinggi dan jarang formulasi NLC diproduksi dengan metode ini, hal ini mungkin terjadi karena suhu yang dibutuhkan dalam proses ini lebih rendah. Dalam proses ini, senyawa bioaktif dilarutkan/didispersikan dalam campuran lipid yang meleleh, kemudian lipid curah didinginkan dengan cepat, lalu matriks lipid curah digiling untuk membentuk mikropartikel lipid penting untuk memastikan bahwa selama proses penggilingan suhu tidak melebihi suhu lipid dengan titik leleh terendah. Mikropartikel kemudian didispersikan dalam pengemulsi dingin dan kemudian dihomogenkan untuk menghasilkan nanopartikel lipid halus. Umumnya, ukuran partikel yang ada lebih besar daripada yang diperoleh dengan teknik lain dan distribusi ukurannya luas. Kelebihan homogenisasi dingin adalah penurunan degradasi termal senyawa bioaktif, selain meningkatkan penangkapan obat dan laju pendinginan yang lebih tinggi yang dapat mendukung distribusi obat yang seragam dalam matriks lipid, sehingga proses kristalisasi dapat dikontrol dan pendinginan yang cepat dapat mengarah pada pembentukan struktur kristal yang diinginkan (Tamjidi et al., 2013).

3. Metode emulsifikasi- penguapan pelarut (*Solvent emulsification–evaporation method*)

Dalam proses ini, lipid dan senyawa bioaktif dilarutkan dalam pelarut organik yang tidak dapat bercampur dengan air yang memiliki titik didih rendah, dan larutan diemulsikan ke dalam

larutan berair yang teremulsi. Setelah menguapkan pelarut di bawah tekanan tereduksi, pelarut organik dihilangkan, meninggalkan lipid dan senyawa bioaktif dalam bentuk nanopartikel. Keuntungan dari metode ini adalah meminimalkan paparan termal pada sampel dan cocok untuk senyawa yang peka terhadap panas. Partikel memiliki distribusi yang sempit dan ukuran rata-rata yang kecil (sekitar 30-100 nm) tergantung pada beban lipid, jenis pengemulsi dan kondisi produksi. Namun, kelemahan dari metode ini adalah pelarut yang tersisa dalam produk akhir dan konsentrasi NLC akhir yang rendah. Pelarut residu dalam NLC dapat menimbulkan masalah toksikologi yang dapat dihilangkan dengan menggunakan pelarut GRAS (*Generally Recognized as Safe*) seperti etil asetat. Rendahnya konsentrasi NLC akhir disebabkan oleh terbatasnya kelarutan lipid dalam pelarut organik yang digunakan atau pelarut organik encer yang digunakan dalam prosedur (Tamjidi et al., 2013).

2.11 Karakterisasi NLC

1. Ukuran partikel dan PDI (*Indeks Polidispersiti*)

Karakteristik ukuran partikel dan polidispersitas indeks adalah karakteristik yang penting untuk nanodispersi, karena karakter tersebut dapat mengatur stabilitas fisik, kelarutan, kinerja biologis, laju pelepasan, kekeruhan, dan stabilitas kimia. Menurut Zhang dkk diameter partikel NLC biasanya berkisaran di 10-500 nm (Zhang et al., 2011). Alat yang digunakan dalam pengukuran distribusi ukuran partikel adalah PSA (*Particle Size Analyzer*) dengan menggunakan metod DLS (*Dynamic Light Scattering*). Teknik DLS pada dasarnya digunakan untuk pengukuran koefisien difusi translasi partikel yang ditentukan dengan cara menganalisis interaksi antara sinar laser dan disperse. Berdasarkan teknik DLS konvensional terdapat instrumen seperti PCS (Photon Correlation Spectroscopy) dan DSS (Doppler Shift Spectroscopy). Biasanya ukuran partikel dinyatakan dalam bentuk jari-jari berbentuk bola pada partikel. Hasil akhir NLC dapat dipengaruhi oleh faktor metode yang digunakan, metode yang biasa digunakan oleh NLC adalah Homogenisasi panas dan emulsifikasi-evaporasi pelarut. Selama masa penyimpanannya, ukuran partikel yang diinginkan tergantung pada adsorpsi kinetik pengemulsi, tegangan antar muka antara fasa terdispersi dan kontinu, viskositas fasa terdispersi dan terdapatnya energy mekanik yang dapat merusak dan memecah fase terdispersi. Ukuran partikel juga dapat dicapai dalam emulsi tergantung kinetika adsorpsi pengemulsi, tegangan antarmuka, antar fase terdispersi dan fase kontinu (Tamjidi et al., 2013). Semakin kecil ukuran partikel menandakan semakin besar penyerapan obat dalam tubuh.

Polidispersi indeks (PI) memiliki efek penting untuk stabilitas fisik nanosuspensi, sehingga harus sebisa mungkin nilai harus rendah untuk nanosuspensi yang stabil untuk jangka

panjang. Polidispersi indeks menandakan penyebaran atau distribusi dari ukuran partikel. Dimana apabila nilai PdI semakin mendekati angka nol, maka distribusi ukuran partikelnya semakin baik. Nilai distribusi ukuran partikel yang baik apabila nilai PdI $<0,3$. *Particle Size Analysis* (PSA) menghasilkan ukuran partikel intensitas rata-rata diameter hidrodinamik dan indeks polidispersitas (PI; $0 \leq PI \leq 1$) sebagai ukuran lebar distribusi ukuran partikel. Nilai PI 0,1 – 0,25 menunjukkan nilai distribusi ukuran cukup sempit namun nilai PI $>0,5$ menunjukkan nilai distribusi yang sangat luas (Tamjidi et al., 2013). Namun biasanya HPH (homogenizer tekanan tinggi) menghasilkan partikel yang lebih kecil dengan indeks polidispersitasnya lebih rendah yaitu $<0,2$ (Severino et al., 2012).

2. Zeta potensial

ζ -potential adalah potensial listrik pada bidang geser, yang di artikan sebagai jarak dari permukaan partikel dimana ion lawan tetap melekat kuat pada partikel ketika bergerak dalam medan listrik (McClements and Rao, 2011). Zeta potensial digunakan untuk melihat stabilitas NLC, karena nilai zeta potensial menggambarkan nilai stabilitas dispersi dari koloid. Nilai zeta potensial berbanding terbalik dengan terjadi kemungkinan partikel saling Tarik menarik, dimana semakin tinggi (positif atau negatif) nilai zeta potensial maka partikel akan saling tolak menolak dan memungkinkan terjadinya penggabungan koloid kecil menjadi besar semakin berkurang risiko flokulasi. Nilai potensial tinggi menggambarkan stabilitas pada koloid sehingga dapat mencegah terjadinya agregasi. Bila nilai zeta potensial yang didapat rendah maka koloid cenderung saling Tarik menarik dan terflokulasi. Nilai Untuk mencapai NLC dengan stabilitas baik, menandakan koloid stabil bernilai minimum -30 mV dan atau lebih positif + 30 mV (Tamjidi et al., 2013).

3. Efisiensi penjerapa (*Entrapment efficiency*)

Menentukan efisiensi penjerapan obat dari NLC merupakan karakteristik penting karena dapat berpengaruh terhadap pelepasan profil obat. Efisiensi penjerapan bertujuan untuk mengukur jumlah obat yang terjerap dalam struktur lipid nanopartikel. Kapasitas pemuatan obat yang tinggi tergantung pada kelarutan zat aktif dalam fase lipid. Kehadiran lipid cair dalam NLC akan mengganggu konformasi lipid padat sehingga terjadi ketidaksempurnaan (*imperfection*) dan terdapat lebih banyak ruang untuk menjerap zat aktif. Oleh sebab itu dibandingkan SLN, efisiensi penjerapan NLC lebih besar. Nilai % EE yang baik ada pada rentang 90-98% dapat dihitung secara analisis dengan menggunakan Spektrofotometer Uv dengan panjang gelombang 291. Hasil pengukuran di konversi dengan persamaan kurva kalibrasi Vitamin E dan didapat konsentrasinya. Perhitungan *Entrapment efficiency* nanopartikel sebagai berikut (Tofani et al., 2016) :

$$\%EE = \frac{\text{Total Zat Aktif} - \text{Zat Aktif Bebas}}{\text{Total Zat Aktif}} \times 100\%$$

4. Morfologi NLC

Scanning Electron Microscopy (SEM), *Transmission Electron Microscopy* (TEM), dan *Atomic Force Microscopy* (AFM) merupakan alat yang digunakan untuk pengatan morfologi NLC. TEM digunakan untuk menentukan sifat permukaan dan morfologi, komposisi sampel dan bentuk struktur kristal dari nanopartikel. TEM bekerja dengan menembak elektron dimana electron tersebut memiliki energy tertinggi dengan menggunakan electron gun kesampel, dimana hasil tembakkkan melalui dua lensa kondensor akan menguatkan electron yang ditembak. Selanjutnya electron diterima sampel dan terjadi interaksi, lalu electron diteruskan masuk ke lensa objektif, intermediate, serta proyektor. Digunakannya 3 kombinasi lensa karena lensa objektif memiliki batas penyimpangan sehingga membatasi resolusi mikroskop dan dibutuhkannya lensa intermediate sebagai penguat. Lensa proyektor akan menangkap gambar dan menggambarkan hasil tangkapan yang berasal dari kamera CCD pada layar *fluorescent* sehingga kemudian data dapat dianalisis. TEM digunakan karena memiliki resolusi spasial optimal yang sangat tinggi yaitu lebih dari <50 pm dengan perbesaran maksimal 50 juta kali.

5. FTIR (*Fourier Transform Infra Red*),

FTIR ini digunakan untuk mempelajari interaksi antara obat dan pembawa yang digunakan dalam Persiapan NLC. FTIR ialah pengembangan dari metode spektrofotometri inframerah konvensional dengan adanya bagian interferometer akan mempercepat dalam membaca semua frekuensi inframerah sekaligus dimana sinyal interferogram akan dihitung dengan transformasi fourier sehingga menghasilkan puncak-puncak pada spektrum bilangan gelombang yang dapat dianalisis. Spektrum infra merah ini sendiri berfungsi sebagai sarana identifikasi kualitatif yaitu pencarian data yang berisi tentang gugus dan ikatan kimia yang ada pada senyawa organik yang idgunakan. Bila terdapat intensitas puncak- pumcak baru pada campuran sediaan , maka dapat dikatakan terjadi interaksi kimia dalam campuran sediaan tersebut (Gul et al., 2018; Tamjidi et al., 201)

6. DSC (*Differential Scaning Colorimetry*)

DSC ini digunakan untuk menentukan spesiasi kristalinitas dan polimorfisme bahan curah, obat-obatan dan nanopartikel obat oleh pengukuran gelas dan titik lebur pada masing-masing enthalpies. Menurut Mu dan Sprando pada tahun 2010 DSC juga Menyediakan analisis termal (dan interaksi komponen) nanopartikel dan material terkait selama proses fabrikasi. Menurut Chantaburanan DSC digunakan untuk menentukan derajat kristalinitas (Chantaburanan et al., 2017). Sebanyak 10mg lipida masal (obat dan NLC terliofolisasi) diletakkan di lubang jarum panci aluminium yang bagian bawahnya tertutup dan dipanaskan.

Panci aluminium kosong digunakan sebagai referensi. Hasil kurva kalorimetrik pemindaian diferensial dicatat pada rentang suhu 20°C-80°C dengan laju konstanta pemanasan linier 5°C/menit dengan nitrogen kering ultrahigh murni. Analisis ini diulang sebanyak tiga kali dan nilai dinyatakan sebagai rata-rata aritmetika dari ketiga determinasi. Dan pada proses akhir enthalpies dihitung dengan menggunakan Mettler Perangkat lunak bintang.

2.12 Design Expert

Untuk merancang dan memformulasikan produk farmasi, diperlukannya pemahaman mendalam tentang teori formulasi serta parameter yang diinginkan dan rentang parameter tersebut dalam setiap eksipien yang digunakan dalam formulasi. Untuk menentukan bahan dan formulasi terbaik, perlunya memahami hubungan variable independen dan dependen. Dalam prinsip perumusan dan optimasi diperlukannya serangkaian langkah. Pada studi formulasi konvensional, perubahan faktor dengan cara manual pada suatu waktu dan tetap menjaga faktor lainnya biasa dilakukan. Namun cara tersebut memiliki kekurangan seperti besarnya biaya yang dikeluarkan saat penelitian, tidak efisien dan mungkin tidak terdeteksi interaksi tertentu (Aminu et al., 2018).

Menurut Aminu et al., 2018 *Design- Expert*[®] dapat menjadi solusi dalam mengatasi keterbatasan tersebut. Metode *Design- Expert*[®] dapat menghemat biaya, waktu serta memberikan informasi yang diperlukan sehingga memungkinkan pemahaman tentang hubungan antara variable yang diteliti lebih baik. *Design expert* adalah perangkat lunak metode statistik, pertama kali tersedia pada tahun 1996 dan biasanya digunakan untuk melaksanakan desain eksperimen untuk menentukan formula optimal suatu sediaan. Perangkat lunak juga dapat menginterpretasikan faktor-faktor dalam percobaan. Perangkat lunak ini terbagi menjadi 3 arah penelitian *screening*, *characterization*, dan *optimization* tergantung desain yang akan dilakukan.

Screening membutuhkan paling sedikit run tetapi memberikan informasi paling sedikit. *Screening* digunakan ketika ada banyak faktor (>6), tetapi belum diketahui faktor mana yang berfungsi. *Characterization* membutuhkan lebih banyak run untuk setiap faktor, tetapi digunakan dengan beberapa faktor (<10) untuk memberikan lebih banyak informasi. *Optimization* membutuhkan banyak run per faktor tetapi memberikan informasi banyak juga. Optimasi ini digunakan setelah memperkecil daftar faktor (<6) yang diketahui penting dan potensi optimal berada dalam kisaran yang diuji. Hal ini dapat digunakan untuk menemukan pengaturan faktor yang memaksimalkan atau meminimalkan respon. Ada empat pilihan *Design of experiment* dengan metode yang digunakan, yaitu :

1. Faktorial

Penerapan persamaan regresi untuk memberikan model hubungan antara tanggapan satu atau lebih variabel bebas. Faktorial adalah jenis desain proses perbaikan yang paling umum. Dalam penelitian, faktorial digunakan untuk mengetahui pengaruh berbagai kondisi terhadap hasil penelitian, dan juga untuk mengkonfirmasi interaksi terkuantifikasi.

2. *Respon Surface Methodology* (RSM)

Metodologi permukaan respons (RSM) adalah metode yang dikenal juga sebagai Metodologi Box-Wilson. Metodologi permukaan respons adalah kumpulan teknik statistik dan matematika yang berguna untuk memodelkan dan menganalisis masalah di mana respons dipengaruhi oleh berbagai variabel.

Desain permukaan respons adalah desain yang sesuai dengan permukaan respons. Match menggunakan desain yang berbeda untuk setiap modelnya. Di RSM ada dua desain, yaitu:

- a. Desain Komposit Pusat (CCD) Central composite design dalam proses optimasi dilakukan untuk menentukan perkiraan arah optimal karena dalam RSM optimasi dan lokasi optimal tidak diketahui..
- b. Desain Box-Bhenken (BBD) Box-Bhenken Design (BBD) digunakan untuk optimasi dengan tiga variabel bebas. Perbedaan antara Desain Box-Bhenken (BBD) dan Desain Komposit Pusat (CCD) adalah eksperimen Desain Box-Bhenken lebih efisien karena memiliki run/unit percobaan yang lebih sedikit dibandingkan dengan Desain Komposit Pusat. Meski jumlahnya lebih kecil, Box-Bhenken mampu memprediksi nilai optimal baik linier maupun kuadrat dengan baik.

3. *Mixture*

Mixture digunakan untuk komponen dalam formulasi yang berubah secara proporsional satu sama lain. Persentase setiap variabel harus selalu meningkat untuk mendapatkan nilai total yang tetap. Bahkan jika komponen variabel hadir dalam jumlah yang sangat kecil, mereka masih dapat digunakan karena metode ini menunjukkan respons yang sangat sensitif terhadap bahan-bahan ini. Contoh: Ilmuwan makanan sedang bereksperimen pada campuran buah yang terdiri dari semangka, nanas dan jus jeruk, dan air. Responnya tergantung pada proporsi berbagai buah, bukan jumlah total campuran. Jika jumlah masing-masing bahan digandakan, rasanya tetap sama. Nilai faktor dalam desain *Mixture* memiliki proporsi antara 0 dan 1.

Salah satu metode dalam desain campuran adalah desain kisi simpleks (SLD). Simplex lattice design adalah metode optimasi yang digunakan untuk menentukan formula optimum untuk campuran bahan dengan proporsi jumlah total bahan yang berbeda menjadi 1 (100%). Material atau faktor yang digunakan dalam optimasi minimal dua material yang berbeda.

Mixture Design dapat memberikan formula yang optimal dengan menggunakan data respon dari parameter masing-masing preparasi. Dari berbagai variasi formula campuran tersebut, formula yang optimal adalah formula yang memiliki hasil evaluasi dalam batasan range pada masing-masing parameter. Kemudian dilihat dengan menggunakan derajat keinginan, rumus yang memiliki derajat keinginan mendekati 1 rumus terbaik/optimal. Optimasi formula dengan metode desain *Mixture* memiliki keuntungan yaitu formula run yang lebih sedikit dibandingkan dengan faktorial dan RSM. Jumlah run lebih sedikit, yang berarti membutuhkan waktu lebih sedikit untuk eksperimen di laboratorium sehingga lebih efisien dari segi waktu dan bahan. Metode ini cocok untuk penelitian tesis dan disertasi yang memiliki waktu terbatas.

4. *Combined*

Combined merupakan rancangan percobaan (DOE) yang menggabungkan faktorial, RSM dan campuran. Digunakan untuk mempelajari variabel antara variabel komposisi campuran dan variabel proses dalam satu DOE.