



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI FISIKOKIMIA
NANOPARTIKEL KURKUMIN-DENDRIMER
POLIAMIDOAMIN (PAMAM) GENERASI 4**

SKRIPSI

**YOGA OCTA PERDANA
0806328184**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI FISIKOKIMIA
NANOPARTIKEL KURKUMIN-DENDRIMER
POLIAMIDOAMIN (PAMAM) GENERASI 4**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**YOGA OCTA PERDANA
0806328184**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi 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, Juli 2012



Yoga Octa Perdana

HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS

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

Nama : Yoga Octa Perdana

NPM : 0806328184

Tanda Tangan : 

Tanggal : Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Yoga Octa Perdana
NPM : 0806328184
Program Studi : Sarjana Farmasi
Judul Skripsi : Pembuatan dan Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel
Kurkumin-Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM)
Generasi 4

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Sutriyo S.Si., M.Si., Apt ()

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

Penguji II : Dr. Herman Suryadi, MS ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 10 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan kuasa-Nya akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Saya menyadari bantuan dari pihak-pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini sangatlah berarti bagi saya. Oleh karena itu, penulis mengucapkan rasa terima kasih dan rasa hormat kepada :

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini
2. Sutriyo, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing skripsi yang telah membimbing dan mengarahkan penulis.
3. Dr. Abdul Mun'im, MS selaku pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama perkuliahan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Dr. Berna Elya selaku koordinator pendidikan yang telah memberikan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Seluruh dosen/staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu dan didikan yang telah diberikan selama ini.
6. Seluruh laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI atas seluruh waktu dan bantuannya selama masa pendidikan dan penelitian, terutama Mbak Devfanny, Pak Imih, Pak Eri, Mbak Lia, Pak Yono, Pak Ma'ruf, dan Pak Suroto atas bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
7. Keluarga tercinta di Bunga Mayang yang telah memberikan inspirasi, motivasi, dan tentunya dukungan material bagi penulis untuk menyelesaikan skripsinya.

8. Rekan-rekan perjuangan penelitian KBI Farmasetika, khususnya untuk Yurika, Zhuisa, Ima, dan Fathia atas kebersamaan dan bantuannya selama penyusunan skripsi ini.
9. Sahabat-Sahabat Farmasi UI angkatan 2008 atas persaudaraan yang indah selama masa perkuliahan, terutama untuk Wahyu, Basyar, Adon, DRB dan Wenny yang telah membantu secara langsung saat penelitian.
10. Kakak-kakak tingkat, terutama untuk Kak Radit dan Mbak Nia atas ilmu yang telah diberikan dan adik-adik tingkat atas inspirasi dan dukungan yang tidak disangka-sangka selama penelitian.
11. Teman-teman seperjuangan di HMD Farmasi, BEM MIPA, BPM MIPA, PSAF Ceria, Saimala, Mata Air dan Bintang atas cerita indahnyaa saat-saat perkuliahan.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari hasil sempurna, sehingga penulis menerima kritik dan saran yang membangun demi tercapai hasil yang lebih baik. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Yoga Octa Perdana
NPM : 0806328184
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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 :

Pembuatan dan Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM) Generasi 4

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan 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 : Juli 2012

Yang menyatakan



(Yoga Octa Perdana)

ABSTRAK

Nama : Yoga Octa Perdana
Program Studi : Farmasi
Judul : Pembuatan dan Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM) Generasi 4

Kurkumin, senyawa polifenol hidrofobik dari rimpang kunyit (*Curcuma longa*) memiliki aktivitas farmakologi yang luas. Bioavailabilitas kurkumin yang rendah menyebabkan pemanfaatannya masih belum maksimal. Pembuatan nanopartikel kurkumin (nanokurkumin) dapat memperbaiki bioavailabilitas kurkumin, namun kestabilan sistem nanopartikel kurkumin saat ini menjadi masalah dalam pengembangannya. Dendrimer PAMAM G4 yang merupakan polimer unik bercabang, berukuran nanometer, monodisper, dan mampu menjerap molekul asing ke dalamnya dapat dimanfaatkan sebagai pembawa nanopartikel kurkumin untuk meningkatkan kestabilannya. Pada penelitian ini nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dibuat dengan variasi rasio molar, yaitu (1:0,2), (1:0,02), dan (1:0,002), kemudian dipurifikasi menggunakan ultrasentrifugasi. Nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dikarakterisasi menggunakan TEM, PSA, Zetasizer, dan FTIR. Kandungan obat dan efisiensi penjerapan ditetapkan secara spektrofotometri UV-Vis. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 berukuran antara 9 – 61 nm dengan efisiensi penjerapan mencapai 77 - 100 %. Hasil ini memperlihatkan bahwa nanopartikel kurkumin dengan pembawa dendrimer PAMAM G4 telah berhasil dibuat dengan rasio molar (1:0,02) yang memberikan hasil optimum.

Kata kunci : dendrimer PAMAM G4, efisiensi penjerapan, kandungan obat, kurkumin, ukuran partikel, variasi rasio molar.
xv + 74 hal. : 10 gambar ; 3 tabel ; 34 lampiran
Daftar acuan : 38 (2000-2012)

ABSTRACT

Name : Yoga Octa Perdana
Study Program : Pharmacy
Tittle :Preparation and Physicochemical Characterization of Curcumin-Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Generations 4 Nanoparticles

Curcumin, a hydrophobic polyphenol compound derived from the rhizome of turmeric (*Curcuma longa*) has a wide pharmacological activities. Low bioavailability of curcumin caused the under-developed utilization. Preparation of curcumin nanoparticles (*nanocurcumin*) can improve the bioavailability, however stability of curcumin nanoparticles become a problem to develop it. PAMAM G4 dendrimer is unique branched polymer, nano-sized, monodisperse, and has ability to entrap guest molecules so it can be used as ideal carrier systems to improve stability of curcumin nanoparticles. In this study, curcumin-PAMAM G4 dendrimer nanoparticle were prepared with various molar ratio, they are (1:0.2), (1:0.02), and (1:0.002) and then purified by ultracentrifugation. Curcumin-PAMAM G4 dendrimer nanoparticle were characterized by TEM, PSA, Zetasizer, and FTIR. Drug loading and entrapment efficiency was determined by UV-Vis spectrophotometer. The result of characterizations showed that size of curcumin-PAMAM G4 dendrimer nanoparticle average 9-61 nm and the entrapment efficiency was around 77 – 100 %. Thus, these results demonstrated curcumin nanoparticle have been successfully prepared and molar ratio (1:0.02) showed an optimum result.

Keywords : curcumin, drug loading, entrapment efficiency, PAMAM G4 dendrimer, particle size, various molar ratio.

xv + 74 pages : 10 pictures ; 3 tables ; 34 appendices

Bibliography : 38 (2000-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Kurkumin	3
2.1.1 Stabilitas Kurkumin	4
2.1.2 Aktivitas Farmakologi.....	4
2.1.3 Farmakokinetika	5
2.2 Nanopartikel.....	6
2.2.1 Pembuatan Nanopartikel	7
2.2.2 Karakteristik Nanopartikel.....	9
2.2.3 Aplikasi Nanopartikel dalam Penghantaran Obat.....	11
2.2.4 Nanopartikel Kurkumin	12
2.3 Dendrimer	13
2.3.1 Struktur Dendrimer	14
2.3.2 Keuntungan Dendrimer	15
2.3.3 Aplikasi Dendrimer.....	16
2.3.4 Dendrimer PAMAM	18
BAB 3 METODE PENELITIAN	21
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	21
3.2 Alat.....	21
3.3 Bahan	21
3.4 Cara Kerja.....	21
3.4.1 Pembuatan Larutan Dendrimer PAMAM G4 0,1 % ; 0,15 % dan 0,015 %	22
3.4.2 Pembuatan Larutan Kurkumin 105,36 ppm dan 1582 ppm	22
3.4.3 Pembuatan Larutan Dapar TES 0,01 M (pH) 7,4	22
3.4.4 Pembuatan Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4	23
3.4.5 Pemisahan Kompleks Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 dan Kurkumin Bebas dengan Ultrasentrifugasi.....	24

3.4.6	Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4	24
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		28
4.1	Pembuatan Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	28
4.2	Pemisahan Kompleks Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 dan Kurkumin Bebas	28
4.3	Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4	29
4.3.1	Penampilan Fisik Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	29
4.3.2	Pengamatan Bentuk Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAMG4.....	30
4.3.3	Penentuan Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel NanopartikelKurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	30
4.3.4	Penentuan Nilai Zeta Potensial Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	34
4.3.5	Penentuan Nilai Indeks Polidispersitas Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	35
4.3.6	Analisis Spektrum FTIR Nanopartikel Kurkumin - Dendrimer PAMAM G4.....	36
4.3.7	Analisis Spektrum UV-Vis Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	37
4.3.8	Penentuan Persentase Efisiensi Obat Terjerap Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	38
4.3.9	Penentuan <i>Drug Loading</i> Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4.....	40
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN		42
5.1	Kesimpulan	42
5.2	Saran.....	42
DAFTAR ACUAN.....		43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur kimia kurkumin	4
Gambar 2.2. Struktur dendrimer	14
Gambar 2.3. Struktur kimia dendrimer PAMAM G4	19
Gambar 4.1. Hasil ultrasentrifugasi nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4	29
Gambar 4.2. Larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4	30
Gambar 4.3. Hasil pengamatan bentuk nanopartikel kurkumin- dendrimer PAMAM G4 dengan TEM	31
Gambar 4.4. Hasil gambar TEM dan diagram distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 F1	32
Gambar 4.5. Diagram distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin- dendrimer PAMAM G4 rasio molar (1:0,02) dan (1:0,002)	33
Gambar 4.6. Spektrum serapan UV-Vis <i>overlay</i> dari kurkumin, dendrimer PAMAM G4, dan nanopartikel kurkumin- dendrimer PAMAM G4	38
Gambar 4.7. Mekanisme enkapsulasi kurkumin ke dalam rongga internal dendrimer PAMAM G4	40

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Karakteristik fisika Dendrimer PAMAM	20
Tabel 4.1. Data perbandingan efisiensi penjerapan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4.....	39
Tabel 4.2. Data perbandingan <i>drug loading</i> nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4	48
Lampiran 2.	Pengadukan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 ...	48
Lampiran 3.	Alat-alat yang digunakan pada saat penelitian	49
Lampiran 4.	Spektrum inframerah kurkumin	50
Lampiran 5.	Spektrum inframerah dendrimer PAMAM G4.....	51
Lampiran 6.	Spektrum inframerah NP-kd formula 1	52
Lampiran 7.	Spektrum inframerah NP-kd formula 2.....	53
Lampiran 8.	Spektrum inframerah NP-kd formula 3.....	54
Lampiran 9.	Spektrum inframerah <i>overlay</i> kurkumin, dendrimer PAMAM, dan NP-kd F1	55
Lampiran 10.	Spektrum inframerah <i>overlay</i> kurkumin, dendrimer PAMAM, dan NP-kd F2	56
Lampiran 11.	Spektrum inframerah <i>overlay</i> kurkumin, dendrimer PAMAM, dan NP-kd F3	57
Lampiran 12.	Spektrum inframerah <i>overlay</i> ketiga formula.....	58
Lampiran 13.	Spektrum serapan UV-Vis kurkumin	59
Lampiran 14.	Kurva kalibrasi kurkumin standar	59
Lampiran 15.	Spektrum serapan UV-Vis kurkumin bebas	60
Lampiran 16.	Skema kerja pembuatan nanopartikel kurkumin- dendrimer PAMAM G4.....	61
Lampiran 17.	Bagan perhitungan kurva kalibrasi kurkumin standar	62
Lampiran 18.	Data formulasi nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4	63
Lampiran 19.	Data perbandingan ketiga formula NP-kd.....	63
Lampiran 20.	Data hasil penentuan ukuran partikel dari alat <i>Particle Anayzer</i>	64
Lampiran 21.	Data hasil penentuan ukuran partikel metode <i>image analisis</i>	64
Lampiran 22.	Data distribusi ukuran partikel formula 1	65
Lampiran 23.	Data distribusi ukuran partikel formula 2.....	65
Lampiran 24.	Data distribusi ukuran partikel formula 3.....	65
Lampiran 25.	Data hasil penentuan nilai indeks polidispersitas NP-kd.....	66
Lampiran 26.	Data hasil penentuan nilai zeta potensial NP-kd	66
Lampiran 27.	Data perhitungan efisiensi penjerapan dan <i>drug loading</i> NP-kd	67
Lampiran 28.	Data serapan kurkumin standar.....	68
Lampiran 29.	Data analisis spektrum FTIR	69
Lampiran 30.	Rumus dan perhitungan bahan.....	70
Lampiran 31.	Rumus dan perhitungan efisiensi penjerapan NP-kd	71
Lampiran 32.	Rumus dan perhitungan <i>drug loading</i> NP-kd.....	72
Lampiran 33.	Sertifikat analisis dendrimer PAMAM G4.....	73
Lampiran 34.	Sertifikat analisis kurkumin	74

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kurkumin merupakan polifenol hidrofobik yang berasal dari rimpang tanaman kunyit (*Curcuma longa*). Kurkumin memiliki aktivitas farmakologi yang luas dan secara tradisional telah dimanfaatkan dalam penyembuhan penyakit. Kurkumin menunjukkan aktivitas antioksidan, antikanker, anti-inflamasi dan hepatoprotektif (Anand, Kunnumakkara, Newman, & Aggarwal, 2007). Pemanfaatan kurkumin seringkali bermasalah dikarenakan sifat kurkumin yang sukar larut dalam air, mengalami metabolisme dan eliminasi cepat, terdegradasi pada pH basa, dan absorpsi yang buruk menyebabkan bioavailabilitasnya menurun (Anand, Kunnumakkara, Newman, & Aggarwal, 2007; Estaca, Ballaguer, Gavara, & Muñoz, 2010; Mohanty dan Sahoo, 2010). Saat ini, modifikasi teknologi telah diujicobakan untuk memperbaiki kelarutan, stabilitas, dan bioavailabilitas kurkumin. Cara-cara yang telah dilakukan, yaitu dengan penambahan adjuvant seperti piperin (Wilken, Veena, Wang, & Srivatsan, 2011), penggunaan pembawa liposom (Karewicz *et al.*, 2011), penggunaan kompleks fosfolipid kurkumin (Maiti, Mukherjee, Gantait, Saha, & Mukherjee, 2007) dan pemanfaatan nanopartikel kurkumin (nanokurkumin) (Mohanty dan Sahoo, 2010).

Penghantaran kurkumin dengan pembawa nanopartikel (nanokurkumin) telah berhasil dimanfaatkan untuk meningkatkan bioavailabilitas kurkumin dan melindungi kurkumin dari metabolisme cepat dan degradasi. Nanopartikel kurkumin yang berukuran kurang dari 100 nm dengan kurkumin terjerap atau terdispersi di dalam polimer pembawa memiliki kestabilan yang baik secara fisika dan kimia (Anand, Kunnumakkara, Newman, & Aggarwal, 2007). Kestabilan sistem nanopartikel menjadi salah satu aspek penting dalam menjamin keamanan dan efikasi nanopartikel obat. Oleh karena itu, permasalahan kestabilan nanopartikel saat ini menjadi perhatian penting dalam pengembangan penghantaran obat nanopartikel. Masalah kestabilan dikategorikan menjadi

kestabilan fisika dan kestabilan kimia, kestabilan fisika meliputi agregasi partikel, sedimentasi, dan pertumbuhan kristal (Libo Wu, Jian Zhang, & Watanabe, 2011).

Polimer-polimer terbaru telah banyak diteliti sebagai pembawa obat nanopartikel (*nanocarrier*), pemilihan polimer pembawa obat menjadi hal penting untuk menghasilkan nanopartikel yang stabil, dapat melindungi obat yang terenkapsulasi, salah satu polimer yang menjanjikan sebagai pembawa nanopartikel obat adalah dendrimer (Dunham, Ward, & Baker, 2008). Dendrimer adalah polimer bercabang berstruktur unik tiga dimensi yang memiliki gugus-gugus fungsi yang dapat dimodifikasi pada permukaannya. Dendrimer secara luas telah dimanfaatkan sebagai pembawa nanopartikel obat (*nanocarrier*) seperti emas, ibuprofen, fluorouracil, nifedipin, dll. Interaksi obat dengan dendrimer ini dapat meningkatkan kestabilan, kelarutan dan bioavailabilitas obat yang terjerap di dalamnya. Dendrimer poliamidoamin (PAMAM) dengan inti etilendiamin merupakan salah satu dendrimer yang aman, non-imunogenik, sitotoksitas minimum, berukuran 1-100 nm, monodispers, dan memiliki rongga internal yang mampu menjerap obat kedalamnya. Sifat unik yang dimiliki oleh dendrimer PAMAM ini mendorong penggunaannya secara luas dalam biomedikasi, terutama dalam hal penghantaran obat, terapi gen, terapi tumor, kemoterapi, dan diagnostik (Xue Luo, 2009 ; Narayan *et al.*, 2010).

Pada penelitian ini, nanopartikel kurkumin dibuat dengan pembawa dendrimer PAMAM G4 menggunakan variasi rasio molar antara kurkumin dan dendrimer PAMAM G4. Beberapa teknik karakterisasi fisika dan kimia yang dilakukan dalam penelitian ini mencakup penentuan ukuran dan distribusi ukuran partikel, bentuk partikel, zeta potensial, indeks polidispersitas, analisis spektrum UV-Vis dan FTIR, serta menetapkan kandungan obat dan efisiensi obat terjerap.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Memperoleh nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM generasi 4 pada rasio molar yang optimum.
- b. Memperoleh karakteristik fisikokimia nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM generasi 4.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

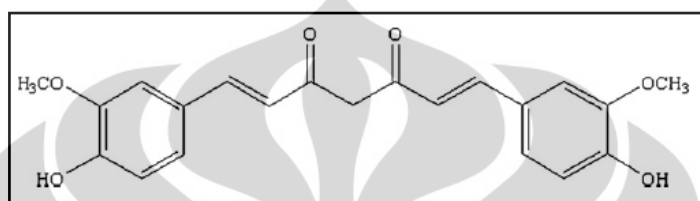
2.1 Kurkumin

Kurkumin yang juga dikenal dengan nama diferuloilmetan merupakan senyawa polifenol hidrofobik yang diisolasi dari rimpang kunyit (*turmeric*) (*Curcuma longa*, Zingiberaceae), yaitu tanaman yang tumbuh di daerah India, Cina, Asia Tenggara dan negara-negara tropis lainnya. Kandungan kurkumin dalam kunyit mencapai 2-5 %. Pertama kali kurkumin diisolasi pada tahun 1815 oleh Vogel dan Pelletier, kemudian struktur kurkumin dikenalkan pertama kali pada tahun 1913 oleh Lampe dan Milobedzka dengan sebutan diferuloilmetan. Kurkumin terdapat bersama dengan senyawa turunan lainnya yaitu demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin, yang kemudian ketiganya dikenal dengan kurkuminoid, dengan komposisi kurkumin (sekitar 77%), demetoksikurkumin (sekitar 17%), dan bisdemetoksikurkumin (sekitar 3%). Kurkumin berbentuk serbuk berwarna kuning jingga yang tidak larut dalam air dan eter, tetapi larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, dimetilsulfoksida (DMSO), asam asetat, kloroform, dan aseton. Kurkumin dalam larutan menjadi bentuk enolnya yang menunjukkan kemampuan sebagai *radical-scavenging* (Goel, Kunnumakkara, & Aggarwal, 2008).

Kurkumin memiliki rumus kimia $C_{21}H_{20}O_6$, dengan berat molekul 368,47 g/mol dan titik didih 183 °C. Serapan UV-Vis kurkumin didapatkan pada panjang gelombang maksimum (λ maks) 420 - 430 nm dalam metanol dan 420 nm dalam aseton. (Goel, Kunnumakkara, & Aggarwal, 2008). Kurkumin atau 1,7-bis-(4 hidroksi-3-metoksi fenil) 1,6-heptadiena-3,5-dion merupakan senyawa polifenol yang dihubungkan oleh dua α, β gugus karbonil tak jenuh yang berasal dari rantai diketon seperti yang terlihat pada Gambar 2.1 (Galano, Diduk, Silva, Angeles, & Hernández, 2009).

Penetapan kadar kurkumin umumnya ditetapkan secara spektrofotometri UV-Vis dan HPLC (*High Performance Liquid Chromathography*). Penetapan kadar kurkumin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang maksimum (λ maks) 423 nm dalam pelarut metanol atau pada 425 nm

dalam pelarut etanol. Penetapan kadar kurkumin menggunakan HPLC menunjukkan kurkumin dipisahkan dengan metode fase terbalik, fase diam yang digunakan adalah kolom C₁₈ dan fase gerak adalah asetonitril, laju alir 0,8 ml/menit, *run time* untuk analisis adalah 27 menit dengan panjang gelombang deteksi pada 425 nm (Anitha *et al.*, 2011; Yin Meng Tsai, Chao Feng Chiena, Lie Chwen Lin, & Tung Hu Tsai, 2011).



[Sumber : Zhanguang Chen *et al.*, 2009]

Gambar 2.1. Struktur kimia kurkumin (telah diolah kembali)

2.1.1 Stabilitas Kurkumin

Stabilitas kurkumin dipengaruhi oleh pH lingkungan dan cahaya. Dalam media larutan aqueous, kurkumin tidak stabil pada pH lebih dari 11,7. Kurkumin mengalami reaksi hidrolisis degradatif yang bergantung pH lingkungan, pada suasana asam (pH 2,5-7), kurkumin berwarna kuning atau jingga, sedangkan dalam suasana basa (pH lebih dari 7) kurkumin berwarna merah. Pada suasana basa, kurkumin mengalami degradasi membentuk vanillin, asam ferulat dan feruloilmetan, degradasi ini terjadi bila kurkumin berada dalam lingkungan pH 8,5-10,0 dalam waktu yang relatif lama. Kebanyakan kurkumin (lebih dari 90%) secara cepat mengalami degradasi dalam 30 menit ketika dilarutkan dalam dapar pospat pH 7,2. (Shehzad, Wahid, & Young Sup Lee, 2010).

2.1.2 Aktivitas Farmakologi

Secara tradisional, *turmeric* atau kunyit telah dimanfaatkan sebagai pewarna dan perasa pada makanan, pewarna tekstil, dimanfaatkan untuk kosmetik, dan digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit. Kurkumin menunjukkan aktivitas antioksidan, anti inflamasi, antimikroba, dan antikanker. Selain itu kurkumin juga memiliki aktivitas nefroprotektif, hepatoprotektif,

trombosupresif, pelindung infark miokard, hipoglikemik, dan antirematik. (Anand *et al.*, 2008). Hal inilah yang menyebabkan kurkumin dapat dipercaya mengobati berbagai macam penyakit, seperti anoreksia, batuk, diabetes, kelainan hepatic, rematik, dan gejala Alzeimer (Galano, Diduk, Silva, Angeles, & Hernández, 2009). Kurkumin dimanfaatkan secara luas karena penggunaannya yang aman, terlebih lagi kurkumin telah diujicobakan pada model hewan dan terbukti aman bahkan pada dosis tinggi sekalipun (Goel, Kunnumakkara, & Aggarwal, 2008).

2.1.3 Farmokinetika

Kurkumin memiliki bioavailabilitas sistemik yang buruk jika diberikan secara oral. Bioavailabilitas kurkumin buruk disebabkan karena kurkumin yang tidak larut dalam air pada pH asam atau netral sehingga sulit untuk diabsorpsi (Xiaoyong Wang *et al.*, 2008). Kurkumin termetabolisme cepat di hati yang berdampak pada menurunnya bioavailabilitas kurkumin. Buruknya bioavailabilitas kurkumin menyebabkan konsentrasi kurkumin di plasma rendah, distribusi ke jaringan terbatas, dan waktu paruh yang pendek. Kurkumin banyak diekskresikan melalui feses (sekitar 75%) dan sedikit diekresikan melalui urin. Kurkumin aman digunakan untuk pemakaian dengan dosis oral sangat tinggi, pemakaian kurkumin sampai 12 g/hari pada manusia masih dapat ditoleransi. Namun, pemakaian dosis oral 4-8 g/hari direkomendasikan untuk mencapai efek terapi maksimal.

Berdasarkan laporan FAO/WHO *intake* kurkumin per hari adalah 0,1 - 3 mg/kg BB dan tidak menimbulkan efek samping. Dalam percobaan yang diujikan kepada tikus dengan pemberian secara intravena (i.v) dan intraperitoneal (i.p), kurkumin tidak diekskresikan melalui feses, tetapi diekskresikan di empedu. Metabolit utama kurkumin adalah dihidrokurkumin (DHC) dan tetrahidrokurkumin (THC), kemudian kedua senyawa tersebut dikonversi menjadi konjugat monoglukoronat (glukuronat kurkumin, glukuronat dihidrokurkumin, glukuronat tetrahidrokurkumin), selain itu metabolit sampingannya adalah asam dihidroferulat dan asam ferulat. Studi farmakokinetika pada tikus memperlihatkan dosis oral kurkumin pada 2 g/kg memperlihatkan konsentrasi maksimum serum $1,35 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$ selama 0,83 jam, sedangkan pada manusia dengan dosis yang

sama menunjukkan konsentrasi serum $0,006 \pm 0,005 \mu\text{g/ml}$ selama 1 jam. Dalam penelitian farmakokinetik fase 1 terhadap 15 pasien yang diberikan kurkumin secara oral dengan dosis 450-3600 mg/hari sampai dengan 4 bulan, metabolit tidak terdeteksi dalam darah atau urin, melainkan terdeteksi dalam feses. (Shehzad, Wahid & Young Sup Lee, 2011). Kurkumin mengalami metabolisme di usus dan mengalami metabolisme lintas pertama yang cepat dan ekskresi di empedu. Pemberian oral kurkumin dengan agen lain dalam hal penghantaran sistemik dapat meningkatkan bioavailabilitas kurkumin, misalnya dengan penambahan adjuvant (piperin), pembawa liposom, kompleks fosfolipid, dan nanopartikel kurkumin (Anand, Kunnumakkara, Newman, & Aggarwal, 2007).

2.2 Nanopartikel

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel koloid atau dispersi partikel yang berukuran antara 10-100 nm (*sub-mikron*). Obat dapat terlarut, terjerap, terenkapsulasi, atau terikat pada pembawa nanopartikel. Nanopartikel dapat dibedakan menjadi nanokapsul dan nanosfer. Nanokapsul adalah sistem nanopartikel ketika obat berada di dalam rongga dan diselimuti oleh membran polimer, sedangkan nanosfer adalah sistem nanopartikel ketika obat secara fisik terdispersi secara seragam pada pembawa nanopartikel. Tujuan utama dalam pembuatan nanopartikel adalah memodifikasi ukuran partikel, sifat permukaan dan profil pelepasan obat agar mencapai sel aksi spesifik obat dalam mengoptimalkan efek terapi (Sing dan Lillard, 2009; Mohanraj dan Y Chen, 2005).

Keuntungan menggunakan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat, diantaranya adalah :

- a. Ukuran partikel dan karakteristik permukaan dapat dengan mudah dimodifikasi sehingga obat dapat mencapai sel target melalui mekanisme *passive* atau *active drug targeting*.
- b. Nanopartikel dapat mengontrol dan memperlambat pelepasan obat selama penghantaran mencapai loka aksi untuk meningkatkan efek terapi obat dan mengurangi efek samping.

- c. Pelepasan obat dapat dikontrol dan sifat degradasi pembawa dapat dengan mudah dimodifikasi berdasarkan pemilihan matriks pembawa nanopartikel.
- d. *Drug loading* dan efisiensi penjerapan relatif lebih tinggi dan obat dapat terinkorporasi ke dalam sistem tanpa reaksi kimia, hal ini penting untuk menjaga keutuhan aktivitas obat.
- e. Penargetan ke sel yang spesifik dapat dicapai dengan menambahkan ligan-ligan pada permukaan partikel.
- f. Nanopartikel dapat meningkatkan stabilitas obat yang terjerap atau terenkapsulasi di dalam pembawa.
- g. Sistem nanopartikel dapat digunakan untuk berbagai macam rute pemberian, diantaranya oral, nasal, parenteral, intraokular, dll.

Nanopartikel dapat menembus pembuluh kapiler terkecil dikarenakan ukuran yang sangat kecil dan dapat menghindari klirens cepat karena fagosit oleh MPS (*mononuclear phagocyte system*) sehingga durasi dalam aliran sistemik dapat diperpanjang. Nanopartikel dapat berpenetrasi ke dalam sel dan melewati celah-celah jaringan untuk mencapai organ target. Nanopartikel dapat memberikan sifat pelepasan obat terkontrol (*controlled drug release*) yang dipengaruhi oleh kemampuan biodegradable, pH, dan ionisasi dari polimer pembawa. Saat ini, nanopartikel secara luas dimanfaatkan untuk penghantaran antibiotik, antikanker, agen radiologi, vaksin, protein, polipeptida, antibodi, dan gen (Yallapu, Gupta, Jaggi, & Chauhan, 2010). Di samping keuntungan, nanopartikel juga memiliki keterbatasan. Contohnya, ukuran partikel yang kecil dan luas permukaan yang luas dapat mendorong partikel bergregasi, sehingga memungkinkan nanopartikel tidak stabil secara fisik (Mohanraj dan Y Chen, 2005).

2.2.1 Pembuatan Nanopartikel

Nanopartikel dapat dibuat dari berbagai macam polimer, seperti protein, polisakarida, dan polimer sintetik. Pemilihan polimer bergantung pada faktor karakteristik obat (kelarutan dan stabilitas), ukuran partikel yang diharapkan, sifat permukaan (muatan dan permeabilitas) yang diharapkan, profil pelepasan

obat yang diinginkan, dan tingkat biodegradabilitas, biokompatibilitas, toksisitas dari polimer.

Tujuan utama dalam pembuatan nanopartikel adalah memodifikasi ukuran partikel, sifat permukaan dan profil pelepasan obat agar dapat mencapai sel aksi spesifik untuk mengoptimalkan efek terapi. Faktanya, dalam pembuatan nanopartikel agar menghasilkan ukuran partikel yang sangat kecil dan stabil dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti keunikan struktur pembawa, polidispersitas, konsentrasi pembawa yang digunakan, sifat permukaan, rasio antara obat dan pembawa, penambahan zat penstabil/surfaktan, pH, suhu, dan kecepatan pengadukan pada proses pembuatan (Mohanraj dan Y Chen, 2005).

Pembuatan nanopartikel umumnya dibagi menjadi dua kategori yaitu, *top-down* dan *bottom-up* bergantung dengan karakteristik bahan awal. Metode *top-down* dimulai dengan partikel solid yang berukuran besar kemudian dibentuk menjadi partikel berukuran nanometer, partikel besar ini secara mekanik dibentuk menjadi partikel kecil. Contohnya *wet milling* (penggilingan basah) dan *high pressure homogenization* (homogenisasi tekanan tinggi). Metode *bottom-up* yaitu partikel dari bentuk molekul kemudian dibentuk menjadi nanopartikel dengan mengontrol karakteristik partikelnya (ukuran dan morfologinya). Contohnya adalah penguapan pelarut (Jian Zhang, Libo Wu, Hak-Kim Chan, & Watanabe, 2011).

Penggilingan basah (*wet milling*) adalah metode yang menggunakan media penggilingan yang terbuat dari gelas, zirconium oksida atau *cross-linked* polistiren resin. Campuran partikel obat dan zat penstabil dimasukkan ke dalam sebuah *milling chamber*, kemudian campuran digiling dengan menggunakan batang penggilingan yang dapat memutar dengan kecepatan tinggi sehingga dapat memecah bahan-bahan menjadi partikel berukuran nanometer, biasanya dalam rentang ukuran 100-400 nm. Homogenisasi tekanan tinggi (*high pressure homogenization*) adalah metode ketika dispersi dihomogenisasi dengan kecepatan dan tekanan tinggi (100-2000 bar) yang dapat menghasilkan partikel berukuran sub-mikron. Pada metode ini, sebelum dilakukan homogenisasi pada tekanan tinggi, dilakukan pencampuran bahan dan obat kemudian dilelehkan pada titik lelehnya sehingga membentuk larutan surfaktan panas, dan larutan surfaktan

panas inilah yang berikutnya dihomogenisasi. Penguapan Pelarut merupakan metode dimana polimer dilarutkan dalam pelarut organik (misalnya diklormetan, kloroform atau etil asetat). Zat aktif dilarutkan dalam fase organik tersebut, campuran ini kemudian diemulsikan dalam air untuk membentuk emulsi minyak dalam air. Setelah terbentuk emulsi yang stabil, pelarut organik diuapkan dengan meningkatkan suhu, mengurangi tekanan atau dengan pengadukan yang terus-menerus. Ukuran partikel dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi zat penstabil, kecepatan pengadukan, dan konsentrasi polimer. Agar menghasilkan ukuran partikel yang kecil, sering digunakan kecepatan pengadukan yang sangat cepat atau ultrasonikasi (Jian Zhang, Libo Wu, Hak-Kim Chan, & Watanabe, 2011).

Metode lainnya dalam pembuatan nanopartikel adalah metode koaservasi atau gelasi ionik. Pembuatan nanopartikel kitosan hidrofilik menggunakan metode gelasi ionik. Metode ini melibatkan campuran dari dua fase cairan, fase pertama merupakan polimer kitosan, dan yang kedua adalah polianion natrium tripolifosfat. Dalam metode ini muatan positif gugus amin dari kitosan berinteraksi dengan gugus negatif tripolifosfat untuk menjadi koaservat berukuran nanometer. Koaservat terbentuk menjadi padatan sebagai hasil dari interaksi elektrostatik antara dua fase cair tersebut, sedangkan gelasi ionik melibatkan bahan-bahan transisi cairan ke dalam gel yang menyebabkan interaksi ion yang terjadi pada suhu kamar (Mohanraj dan Y Chen, 2005).

Setelah nanopartikel terbentuk, biasanya dilakukan pemisahan atau purifikasi yang bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen dari nanopartikel yang berpotensi toksik maupun yang tidak diharapkan seperti, pelarut organik, surfaktan, elektrolit maupun agregat polimer. Metode pemisahan atau purifikasi dapat dilakukan dengan cara ultrasentrifugasi, ultrafiltrasi sentrifugasi, *cross-flow* filtrasi, gel permeasi, dan dialisis (Balasubramanian, *et al.*, 2010).

2.2.2 Karakteristik Nanopartikel

2.2.2.1 Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel adalah karakteristik paling penting dalam nanopartikel karena menentukan distribusi *in vivo*, nasib biologis,

toksitas dan kemampuan penghantaran tertarget. Selain itu, ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel dapat mempengaruhi *drug loading*, pelepasan obat dan stabilitas nanopartikel. Nanopartikel berukuran sub-mikron memiliki beberapa keuntungan daripada sistem mikropartikel dalam hal penghantaran obat. Nanopartikel memiliki *uptake* seluler yang relatif lebih tinggi bila dibandingkan dengan mikropartikel dan memberikan rentang target seluler dan intraseluler yang lebih luas dikarenakan ukuran kecil dan mobilitas. Nanopartikel berukuran 10-100 nm memiliki *uptake* seluler 2,5-6 kali lebih besar dibandingkan mikropartikel berukuran 1-10 μm dalam *cell lines* Caco-2. Ukuran partikel kurang dari 200 nm dapat mengurangi *uptake* dari *reticuloendothelial system* (RES) atau dapat menghindari klirens cepat karena fagosit oleh (MPS, *mononuclear phagocyte system*) dan efektif sebagai *passive tumor-targeting* dengan cara peningkatan permeabilitas dan efek retensi (*enhanced permeability and retention*) (Esumi, *et al.*, 2000). Dispersi partikel yang kecil memiliki resiko mengalami agregasi selama penyimpanan dan transportasi. Ini menjadi tantangan untuk memformulasi nanopartikel dengan ukuran sekecil mungkin, tetapi menghasilkan stabilitas yang maksimal (Sing dan Lillard, 2009).

Saat ini metode yang cepat dan paling sering digunakan dalam menentukan ukuran dan distribusi ukuran partikel yaitu menggunakan metode *photon-correlation spectroscopy* atau *dynamic light scattering*. Alat *photon-correlation spectroscope* dapat digunakan untuk menentukan diameter partikel, distribusi ukuran partikel, dan indeks polidispersitas dengan menggunakan prinsip gerak Brown dan sifat *light scattering*. Hasil yang diperoleh biasanya diverifikasi menggunakan metode *scanning* atau *transmission electron microscopy* (SEM atau TEM) (Majoros dan Carter, 2008).

2.2.2.2 Sifat Permukaan

Zeta potensial dari nanopartikel secara umum digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel. Hal ini merefleksikan potensial elektrik partikel yang dipengaruhi oleh komposisi partikel dan medium yang mendispersikannya. Nanopartikel yang memiliki nilai zeta potensial di atas +30 mV atau di bawah -30 mV menunjukkan sistem koloid yang stabil sehingga

besarnya muatan partikel dapat mencegah agregasi partikel berdasarkan pada gaya tolak menolak elektrostatik (Sing dan Lillard, 2009). Zeta potensial dapat diukur dengan menggunakan metode *Particle Sizing System* (PSS) dengan laser dioda merah dalam sel *multiangle* (Xiangyang Shi, Ganser, Kai Sun, Balogh, & Baker, 2006), menggunakan prinsip *electrophoretic light scattering* (ELS), dan prinsip *electrophoresis laser Doppler* yang dikombinasikan dengan teknik M3-PALS (Majoros dan Carter, 2008).

2.2.2.3 *Drug Loading*

Pengantaran nanopartikel yang baik harus memiliki kapasitas *drug loading* yang tinggi, dengan demikian dapat mengurangi jumlah bahan matriks yang digunakan. Pemasukan obat (*drug loading*) dapat dilakukan dengan dua cara. Cara pertama yaitu obat diinkorporasikan pada saat memformulasikan nanopartikel. Cara kedua obat diadsorpsikan atau diabsorbsikan ke dalam nanopartikel setelah proses pembentukan nanopartikel selesai, hal ini dicapai dengan mencampurkan pembawa nanopartikel (*nanocarrier*) dengan larutan obat (Sing dan Lillard, 2009).

Drug loading dan efisiensi obat terjerap bergantung pada *solid-state* kelarutan obat dalam bahan matriks atau polimer (disolusi atau dispersi solid), selain itu dipengaruhi juga oleh komposisi polimer, interaksi obat-polimer, berat molekul, dan adanya gugus fungsi (misalnya ester atau karboksil). Makromolekul atau protein memiliki *drug loading* yang tinggi ketika makromolekul atau protein dimasukkan dekat dengan titik isoelektriknya, pada kondisi tersebut kelarutannya minimum dan adsorpsinya maksimum. Untuk molekul dengan berat molekul kecil, *drug loading* secara efektif dapat ditingkatkan dengan menggunakan interaksi ion antara molekul dengan bahan matriks (Sing dan Lillard, 2009).

2.2.2.4 *Drug Release*

Pelepasan obat (*drug release*) merupakan faktor penting dalam sistem nanopartikel. Secara umum, laju pelepasan obat bergantung pada (1) kelarutan obat, (2) desorpsi loncatan permukaan/adsorpsi obat, (3) difusi obat melalui matriks nanopartikel, (4) erosi/degradasi matriks nanopartikel, dan (5) kombinasi

antara erosi dan difusi. Kelarutan, difusi, dan biodegradasi dari bahan matriks yang menentukan proses pelepasan obat (Sing dan Lillard, 2009). Metode dalam pemuatan obat akan mempengaruhi profil pelepasannya. Jika obat dimuat dengan metode inkorporasi, sistem relatif akan mengalami efek *burst release* sangat kecil dan memiliki karakteristik *sustained release*. Jika nanopartikel disalut dengan polimer, pelepasannya dikontrol oleh difusi obat dari inti melewati membran polimer. Selain itu, laju pelepasan obat dipengaruhi oleh interaksi ionik antara obat dan bahan lainnya dalam sistem nanopartikel, biasanya interaksi ionik menyebabkan pelepasan obat yang diperlambat dan hampir tidak ada *burst effect*.

Beberapa metode telah digunakan untuk mempelajari pelepasan obat secara *in vitro*, yaitu difusi sel *side-by-side* dengan membran biologis buatan, teknis difusi dialisis menggunakan kantung dialisis, agitasi dengan ultrasentrifugasi/sentrifugasi, teknik ultrafiltrasi atau ultrafiltrasi sentrifugasi. Biasanya teknik yang sering digunakan untuk meneliti pelepasan obat adalah agitasi terkontrol dengan sentrifugasi, tetapi karena memakan waktu yang lama dan merupakan teknik yang sulit dalam pemisahan nanopartikel dari media pelepasan, maka teknik difusi dialisis menggunakan kantung dialisi secara umum lebih baik digunakan (Sing dan Lillard, 2009).

2.2.3 Aplikasi Nanopartikel dalam Penghantaran Obat

Nanopartikel telah digunakan dalam bidang penghantaran obat, diantaranya adalah pengobatan sel kanker menggunakan teknologi *targeting drug delivery systems*, penghantaran peptida dan protein secara oral, penghantaran gen, penghantaran obat ke sel epitel saluran cerna, penghantaran obat melalui sawar darah otak (*blood-brain barrier*), dan memperpanjang waktu paruh obat (Mohanraj dan Y Chen, 2005).

2.2.4 Nanopartikel Kurkumin

Nanopartikel kurkumin (nanokurkumin) dengan pembawa obat, misalnya *polylactic-co-glycolic acid* (PLGA), siklodekstrin, selulosa, nanogel, dan dendrimer memiliki potensi untuk menghantarkan kurkumin. Sifat alami hidrofobik kurkumin menyebabkan bioavailabilitasnya menjadi buruk sehingga

para peneliti mengembangkan kurkumin seiring dengan perkembangan pembawa nanopartikel (*nanocarrier*). Hal ini dimaksudkan untuk meningkatkan efisiensi transport kurkumin dan memperbaiki bioavailabilitasnya. Saat ini, beberapa nanoformulasi kurkumin seperti nanopartikel polimer, dispersi nanokristal, nanoemulsi, nanopartikel lipid dan protein sebagai suatu sistem penghantaran obat telah mampu meningkatkan kelarutan, stabilitas, dan bioavailabilitas dari molekul kurkumin (Yallapu, Ebeling, Chauhan, Jaggi, & Chauhan, 2011).

Nanopartikel kurkumin dengan pembawa polimer berhasil dibuat, polimer-polimer tersebut seperti PLGA, kitosan dan gelatin telah memenuhi persyaratan untuk pelepasan obat terkontrol dan *passive targeting*, syaratnya seperti biodegradable, toksisitas rendah, mudah disintesis dan dimurnikan. Nanopartikel kurkumin dengan pembawa polimer berhasil meningkatkan efisiensi penyerapan, meningkatkan kelarutan kurkumin, menghindari *uptake* (RES, *reticuloendothelial system*), bersifat *photostability*, dan menunjukkan profil pelepasan kurkumin terkontrol dan lepas lambat.

Selain itu, nanokurkumin dapat meningkatkan *uptake* seluler dalam model sel kanker sehingga dapat meningkatkan efek terapi. Nanokurkumin juga memperlihatkan aktivitas antikanker lebih baik secara *in vitro* bila dibandingkan dengan kurkumin bebas karena pelepasan kurkumin yang diperlambat dapat meningkatkan efek permeabilitas dan retensi dari nanokurkumin tersebut. Nanopartikel kurkumin berhasil meningkatkan AUC (*Area Under Concentration*) dan memperpanjang waktu paruh kurkumin dalam serum pada beberapa organ. Sifat praklinis dari nanokurkumin bergantung pada penghindaran klirens cepat dari sirkulasi sistemik oleh sistem imun karena biasanya nasib *in vivo* dari nanokurkumin melewati banyak rute dahulu sebelum mencapai target yang sebenarnya (Yallapu, Ebeling, Chauhan, Jaggi, & Chauhan, 2011).

2.3 Dendrimer

Dendrimer pertama kali ditemukan oleh Vögtle dan Tomalia pada tahun 1978-1979. Kata “dendrimer” berasal dari dua kata yang berasal dari bahasa Yunani, *dendron* yang berarti pohon dan *meros* yang berarti cabang (Boas dan Heegaard, 2004). Dendrimer berhasil disintesis dengan metodologi sintesis

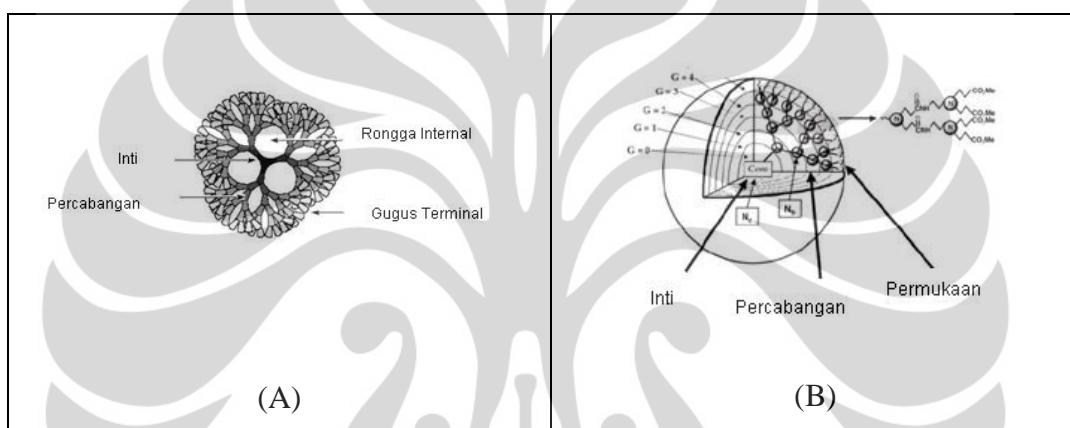
divergen dengan menggunakan monomer akrilat pada tahun 1979 dan dikembangkan di Laboratorium Kimia Dow dari tahun 1979-1985 (Majoros, Becker, Thomas, Shukla, & Xiangyang Shi, 2008). Dendrimer merupakan makromolekul monodispersi (indeks polidispersitas rendah), berukuran nanometer (1-100 nm), menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sempit, memiliki ukuran dan berat molekul yang tetap (bergantung dengan tingkat generasinya), dan dapat memberikan kapasitas *drug loading* yang tinggi. Struktur dendrimer unik karena berbentuk sferis mirip globul atau bola yang memiliki banyak percabangan dan setiap cabang terdiri dari gugus-gugus fungsi pada permukaannya. Gugus-gugus fungsi dapat dimanfaatkan untuk mengikat material biologis atau molekul permukaan dendrimer.

Dendrimer merupakan polimer bercabang dengan struktur yang simetris yang memberikan kapasitas *drug loading* yang tinggi karena obat dapat terenkapsulasi pada rongga internal (*internal cavity*) dendrimer atau terikat pada gugus permukaan dendrimer yang reaktif. Jumlah obat yang dimuat (*drug loading*) dapat dengan mudah diatur berdasarkan tingkat generasi dendrimer yang ditandai dari jumlah gugus-gugus yang terikat pada cabang. Dendrimer bersifat polivalensi karena terdiri atas gugus-gugus permukaan yang reaktif di bagian eksteriornya. Metode sintesis dendrimer ada tiga, yaitu metode divergen, konvergen, dan eksponensial ganda/campuran (Kumar *et al.*, 2010).

2.3.1 Struktur Dendrimer

Dendrimer dibentuk dari atom awalan, misalnya nitrogen, kemudian karbon atau unsur-unsur lainnya ditambahkan secara berulang melalui reaksi kimia sehingga menghasilkan struktur sferis yang bercabang. Pada saat proses pengulangan penambahan karbon atau unsur lainnya tersebut, *layer* secara berturut-turut bertambah dan struktur sferis akan semakin berkembang sesuai dengan kebutuhan. Karakteristik dendrimer bergantung pada ukuran, tingkat generasi, dan gugus-gugus permukaannya yang meningkat seiring dengan meningkatnya generasi dendrimer. (Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010). Struktur dendrimer unik karena mirip dengan percabangan pohon yang terdiri dari tiga komponen utama, yaitu :

- Inti yang merupakan inisiator dari struktur, dapat berupa atom tunggal atau kumpulan atom.
- Percabangan yang terdiri dari unit-unit yang berulang (*generation*), unit-unit tersebut digabungkan ke dalam inti secara reaksi kimia. Pada bagian percabangan terdapat rongga-rongga internal (*internal cavity*) yang memiliki kemampuan untuk mengenkapsulasi molekul asing, misalnya obat.
- Eksterior yang terdiri atas gugus-gugus permukaan fungsi yang terikat pada bagian percabangan. Sifat dan jumlah dari gugus ini sebagian besar menentukan sifat dari dendrimer. (Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010)



[Sumber : Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010]

Gambar 2.2. Struktur dendrimer (A) dan struktur dendrimer dalam bentuk tiga dimensi (B) (telah diolah kembali)

2.3.2 Keuntungan Dendrimer

Dendrimer yang dapat larut dalam pelarut organik memiliki gugus-gugus reaktif pada permukaannya yang dapat dimodifikasi sehingga dapat mengontrol ukuran, berat molekul dan sifat percabangan dari dendrimer. Dendrimer memiliki sifat unik karena berbentuk sferis mirip bola atau globul yang memiliki rongga internal (*internal cavity*) pada bagian percabangannya. Hal ini menyebabkan dendrimer dapat mengenkapsulasi/menjerap molekul asing ke dalam rongga internal tersebut (Shisu dan Maheshwari, 2009). Dendrimer memiliki keuntungan dalam hal biokompatibilitas sebagai suatu agen biologis, dendrimer bersifat non-toksik, non-imunogenik, mampu melewati *barrier* biologis (biopermeabel), dan memungkinkan untuk berada dalam sirkulasi sistemik selama waktu yang

Universitas Indonesia

dibutuhkan untuk dapat memberikan efek klinis dan mencapai sel target (Kumar *et al.*, 2010).

Dendrimer berukuran kecil antara 1-100 nm, membuatnya kurang rentan terkena *uptake* dari *reticuloendothelial system* (RES). Dendrimer memiliki indeks polidispersitasnya yang rendah karena kontrol yang ketat selama sintesis, ketika kerapatan cabang meningkat, maka cabang yang paling luar mengatur dirinya menutupi kerapatan yang rendah dari inti dalam bentuk sferis sehingga kerapatan permukaan luar menyediakan ruang kosong pada bagian inti, bagian ruang yang kosong ini dapat dimanfaatkan dalam menjerap obat. Gugus-gugus fungsi yang terdapat pada permukaan dendrimer dapat dimanfaatkan untuk mengikat ligan dalam hal penghantaran obat tertarget. Dendrimer juga dapat dimodifikasi sebagai stimulan responsif dalam pelepasan obat, dendrimer dapat meningkatkan permeabilitas dan efek retensi yang dapat digunakan untuk penghantaran obat tertarget sel tumor. Secara fisik ukuran partikel dendrimer mirip dengan polimer-polimer biologis penting seperti DNA (Garg, Singh, Arora, & Murthy, 2011). Sistem penghantaran obat dengan pembawa dendrimer dapat meningkatkan bioavailabilitas dan efek terapi obat-obat yang kelarutannya rendah. Gugus fungsi permukaan dendrimer dapat dimodifikasi untuk mengatur sitotoksitas dan distribusinya melewati *barrier* biologis (Markatou, Gionis, Chryssikos, Hatziantoniou, Georgopoulos, & Demetzos, 2007).

2.3.3 Aplikasi Dendrimer

Dendrimer merupakan molekul yang memiliki banyak potensi untuk diaplikasikan, terutama dalam bidang kesehatan, penghantaran obat, terapi gen, terapi tumor, diagnostik (Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010).

2.3.3.1 Dendrimer sebagai pembawa obat

Dendrimer sebagai pembawa obat didukung oleh sifatnya yang unik, seperti bentuk globul berukuran nanometer, bercabang banyak, jumlah gugus fungsi yang tetap, memiliki rongga internal (*internal cavity*) yang bersifat hidrofobik atau hidrofilik, dan bersifat monodispersi. Sifat dendrimer ini dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan dan permeabilitas dalam sistem

penghantaran obat terkendali dan tertarget. Dendrimer dapat mengenkapsulasi molekul obat ke dalam rongga di dalam interior, sehingga obat secara perlahan dapat dilepaskan. Karena sifat ini, maka dendrimer digunakan untuk mengontrol pelepasan obat (Shisu dan Maheshwari, 2009).

2.3.3.2 Dendrimer sebagai peningkat kelarutan

Dendrimer dapat meningkatkan bioavailabilitas karena sifatnya yang dapat meningkatkan kelarutan dan permeabilitas. Dendrimer dimanfaatkan sebagai agen untuk melarutkan obat-obat yang bersifat hidrofilik dan hidrofobik. Kerapatan tinggi pada gugus fungsi (-NH₂, -COOH, -OH) pada dendrimer PAMAM diharapkan memiliki potensi untuk meningkatkan kelarutan untuk obat-obat yang kelarutannya rendah dalam air. Dendrimer PAMAM yang berukuran kecil memiliki rongga internal (*internal cavity*) yang dapat mengenkapsulasi molekul hidrofobik ke dalam dendrimer, gugus-gugus fungsi pada permukaan dendrimer memiliki reaktivitas yang tinggi sehingga dapat dikonjugasikan dengan molekul lain yang dapat meningkatkan kelarutan obat. Dilaporkan bahwa telah terjadi peningkatan kelarutan obat-obat anti-inflamasi non-steroid (AINS), antibakteri, dan antikanker ketika menggunakan dendrimer PAMAM sebagai pembawa obat-obat tersebut (Shisu dan Maheshwari, 2009).

2.3.4.3. Dendrimer sebagai agen dalam *targeting drug delivery*

Dendrimer berukuran nanometer, non-imunogenik, dan merupakan pembawa yang banyak memiliki percabangan sehingga efektif dalam penghantaran biologis. Dendrimer dapat mengurangi sitotoksitas yang tidak diinginkan pada sel normal. Dalam menghantarkan nanopartikel, dendrimer memiliki struktur yang unik, yaitu memiliki gugus-gugus fungsi yang dapat menyisipkan ligan sehingga dapat menargetkan obat ke permukaan sel tumor, hal ini dapat dimanfaatkan sebagai *targeting drug delivery* yang merupakan salah satu cara yang tepat dalam mengobati kanker. Dendrimer tidak hanya meningkatkan permeabilitas dan retensi, tetapi juga mampu menghantarkan obat ke sel target. Dendrimer harus biokompatibel, kelarutannya tinggi, stabil, mampu mencapai

kapasitas *drug loading* yang tinggi dan bisa berkonjugasi dengan molekul target (Shisu dan Maheshwari, 2009).

2.3.3.4 Dendrimer sebagai agen diagnostik

Agen pembeda makromolekul (*contrast agent*) menjadi alat yang penting dalam diagnostik modern. Dendrimer sebagai agen diagnostik memperlihatkan kemampuannya sebagai suatu agen pengompleks baru yang stabil untuk radionukleotida terderivatisasi dendrimer fosfonat dalam menggambarkan sistem skeletal pada mamalia. Dendrimer menyediakan banyak tempat ikatan pada gugus-gugus permukaannya, sehingga banyak agen pembeda kompleks *magnetic resonance imaging* (MRI) yang dapat diikatkan pada gugus-gugus permukaan dendrimer (Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010).

2.3.3.5 Dendrimer dalam penghantaran obat ke mata

Dendrimer juga berguna dalam penghantaran obat ke mata atau yang lebih dikenal dengan *ocular drug delivery*, hal ini disebabkan dendrimer dapat meningkatkan penetrasi obat melalui kornea. Sifat dendrimer PAMAM yang bioadhesif cocok dimanfaatkan dalam *ocular drug delivery* sehingga dapat mempertahankan pelepasan obat. Pilocarpin nitrat dan tropikamid menggunakan dendrimer PAMAM dan berhasil meningkatkan aktivitas miotik dan midriasis pada mata kelinci secara signifikan dibandingkan dengan obat bebas biasa (Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010).

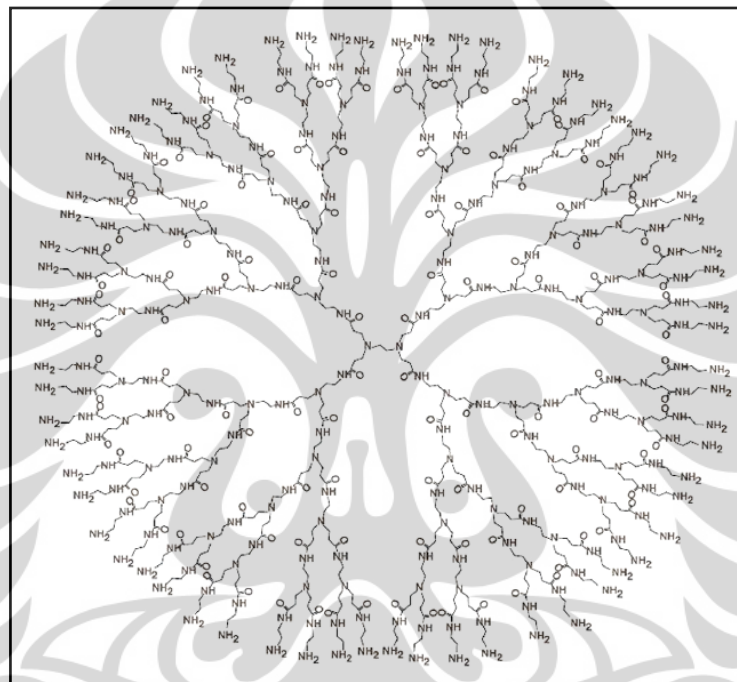
2.3.3.6 Dendrimer sebagai kosmetik

Dendrimer juga sukses digunakan dalam sediaan kosmetik seperti UV-*sunscreen*, perawatan rambut dan sebagai antioksidan. Dendrimer digunakan sebagai antioksidan dalam sediaan *sunscreen* karena kemampuannya dalam mengabsorpsi radiasi UV (Shisu dan Maheshwari, 2009).

2.3.4 Dendrimer PAMAM

Famili dendrimer yang pertama kali berhasil disintesis, dikarakterisasi, dan diperjualbelikan adalah Dendrimer poliamidoamin (PAMAM). Dendrimer

PAMAM memiliki inti yang terdiri dari dua atom nitrogen yang berikatan dengan gugus amida (etilendiamin) dan pada permukaannya terdapat gugus-gugus amin primer. Dendrimer PAMAM paling banyak dikembangkan karena dianggap aman, biokompatibel, non-imunogenik, larut dalam air, menunjukkan sitotoksitas yang minimum, dan memiliki gugus amin yang dapat dimodifikasi untuk dapat berikatan dengan sel target atau dimasukkan material biologis yang diinginkan. Dendrimer PAMAM diperjualbelikan biasanya dalam pelarut metanol. (Markatou, Gionis, Chryssikos, Hatziantoniou, Georgopoulos, & Demetzos, 2007).



[Sumber : Mandeville, Bourasaa, Thomas, & Riahi, 2006]

Gambar 2.3. Struktur kimia dendrimer PAMAM Generasi 4 (telah diolah kembali)

Dendrimer PAMAM disintesis dengan metode divergen dari inti amonia (etilendiamin) melalui alkilasi berulang dengan metil akrilat, kemudian amidasi dengan etilendiamin yang setiap langkah tersebut meningkatkan tingkat generasi dari dendrimer PAMAM. Kenaikan tingkat generasi dendrimer PAMAM menyatakan kenaikan ukuran, berat molekul, dan jumlah gugus fungsi pada permukaannya. Jumlah gugus fungsional pada permukaan dendrimer meningkat secara eksponensial sebanding fungsi generasi, yang berimplikasi pada struktur

geometris bergantung pada jumlah struktur perifer dendrimer. Dendrimer PAMAM saat ini terdapat dari generasi 0 sampai generasi 10. Dendrimer PAMAM generasi penuh (G1, G2, G3, dll) memiliki gugus amin pada permukaannya, sedangkan dendrimer PAMAM generasi setengah (G1,5 ; G2,5 ; G3,5, dll) memiliki gugus asam karboksilat pada permukaannya (Narayan, Pooja, Khushboo, Diwakar, Ankit, & Singhai, 2010). Contohnya, dendrimer PAMAM G4 memiliki 64 gugus fungsi amin primer pada permukannya, karakteristik dendrimer PAMAM setiap generasi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Dendrimer PAMAM secara garis besar bersifat relatif nontoksik dan non-immunogenik. Muatan permukaan, generasi dendrimer dan rute administrasi menentukan efek dan biokompatibilitas dendrimer terhadap sistem biologis tubuh. Sistem fagosit inti tunggal (MPS, *mononuclear phagocyte system*) di limpa, hati, paru-paru dan sumsum tulang menangkap partikel hidrofobik dengan diameter lebih besar dari 100 nm sedangkan dendrimer PAMAM bersifat hidrofilik (< 10 nm) sehingga tidak terdeteksi sistem fagositosis tubuh. Penelitian menyatakan bahwa dendrimer PAMAM yang gugus amin terminalnya dimodifikasi dengan rantai polietilen glikol (PEG) dapat mengurangi imunogenitasnya dan memberikan *life time* yang lebih panjang dalam aliran darah jika dibandingkan dengan dendrimer PAMAM yang gugus permukaannya tidak dimodifikasi (Kumar et al., 2010; Mandeville, Bourasaa, Thomas, & Riahi, 2006).

Tabel 2.1. Karakteristik fisika dendrimer PAMAM (Nanjwade, Bechra, Derkar, Manvi, & Nanjwade, 2009) (telah diolah kembali)

Generasi	Jumlah Gugus Terminal	Bobot Molekul (g/mol)	Diameter (nm)
0	4	517	1,5
1	8	1430	2,2
2	16	3256	2,9
3	32	6909	3,6
4	64	14215	4,6
5	128	28826	5,4
6	256	58048	6,7
7	512	116493	8,1
8	1024	233383	9,7
9	2048	467162	11,4
10	4096	934720	13,5

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian adalah di Laboratorium Farmasetika Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia Depok. Penelitian dilaksanakan dari bulan Februari sampai Mei 2012.

3.2 Alat

Spektrofotometer UV-1800 (Shimadzu, Jepang), *Fourier-Transform Infrared Spectrofotometer* (FTIR) 8400 S (Shimadzu, Jepang), pH Meter (Eutech pH 510, Singapura), Timbangan Analitik (Adam AFA – 210 LC, Amerika Serikat), *Transmission Electron Microscope* (TEM) (Instrument JEOL Seri JEM-1400, Jepang), *Particle Analyzer* (PSA) Delsa Nano C (Beckman Coulter, Amerika Serikat), Alat Ultracentrifugasi (Hitachi, Jepang), Pengaduk Magnetik (IKA[®] C-MAG HS 4), dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

3.3 Bahan

Kurkumin (Insular Multi Natural, Indonesia), Larutan Dendrimer PAMAM Generasi 4 dalam metanol (Sigma-Aldrich, Singapura), Metanol (Mallinckrodt, Amerika Serikat), Dapar Tris-EDTA-NaCl (TES) pH 7,4.

3.4 Cara Kerja

Secara umum, metode pembuatan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dilakukan dengan mencampurkan larutan kurkumin ke dalam larutan dendrimer PAMAM G4 yang kemudian dihomogenkan dengan pengadukan. Pada penelitian ini dibuat nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan variasi rasio molar (kurkumin : dendrimer PAMAM G4) sebagai berikut : (1 : 0,2) ; (1 : 0,02) ; dan (1 : 0,002). Perhitungan bahan dalam pembuatan ketiga formula nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

tersebut dapat dilihat pada Lampiran 30. Skema kerja pembuatan dapat dilihat pada Lampiran 16.

3.4.1 Pembuatan Larutan Dendrimer PAMAM G4 dengan konsentrasi 0,10 % ; 0,15 % dan 0,015 %

Larutan induk dendrimer PAMAM G4 10 % dipipet sebanyak 0,308 ml dan 0,0462 ml dengan menggunakan mikropipet, kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml berwarna coklat, volumenya dicukupkan dengan metanol hingga batas, dikocok homogen sehingga didapatkan larutan dendrimer PAMAM G4 dengan konsentrasi 0,10 % dan 0,015 %.

Larutan induk dendrimer PAMAM G4 10 % dipipet sebanyak 0,231 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml berwarna coklat, volumenya dicukupkan dengan metanol hingga batas, dikocok homogen sehingga didapatkan larutan dendrimer PAMAM G4 dengan konsentrasi 0,15 %. Setelah itu larutan dendrimer PAMAM G4 disimpan dalam lemari es pada suhu 2-8 °C.

3.4.2 Pembuatan Larutan Kurkumin 105,36 ppm dan 1582 ppm

Kurkumin ditimbang secara seksama sebanyak 52,68 mg dan 79,10 mg kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur berwarna coklat 50,0 ml, volumenya dicukupkan dengan menggunakan metanol hingga batas, dikocok homogen hingga kurkumin larut sempurna (konsentrasi 1053,6 ppm dan 1582 ppm). Setelah itu, khusus larutan kurkumin (konsentrasi 1053,6 ppm) diambil 10,0 ml dengan menggunakan pipet volume untuk dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml berwarna coklat, volume dicukupkan hingga batas dengan menggunakan metanol, dikocok homogen (konsentrasi 105,36 ppm).

3.4.3 Pembuatan Larutan Dapar TES (Tris-EDTA-NaCl) 0,01 M (pH 7,4)

Larutan induk Tris 1 M (12,114 g dalam 100 ml akuades bebas CO₂) diencerkan menjadi 0,01 M. Larutan induk EDTA 0,5 M (14,612 g dalam 100 ml akuades bebas CO₂) diencerkan menjadi 0,001 M. Larutan induk NaCl 1 M (5,844 g dalam 100 ml akuades bebas CO₂) diencerkan menjadi 0,1 M.

Setelah itu 5 ml larutan Tris 0,01 M ; 1 ml larutan EDTA 0,001 M ; dan 10 ml larutan NaCl 0,1 M dimasukkan ke dalam gelas beaker, volume larutan dapar TES dicukupkan hingga 500 ml dengan akuades bebas CO₂, diaduk hingga homogen. pH dapar TES kemudian diperiksa dan diatur menjadi pH 7,4 menggunakan pH meter.

3.4.4 Pembuatan Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) (Markatou, *et al.*, 2007)

Nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 1 dengan rasio molar (1 : 0,2) dibuat dengan cara : ditambahkan larutan kurkumin 105,36 ppm sebanyak 10,0 ml ke dalam larutan dendrimer PAMAM G4 0,10 % sebanyak 10,0 ml dalam erlenmeyer tutup yang telah dilapisi alumunium foil. Campuran larutan kurkumin-dendrimer PAMAM G4 kemudian diaduk dengan pengaduk magnetik selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm, suhu kamar, dan terlindung dari cahaya. Selama pengadukan, pastikan erlenmeyer tertutup rapat. Setelah pengadukan, larutan jernih nanopartikel kurkumin-dendrimer (NP-kd) akan terbentuk.

Nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 2 dengan rasio molar (1 : 0,02) dibuat dengan cara : ditambahkan larutan kurkumin 1582 ppm sebanyak 5,0 ml ke dalam larutan dendrimer PAMAM G4 0,15 % sebanyak 5,0 ml dalam erlenmeyer tutup yang telah dilapisi alumunium foil. Campuran larutan kurkumin-dendrimer PAMAM G4 kemudian diaduk seperti cara pada pembuatan NP-kd formula 1.

Nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 3 dengan rasio molar (1 : 0,002) dibuat dengan cara : ditambahkan larutan kurkumin 1582 ppm sebanyak 7,0 ml ke dalam larutan dendrimer PAMAM G4 0,015 % sebanyak 7,0 ml dalam erlenmeyer tutup yang telah dilapisi alumunium foil. Campuran larutan kurkumin-dendrimer PAMAM G4 kemudian diaduk seperti cara pada pembuatan NP-kd formula 1.

3.4.5 Pemisahan Kompleks Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 dan Kurkumin Bebas (Markatou, *et al.*, 2007).

Larutan jernih nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) yang telah terbentuk, dari ketiga formula selanjutnya diuapkan untuk menghilangkan metanolnya secara keseluruhan. Larutan dapar TES 0,01 M (pH 7,4) ditambahkan sebanyak 10,0 ml. Campuran kembali diaduk dengan menggunakan pengaduk magnetik selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm, suhu kamar, dan terlindung dari cahaya.

Campuran sebanyak 3 ml dimasukkan ke dalam tabung ultrasentrifugasi, kemudian dilakukan ultrasentrifugasi pada 50.000 rpm, 4 °C selama 45 menit. Kurkumin bebas yang tidak larut akan mengendap, sedangkan kompleks nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 akan terdispersi dalam larutan dapar TES sebagai supernatan.

3.4.6 Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin- Dendrimer PAMAM

3.4.6.1 Penampilan Fisik Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Penampilan fisik dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dikarakterisasi meliputi bentuk, warna dan bau.

3.4.6.2 Pengamatan Bentuk Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Bentuk nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dilihat dengan menggunakan alat *Transmission Electron Microscope* (TEM). Sebanyak 3 tetes larutan NP-kd diteteskan ke dalam kisi tembaga yang dicoating karbon (*carbon-coated copper grid*) yang telah dikeringkan dahulu sebelumnya pada suhu kamar, dilakukan pada voltase 120 KVA. Gambar yang diinterpetasikan oleh TEM dibuat dengan perbesaran 80.000 kali, 150.000 kali, 200.000 kali, dan 500.000 kali.

3.4.6.3 Penentuan Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Ukuran dan distribusi ukuran partikel dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) ditentukan dengan metode *image analysis* dari gambar yang dihasilkan dari *Transmission Electron Microscope* (TEM). Selain itu, ukuran dan distribusi ukuran partikel ditentukan juga dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* Delsa Nano C dengan metode *photon correlation spectroscopy* (PCS) dengan *scattering angle* 15°, 30°, dan 60°. Volume sampel larutan NP-kd sebanyak 2 ml didispersikan dalam metanol, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet analisis. Analisis ukuran partikel dilakukan pada kondisi suhu 25 °C.

3.4.6.4 Penentuan Nilai Zeta Potensial Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Nilai zeta potensial dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) ditentukan dengan metode *electrophoretic light scattering* (ELS) menggunakan alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C dengan *scattering angle* 15°, 30°, dan 60° sehingga *electrophoretic mobility* dari partikel dapat diukur. Volume sampel larutan NP-kd sebanyak 2 ml didispersikan dalam metanol, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet analisis. Analisis ukuran partikel dilakukan pada kondisi suhu 25 °C.

3.4.6.5 Penentuan Nilai Indeks Polidispersitas Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Nilai indeks polidispersitas dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) ditentukan oleh *photon correlation spectroscopy* (PCS) dengan alat *Particle Size Analyzer* Delsa Nano C dengan prosedur yang sama.

3.4.6.6 Analisis Spektrum FTIR Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Spektrum FTIR dari dendrimer PAMAM G4, kurkumin murni, dan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) diperiksa dengan menggunakan *Fourier Transformation Infra Red* (FTIR). Sampel yang berupa

larutan diencerkan terlebih dahulu dengan menggunakan pelarut metanol sampai konsentrasi 2%, kemudian 5 tetes larutan sampel dimasukkan ke dalam jendela NaCl secara hati-hati. Sampel yang berupa serbuk digerus homogen bersama dengan KBr dengan perbandingan (1 : 49), kemudian dimasukkan ke dalam cincin analisis FTIR. Pemeriksaan spektrum IR dilakukan pada bilangan gelombang pada 400 sampai 4000 cm^{-1} .

3.4.6.7 Analisis Spektrum UV-Vis Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM

Spektrum serapan UV-Vis dari dendrimer PAMAM G4, kurkumin murni, dan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) diperiksa dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Dari ketiga spektrum serapan UV-Vis tersebut kemudian dilakukan analisis. Ketiga sampel terlebih dahulu dilarutkan dalam pelarut metanol dengan kondisi konsentrasi yang sama.

3.4.6.8 Penentuan Persentase Efisiensi Obat Terjerap dan *Drug Loading* Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

a. Pemisahan Kompleks Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 dan Kurkumin Bebas

Untuk menentukan persentase efisiensi obat terjerap nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd), terlebih dahulu dilakukan pemisahan antara kompleks kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dan kurkumin bebas (kurkumin yang tidak terjerap). Pemisahan kompleks kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan kurkumin bebas dilakukan dengan ultrasentrifugasi pada 50.000 rpm, 4°C selama 45 menit. Kurkumin bebas yang tidak larut akan mengendap, sedangkan kompleks nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 akan terdispersi dalam larutan dapar TES sebagai supernatan.

b. Penetapan Kadar Kurkumin Bebas

Endapan kurkumin bebas (yang tidak terjerap dalam dendrimer PAMAM G4) dilarutkan kembali dalam metanol sebanyak 5 ml, serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum 423,00 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, konsentrasi kurkumin bebas yang tidak terjerap dalam dendrimer PAMAM G4 ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi liner ($y = a + bx$) dari kurva kalibrasi standar kurkumin yang dibuat dengan konsentrasi

1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm. Konsentrasi kurkumin bebas yang didapatkan kemudian dikonversi menjadi bentuk bobot.

c. Penentuan Persentase Efisiensi Obat Terjerap

Persentase efisiensi kurkumin terjerap dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dihitung dengan persamaan :

$$\% \text{ Efisiensi Penjerapan (b/b)} = \frac{(\text{Bobot Kurkumin Total} - \text{Bobot Kurkumin Bebas})}{\text{Bobot Kurkumin Total}} \times 100\%$$

d. Penentuan *Drug Loading*

Drug loading dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dihitung dengan persamaan :

$$\text{Drug Loading (b/v)} = \frac{(\text{Bobot Kurkumin Total} - \text{Bobot Kurkumin Bebas})}{\text{Volume Nanopartikel}} \mu\text{g/ml}$$

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

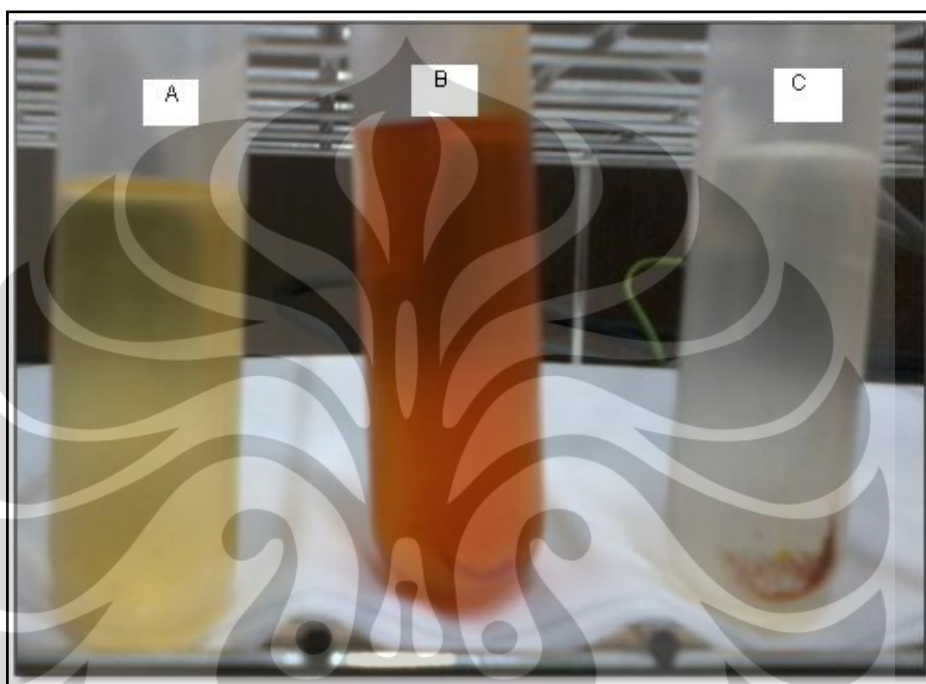
Pembuatan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dilakukan dengan melarutkan kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 masing-masing dalam pelarut metanol, kemudian keduanya dicampurkan, lalu diaduk homogen (selama 24 jam, 100 rpm, suhu kamar, terlindung dari cahaya). Pada saat proses pengadukan, erlenmeyer yang digunakan sebagai wadah diatur sedemikian rupa sehingga tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Hal ini penting untuk menjaga kurkumin tidak terdegradasi oleh cahaya dan pelarut metanol yang digunakan tidak menguap. Pengadukan yang lama (selama 24 jam) ini menyebabkan terjadinya pembentukan kompleks nanopartikel antara kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 dengan kurkumin terjerap/terenkapsulasi ke dalam dendrimer PAMAM G4. Proses pengadukan dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2 Pemisahan Kompleks Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 dan Kurkumin Bebas

Kurkumin bebas (tidak terjerap dalam dendrimer PAMAM G4) yang tidak larut dalam dapar TES mengendap membentuk endapan, sedangkan kompleks kurkumin-dendrimer PAMAM G4 akan terdispersi sebagai supernatan (Markatou, *et al.*, 2007).

Setelah dilakukan pemisahan dengan ultrasentrifugasi, terlihat adanya endapan pada formula 2 dan formula 3 dengan rasio molar kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (1: 0,02) dan (1: 0,002), sedangkan pada formula 1 dengan rasio molar (1 : 0,2) tidak terlihat adanya endapan seperti yang terlihat pada Gambar 4.1. Selain itu endapan yang terlihat pada formula 2 jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan formula 3. Hal ini terlihat pada Gambar 4.1. Hasil ini menunjukkan bahwa pada formula 1, kurkumin secara keseluruhan telah terjerap di dalam dendrimer PAMAM G4. Sedangkan, pada formula 2 dan formula 3 menunjukkan bahwa masih ada kurkumin yang tidak terjerap (kurkumin bebas) pada kedua formula tersebut dan jumlah kurkumin bebas pada formula 2 lebih

sedikit dibandingkan dengan formula 3. Supernatan dari ketiga formula memperlihatkan hasil yang jernih, hasil ini menandakan bahwa pada supernatan sudah tidak ditemukan lagi adanya kurkumin bebas. Supernatan dari ketiga formula ini mengandung kompleks kurkumin-dendrimer PAMAM G4 yang terdispersi dalam media dapar TES tanpa adanya kurkumin bebas.



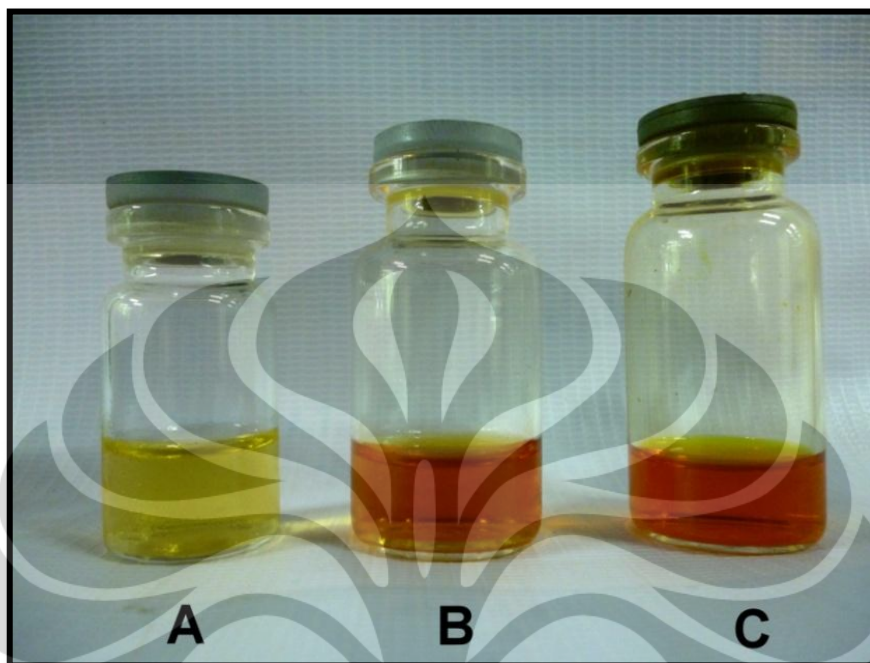
Gambar 4.1 Hasil ultrasentrifugasi nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 1 (A), formula 2 (B), dan formula 3 (C)

4.3 Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

4.3.1 Penampilan Fisik Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Penampilan fisik dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) memperlihatkan bentuk cairan jernih, berwarna kuning keemasan sampai dengan kuning kemerahan, dan berbau khas seperti yang terlihat pada Gambar 4.2. Cairan jernih yang diperlihatkan oleh NP-kd ini merupakan karakteristik dari sistem dispersi koloid nanopartikel kurkumin (*colloidal nanocurcumin*), partikel-partikel kurkumin yang berukuran sangat kecil terdispersi dalam medium dan tidak dapat langsung dilihat oleh mata, namun partikel bisa dideteksi dengan

menggunakan mikroskop elektron. Warna kuning keemasan sampai warna kemerahan dari NP-kd ini disebabkan oleh warna kuning jingga dari kurkumin.



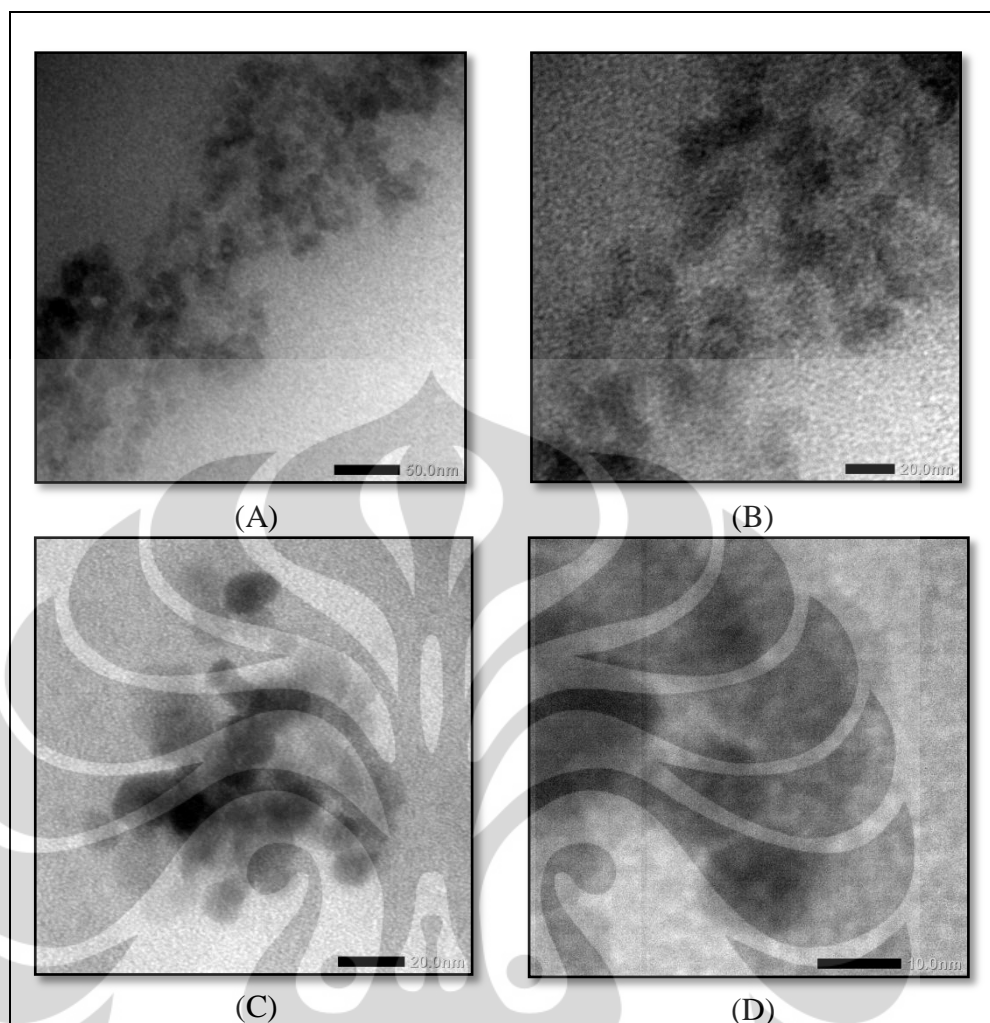
Gambar 4.2 Larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 1 (A), formula 2 (B), dan formula 3 (C)

4.3.2 Pengamatan Bentuk Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Bentuk nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) setelah diamati dengan menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM) dengan berbagai perbesaran menunjukkan bentuk yang sferis (bulat), seperti yang diperlihatkan oleh Gambar 4.3.

4.3.3 Penentuan Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Ukuran partikel dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) adalah sebagai berikut. Untuk formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) memiliki rata-rata ukuran partikel $13,92 \pm 3,65$ nm, formula 2 dengan rasio molar (1:0,02) berukuran $61,10 \pm 31,05$ nm dan formula 3 dengan rasio molar (1:0,002) berukuran $32,57 \pm 47,21$ nm.

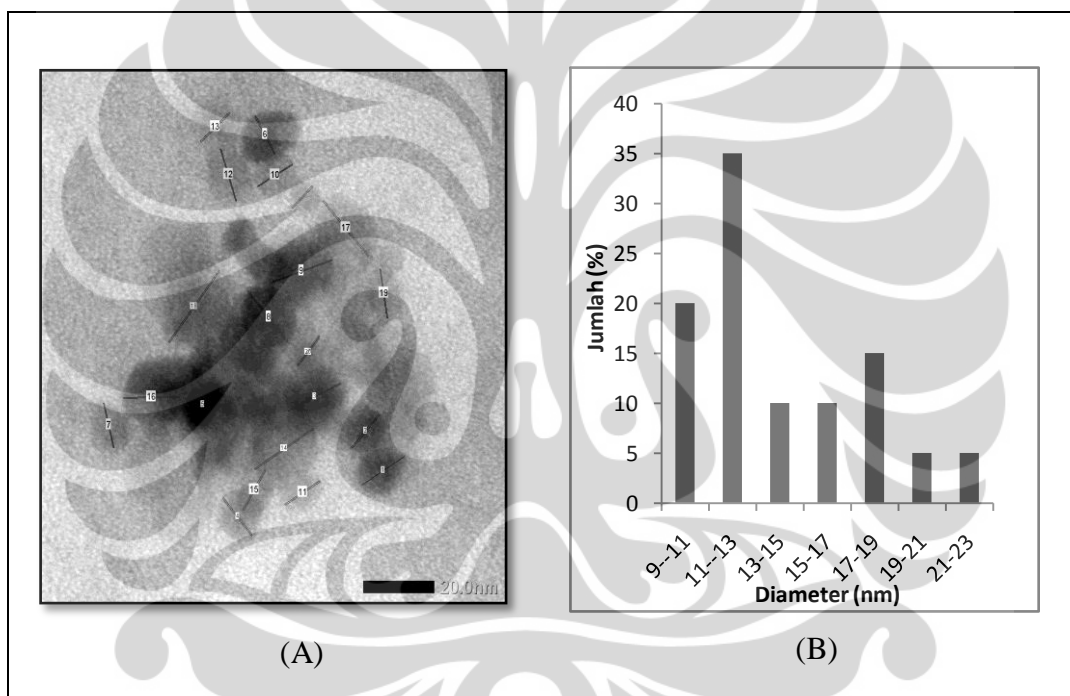


Gambar 4.3 Hasil pengamatan bentuk nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan *Transmission Electron Microscope* (TEM) dengan perbesaran 80000 x (A), 150000 x (B), 200000 x (C) dan 500000 x (D).

Hasil ini menyatakan bahwa nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM dengan ketiga variasi rasio molar tersebut sudah berukuran kurang dari 100 nm. Dendrimer PAMAM G4 menunjukkan karakteristiknya sebagai polimer yang efektif yang dapat dimanfaatkan sebagai pembawa nanopartikel. Hal ini diperlihatkan dari jumlah dendrimer PAMAM G4 yang sedikit penggunaannya dalam formula 2 dan formula 3, tetapi mampu membentuk nanopartikel kurkumin yang berukuran kurang dari 100 nm.

Ukuran partikel dari NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1 : 0,2) ditentukan dengan metode *image analysis* dari gambar yang dihasilkan dari *Transmission Electron Microscope* (TEM). Dari 20 sampel partikel yang ditentukan ukuran diameternya, didapatkan diameter ukuran partikel

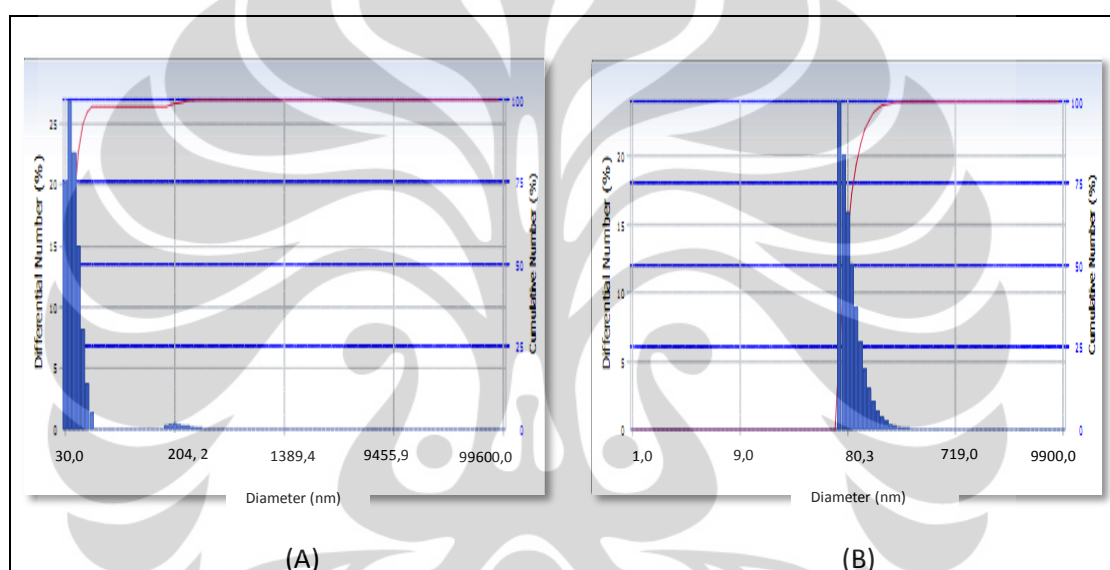
berkisar antara 9 – 23 nm, dengan rata-rata diameter ukuran partikel $13,92 \pm 3,65$ nm. NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) memperlihatkan distribusi ukuran partikel yang relatif sempit, yaitu dalam rentang 9-23 nm , seperti yang terlihat pada Gambar 4.4. Ukuran partikel paling banyak berkisar antara 11-13 nm dengan jumlah sebanyak 35%, kemudian selanjutnya diikuti dengan ukuran partikel 9-11 nm dengan jumlah sebanyak 20%. Ukuran partikel NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) ini ditentukan dengan metode *image analysis* dari gambar yang dihasilkan dari alat TEM karena sampel pada formula 1 tidak dapat dideteksi dengan *Particle Size Analyzer*.



Gambar 4.4. Hasil gambar TEM (A) dan diagram distribusi ukuran partikel (B) nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 1 rasio molar (1;02)

Ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) formula 2 dengan rasio molar (1:0,02) dan formula 3 dengan rasio molar (1:0,002) ditentukan dari alat *Particle Size Analyzer* dengan metode *photon correlation spectroscopy* (PCS). Ukuran partikel rata-rata NP-kd formula 2 setelah dilakukan percobaan sebanyak tiga kali adalah $61,10 \pm 31,05$ nm dan ukuran partikel rata-rata NP-kd formula 3 adalah $32,57 \pm 47,21$ nm.

Pada NP-kd formula 2 dengan rasio molar (1:0,02), diagram distribusi ukuran partikel dari salah satu percobaan memperlihatkan distribusi ukuran partikel yang sempit, yaitu berkisar antara 30-48 nm, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.5. Dari diagram distribusi ukuran partikel NP- kd formula 2 terdapat 10% partikel berukuran kurang dari 32,4 nm (d_{10}), 50% partikel berukuran kurang dari 32,7 nm (d_{50}), dan 90% partikel berukuran kurang dari 39,8 nm (d_{90}) dengan rata-rata ukuran partikel adalah 39,60 nm. Ukuran partikel yang jumlahnya paling banyak dalam formula 2 adalah partikel yang berukuran 32,4 nm sebesar 26,79 %.



Gambar 4.5. Diagram distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 2 dengan rasio molar (1:0,02) (A) dan formula 3 dengan rasio molar (1:0,002) (B)

Pada NP-kd formula 3 dengan rasio molar (1:0,002), diagram distribusi ukuran partikel dari salah satu percobaan cenderung memperlihatkan distribusi ukuran partikel yang cukup luas, yaitu berkisar antara 67-148 nm, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.5. Dari diagram distribusi ukuran partikel NP- kd formula 3 terdapat 10% partikel berukuran kurang dari 64 nm (d_{10}), 50% partikel berukuran kurang dari 76 nm (d_{50}), dan 90% partikel berukuran kurang dari 110,8 nm (d_{90}) dengan rata-rata ukuran partikel adalah 86,90 nm. Ukuran partikel yang jumlahnya paling banyak dalam formula 2 adalah partikel yang berukuran 67,3 nm sebesar 23,89 %.

Ukuran partikel adalah karakteristik paling penting dalam sistem nanopartikel karena menentukan distribusi *in vivo*, toksisitas, dan kemampuan *targeting*. Selain itu ukuran partikel mempengaruhi *drug loading*, *drug release*, dan kestabilan sistem nanopartikel (Mohanraj dan Y Chen, 2005). Penentuan distribusi ukuran partikel bertujuan untuk mempelajari pola persebaran dari ukuran partikel yang berkisaran sama untuk kemudian ditentukan jumlahnya pada sampel NP-kd. Setiap kumpulan partikel biasanya berupa polidispersi. Oleh sebab itu, dirasa perlu untuk mengetahui tidak hanya ukuran suatu partikel tertentu, tetapi juga jumlah partikel berukuran sama yang terdapat dalam sampel.

4.3.4 Penentuan Nilai Zeta Potensial Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Dari alat *Particle Analyzer* dengan metode *Electrophoretic Light Scattering* (ELS) dalam menentukan nilai zeta potensial, didapatkan nilai zeta potensial NP-kd formula 2 dengan rasio molar (1:0,2) adalah $+ 15,92 \pm 6,43$ mV dan nilai zeta potensial NP-kd formula 3 dengan rasio molar (1:0,02) adalah $+ 20,95 \pm 0,38$ mV. Karakteristik permukaan partikel dari sistem nanopartikel mempengaruhi stabilitas nanopartikel dan interaksinya dengan membran sel. Nilai zeta potensial dari nanopartikel secara umum digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel tersebut. Dalam teori lapisan elektrik ganda (*electric double layer theory*), nilai zeta potensial memprediksikan kestabilan suatu sistem koloid. Nilai zeta potensial yang tinggi (baik muatannya positif atau negatif) menunjukkan sistem koloid yang stabil dan dapat mencegah partikel mengalami agregasi, adanya gaya tolak-menolak elektrostatis antar partikel ini menyebabkan partikel-partikel dalam sistem koloid nanopartikel akan saling tolak-menolak. Nilai zeta potensial yang rendah (baik muatannya positif atau negatif) menyebabkan berkurangnya gaya tolak-menolak antar partikel untuk mencegah partikel beragregasi. Secara umum, partikel dengan nilai zeta potensial lebih positif dari +30 mV atau lebih negatif dari -30 mV diprediksi stabil selama penyimpanan dan tercegah dari agregasi partikel (Mohanraj dan Y Chen, 2005).

Berdasarkan teori lapisan elektrik ganda (*electric double layer theory*) tersebut, nilai zeta potensial dari kedua formula NP-kd memprediksikan bahwa

sistem koloid nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 cenderung stabil karena memiliki nilai zeta potensial yang cukup tinggi, meskipun tidak melebihi nilai ± 30 mV. Zeta potensial yang bermuatan positif mungkin disebabkan oleh gugus amin primer pada dendrimer PAMAM G4 yang terprotonasi pada permukaannya setelah pembentukan nanopartikel. Selain itu, pH nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 yang berkisar antara 6-7 (suasana cenderung asam) juga menyebabkan partikel bermuatan positif.

4.3.5 Penentuan Nilai Indeks Polidispersitas Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Nilai indeks polidispersitas nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) ditentukan dengan alat *Particle Size Analyzer*. Nilai indeks polidispersitas untuk formula 1, 2, dan 3 berturut-turut adalah 0,267 ; 0,580 ; dan 0,400. NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) menunjukkan nilai indeks polidispersitas paling rendah dibandingkan dengan formula 2 dengan rasio molar (1:0,02) dan formula 3 dengan rasio molar (1:0,002). Hal ini mungkin disebabkan oleh penggunaan dendrimer PAMAM G4 pada formula 1 yang jumlahnya paling banyak (rasio molar paling rendah) sehingga sistem NP-kd yang terbentuk lebih monodispersi dibandingkan dengan NP-kd formula 2 dan formula 3.

Indeks polidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel yang nilainya dimulai dari 0,01 sampai 0,5-0,7 untuk partikel monodispersi, sedangkan nilai indeks polidispersitas yang lebih besar dari 0,7 menyatakan sistem nanopartikel dengan distribusi ukuran partikel yang sangat luas (Nidhin, Indumathy, Sreeram, & Nair, 2008). Nilai indeks polidispersitas menyatakan kestabilan sistem nanopartikel, semakin meningkatnya nilai indeks polidispersitas menunjukkan semakin banyak partikel yang beragregasi. Sistem nanopartikel monodispersi memperlihatkan distribusi ukuran partikel yang cenderung sempit dan menandakan sistem nanopartikel yang stabil karena semakin sedikitnya partikel yang beragregasi.

4.3.6 Analisis Spektrum FTIR Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Analisis kualitatif spektrum inframerah nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) bertujuan untuk melihat interaksi yang terjadi antara kurkumin dengan pembawa dendrimer PAMAM G4, selain itu analisis ini juga bertujuan untuk membuktikan apakah kurkumin terenkapsulasi di dalam pembawa dendrimer PAMAM G4 atau berada di permukaan dendrimer PAMAM G4. Analisis ini dilakukan dengan cara membandingkan spektrum infra merah dari kurkumin murni, dendrimer PAMAM G4, dan NP-kd. Dari pengamatan spektrum inframerah kurkumin standar, terlihat peak-peak utama dari kurkumin, yaitu pada 1627 cm^{-1} (untuk C=C aromatis), 1427 cm^{-1} (untuk C-C aromatis), 1603 cm^{-1} (untuk konjugasi diena), 1508 cm^{-1} (untuk C=O keton), $3480\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ (untuk OH), 808 cm^{-1} dan 860 cm^{-1} (untuk aromatis trisubstitusi). Sedangkan untuk dendrimer PAMAM G4 standar, terlihat peak-peak utama pada 1647 cm^{-1} (untuk C=O amida), 1543 cm^{-1} , 3269 cm^{-1} dan 3076 cm^{-1} (untuk N-H).

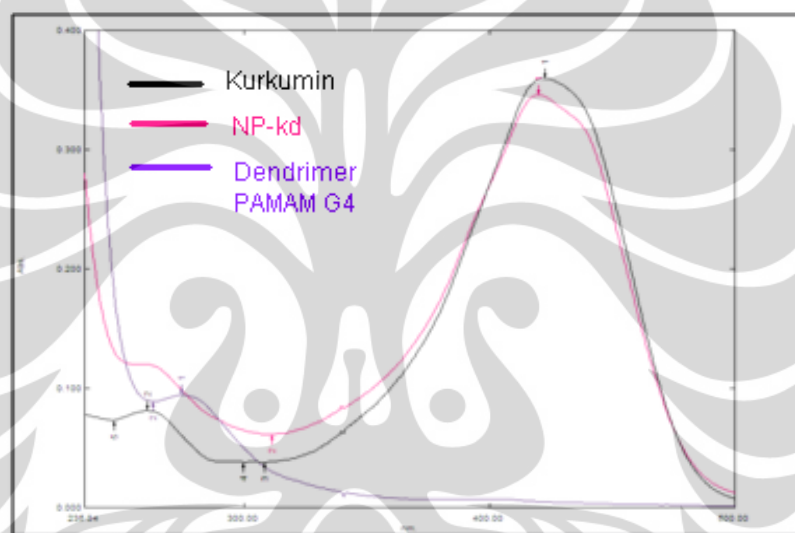
Pada analisis spektrum NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2), peak-peak utama pada kurkumin (1627 , 1427 , 1603 , $3480\text{-}3200$, 808 , dan 860 cm^{-1}) sudah tidak muncul lagi, yang terlihat hanya peak-peak pada bilangan gelombang 1647 cm^{-1} , 1545 cm^{-1} , 3271 cm^{-1} , dan 3074 cm^{-1} (peak-peak utama dendrimer PAMAM G4). Hal ini menandakan bahwa pada NP-kd formula 1, kurkumin sudah terenkapsulasi di dalam dendrimer PAMAM G4 dan interaksi yang terjadi antara kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 hanya sebatas interaksi fisik. Interaksi fisik ditandai dengan tidak munculnya peak baru yang menjadi indikator adanya gugus baru yang dihasilkan dari interaksi kimia, selain itu tidak terlihat adanya pergeseran frekuensi peak-peak yang ada, khususnya untuk peak ikatan C=O. Hal yang sama terjadi pada NP-kd formula 2 dengan rasio molar (1:0,02), dimana peak-peak utama kurkumin (1627 , 1427 , 1603 , $3480\text{-}3200$, 808 , dan 860 cm^{-1}) juga sudah tidak ditemukan lagi pada spektrum inframerah NP-kd formula 2, peak-peak pada NP-kd formula 2 adalah 1647 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 3275 cm^{-1} , 3072 cm^{-1} , dan 820 cm^{-1} . Adanya kembali peak 820 cm^{-1} (aromatis trisubstitusi) pada peak NP-kd formula 2 ini berasal dari peak kurkumin. Hal ini menunjukkan bahwa kurkumin pada NP-kd formula 2 tidak terenkapsulasi sebaik pada NP-kd formula 1.

Hasil berbeda ditunjukkan oleh NP-kd formula 3 dengan rasio molar (1:0,002), dimana peak-peak utama kurkumin sebagian muncul kembali, yaitu pada 860 cm^{-1} (aromatis trisubstitusi) dan 1508 cm^{-1} (untuk C=O keton), diikuti dengan hilangnya peak-peak utama pada dendrimer PAMAM G4, yaitu 1637 cm^{-1} dan 1543 cm^{-1} (untuk C=O amida), 3269 cm^{-1} dan 3076 cm^{-1} (untuk N-H). Peak-peak pada spektrum NP-kd formula 3 ini menggambarkan bahwa jumlah dendrimer PAMAM G4 yang digunakan masih kurang, sehingga kurkumin tidak terenkapsulasi dengan baik. Adanya kurkumin yang tidak terenkapsulasi ini dibuktikan dengan masih munculnya peak-peak utama kurkumin dan hilangnya peak-peak utama dendrimer PAMAM G4 pada NP-kd formula 3. Hilangnya peak-peak utama dendrimer PAMAM G4 ini tidak diikuti dengan munculnya peak baru atau pergeseran frekuensi peak-peak yang ada, sehingga dapat diduga pada NP-kd formula 3 juga hanya terjadi interaksi fisik antara kurkumin dan dendrimer PAMAM G4. Hal ini serupa dengan publikasi yang telah disebutkan oleh Chandana M. dan Sanjeeb K.S pada tahun 2010, bahwa peak utama kurkumin yang tidak muncul pada spektrum inframerah nanopartikel dan diperjelas dengan tidak munculnya peak baru atau pergeseran peak-peak yang ada menandakan bahwa kurkumin berhasil terjerap/terenkapsulasi dalam polimer pembawa nanopartikel tersebut dengan interaksi fisik. Analisis spektrum FTIR sampel cairan (dendrimer PAMAM G4 dan NP-kd) dilakukan dengan modifikasi metode, yaitu dengan cara meneteskan sampel ke atas serbuk KBr, kemudian dikeringkan dan digerus homogen.

4.3.7 Analisis Spektrum UV-Vis Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM

Hasil pada Gambar 4.6 menunjukkan bahwa spektrum serapan UV-Vis nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd) dalam pelarut metanol memiliki panjang gelombang maksimum (λ maks) $421,50\text{ nm}$ dan spektrum serapan kurkumin standar dalam pelarut metanol memiliki panjang gelombang maksimum $423,00\text{ nm}$. Dapat dilihat bahwa spektrum serapan UV-Vis NP-kd ini memiliki kemiripan dengan spektrum serapan UV-Vis kurkumin standar dalam hal bentuk spektrum serapan dan panjang gelombang maksimumnya. Namun, hasil yang jauh berbeda ditunjukkan oleh spektrum serapan UV-Vis dari

dendrimer PAMAM G4 dalam pelarut metanol yang memiliki panjang gelombang maksimum 280,00 nm. Selain itu, dalam konsentrasi yang sama, intensitas serapan dari NP-kd mendekati intensitas serapan kurkumin standar. Berdasarkan hasil tersebut diduga bahwa spektrum serapan UV-Vis NP-kd berasal dari serapan yang diberikan oleh kurkumin di dalam dendrimer PAMAM G4, hal ini menandakan bahwa kurkumin telah berhasil dijerap/dienkapsulasi dalam dendrimer PAMAM G4. Publikasi Mohanty dan Sahoo pada tahun 2010 menyatakan bahwa intensitas serapan nanopartikel kurkumin yang mendekati intensitas serapan kurkumin standar menandakan bahwa kurkumin sudah berhasil dijerap di dalam pembawa nanopartikel.



Gambar 4.6. Spektrum serapan UV-Vis *overlay* dari kurkumin, NP-kd, dan dendrimer pamam G4

4.3.8 Penentuan Persentase Efisiensi Obat Terjerap Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Hasil penentuan kurva kalibrasi larutan standar kurkumin dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 423,00 nm memberikan persamaan regresi linear $y = 0,0006 + 0,14283x$ dengan $r = 0,9999$. Setelah kurkumin bebas berhasil dipisahkan dari kompleks nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan ultrasentrifugasi, kurkumin bebas yang mengendap dilarutkan dalam metanol, kemudian kadarnya ditetapkan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 423,00 nm

menggunakan persamaan regresi liner dari kurva kalibrasi kurkumin standar (Markatou, et.al., 2007)

Efisiensi obat terjerap didefinisikan sebagai persentase kurkumin yang terjerap/terenkapsulasi ke dalam polimer dendrimer PAMAM G4 dibandingkan dengan total kurkumin yang ditambahkan. Persentase efisiensi penyerapan kurkumin pada formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) sebesar 100 %, formula 2 dengan rasio molar (1:0,02) sebesar 98,72 % dan formula 3 dengan rasio molar (1:0,002) sebesar 77,79 %. Perhitungan persentase efisiensi penyerapan dapat dilihat pada Lampiran 31 dan perbandingan persentase efisiensi obat terjerap antara ketiga formula dapat dilihat pada Tabel 4.1.

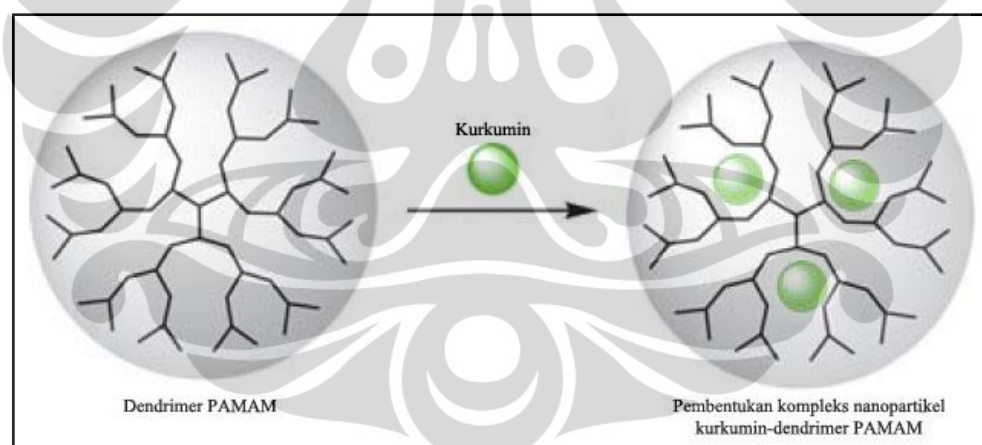
Dari hasil ini terlihat bahwa persentase efisiensi penyerapan kurkumin formula 1 paling besar, diikuti formula 2 dan formula 3. Secara umum, dapat disimpulkan bahwa jumlah dendrimer PAMAM G4 yang digunakan akan mempengaruhi efisiensi penyerapan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4, semakin kecil rasio molar antara kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (jumlah dendrimer PAMAM G4 paling banyak), maka akan semakin baik efisiensi penyerapannya. Selain itu, hasil ini menunjukkan bahwa rasio molar kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (1 : 0,02) pada formula 2 sudah cukup berhasil menghasilkan efisiensi penyerapan obat yang tinggi (98,72%).

Tabel 4.1. Data perbandingan efisiensi penyerapan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

Formula	Bobot kurkumin total (μg)	Bobot kurkumin bebas (μg)	Bobot kurkumin terjerap (μg)	Efisiensi obat terjerap (%)
F1 (1:0,2)	263,4	0	263,4	100
F2 (1:0,02)	1582	20,22	1561,78	98,72
F3 (1:0,002)	1977,5	439,12	1538,38	77,79

Keterangan : Persentase efisiensi obat terjerap dihitung dari persamaan (bobot kurkumin terjerap/bobot kurkumin total) x 100%

Struktur bercabang yang dimiliki oleh dendrimer PAMAM G4 memungkinkan terjadinya enkapsulasi molekul asing. Maciejewski pada tahun 1982 menyebutkan bahwa konsep enkapsulasi ini seperti struktur cangkang telur (*egg-shell-like*). Dendrimer PAMAM G4 memiliki rongga internal (*internal cavity*) yang terletak diantara cabang dan intinya, rongga-rongga internal inilah yang memiliki kemampuan untuk mengenkapsulasi molekul asing. Selain molekul asing, berpotensi juga untuk mengenkapsulasi obat-obat yang tidak stabil dan kelarutannya buruk, termasuk kurkumin. Dalam enkapsulasi kurkumin ke dalam dendrimer PAMAM G4 ini hanya terjadi interaksi fisik dan tidak terjadi interaksi kimia. Hal yang berkaitan dengan interaksi ini telah dikonfirmasi sebelumnya dengan analisis spektrum FTIR NP-kd. Enkapsulasi kurkumin ke dalam dendrimer PAMAM G4 ini bisa menyebabkan peningkatan stabilitas, kelarutan dan bioavailabilitas dari kurkumin (D'Emanuele dan Attwod, 2005). Penentuan persentase jumlah kurkumin yang dapat terenkapsulasi dalam larutan NP-kd ini bertujuan untuk melihat sejauh mana kapasitas dendrimer PAMAM G4 dalam mengenkapsulasi kurkumin dengan berbagai variasi rasio molar.



Gambar 4.7. Mekanisme enkapsulasi kurkumin ke dalam rongga internal dendrimer PAMAM G4

4.3.9 Penentuan *Drug Loading* Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Drug loading (kandungan obat) didefinisikan sebagai bobot kurkumin yang terjerap/terenkapsulasi ke dalam polimer dendrimer PAMAM G4 dibandingkan dengan volume total nanopartikel (dengan kata lain kurkumin dan pelarut metanol). Kandungan kurkumin dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer

PAMAM G4 (*drug loading*) untuk rasio molar (1 : 0,2), (1 : 0,02) dan (1 : 0,002) ditetapkan sebesar 52,68 $\mu\text{g/ml}$, 780,89 $\mu\text{g/ml}$, dan 615,35 $\mu\text{g/ml}$. Perhitungan *drug loading* nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dapat dilihat pada Lampiran 32 dan perbandingan *drug loading* antara ketiga formula dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Data perbandingan *drug loading* nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

Formula	Bobot kurkumin total (μg)	Bobot kurkumin bebas (μg)	Bobot kurkumin terjerap (μg)	Volume nanopartikel (ml)	<i>Drug loading</i> ($\mu\text{g/ml}$)
F1 (1:0,2)	263,4	0	263,4	5,0	52,68
F2 (1:0,02)	1582	20,22	1561,78	2,0	780,89
F3 (1:0,002)	1977,5	439,12	1538,38	2,5	615,35

Keterangan : *Drug loading* dihitung dari persamaan (bobot kurkumin terjerap/volume nanopartikel)

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1:0,2), (1:0,02), dan (1:0,002) memiliki ukuran partikel yang kurang dari 100 nm.
2. Nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1:0,02) memberikan hasil terbaik dengan ukuran partikel rata-rata $61,10 \pm 31,05$ nm dan efisiensi penjerapan sebesar 98,72%.

5.2. Saran

Sebaiknya perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk menentukan laju pelepasan nanopartikel kurkumin dari pembawa dendrimer PAMAM G4 dalam sediaan farmasi. Selain itu, nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 perlu diuji aktivitas antikankernya untuk kemudian dibandingkan dengan kurkumin biasa. Perlu ditambahkan zat penstabil yang cocok ke dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 untuk meningkatkan kestabilannya.

DAFTAR ACUAN

- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B. (2007). *Review Bioavailability of curcumin : problems and promises. Molecular Pharmaceuticals*, 4 (6), 807-818.
- Anand, Preetha, *et al.* (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (congeners) made by man and Mother Nature. *Biochemical Pharmacology*, 76, 1590-1611.
- Balasubramanian, Suresh *et al.* (2010). Characterization, purification and stability of gold nanoparticles. *Biomaterials*, 31, 9023-9030.
- Boas, Ulrik, dan Heegaard, P.M.H., (2004). Dendrimers in drug research. *The Royal Society of Chemistry*, 33, 43-63.
- D'Emanuele, A., dan Attwod, D. (2005). Dendrimer-drug interaction. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 2147– 2162.
- Dunham, T.H., Ward, B.B., dan Baker, J.R. Jr. (2008). Generation carries for drug delivery. In Majoros, I. J., dan Baker, James R., Jr. (Ed). *Dendrimer Based Nanomedicine* (pp. 17-30). Singapore : Pan Stanford Publishing. Ltd.
- Estaca J.G., Balaguer M.P., Gavara, R., dan Muñoz, P.H. (2010). Nanoencapsulation of the functional food ingredient curcumin by electrohydrodynamic atomization. *Food Inova*.
- Esumi, K., Suzuki, A., Yamahira, A., dan Torigoe, K. (2000). Role of poly(amidoamine) dendrimers for preparing nanoparticles of gold, platinum, and silver. *Langmuir*, 16, 2604-2608.
- Galano, A., Diduk, R.A., Silva, M.T.M., Angeles, G.A., dan Hernández, A.R. (2009). Role of the reacting free radicals on the antioxidant mechanism of curcumin. *Chemical Physics*, 363, 13-23.
- Garg, T., Singh, O., Arora, S., dan Murthy R.S.R. (2011). *Review Dendrimer – A novel scaffold for drug delivery. Internantional Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 7 (2), 211-220.
- Goel, A., Kunnumakkara, A.B., Aggarwal, B.B. (2008). Curcumin as “curecumin” : From kitchen to clinic. *Boochemical Pharmacology*, 75, 787-809.
- Harmita. (2006). *Buku ajar analisis fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI, 40, 47, 87-88.

- Jain, A., Dubey, S., Kaushik, A., dan Tyagi, A.K. (2010). *Review Dendrimer a complete drug carrier. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1 (4), 38 -51.
- Jian Zhang, Libo Wu, Hak-Kim Chan, Watanabe, W. (2011). Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. *Advanced Drug delivery Systems*, 63, 441-455.
- Karewicz, A., Bielska, D., Malcher, B.G., Kepczynski, M., Lach, R., dan Nowakowska, M. (2011). Interaction of curcumin with lipid monolayers and liposomal bilayers. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*. 88, 231-239.
- Klajnert, B., dan Bryszewska, M. (2001). *Review Dendrimer : properties and applications. Acta Biochimica Polonica*, 48 (1) , 199-208.
- Kumar, Peeyush., Meena, K.P., Kumar, Pramond., Choundhary, C., Thakuri, D.S., dan Bajpayeen, P. (2010). *Review Dendrimer : A novel polymer for drug delivery JITPS*, 1 (6), 252-269.
- Majoros, I.J., Becker, A., Thomas, T., Shukla, R., dan Xiangyang Shi. (2008). Dendrimer conjugates for cancer treatment. In Majoros, I. J., dan Baker, James R., Jr. (Ed). *Dendrimer based nanomedicine* (pp. 103-158). Singapore : Pan Stanford Publishing. Ltd.
- Majoros, I.J., dan Carter, D.E. (2008). Poly(amidoamine) dendrimer synthesis and characterization. In Majoros, I. J., dan Baker, James R., Jr. (Ed). *Dendrimer based nanomedicine* (pp. 35-53). Singapore : Pan Stanford Publishing. Ltd.
- Mandeville, J.S., Bourasaa, P., Thomas, T.J., dan Riahi, H.A.T. (2012). Biogenic and synthetic polyamines bind cationic dendrimers. *PLoS ONE*. 7 (4), (1-2).
- Maiti, K., Mukherjee, K., Gantait, A., Saha, B.P., dan Mukherjee, P.K. Curcumin-phospholipid complex : Preparation therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. (2007). *International Journal of Pharmaceutics*. 330 (1-2), 155-163.
- Markatou, E., Gionis, V., Chryssikos, G.D., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Demetzos, C. (2007). Molecular interactions between dimethoxycurcumin and pamam dendrimer carriers. *Pharmaceutical Technology*, 339, 231-236.
- Mohanraj, VJ., dan Y Chen. (2005). Nanoparticles - A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (1), 561-573.

- Mohanty, C., dan Sahoo, S.K. (2010). The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticle formulation. *Biomaterials*. 31, 6597-6611.
- Narayan, P.S., Pooja, S., Khushboo, A., Diwakar, T., Ankit, S., dan Singhai. (2010). Review Dendrimer-a novel drug delivery systems. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*. 1 (7) , 382-388.
- Nanjwade, B.K., Bechra, H.M., Derkar, G.K., Manvi, F.V., dan Nanjwade, V.K. (2009). Dendrimers : Emerging polymers for drug-delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38, 185-196.
- Nidhin, M., Indumathy, R., Sreeram, K.J., dan Nair, B., U. (2008). Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates. *Buletin. Material Science*. 31 (1), 93-96.
- Shisu dan Maheshwari, M. (2009). Review Dendrimer : The novel pharmaceutical drug carriers. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2 (2), 493-502.
- Shehzad, A., Wahid, F., dan Young Sup Lee. (2010). Review Curcumin in cancer chemoprevention: Molecular targets, pharmacokinetics, bioavailability, and clinical Trials. *Arch. Pharmacy Chemical Life Science*, 9, 489-499.
- Sing, R., Lillard, J.W. (2009). Review Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*. 86, 215-223.
- Wilken, R., Veena, M.S., Wang, M.B., Srivatsan, E.S. (2011). Review Curcumin : A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*, 10:12, 1-19.
- Xiangyang Shi., Ganser, T.R., Kai Sun, Balogh, L.P., dan Baker, J.R, Jr. (2006). Characterization of crystalline dendrimer-stabilized gold nanoparticles. *Nanotechnology*, 17, 1072-1078.
- Xiaoyong Wang, Yan Jiang, Yu Wen Wang, Mou Tuan Huan, Chi Tang Ho, dan Qingrong Huang. (2008). Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsion. *Food Chemistry*, 108, 419-424.
- Xue Luo. (2009). One step synthesis and characterization of dendrimer protected gold nanoparticles. *Colloid Journal*, 71 (2) , pp. 281-284.
- Yallapu, M.M., Ebeling, M.C., Chauhan, N., Jaggi, M., dan Chauhan, S.C. (2011). Interaction of curcumin nanoformulations with human plasma proteins and erythrocytes. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 2779-2790.
- Yallapu, M.M., Gupta, B.K., Jaggi, M., dan Chauhan, S.C. (2010). Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic

effects in metastatic cancer cells. *Journal of Colloid and Interface Science*, 351, 19-29.

Yin Meng Tsai, Chao Feng Chien, Lie Chwen Lin, dan Tung Hu Tsai. (2011). Curcumin and its nano-formulation : The kinetics of tissue distribution and blood brain barrier penetration. *International Journal of Pharmaceutics*, 416, 331-338.

Zhanguang Chen, Li Zhu, Tianhe Song, Junhui Chen, dan Zhiming Guo. (2009). Spectrochimica Acta Part A : Molecular and biomolecular spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A*, 72, 518-522.





LAMPIRAN

Daftar Lampiran

Lampiran Gambar	1-17
Lampiran Tabel	18-29
Lampiran Rumus Perhitungan	30-32
Lampiran Sertifikat	33-34

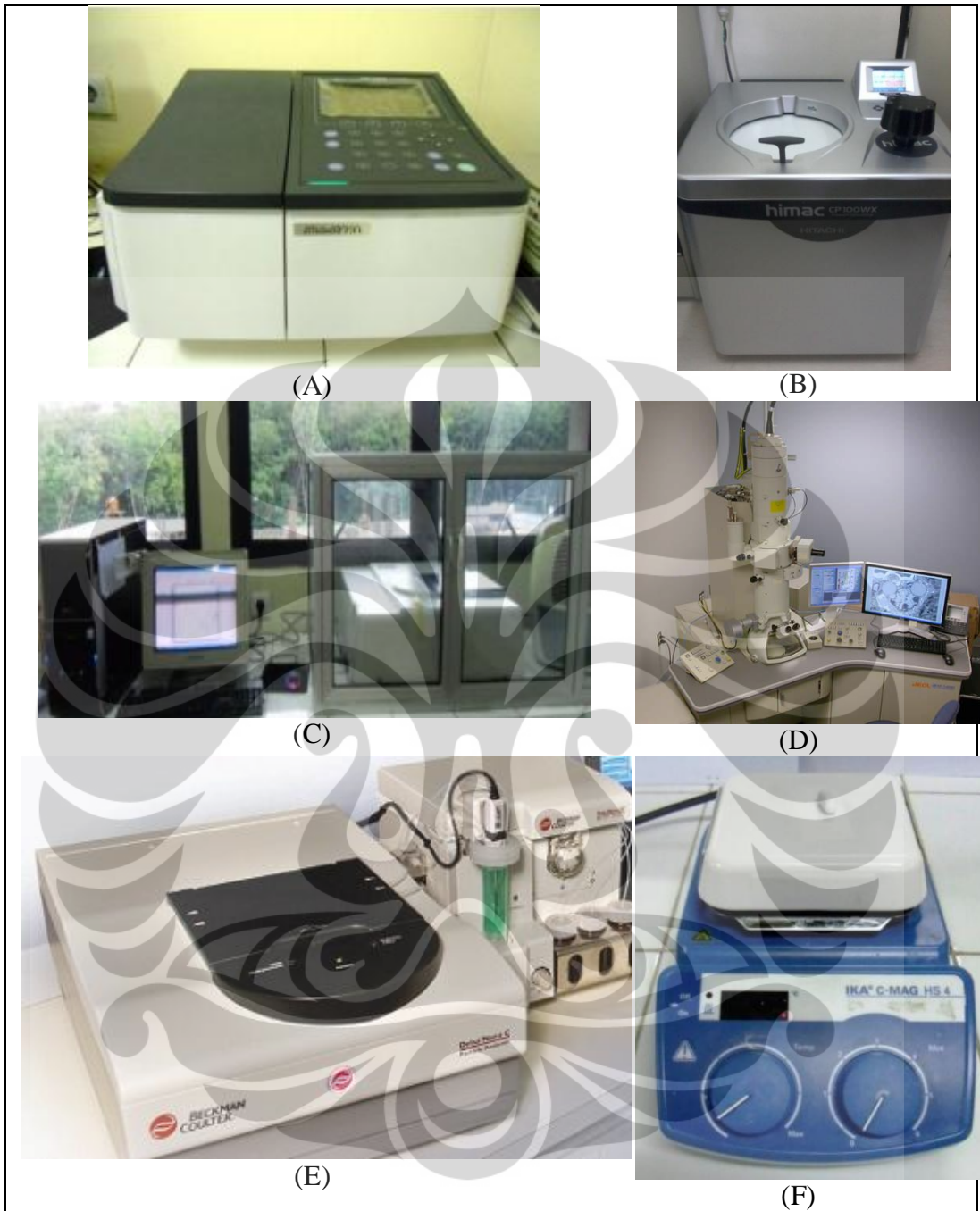
Lampiran 1. Larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4



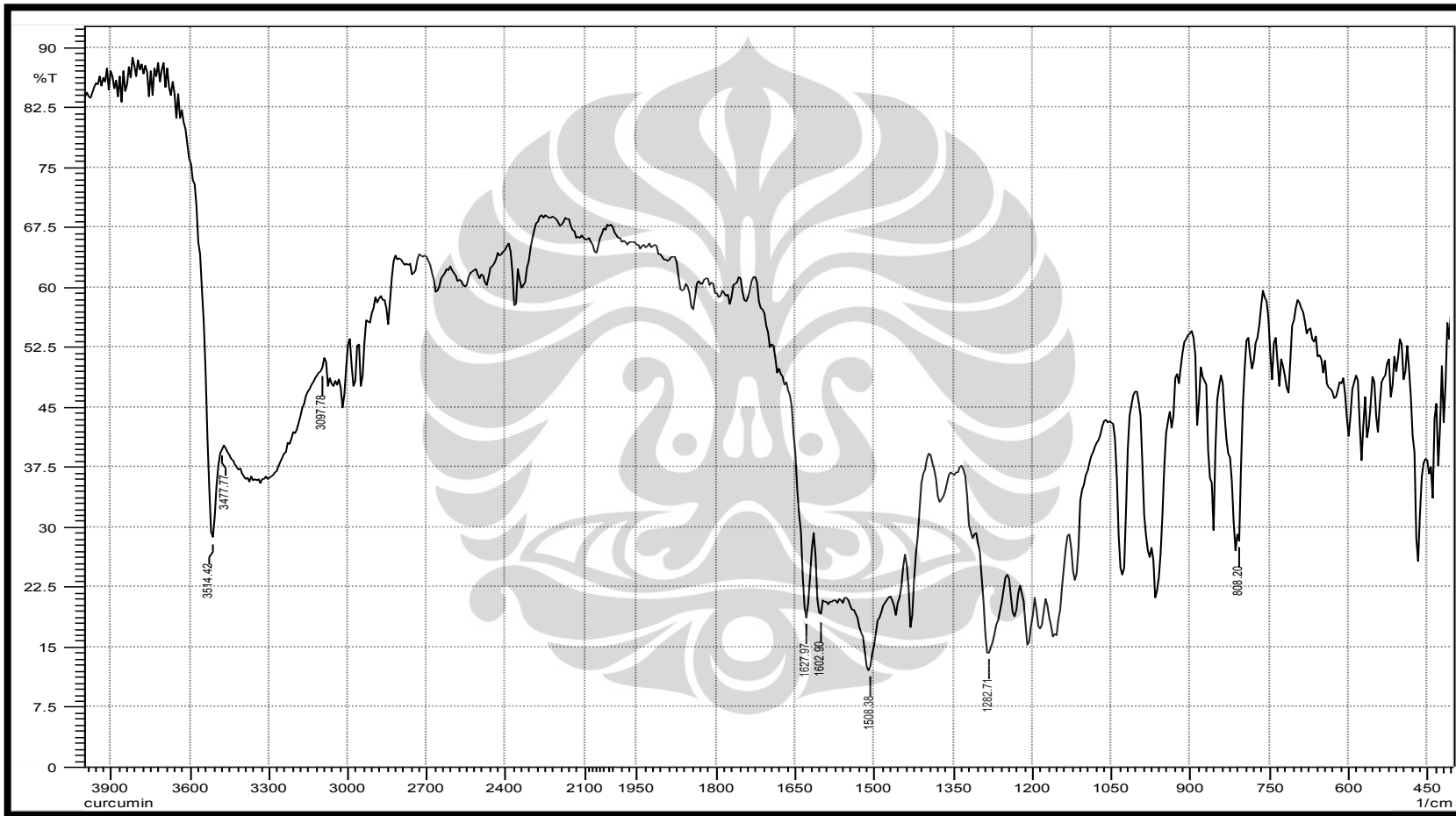
Lampiran 2. Proses pengadukan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan pengaduk magnetik selama 24 jam



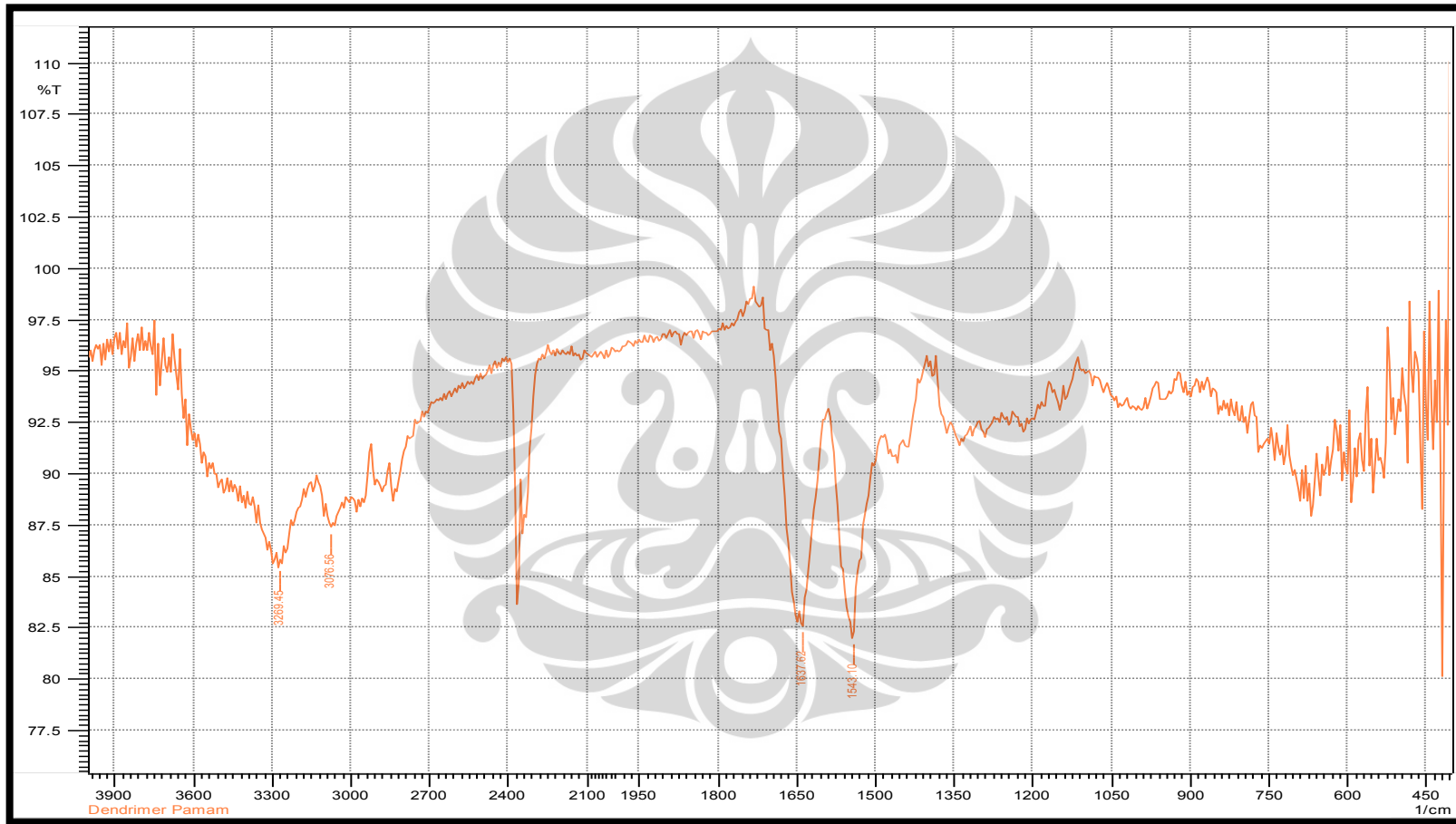
Lampiran 3. Gambar Alat Spektrofotometer UV-Vis (A), Ultarsentrifugasi (B), Spektrofotometer FTIR (C), TEM (D), *Particle Analyzer* (E), dan Pengaduk Magnetik (F)



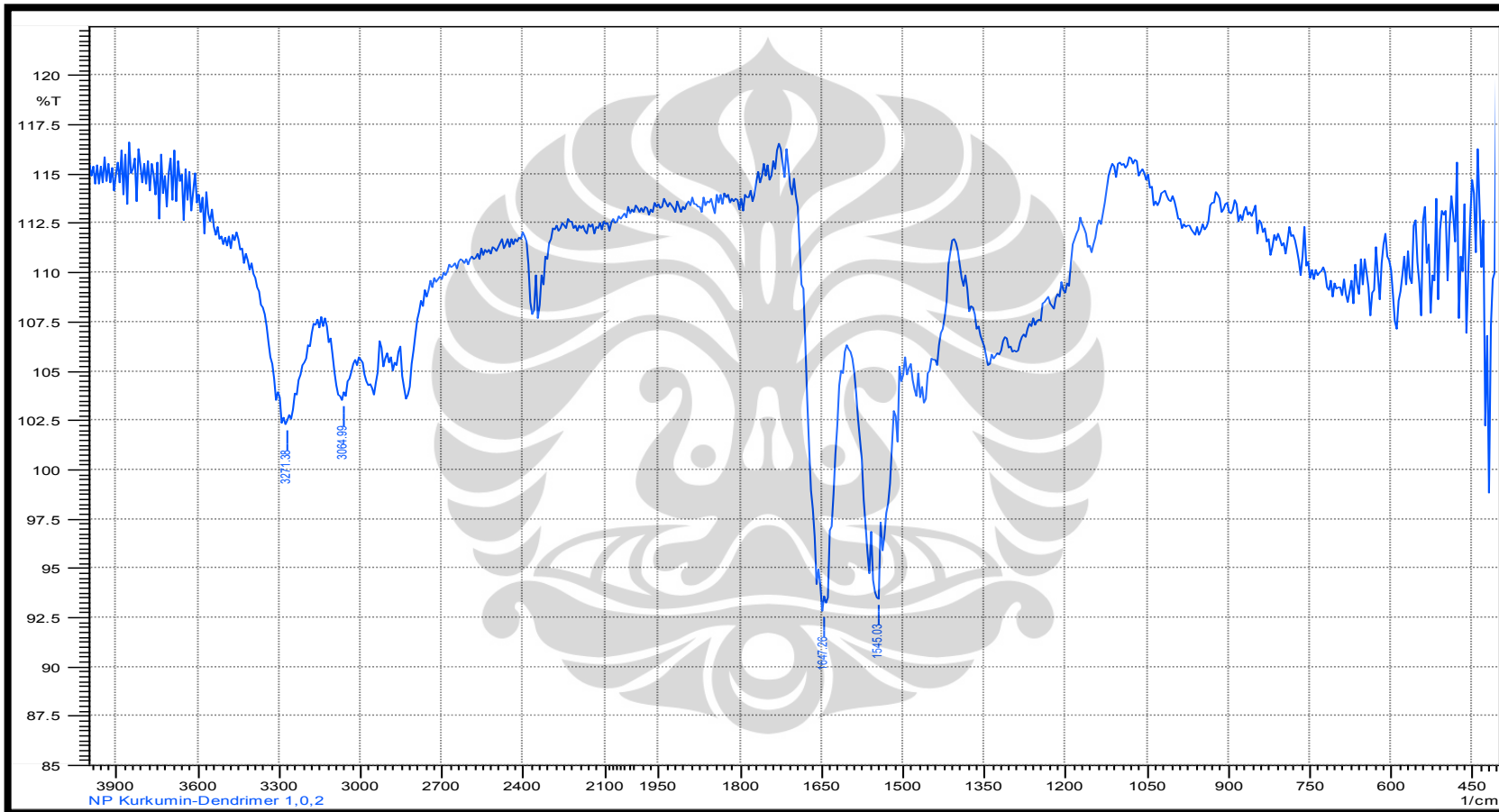
Lampiran 4. Spektrum inframerah kurkumin



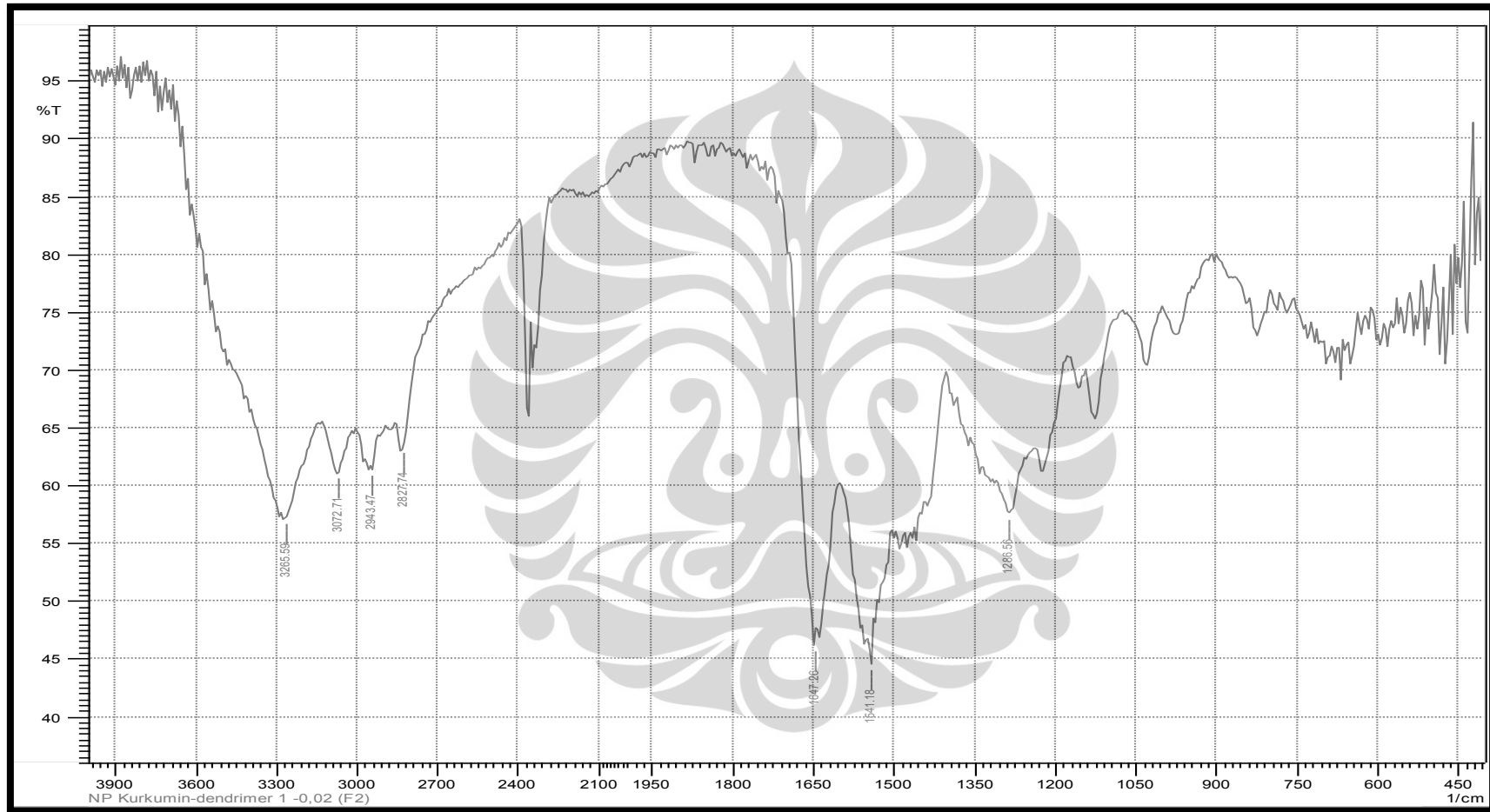
Lampiran 5. Spektrum inframerah dendrimer PAMAM G4



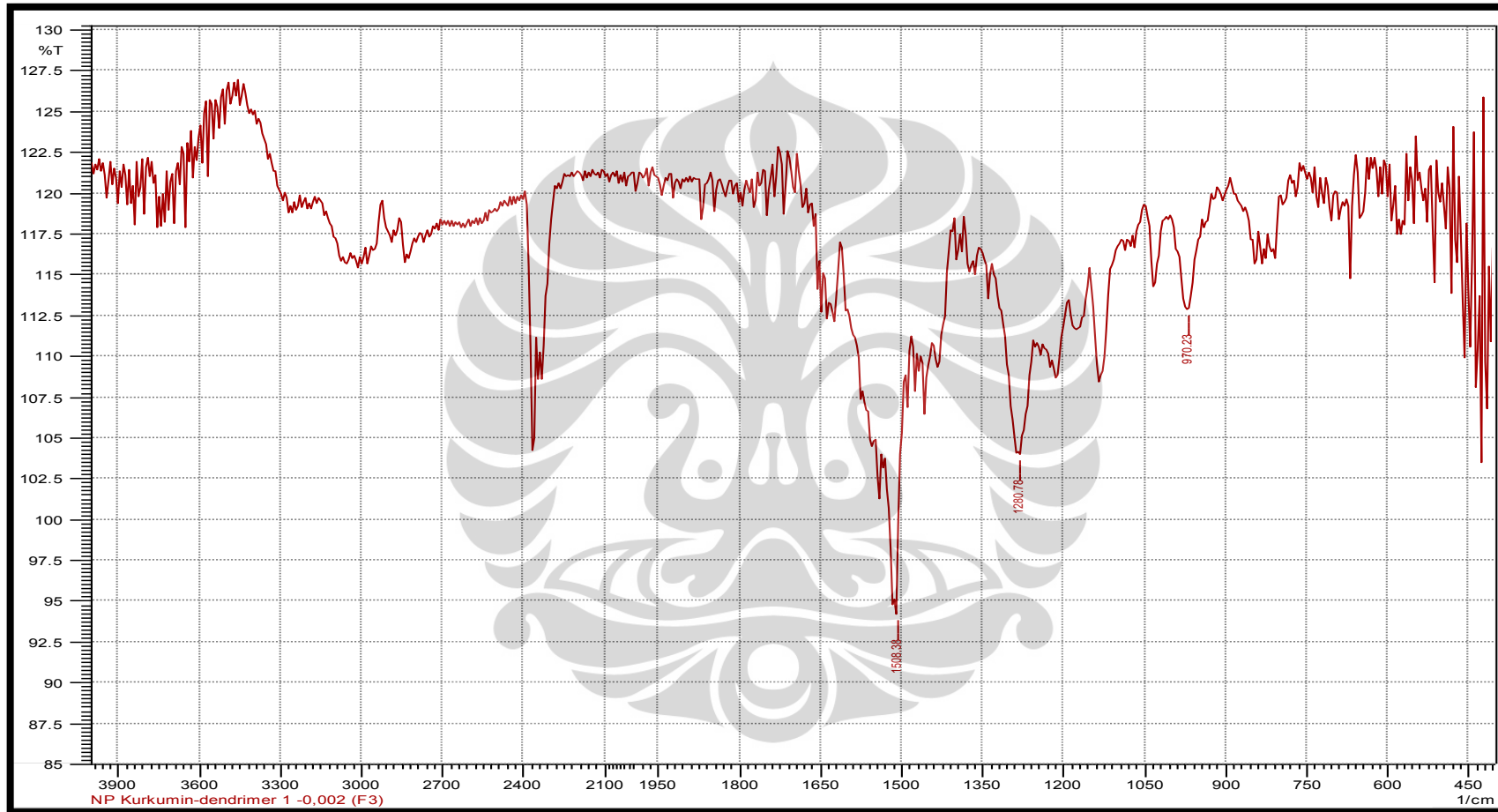
Lampiran 6. Spektrum inframerah NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2)



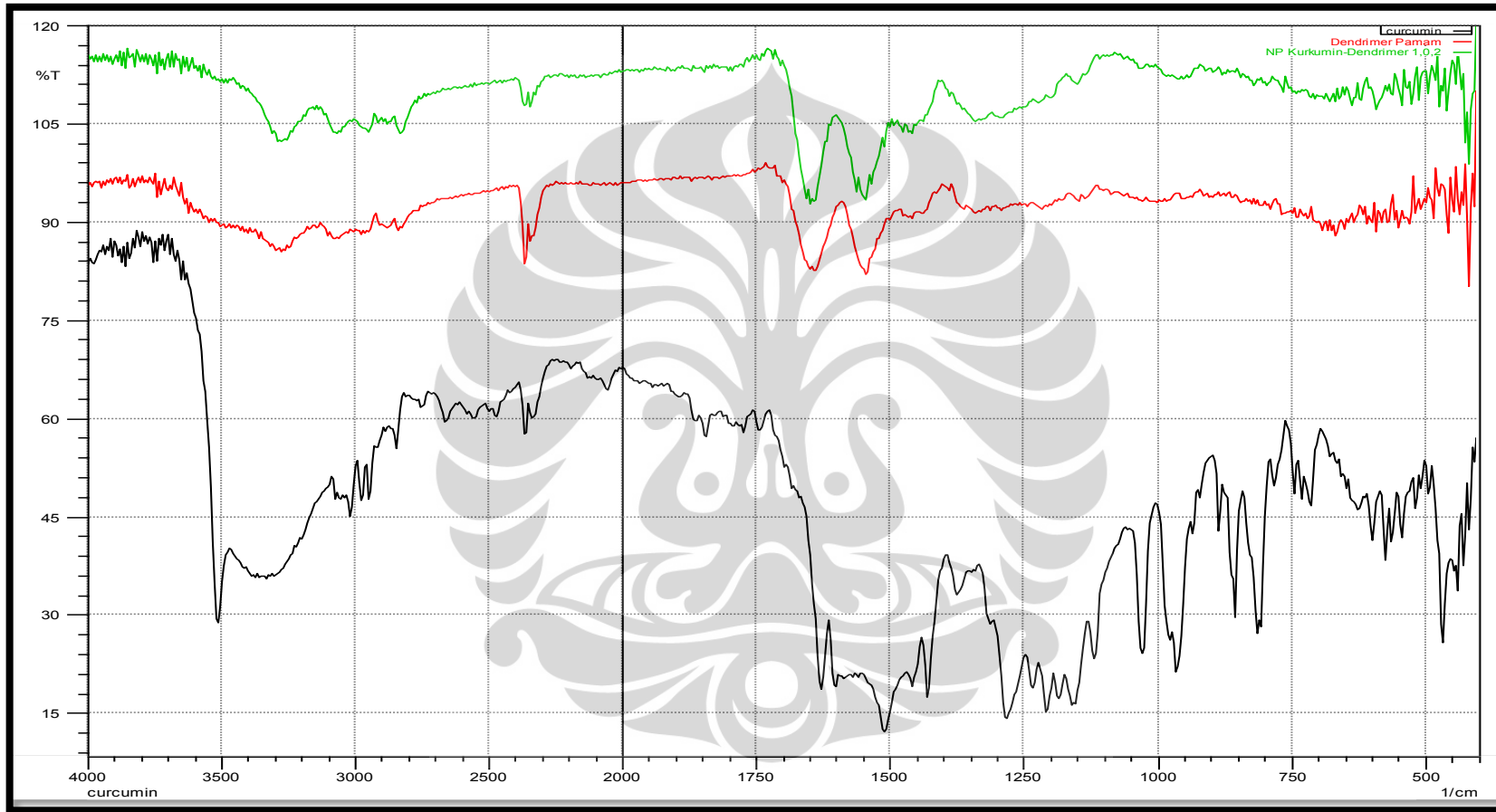
Lampiran 7. Spektrum inframerah NP-kd formula 2 dengan rasio molar (1:0,02)



Lampiran 8. Spektrum inframerah NP-kd formula 3 dengan rasio molar (1:0,002)

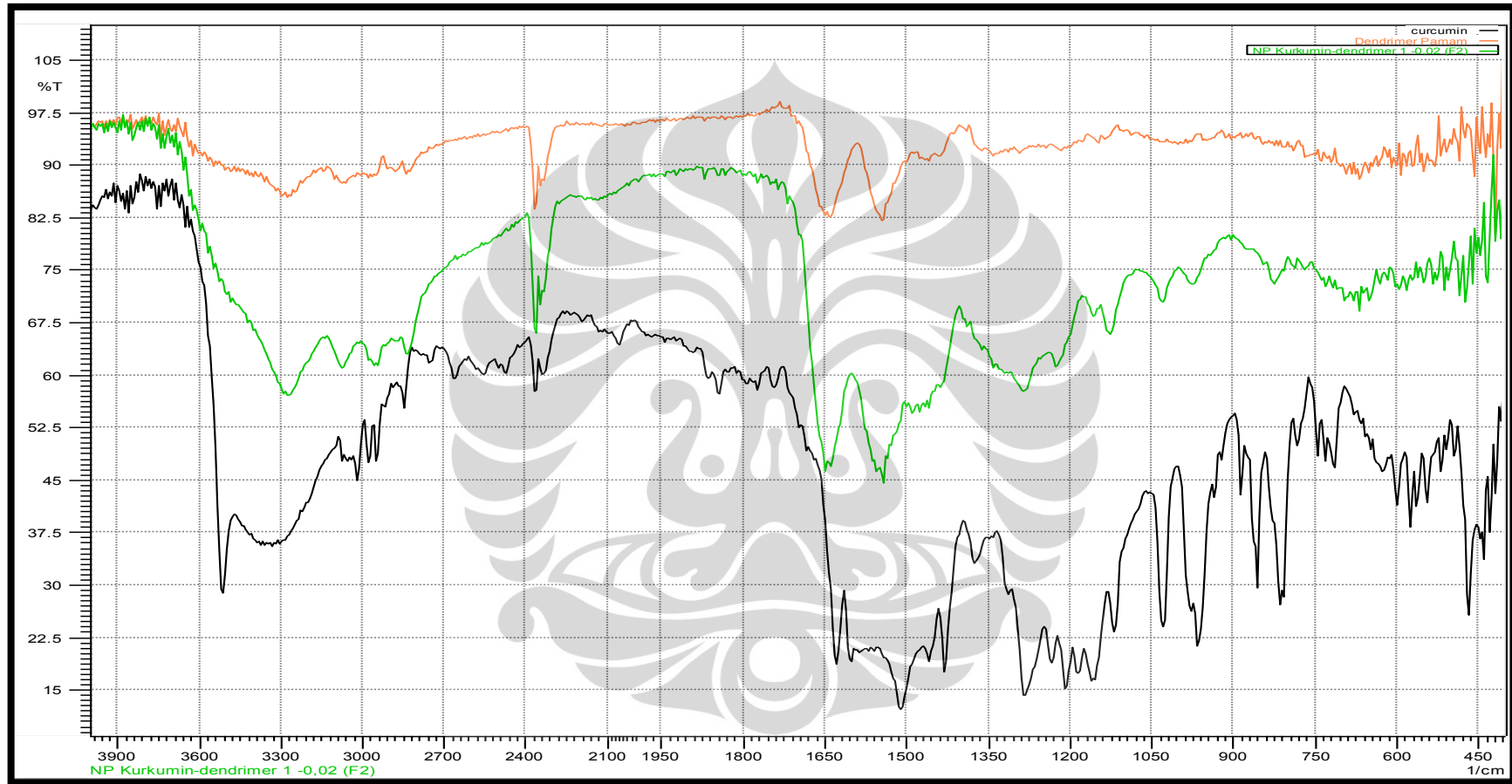


Lampiran 9. Spektrum inframerah *overlay* kurkumin, dendrimer PAMAM G4, dan NP-kd F1



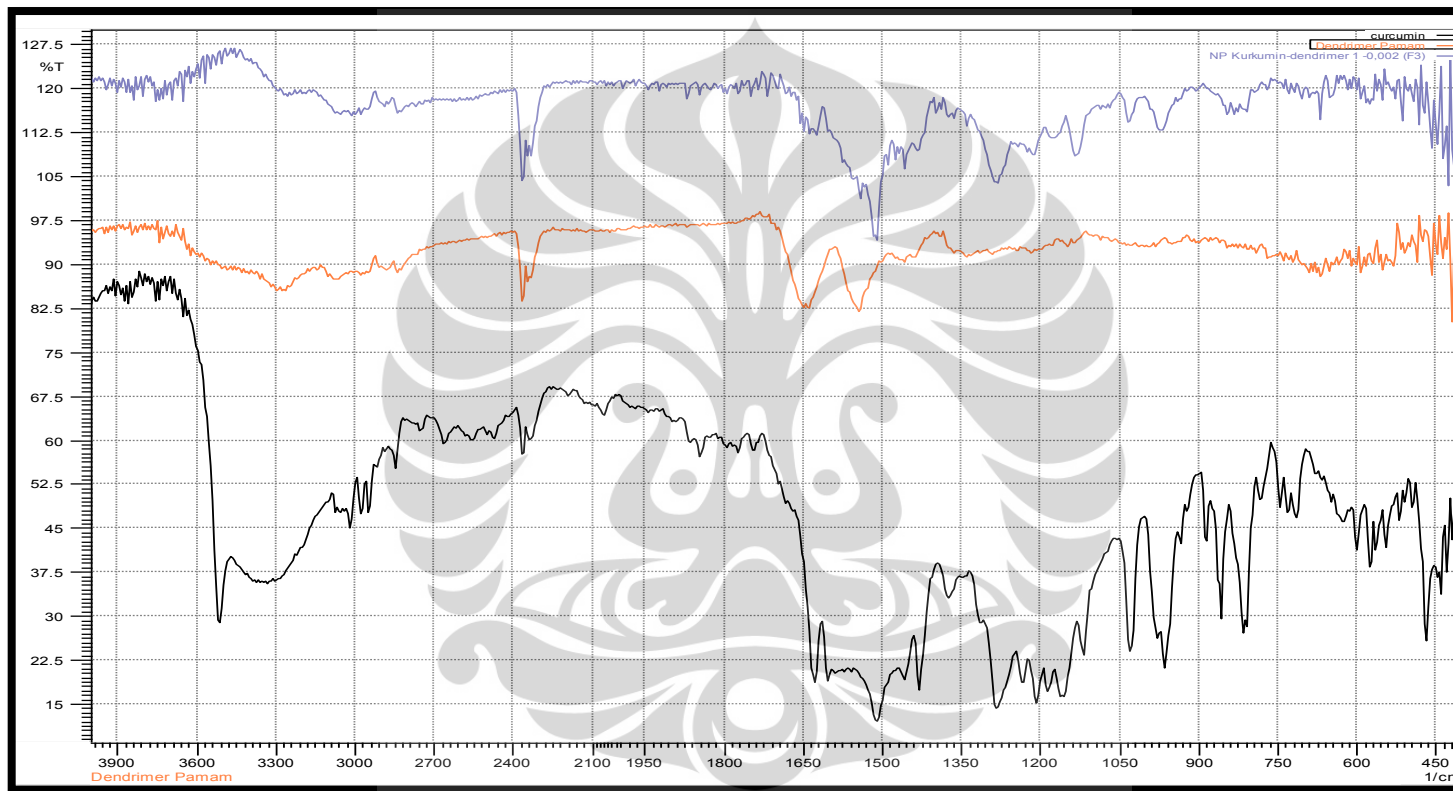
Keterangan : — NP-kd F1 — Dendrimer PAMAM G4 — Kurkumin

Lampiran 10. Spektrum inframerah *overlay* kurkumin, dendrimer PAMAM G4, dan NP-kd F2



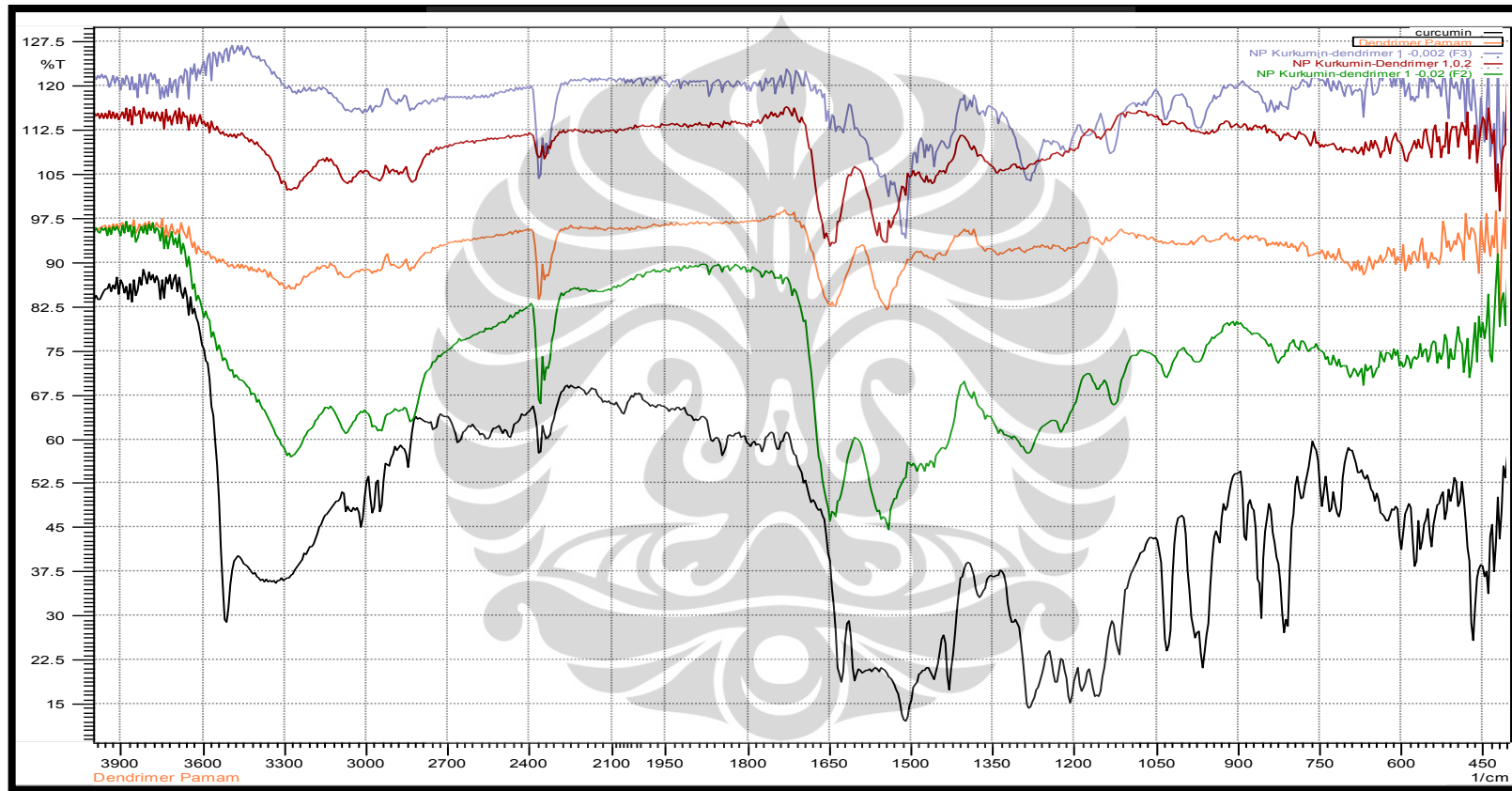
Keterangan : — NP-kd F2 — Dendrimer PAMAM G4 — Kurkumin

Lampiran 11. Spektrum inframerah *overlay* kurkumin, dendrimer PAMAM G4, dan NP-kd F3



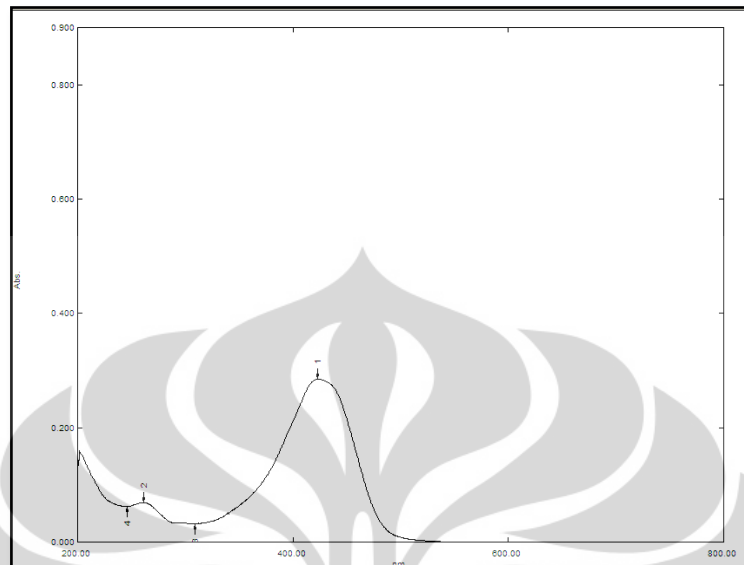
Keterangan : — NP-kd F3 — Dendrimer PAMAM G4 — Kurkumin

Lampiran 12. Spektrum inframerah *overlay* kurkumin, dendrimer PAMAM G4, NP-kd F1, NP-kd F2, dan NP-kd F3

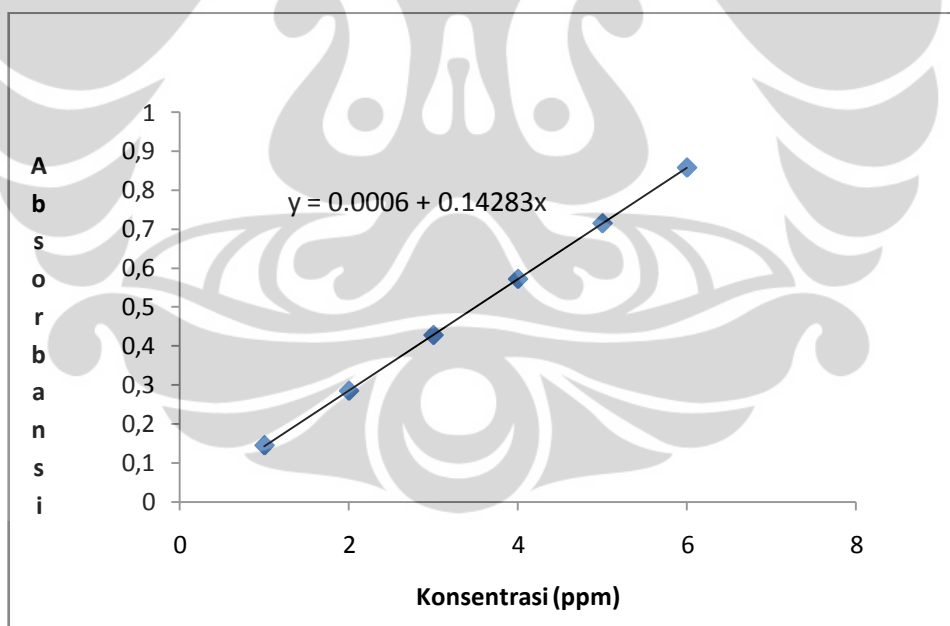


Keterangan : — NP-kd F3 — NP-kd F1 — Dendrimer PAMAM G4 — NP-kd F2 — Kurkumin

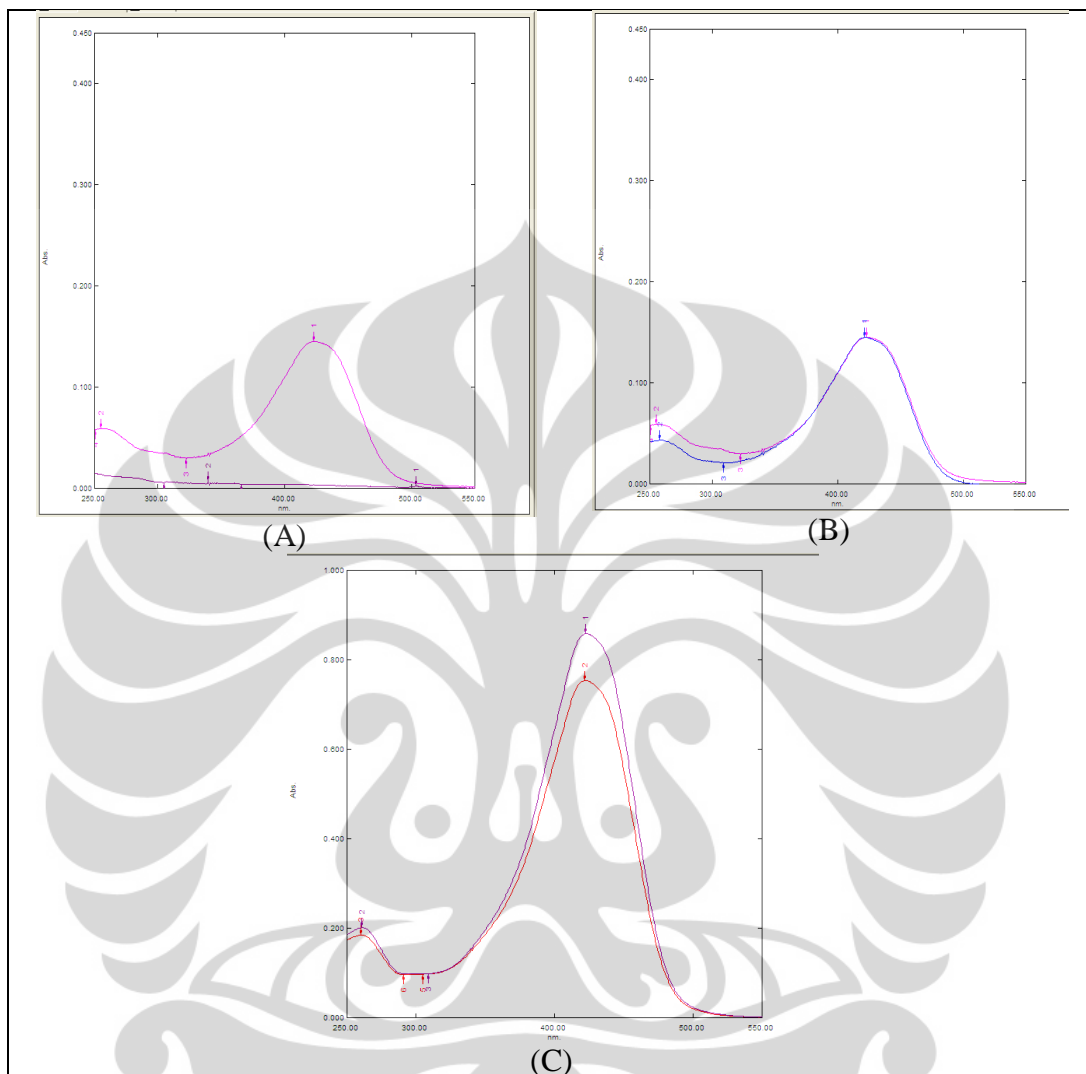
Lampiran 13. Spektrum serapan kurkumin standar pada $\lambda = 423,00$ nm dalam pelarut metanol



Lampiran 14. Kurva kalibrasi kurkumin standar pada $\lambda = 423,00$ nm dalam pelarut metanol



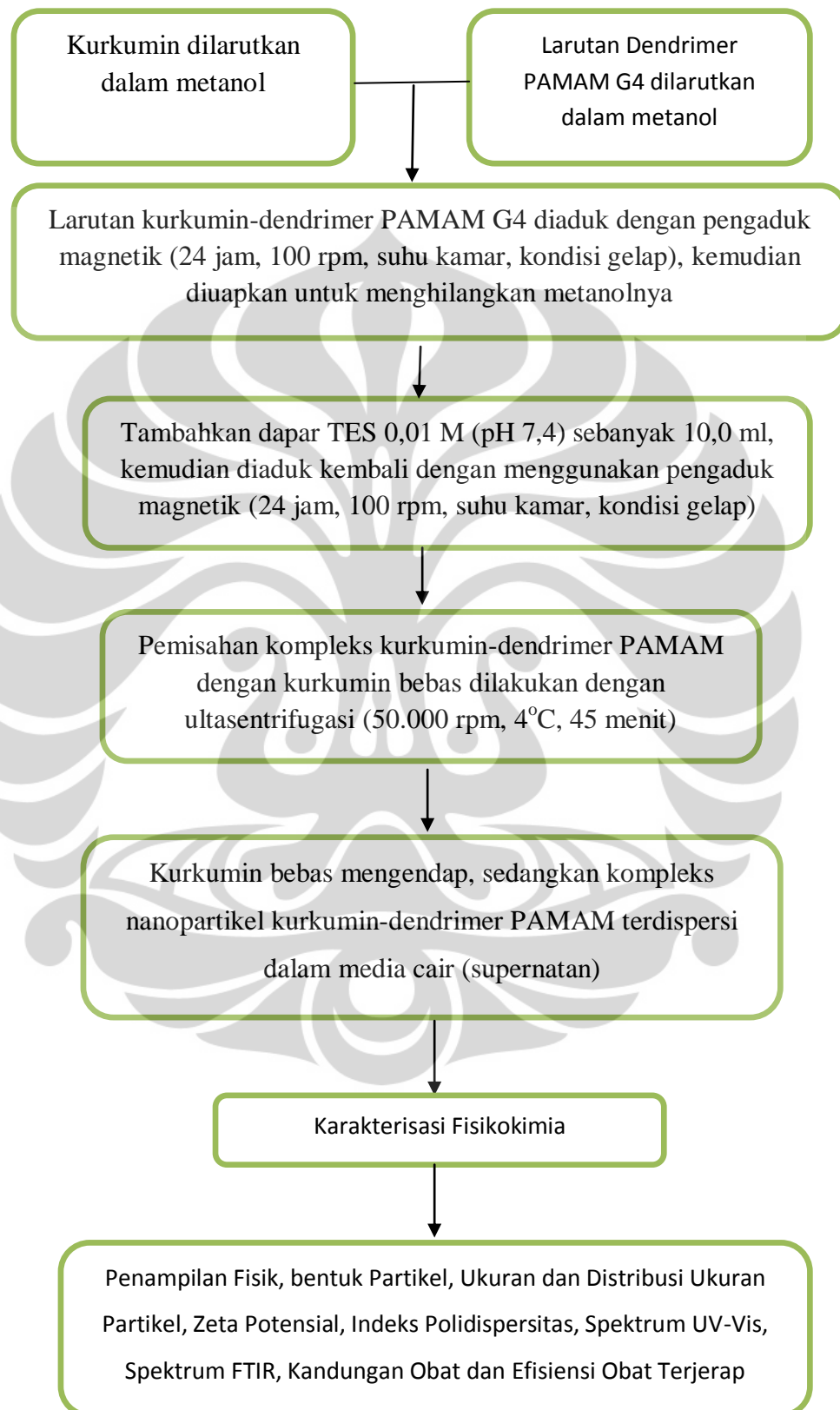
Lampiran 15. Spektrum serapan UV-Vis kurkumin bebas setelah dipisahkan dengan ultrasentrifugasi dibandingkan dengan spektrum serapan UV-Vis kurkumin standar



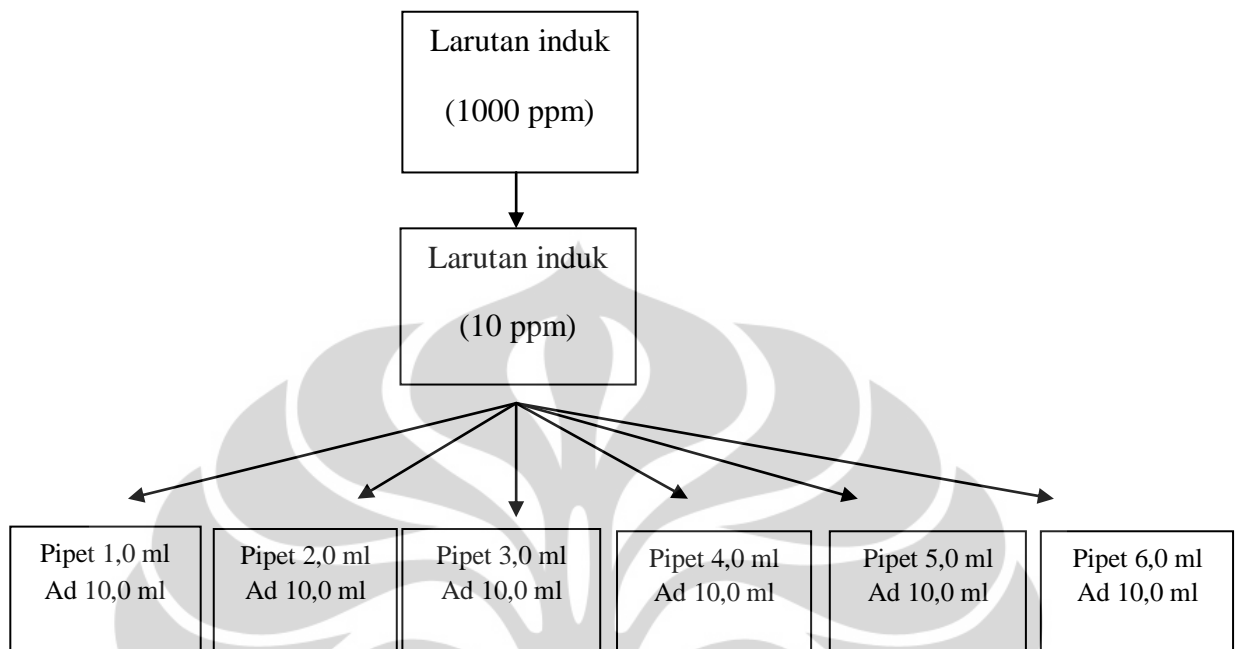
Keterangan :

(A) formula 1 ; (B) formula 2 ; (C) formula 3
— spektrum serapan kurkumin standar

Lampiran 16. Skema kerja pembuatan dan karakterisasi nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (NP-kd)



Lampiran 17. Bagan pembuatan kurva kalibrasi larutan standar kurkumin pada berbagai konsentrasi



Perhitungan kurva kalibrasi larutan standar kurkumin

$$\text{Larutan induk: Kurkumin} = \frac{50,0 \text{ mg}}{50,0 \text{ ml}} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{1,0 \text{ ml}}{100,0 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

Konsentrasi untuk kurva kalibrasi:

$$\text{a. Pipet 1,0 ml : } \frac{1,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 1 \text{ ppm}$$

$$\text{b. Pipet 2,0 ml : } \frac{2,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 2 \text{ ppm}$$

$$\text{c. Pipet 3,0 ml : } \frac{3,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 3 \text{ ppm}$$

$$\text{d. Pipet 4,0 ml : } \frac{4,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 4 \text{ ppm}$$

$$\text{e. Pipet 5,0 ml : } \frac{5,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 5 \text{ ppm}$$

$$\text{f. Pipet 6,0 ml : } \frac{6,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10 \text{ ppm} = 6 \text{ ppm}$$

Lampiran 18. Data formulasi nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

Bahan		Formula dengan Variasi Rasio Molar Kurkumin : Dendrimer PAMAM G4		
		F1 (1 : 0,2)	F2 (1 : 0,02)	F3 (1:0,002)
Kurkumin	Konsentrasi (ppm)	105,36	1582	1582
	Volume (ml)	10,0	5,0	7,0
Dendrimer PAMAM G4	Konsentrasi (%)	0,10	0,15	0,015
	Volume (ml)	10,0	5,0	7,0

Lampiran 19. Data perbandingan formula nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

	Formula 1	Formula 2	Formula 3
	(1 : 0.2)	(1 : 0.02)	(1 : 0.002)
Mol Kurkumin	1	1	1
Mol Dendrimer PAMAM	0.2	0.02	0.002
Konsentrasi Kurkumin	105.36 ppm	1582 ppm	1582 ppm
Konsentrasi Dendrimer PAMAM	0.10%	0.15%	0.015%
Volume Kurkumin	10 ml	5 ml	7 ml
Volume Dendrimer PAMAM	10 ml	5 ml	7 ml
Total Larutan NP	20 ml	10 ml	14 ml
Konsentrasi Kurkumin dalam NP-kd	52,68 ppm	791 ppm	791 ppm
Bentuk	Cairan Jernih	Cairan Jernih	Cairan Jernih Kuning
Warna	Kuning Keemasan	Keemasan	Keemasan
Bau	Berbau Khas	Berbau Khas	Berbau Khas

Lampiran 20. Data hasil penentuan ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C berdasarkan jumlah partikel

	Formula 1 (1 : 0,2)	Formula 2 (1:0,02)	Formula 3 (1:0,002)
Percobaan 1	N/A	96,70 nm	1,60 nm
Percobaan 2	N/A	39,60 nm	86,90 nm
Percobaan 3	N/A	47,00 nm	9,20 nm
Rata-Rata	N/A	61,10 nm	32,57 nm
Standar Deviasi	N/A	± 31,05 nm	± 47,21 nm
d 10	N/A	45,5 nm	24,13 nm
d 50	N/A	51,33 nm	28,50 nm
d 90	N/A	70,99 nm	41,17 nm

Keterangan : N/A = *Not Applicable*

Lampiran 21. Data hasil penentuan diameter ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 menggunakan metode *image analysis* pada formula 1 dengan rasio molar (1:0,2)

Partikel	Diameter (nm)
1	13.76
2	11.00
3	16.25
4	12.27
5	11.47
6	10.97
7	11.31
8	17.50
9	18.21
10	11.06
11	11.54
12	13.46
13	10.83
14	19.38
15	11.45
16	15.54
17	18.56
18	22.56
19	12.15
20	9.14
Rata-rata	13.92
Standar Deviasi	3.66

Lampiran 22. Data distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 1 dengan rasio molar (1:0,2)

Diameter (nm)	Jumlah (%)
9-11	20
11-13	35
13-15	10
15-17	10
17-19	15
19-21	5
21-23	5

Lampiran 23. Data distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 2 dengan rasio molar (1:0,02)

Diameter (nm)	Jumlah (%)
30	20.19
32.4	26.79
35	22.6
37.8	14.92
40.8	8.15
44	3.67
47.5	1.29

Lampiran 24. Data distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 formula 3 dengan rasio molar (1:0,002)

Diameter (nm)	Jumlah (%)
67.3	23.89
73.5	20.02
80.3	15.89
87.6	12.07
95.6	8.86
104.4	6.31
114	4.39
124.4	2.99
135.8	2
148.3	1.31

Lampiran 25. Data hasil penentuan nilai indeks polidispersitas nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat *Particle Size Analyzer* Delsa Nano C

	Formula 1 (1 : 0,2)	Formula 2 (1:0,02)	Formula 3 (1:0,002)
Percobaan 1	0,267	0.633	0.423
Percobaan 2	N/A	0.560	0.331
Percobaan 3	N/A	0.558	0.454
Rata-Rata	0,267	0.584	0.403
Standar Deviasi	N/A	± 0.043	± 0.064

Keterangan : Formula 1 ditentukan dengan *Particle Size Analyzer* Malvern
: N/A = *Not Applicable*

Lampiran 26. Data hasil penentuan nilai zeta potensial nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C

	Formula 1 (1 : 0,2)	Formula 2 (1:0,02)	Formula 3 (1:0,002)
Percobaan 1	N/A	23,05 mV	21,38 mV
Percobaan 2	N/A	14,15 mV	20,75 mV
Percobaan 3	N/A	10,55 mV	20,71 mV
Rata-Rata	N/A	+ 15,92 mV	+ 20,92 mV
Standar Deviasi	N/A	± 6,43 mV	± 0.38 mV

Keterangan : N/A = *Not Applicable*

Lampiran 27. Data perhitungan persentase efisiensi penjerapan dan *drug loading* nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

	Formula 1 (1:0,2)	Formula 2 (1:0,02)	Formula 3 (1:0,002)
Konsentrasi kurkumin awal sebelum pengenceran (ppm)	52,68	791	791
Faktor pengenceran (kali)	3,33	10	33,33
Konsentrasi kurkumin awal setelah pengenceran (ppm)	15,804	79,1	23,73
Absorbansi kurkumin bebas setelah pengenceran	0,00	0,145	0,754
Konsentrasi kurkumin bebas setelah Pengenceran (ppm)	0,00	1,011	5,27
Konsentrasi kurkumin akhir setelah pengenceran (ppm)	15,804	78,089	18,46
Volume NP-kd yang diuapkan (ml)	5	2	2,5
Berat kurkumin awal (μg)	263,4	1582	1977,5
Berat kurkumin bebas (μg)	0,00	20,22	439,125
Berat kurkumin terjerap Dendrimer (μg)	263,4	1561,78	1538,375
Persentase efisensi penjerapan (%)	100	98,72	77,79
<i>Drug loading</i> ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	52,88	780,89	615,35

Lampiran 28. Data serapan kurkumin standar dalam berbagai konsentrasi pada $\lambda = 423,00 \text{ nm}$

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
1	0.145
2	0.285
3	0.428
4	0.572
5	0.715
6	0.858

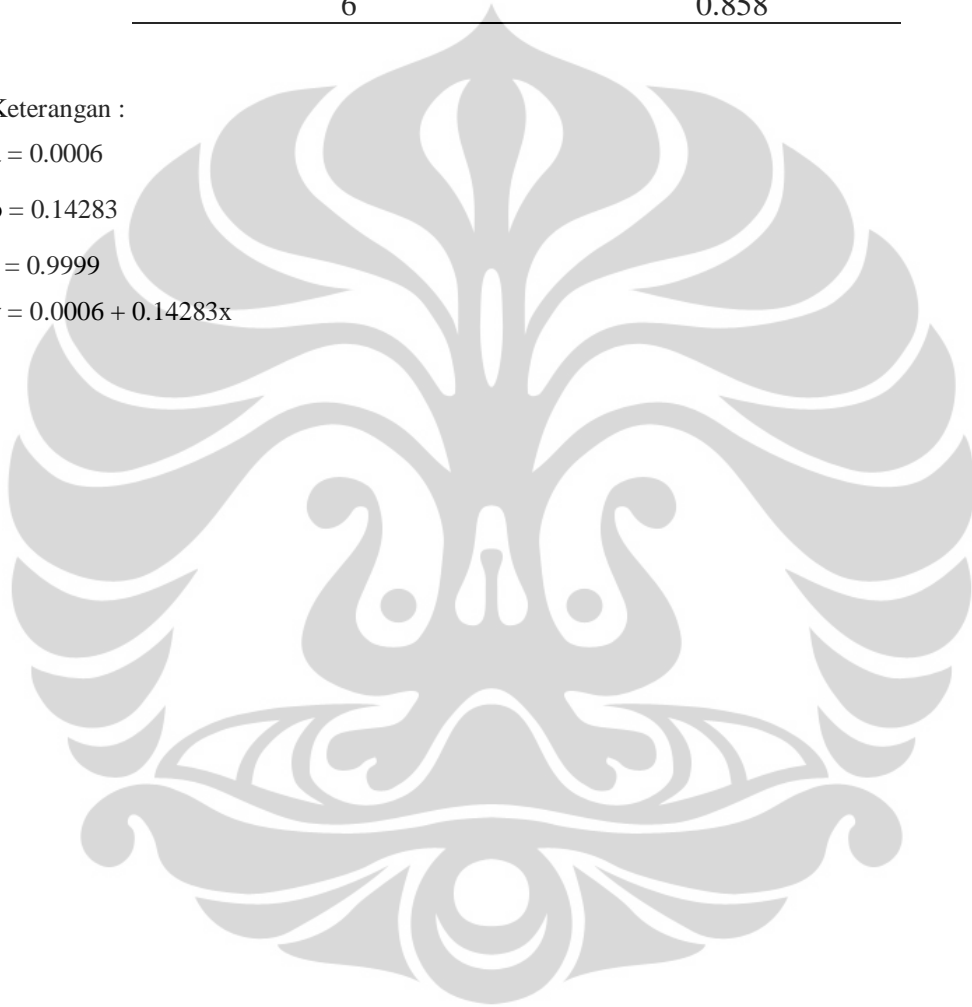
Keterangan :

$$a = 0.0006$$

$$b = 0.14283$$

$$r = 0.9999$$

$$y = 0.0006 + 0.14283x$$



Lampiran 29. Data analisis spektrum FTIR kurkumin, dendrimer PAMAM G4, dan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

Gugus Fungsi	Data Referensi	Band Position (cm ⁻¹)				
		Dendrimer PAMAM G4	Kurkumin	NP-kd F1	NP-kd F2	NP-kd F3
Karbonil (C=O)	1640-1810 (s)					
Amida	(C=O) 1640-1670 (s)	1647 (s)		1647 (s)	1647 (s)	-
		1543 (s)		1545 (s)	1541 (s)	-
	(-N-H) 3100-3500 (s)	3269 (s)		3271 (s)	3275 (s)	-
		3076 (s)		3074 (s)	3072 (s)	-
Keton	(C=O)		1508 (s)			1508 (s)
Alkena	(C=C) Konjugasi diena 1600-1680 (w-m)		1603 (m)	-	-	-
Aromatis	(C=C) 1600 (m)		1627 (m)	-	-	-
	(C-C) 1475 (m)		1427 (m)	-	-	-
	Trisubsitusi (s)		808 dan 860(s)	-	820 (s)	860 (s)
Hidroksil	(-OH) 3200-3600 (m)		3480-3200 (m)	-	-	-

Lampiran 30. Rumus dan perhitungan bahan dendrimer PAMAM G4 dan kurkumin

Contoh perhitungan kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1:0,02) :

Larutan dendrimer PAMAM G4 yang tersedia adalah 10 % (b/b) dalam metanol dengan berat 2,5 g, diencerkan terlebih dahulu menjadi 0,15 % →

$$\frac{0,15\%}{10\%} \times 2,5\text{ g} = 0,0375\text{ g}.$$

Diketahui, berat jenis (density) larutan dendrimer PAMAM G4 adalah 0,813 g/ml, maka volume yang diambil adalah $\frac{0,0375\text{ g}}{0,813\text{ g/ml}} = 0,046125\text{ ml} = 0,2306\text{ ml}$ (ad 5,0 ml metanol).

$$\begin{aligned} \text{Mol dendrimer } 0,15\% &= \frac{0,00375\text{ g}}{2,5\text{ g}} = \frac{0,00375\text{ g}}{\frac{2,5\text{ g}}{0,813\frac{\text{g}}{\text{ml}}}} = \frac{0,00375\text{ g}}{3,075\text{ ml}} \\ &= 0,0012195\text{ g/ml} = 1,2195\text{ g/l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol dendrimer } 0,15\% &= \frac{1,2195\text{ g/L}}{14214,17\text{ g/mol}} = 8,58 \times 10^{-5}\text{ mol/L} \\ &= 8,58 \times 10^{-5}\text{ mmol/ml} \end{aligned}$$

$$\text{Mol kurkumin} = \frac{1}{0,02} \times 8,58 \times 10^{-5}\text{ mmol/ml} = 4,29 \times 10^{-3}\text{ mmol/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat kurkumin yang ditimbang} &= 4,29 \times 10^{-3}\text{ mmol/ml} \times 368,37\text{ mg/mmol} = \\ &1,5802\text{ mg/ml} = 1580,2\text{ ppm (sebanyak 5,0 ml)} \end{aligned}$$

Volume larutan dendrimer 0,15 % yang ditambahkan = 5,0 ml

Lampiran 31. Rumus dan perhitungan persentase efisiensi penjerapan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

Persamaan :

$$\% \text{ Efisiensi Penjerapan} = \frac{(\text{Bobot Kurkumin Total} - \text{Bobot Kurkumin Bebas})}{\text{Bobot Kurkumin Total}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan efisiensi penjerapan pada nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1 : 0,02) :

Konsentrasi kurkumin total dalam NP-kd = 791 ppm

Bobot kurkumin total = 791 ppm = $791 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 2 \text{ ml} = 1582 \mu\text{g}$

Hasil penetapan konsentrasi kurkumin bebas spektrofotometri UV-Vis :

Konsentrasi kurkumin bebas = 1,011 ppm x Fp = 1,011 ppm x 10
= 10,11 ppm

Fp : faktor pengenceran

Bobot kurkumin bebas = 10,11 ppm x volume NP-kd yang diuapkan
= $10,11 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 2 \text{ ml} = 20,22 \mu\text{g}$

$\% \text{ Efisiensi Penjerapan} = \frac{(1582 \mu\text{g} - 20,22 \mu\text{g})}{1582 \mu\text{g}} \times 100 \% = 98,72 \%$

Lampiran 32. Rumus dan perhitungan penetapan kandungan kurkumin dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (*drug loading*)

Persamaan :

$$Drug\ Loading\ (b/v) = \frac{(Bobot\ Kurkumin\ Total - Bobot\ Kurkumin\ Bebas)}{Volume\ Nanopartikel} \mu g/ml$$

Contoh perhitungan kandungan kurkumin (*drug loading*) dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1 : 0,02) :

Volume nanopartikel yang diuapkan = 2,0 ml

Bobot kurkumin total = 791 ppm = $791 \frac{\mu g}{ml} \times 2,0\ ml = 1582\ \mu g$

Konsentrasi kurkumin bebas = 1,011 ppm.

Bobot kurkumin bebas = 1,011 ppm = $1,011 \frac{\mu g}{ml} \times 2,0\ ml = 2,022\ \mu g$

Bobot kurkumin bebas x Fp = $2,022 \times 10 = 20,22\ \mu g$

Bobot kurkumin dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4
= $1582\ \mu g - 20,22\ \mu g = 1561,78\ \mu g$

Kandungan kurkumin dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

(*drug loading*) = $\frac{1561,78\ \mu g}{2,0\ ml} = 780,89\ \mu g/ml$

Lampiran 33. Sertifikat analisis dendrimer PAMAM G4

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com
3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name: PAMAM dendrimer, ethyleneimine core, generation 4.0 solution - 10 wt. % in methanol

Product Number: 412449
Lot Number: MKDG8078
Brand: ALDRICH
MDL Number: MFCD00197936
Formula: C622H1248N250O124
Formula Weight: 14,214.17 g/mol
Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
Quality Release Date: 29 MAR 2011


Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Colorless	Colorless
Appearance (Form)	Liquid	Liquid
Infrared spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Titration by HCL Approximately 10%		9.4%
Residue on Evaporation Approximately 10%		10.1%
Vendor Information Starburst is a Registered Trademark of Dendritech, Inc.	Conforms	Conforms

Jamie Gleason
Jamie Gleason, Manager
Quality Control
Milwaukee, Wisconsin US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1 Page 1 of 1

Lampiran 34. Sertifikat analisis kurkumin



INSULAR MULTI NATURAL

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 47,5 Jl. Bintang Mas No. 8
Manggewer. Cibinong, Bogor, Indonesia

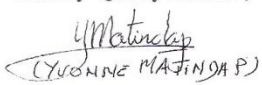
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name : EXTRACT CURCUMA C- 95 Mfg.date: June 2011
 Batch No. : 08F11C-95 Exp.date : June 2016

General Data
 Plant Species : Curcuma domestica rhizome(Rimpang Kunyit)
 Plant part used : Rhizome
 Ratio Botanical extract: 80: 1

ANALYSIS	SPECIFICATION	RESULT
PHYSICAL- CHEMICAL DATA		
Appearance	Powder	Conform
Color	Orange yellow	Conform
Mesh size 80	Min.90%pass	Conform
Curcuminoid	Min . 95%	Conform
Solvent residu	Max.0.05%	Conform
Loss on drying	Max. 10%	3.02%
Heavy metal	Max. 5 ppm	Conform
Solubility	Soluble in Alkohol	Conform
MICROBIOLOGY CONTROL		
Total Plate Count	≤10,000 cfu/g	Conform
Total Yeast & Mold	≤1,000 cfu/g	Conform
E.Coli	Negative	Negative
Staphylococcus	Negative	Negative
Samonella	Negative	Negative
Pseudomonas aeruginosa	Negative	Negative

Storage :Keep cool in well closed containers,protected from light.
 Shelf life :Five years when properly stored
 Date of issue : 08February.2011

Issue by Quality Control ,

 (YUONINE MAFINDA P.)