



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN DAN UJI PENETRASI NANOPARTIKEL
KURKUMIN – DENDRIMER POLIAMIDOAMIN (PAMAM)
GENERASI 4 DALAM SEDIAAN GEL DENGAN
MENGUNAKAN SEL DIFUSI *FRANZ***

SKRIPSI

**YURIKA LANIMARTA
0806398846**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMBUATAN DAN UJI PENETRASI NANOPARTIKEL
KURKUMIN – DENDRIMER POLIAMIDOAMIN (PAMAM)
GENERASI 4 DALAM SEDIAAN GEL DENGAN
MENGUNAKAN SEL DIFUSI *FRANZ***

SKRIPSI

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

**YURIKA LANIMARTA
0806398846**

**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, 6 Juli 2012




Yurika Lanimarta

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Yurika Lanimarta

NPM : 0806398846

Tanda Tangan : 

Tanggal : 6 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Yurika Lanimarta
NPM : 0806398846
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pembuatan dan Uji Penetrasi Nanopartikel Kurkumin
– Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM) Generasi 4
dalam Sediaan Gel dengan menggunakan Sel Difusi
Franz.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada program studi Farmasi S1 Paralel, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

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

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

Penguji II : Dr. Katrin, MS (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji Segala puji, keagungan, dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan YME atas segala limpahan rahmat, kasih sayang, dan karuniaNya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini bukan hanya atas hasil usaha sendiri, melainkan karena bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak awal masa perkuliahan, penelitian, dan sampai pada penyusunan skripsi ini. Tanpa mereka, sulit rasanya penulis sampai pada tahap penyelesaian skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin sekali mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Sutriyo, M.si., Apt selaku pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktunya untuk memberikan arahan, bimbingan, nasehat, dan saran dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S, selaku ketua Depatemen Farmasi UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
3. Ibu Dr. Dra. Berna Elya, Apt., M.S selaku pembimbing akademik dan koordinator pendidikan Fakultas Farmsi UI yang telah memberikan saran dan ijin untuk dapat melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Bapak dan Ibu staf pengajar Fakultas Farmasi UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi UI.
5. Bapak dan mama, yang telah memberikan doa, arahan, motivasi, nasihat dan dukungan penuh selama masa perkuliahan, penelitian, penyusunan skripsi, dan seluruh keluarga besar untuk kasih sayang, kesabaran, dukungan, dan doa yang tiada hentinya.

6. Teman-teman Farmasi UI 2008 yang telah membantu dan menemani dari masa perkuliahan sampai penelitian, seperti Ester, Stevanie, Gladys, Natalia, Evelina, Febriyanti, dan cyntiani, terima kasih atas dukungan dan kasih sayang yang sudah diberikan. Tim dendrimer Yoga, Fatima, Zhuisa, dan Fathia. Tim diskusi kurkumin, Suci dan April. Kakak – kakak Farmasi 2007, kak Raditya, dan Kak Nia terima kasih untuk semua bimbingan dan nasihat selama ini.
7. Mbak Devfanny, Mbak Lia, Kak Silvi, Pak Imi, dan Pak Surya selaku laboran yang selama ini telah membantu selama melaksanakan penelitian.

Akhirnya hanya doa dan harapan yang bisa penulis panjatkan kepada Tuhan YME untuk membalas segala kebaikan pihak-pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini. Meskipun penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis
2012

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

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


Nama : Yurika Lanimarta
NPM : 0806398846
Program Studi : S1Farmasi Paralel
Departamen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

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

Pembuatan dan Uji Penetrasi Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM) Generasi 4 dalam Sediaan Gel dengan menggunakan Sel Difusi *Franz*.
Bersama perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 6 Juli 2012

Yang menyatakan,

(Yurika Lanimarta)

ABSTRAK

Nama : Yurika Lanimarta
Program Studi : Farmasi
Judul : Pembuatan dan Uji Penetrasi Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM) Generasi 4 dalam Sediaan Gel dengan menggunakan Sel Difusi *Franz*.

Kurkumin merupakan komponen bahan alam yang berasal dari kunyit dan memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antitumor. Akan tetapi, kurkumin memiliki kelarutan yang buruk dalam air dan bioavailabilitas yang rendah. Untuk meningkatkan bioavailabilitasnya, kurkumin dibuat kedalam bentuk nanopartikel menggunakan Dendrimer PAMAM G-4 dengan berbagai perbandingan molar di tiap formula, yaitu formula I dengan perbandingan molar kurkumin : dendrimer PAMAM G4 (1 : 0,2), formula II (1 : 0,02), dan formula III (1 : 0,002). Tujuan dari penelitian ini adalah membuat dan mengkarakterisasi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dan melakukan uji penetrasi nanopartikel dalam sediaan gel. Formula 1 (1 : 0,2) memiliki ukuran partikel $10,91 \pm 3,02$ nm dengan efisiensi penjerapan 100 % merupakan formula dengan karakteristik paling baik. Formula 1 kemudian diformulasikan ke dalam sediaan gel menggunakan Karbopol 940 1%. Uji penetrasi *in vitro* dengan alat sel difusi Franz menggunakan membrane abdomen kulit tikus dari gel nanopartikel kurkumin dibandingkan dengan gel kurkumin. Gel nanopartikel kurkumin menunjukkan presentase penetrasi kurkumin lebih besar dari gel kurkumin. Gel nanopartikel memiliki jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi sebesar $19,58 \pm 1,44$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan presentase kumulatif terpenetrasi sebesar $57,26 \pm 4,22$ %.

Kata kunci : kurkumin, dendrimer PAMAM G4, gel, penetrasi, sel difusi *franz*
xii + 82 halaman : 15 gambar; 5 tabel ; 30 lampiran
Daftar Acuan : 28 (2005 – 2012)

ABSTRACT

Name : Yurika Lanimarta
Study Program : Pharmacy
Title : Preparation and In Vitro Penetration Study of Curcumin Nanoparticle – Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Generation 4 in Gel by Franz Diffusion Cell

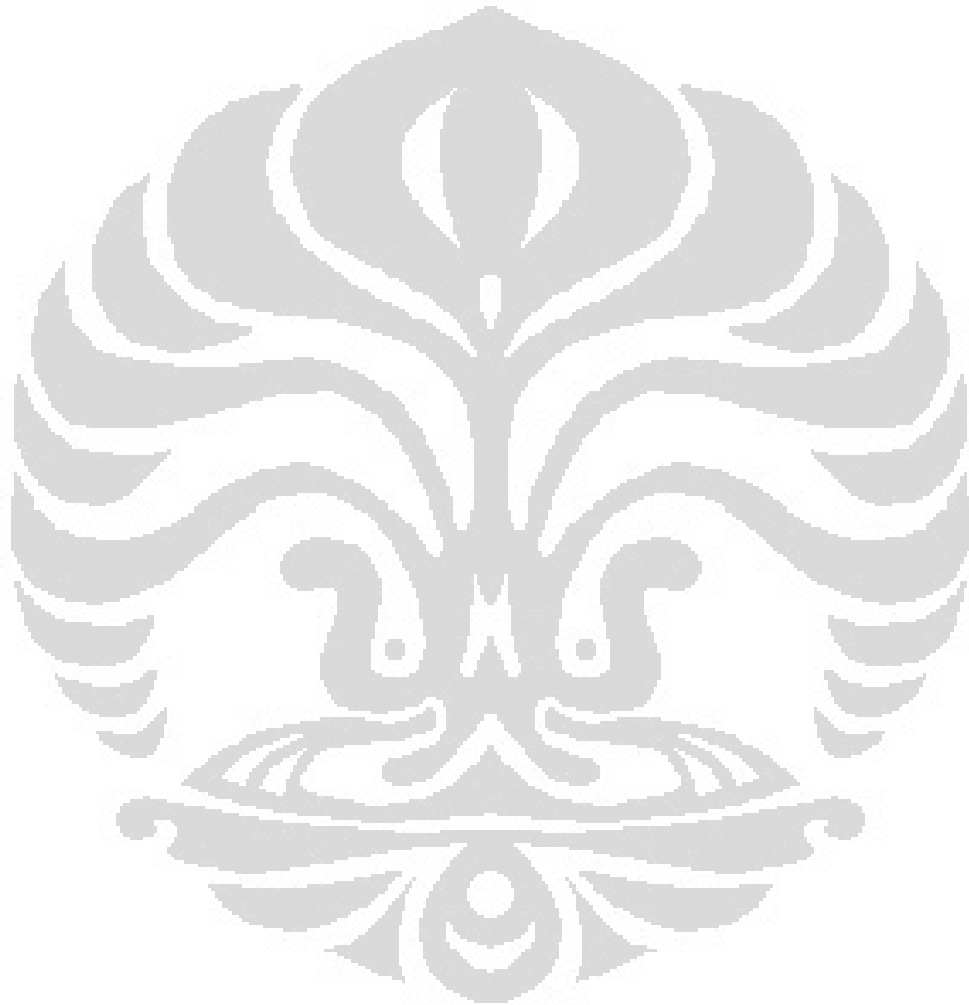
Curcumin is a natural compound found in turmeric and possesses antioxidant, anti-inflammatory and anti-tumor ability. But Curcumin is poorly soluble in water and has lower bioavailability. In order to improve the bioavailability of curcumin, Curcumin formed into nanoparticle used dendrimer PAMAM G4 in various molar ratios, which is formula I with molar ratio (1 : 0,2) of curcumin : dendrimer PAMAM G4, formula II (1:0,02), and formula III (1 : 0,002). The aim of this study is to prepare and to characterize nanoparticle curcumin-dendrimer PAMAM G4 and to know skin permeation of curcumin. Formula 1 showed the best characteristic with particle size $10.91 \pm 3,02$ nm and 100% entrapment efficiency. Formula 1 then formulated into a gel dosage form with Carbopol 940 1%. *In vitro* penetration study of Nanoparticle curcumin gel compared with curcumin gel was determined with Franz diffusion cell using rat abdominal membrane. Nanoparticle curcumin gel showed greater permeation of curcumin through rat skin as compared to curcumin. Nanoparticle curcumin gel had its cumulative total $19,58 \pm 1,44$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and its cumulative percentage $57,26 \pm 4,22$ %.

Key word : curcumin, dendrimer PAMAM G4, gel, penetration, Franz diffusion cell
xii + 82 pages : 15 figures; 5 tables ; 30 appendixes
Bibliography : 25 (2005 – 2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR RUMUS	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kurkumin.....	4
2.2 Nanopartikel	7
2.3 Dendrimer	11
2.4 Dendrimer PAMAM	18
2.5 Absorpsi Perkutane	20
2.6 Gel.....	22
2.7 Uji Penetrasi Secara In Vitro Menggunakan Sel Difusi <i>Franz</i>	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
3.2 Bahan.....	25
3.3 Alat.....	25
3.4 Metode Pelaksanaan.....	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Pembuatan Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4	34
4.2 Karakterisasi Nanopartikel	35
4.3 Pembuatan Gel.....	45
4.4 Penetapan Kadar Kurkumin	46

4.5 Uji Penetrasi Secara In Vitro.....	47
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR ACUAN	55

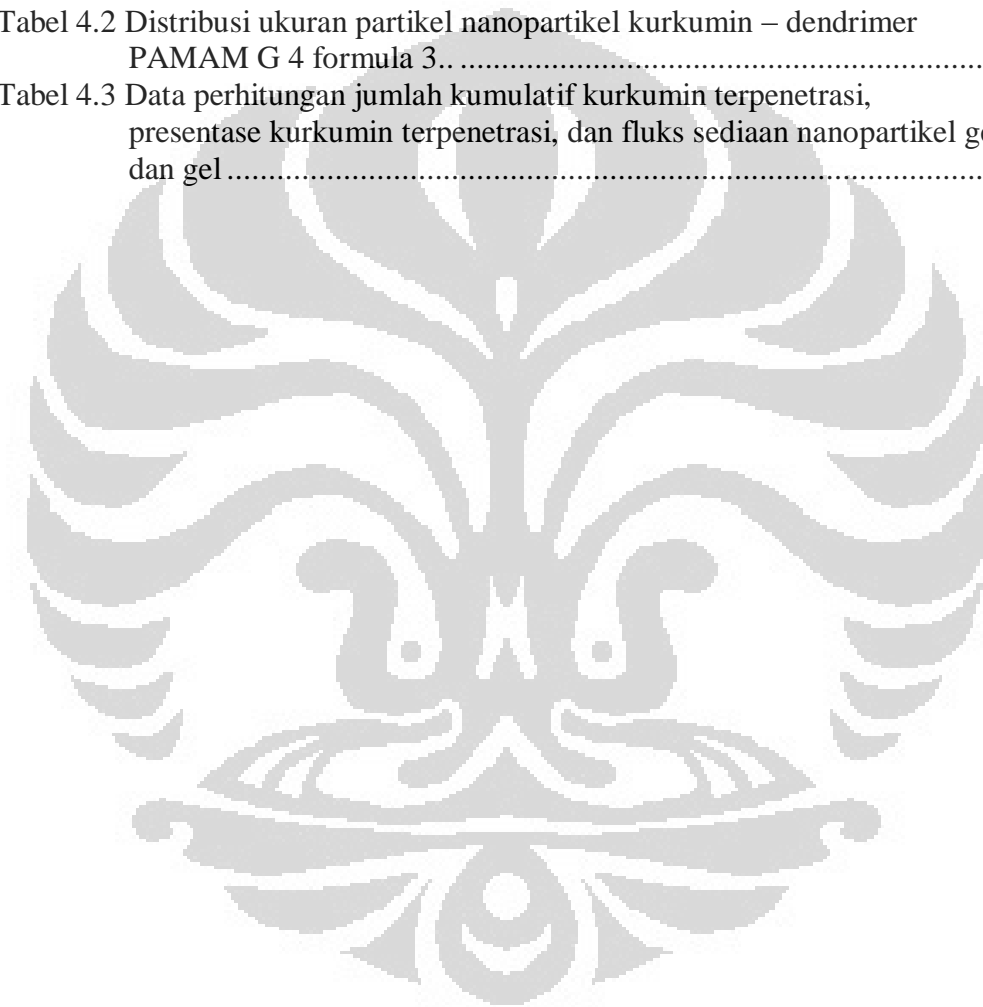


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur kimia kurkumin..	5
Gambar 2.2 Gambaran komponen utama dendrimer	14
Gambar 2.3 Dendrimer PAMAM Generasi 3.....	19
Gambar 2.4 Penggambaran diagramatik rute penetrasi intraselular dan transelular <i>stratum corneum</i>	20
Gambar 2.5 Penggambaran skematik uji penetrasi menggunakan sel difusi <i>Franz</i> ..	24
Gambar 4.1 Nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G 4 formula 1..	35
Gambar 4.2 Hasil bentuk dan morfologi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 (1 : 0,2) dengan TEM..	36
Gambar 4.3 Hasil penentuan ukuran partikel NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) dengan metode <i>image analysis</i> . (B). Diagram distribusi ukuran partikel NP-kd formula 1	38
Gambar 4.4 Diagram distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 2 dengan rasio molar 1 : 0,02.....	39
Gambar 4.5 Diagram distribusi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 3 rasio molar (1:0,002)..	40
Gambar 4.6 Jumlah kurkumin sebelum dan sesudah ultrasentrifugasi formula 1, formula 2, dan fomula 3.....	44
Gambar 4.7 Presentase efisiensi penjerapan kurkumin dalam formula 1, formula 2, dan fomula 3.....	44
Gambar 4.8 Profil jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi pada sediaan nanopartikel gel (a) dan gel (b).....	52
Gambar 4.9 Jumlah kumulatif terpenetrasi kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan nanopartikel gel dan gel.	52
Gambar 4.10 Fluks kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan gel dan nanopartikel gel	53

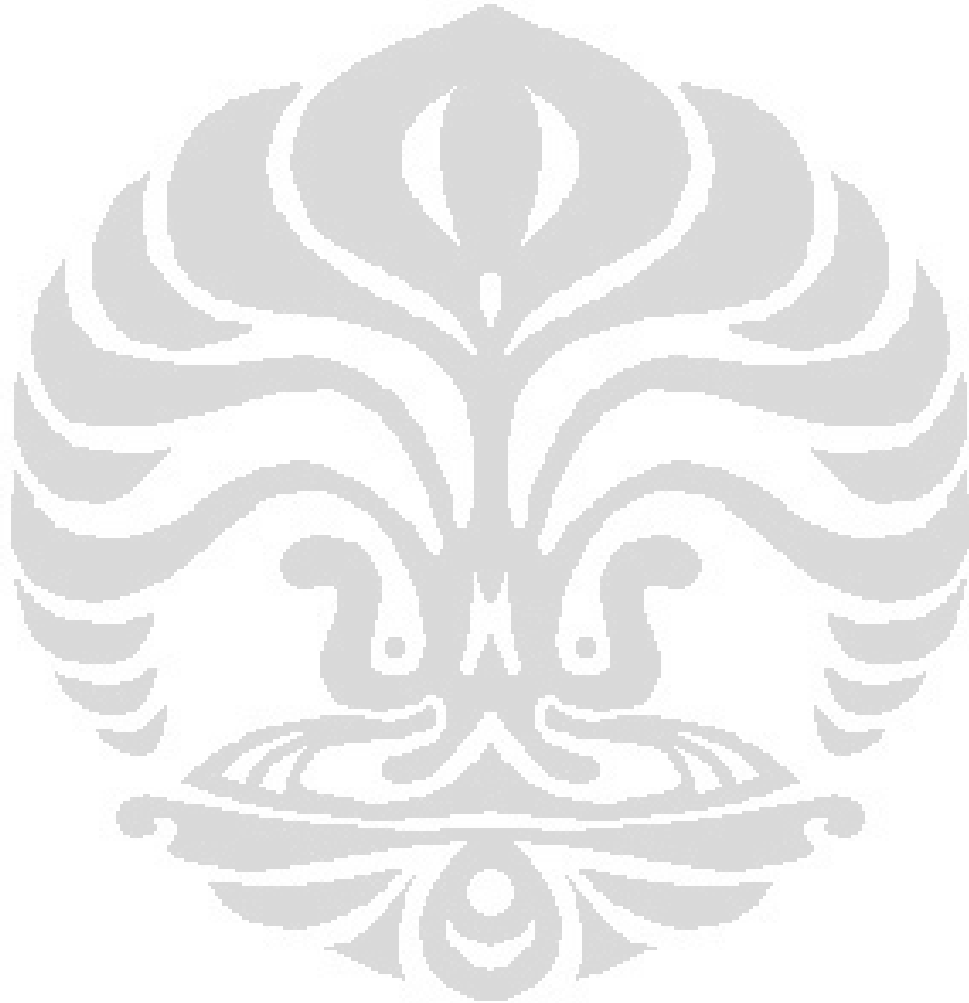
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Karakteristik fisik dendrimer PAMAM.....	19
Tabel 3.1 Formulasi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4	27
Tabel 4.1 Distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G 4 formula 2..	39
Tabel 4.2 Distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G 4 formula 3..	40
Tabel 4.3 Data perhitungan jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi, presentase kurkumin terpenetrasi, dan fluks sediaan nanopartikel gel dan gel	51



DAFTAR RUMUS

Rumus 2.1 Rumus efisiensi penjerapan	28
Rumus 3.1 Rumus <i>drug loading</i>	28
Rumus 3.2 Rumus jumlah kumulatif terpenetrasi	30
Rumus 3.3 Rumus perhitungan fluks.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan bahan kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 tiap formulasi	58
Lampiran 2 Rumus dan perhitungan penetapan kadar kurkumin dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (<i>drug loading</i>).....	60
Lampiran 3 Rumus dan perhitungan presentase efisiensi penjerapan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4	61
Lampiran 4 Contoh perhitungan penetapan kadar kurkumin	62
Lampiran 5 Contoh perhitungan jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan gel kurkumin pada menit ke- 60	63
Lampiran 6 Contoh perhitungan fluks kurkumin setiap jam dari sediaan gel Nanopartikel Kurkumin	64
Lampiran 7 Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan gel kurkumin pada menit ke- 480.....	65
Lampiran 8 Hasil penentuan ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat <i>Particle Analyzer</i> Delsa Nano C berdasarkan jumlah partikel	66
Lampiran 9 Tabel hasil penentuan diameter ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 menggunakan <i>Transmission Electron Microscope</i> (TEM) pada formula 1.....	66
Lampiran 10 Tabel hasil nilai indeks polidispersitas nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat <i>Particle Analyzer</i> Delsa Nano C..	67
Lampiran 11 Tabel hasil nilai zeta potensial nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat <i>Particle Analyzer</i> Delsa Nano C..	68
Lampiran 12 Bagan perhitungan kurva kalibrasi larutan standar kurkumin pada berbagai konsentrasi.....	68
Lampiran 13 Data serapan (A) standar kurkumin tiap konsentrasi (ppm) pada panjang gelombang 423,00 nm.	69
Lampiran 14 Data serapan (A) standar kurkumin tiap konsentrasi (ppm) pada panjang gelombang 424,50 nm.	69
Lampiran 15 Hasil uji penetrasi kurkumin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan gel formula nanopartikel gel dan formula gel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam	69
Lampiran 16 Hasil perhitungan fluks kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan gel formula nanopartikel gel dan formula gel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam	70
Lampiran 17 Kurva kalibrasi standar kurkumin dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 423,00 nm	70
Lampiran 18 Kurva spektrum standard kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,4	

	pada panjang gelombang 424,50 nm	71
Lampiran 19	Kurva spektrum serapan kurkumin dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 423,00 nm	72
Lampiran 20	Kurva spektrum serapan kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,4 pada panjang gelombang 424,50 nm	72
Lampiran 21	Foto alat yang digunakan.....	73
Lampiran 22	Penampilan larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4. Keterangan (A) formula 1 ; (B) formula 2 ; (C) formula 3.....	75
Lampiran 23	Hasil endapan kurkumin bebas setelah dipisahkan dengan ultrasentrifugasi dan ditambah metanol formula 1, formula 2, dan formula 3 (kiri – kanan)	76
Lampiran 24	Gambar proses pengadukan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan pengaduk magnetik selama 24 jam	76
Lampiran 25	Gambar gel nanopartikel kurkumin (A) dan gel kurkumin (B)	77
Lampiran 26	Hasil pengukuran partikel gel nanopartikel kurkumin	78
Lampiran 27	Sertifikat analisis kurkumin	79
Lampiran 28	Sertifikat analisis karbopol 940	80
Lampiran 29	Sertifikat analisis dendrimer PAMAM G4.....	81
Lampiran 30	Sertifikat analisis tikus putih	82

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan obat herbal telah diterima secara luas di negara berkembang dan di negara maju. Disamping itu, perkembangan teknologi pembuatan sediaan farmasi juga menunjukkan peningkatan yang tak kalah pesat. Hal ini menarik perhatian para peneliti untuk menyelaraskan dua faktor penting dalam dunia farmasi tersebut. Salah satu teknologi farmasi yang sedang berkembang adalah nanopartikel. Beberapa tahun belakangan ini telah banyak dilakukan pembuatan produk terapeutik berdasarkan teknologi nanopartikel dan banyak pula yang telah dikomersilkan.

Kunyit merupakan salah satu bahan alam yang memiliki banyak khasiat bagi manusia. Salah satu kandungan aktif dari kunyit (*Curcuma longa*, Keluarga Zingiberaceae) yang terbesar adalah kurkumin yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, aktivitas pencegahan terhadap kanker, hepatoprotektif, aktivitas analgesik, antipiretik, dan dimanfaatkan pada pengobatan reumatik arthritis. Akan tetapi, Potensi kurkumin tersebut dibatasi oleh bioavaibilitasnya yang buruk. (Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B, 2008).

Kurkumin yang diberikan secara oral dilaporkan memiliki kadar yang rendah di serum dan jaringan, metabolisme, dan eliminasi yang cepat yang disebabkan oleh kelarutan kurkumin yang buruk. Permasalahan bioavailibilitas tersebut dapat diatasi dengan beberapa solusi seperti penambahan *adjuvant* piperin yang dapat menghalangi rute metabolisme kurkumin, kompleks fosfolipid, misel, dan pembuatan nanopartikel. Nanopartikel sebagai penghantaran obat tertarget mulai muncul sebagai solusi untuk mengatasi bioavaibilitas dari zat terapi. Sistem penghantaran berbasis nanopartikel mungkin akan sesuai untuk bahan yang sangat hidrofobik seperti kurkumin untuk, salah satunya, mengatasi masalah kelarutan yang buruk. (Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B, 2008).

Sistem penghantaran nanopartikel membutuhkan suatu polimer, dendrimer merupakan polimer yang sangat berpotensi menghasilkan penghantaran nanopartikel.

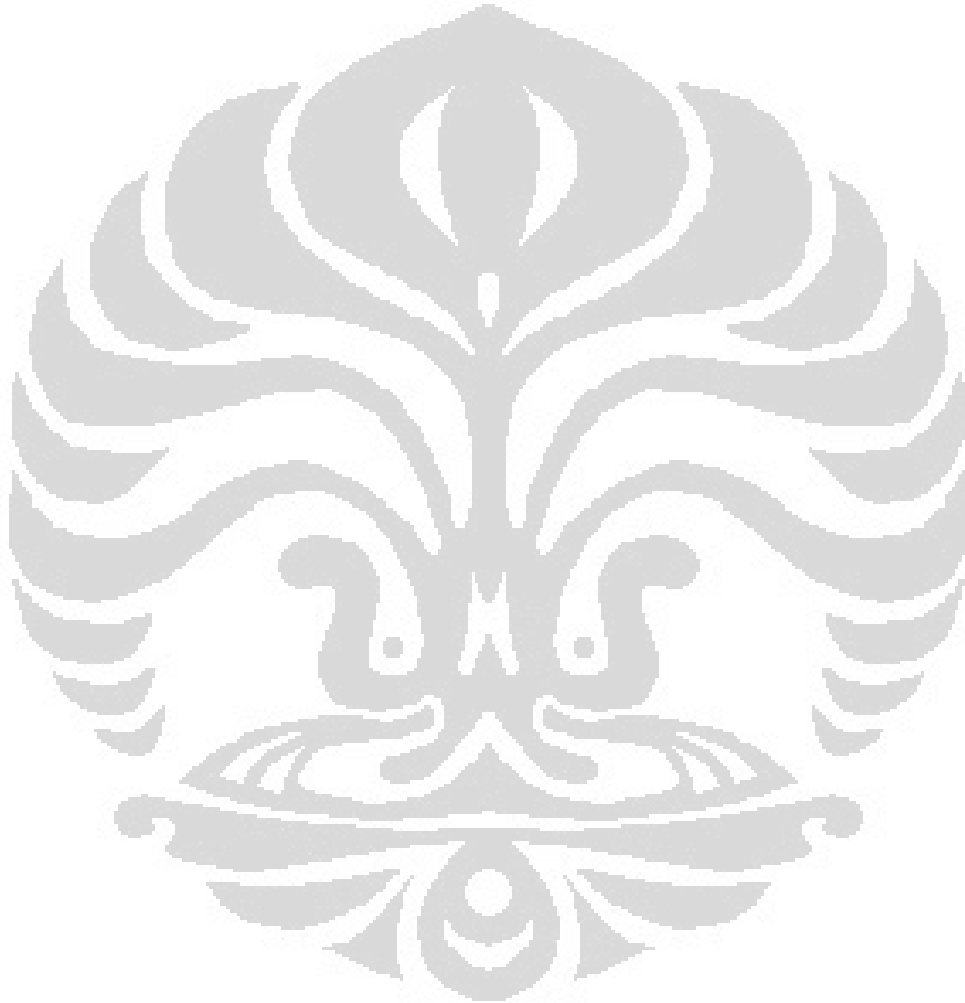
Dendrimer merupakan makromolekul unik bestruktur tiga dimensi yang memiliki banyak percabangan dan gugus fungsi termodifikasi pada permukaannya. Dendrimer memiliki densitas permukaan yang tinggi terkait gugusan terion yang mengelilinginya. Sehingga polimer ini dapat menghasilkan kemungkinan yang baik sebagai kompleks untuk meningkatkan penghantaran obat yang hidrofob. (Markatou, E., Gionis, Chryssikos, Hatziantoniou, Georgopoulos, dan Demetzos, 2009).

Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa dendrimer PAMAM dapat digunakan sebagai peningkat kelarutan dari obat hidrofobik. Dendrimer PAMAM merupakan polimer *monodisperse* dengan banyak cabang. Bentuk molekul ini dapat dimanfaatkan sebagai alat untuk penghantaran obat karena kemampuannya untuk menghasilkan kompleks melalui enkapsulasi molekular, interaksi kovalen dan non kovalen. Untuk dapat digunakan pada penghantaran obat, dendrimer harus tidak toksik, tidak imunogenik dan *biodegradable*. Kelompok dendrimer yang telah lengkap disintesis, dikarakterisasi, dan dikomersilkan adalah dendrimer Poli (Amidoamin) atau PAMAM yang aman, tidak imunogenik dan sitotoksitasnya minimum sampai generasi 5. (Markatou, E., Gionis, Chryssikos, Hatziantoniou, Georgopoulos, dan Demetzos, 2009).

Pembuatan sediaan nanopartikel kurkumin dengan pembawa dendrimer diharapkan dapat meningkatkan aktivitas dan efek kurkumin. Hal ini dapat dilihat dengan simulasi penetrasi kurkumin dari sediaan kurkumin-dendrimer PAMAM dalam gel melalui model membran biologis yaitu sel difusi *franz*. Pembuatan nanopartikel kurkumin – dendrimer diharapkan mampu menghasilkan efek yang diinginkan berdasarkan kemampuannya berpenetrasi dengan sediaan gel. Penelitian sebelumnya memperlihatkan efek dari dendrimer PAMAM terhadap pelepasan obat secara *in vitro* nifedipin dalam gel. Dendrimer PAMAM secara signifikan meningkatkan kelarutan dari nifedipin dan hal tersebut menyebabkan peningkatan pelepasan nifedipin dari sediaan gel. (Devarakonda, B., Li, De Villiers, dan Melgart, 2005)

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pembuatan dan karakterisasi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM Generasi 4 dan uji penetrasi secara *in vitro* menggunakan sel difusi *franz*.



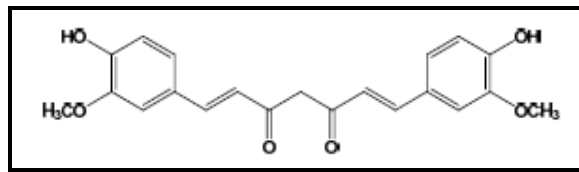
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kurkumin

Kurkumin merupakan kandungan aktif utama yang diisolasi dari rizoma kunyit (*Curcuma longa*). Kurkumin memiliki aktivitas biologis dan farmakologis yang luas, seperti aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan antikarsinogenik. Beberapa uji pada hewan uji dan manusia menyatakan bahwa kurkumin aman digunakan bahkan pada dosis yang tinggi sekalipun. Disamping keefektifan dan keamanannya, kurkumin belum dinyatakan sebagai agen terapi karena bioavailabilitasnya yang menjadi masalah utama. (Anand, P., Kunnumakkara, Newman, dan Aggarwal, 2007)

2.1.1 Struktur Kimia

Kurkumin pertama kali diisolasi pada tahun 1815, kemudian diperoleh dalam bentuk kristal pada tahun 1970 dan diidentifikasi sebagai 1,6-hepta-diene-3,5-dione-1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-(1E,6E). Kurkumin merupakan serbuk berwarna kuning – jingga yang tidak larut dalam air dan eter tetapi larut dalam pelarut organik seperti metanol, DMSO, dan aseton. Kurkumin memiliki titik lebur pada 183°C serta rumus molekul $C_{21}H_{20}O_6$ dengan berat molekul 368,37 g/mol. Kurkumin dalam pelarut aseton dapat dideteksi dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 415 - 420 nm, sedangkan dalam etanol memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 430 nm. Kurkumin berwarna kuning cerah pada pH 2,5 – 7 dan merah pada pH > 7. Kurkumin terdapat dalam bentuk enolat dan β – diketonoat. Kurkumin akan stabil pada pH asam tetapi terdegardasi pada pH basa menjadi bentuk asam feruloat dan feruloilmetan. (Goel, A., Kunnumakkara, Aggarwal, 2008)



[Sumber : Chen, Y., Wu, Zhang, Yuan, Liu, dan Zhou, 2012]

Gambar 2.1 Struktur Kimia Kurkumin

2.1.2 Aktivitas Farmakologi

Kunyit telah banyak dimanfaatkan, khususnya secara tradisional terdapat sebagai bumbu, bahan kosmetik, bahkan digunakan dalam dunia pengobatan. Kurkumin merupakan kandungan aktif yang terdapat dalam kunyit dan diketahui memiliki beberapa efek farmakologis yang telah dibuktikan secara ilmiah, seperti aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimikroba, hepatoprotektif, dan antiarthritik. (Anand, P., Kunnumakkara, Newman, dan Aggarwal, 2007)

Aktivitas kurkumin sebagai antiinflamasi adalah melalui penurunan beberapa ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*), interleukin (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12) dan kemokin, yang umumnya seperti melalui inaktivasi dari *nuclear transcription factor, Nuclear Factor (NF)- κ B*. Selain itu, kurkumin mampu menghambat COX-2. Pada konsentrasi 20 μ M, kurkumin menunjukkan inhibisi yang kuat dari produksi penginduksi kimia PGE₂ pada sel kolon. Studi pada *cell line* karsinoma kolon manusia oleh Levi-Ari *et al*, inkubasi sel HT29 dan sel SW480 dengan konsentrasi kurkumin berbeda menghasilkan penghambatan sintesis PGE₂, penurunan kadar COX-2, dan menurunkan apoptosis dari sel tersebut. (Basnet, Purusotam, et al., 2011)

Kurkumin diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang baik melalui kemampuannya mendonorkan hidrogen dan sifat redoksnya. Uji peroksidasi lipid kurkumin dalam mikrosom menghasilkan penghambatan yang signifikan. Ketika uji tersebut dibandingkan pada kondisi yang sama dengan turunan kurkumin yang lain yaitu demetoksikurkumin, kurkumin menghasilkan kemampuan penghambatan yang lebih besar. Kemampuan penghambatan kurkumin tersebut disebabkan oleh gugus

fenolik OH yang sangat penting. Aktivitas antioksidan kurkumin juga diperkuat melalui uji lainnya yaitu uji reaksi dengan DPPH, kurkumin memiliki kemampuan mendonor hidrogen sampai 1800 kali lebih tinggi dari demetoksikurkumin. (Priyadarsini, K.I., *et al.*, 2003)

Selain itu, kurkumin juga diketahui memiliki aktivitas antikanker. Kurkumin menunjukkan aktivitas antikanker dengan menahan transformasi, proliferasi dan metastasis tumor. Efek tersebut terjadi melalui regulasi dari beberapa faktor transkripsi, faktor pertumbuhan, sitokin proliferasi, protein kinase, dan enzim. Kurkumin juga menghambat proliferasi dari sel kanker melalui menahan sel pada fase tertentu pada siklus sel dan melalui induksi apoptosis. Selain itu, kurkumin memiliki kemampuan untuk menghambat bioaktivasi dari karsinogen melalui penghambatan sitokrom spesifik isoenzim P450, dan induksi aktivitas atau ekspresi fase II enzim detoksifikasi karsinogen. Kurkumin juga menunjukkan efek perlindungan dan terapi melawan kanker darah, kulit, dan saluran pencernaan. (Shishodia, S., Chaturvedi, Aggarwal, 2007)

2.1.3 Penetapan Kadar

Penetapan kadar kurkumin dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu spektrofotometri UV-VIS, KCKT, dan KLT. Spektrofotometri merupakan metode penetapan kadar kurkumin yang paling sering dan mungkin dilakukan. Sampel yang telah dipersiapkan pada tiap konsentrasi kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum kurkumin. Presentase keberadaan kurkumin dalam sampel kemudian dibandingkan dengan persamaan linear yang terbentuk dari kurva kalibrasi larutan standard kurkumin pada beberapa ppm.

Selain Spektrofotometri, penetapan kadar kurkumin dapat dilakukan dengan menggunakan metode KCKT. Pada umumnya digunakan metode KCKT dengan deteksi UV – VIS pada panjang gelombang sekitar 260 nm dan 450 nm. Selain itu terdapat metode KCKT dengan deteksi fluoresensi (KCKT – FL) yang lebih sensitif dibandingkan deteksi UV-VIS. Hal tersebut dikarenakan kurkumin memiliki fluoresensi yang khas. Toennesen *et al* menyatakan bahwa metode penetapan kadar

kurkumin dengan deteksi fluoresensi dan struktur isomernya dilaporkan lebih sensitif 10 kali dibandingkan metode yang menggunakan deteksi UV – VIS. Akan tetapi, diperlukan biaya yang tidak sedikit dalam penggunaannya. (Zhang, J., Jinnal, Ikeda, Wada, Hayashida, Nakashima, 2009)

2.2 Nanopartikel

Nanopartikel didefinisikan sebagai dispersi partikulat atau partikel padat dengan ukuran 10 – 100 nm. Obat dalam sistem nanopartikel akan terlarut, terjerap, terenkapsulasi atau melekat pada matriks nanopartikel. Nanopartikel umumnya dapat dibagi menjadi dua yaitu nanokristal dan *nanocarrier*. *Nanocarrier* memiliki berbagai macam jenis seperti *nanotube*, liposom, nanopartikel lipid padat (*Solid Lipid Nanoparticle/SLN*), misel, dendrimer, nanopartikel polimerik, dan lain – lain. *Nanocarrier* memberikan beberapa keuntungan sebagai penghantar ideal bagi suatu obat, antara lain : membantu merancang suatu produk yang dapat disejajarkan ukurannya dengan produk dalam tubuh seperti protein, DNA dan virus yang berukuran nanometer, dapat resisten terhadap lapisan penghalang dalam tubuh yang merupakan efek dari ukuran partikelnya, dapat menghasilkan kelarutan yang baik bagi obat yang sukar terlarut, karakteristik permukaan dari *nanocarrier* dapat dimodifikasi untuk dijadikan sediaan tertarget, dan dapat mengurangi toksisitas obat untuk menghasilkan penghantaran yang lebih efisien. (Rawat, M., Singh, D., Singh, S.S., Saraf, 2006).

Nanopartikel digunakan dalam sistem penghantaran obat untuk mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan dan pelepasan komponen aktif sehingga mencapai tempat spesifiknya dalam penghantaran obat dan menghasilkan efek terapi yang maksimum. (Mohanraj, V.J., Chen, 2006) Tujuan lain pembuatan nanopartikel antara lain untuk meningkatkan stabilitas senyawa aktif terhadap degradasi lingkungan, memperbaiki sistem penghantaran obat melalui suatu rute tertentu, memperbaiki absorpsi senyawa, mempermudah penanganan bahan toksik, mengurangi efek iritasi zat aktif terhadap saluran cerna, memodifikasi pelepasan zat aktif, dan meningkatkan kelarutan dalam air. Nanopartikel yang dibuat dari bahan alam dan polimer sintetik

mendapat perhatian khusus karena stabilitas dan kemudahan modifikasi permukaan. Nanopartikel dengan ukuran partikel yang kecil mampu menembus edotelium, epithelium (saluran cerna dan hati), tumor, atau berpenetrasi melalui kapiler mikro. Umumnya, ukuran nano dari partikel ini menghasilkan ambilan yang efisien oleh beberapa macam tipe sel dan akumulasi obat tertentu pada lokasi target. (Sigh R, Lillard J. W., 2008)

Pembuatan nanopartikel sebagai suatu sistem pelepasan obat memberikan beberapa keuntungan, antara lain ukuran partikel dan karakteristik permukaan dapat dengan mudah dirancang untuk menghasilkan pelepasan obat yang dikehendaki, dapat mengontrol dan menahan pelepasan obat selama penghantaran, dapat digunakan untuk sistem penghantaran tertarget dengan penambahan ligan, dapat digunakan untuk bermacam – macam rute termasuk oral, parenteral, dan intra-okular. Disamping kelebihanannya, nanopartikel juga memiliki beberapa kekurangan, antara lain : nanopartikel sukar dalam penanganan dan penyimpanan karena mempunyai kemungkinan mengalami agregasi. Nanopartikel juga tidak cocok untuk obat dengan dosis besar. Selain itu, ukuran partikelnya yang kecil terkadang dapat membuat nanopartikel memasuki bagian tubuh yang tidak diinginkan yang dapat menimbulkan akibat yang berbahaya. (Mohanraj, V.J., Chen, 2006)

2.2.2 Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan nanopartikel secara umum dibedakan menjadi dua proses yaitu proses *breaking-down (top down)* dan *building-up (bottom up)*. Proses *breaking-down* merupakan teknik yang telah lama digunakan untuk memperkecil ukuran partikel dan digunakan untuk menghasilkan bahan partikulat dalam jumlah banyak. Pada proses ini, bahan diberikan tekanan yang akan menghasilkan pemecahan partikel. Sedangkan, proses *building – up* merupakan proses dimana obat dilarutkan dalam suatu pelarut untuk mendapatkan larutan molekular. Kemudian, endapan nanopartikel akan diperoleh dengan menghilangkan pelarut atau dengan mencampur *antisolvent* ke dalam larutan. Pada awalnya, *nuclei* yang terbentuk akan berkembang karena kondensasi dan koagulasi menghasilkan partikel akhir. Jika kecepatan dari pelarutan

kembalinya rendah, partikel memiliki kecenderungan yang besar untuk beraglomerasi, menghasilkan partikel akhir dengan ukuran yang besar. Contohnya, jika suatu obat dilarutkan dalam toluen, kemudian ditambahkan metanol sebagai *antisolven* dengan pengadukan ringan, beberapa akan mendapatkan endapan obat dengan ukuran partikel 1 mm. Nanopartikel diperoleh dengan proses pelarutan kembali yang tinggi, atau dibutuhkan penggunaan surfaktan yang dapat mengisolasi partikel sampai partikel tersebut benar – benar kering. (Gupta R.B., Kompella, U.B., 2006)

2.2.4 Aplikasi Nanopartikel dalam Penghantaran Obat

Nanopartikel dalam sistem penghantaran obat dimanfaatkan untuk menghasilkan penghantaran obat tertarget, meningkatkan bioavailabilitas, dan pelepasan obat terkendali atau pelarutan obat pada penghantaran sistemik. Selain itu, nanopartikel dapat dimanfaatkan untuk menghindari agen terapi dari degradasi enzim. (Singh Rajesh, Lillard jr. J.W, 2009) Oleh sebab itu, nanopartikel dapat diaplikasikan dalam penghantaran tertarget, penghantaran peptida, dan aplikasi pada penghantaran obat topikal. (Mohanraj, V.J., Chen, Y., 2006)

Nanopartikel diaplikasikan dalam penghantaran tumor tertarget. Hal tersebut didasarkan pada teori bahwa nanopartikel dapat menghantarkan obat dengan dosis terkonsentrasi di sekitar target tumor melalui peningkatan permeabilitas dan efek retensi atau dengan keberadaan ligan pada permukaan nanopartikel dan nanopartikel dapat mengurangi paparan obat pada jaringan sehat. Vedrun *et al* meneliti mengenai efek tikus yang diberikan nanosfer dari doxorubicin dengan polimer *poly (isohexylcyanocrylate)* dan mendapat kesimpulan bahwa doxorubicin nanopartikel menghasilkan konsentrasi doxorubicin dalam hati, limpa, dan paru – paru yang lebih tinggi dibandingkan dengan doxorubicin bebas. (Mohanraj, V.J., Chen, 2006)

Nanopartikel juga diaplikasikan untuk penghantaran oral peptida dan protein. Polimer nanopartikel dapat mengenkapsulasi molekul bioaktif dan melindunginya dari degradasi enzimatik dan hidrolitik. Salah satu aplikasi yang telah ditemukan adalah nanopartikel insulin yang melindungi aktivitas insulin dan dihasilkan reduksi

glukosa darah pada tikus yang dibuat diabetes sampai 14 hari melalui penghantaran oral. (Mohanraj, V.J., Chen, 2006)

Beberapa penelitian baru – baru ini menyebutkan aplikasi nanopartikel topikal dalam penghantaran antimikroba. Penelitian ini memeriksa dua jenis nanopartikel yaitu *Solid Lipid Nanoparticle* dari imidazole (obat antimikroba) dan nanopartikel perak. Nanopartikel perak merupakan produk nanopartikel antimikroba topikal yang sudah ada dipasaran. Jain *et al* dan Nishiyama *et al* meninjau dendrimer Poli (amidoamin) PAMAM sebagai alat penghantaran yang efektif. Obat antiproliferatif 5FU (5- fluorourasil) telah digunakan sebagai model obat untuk uji penetrasi kulit dan menghasilkan jumlah kumulatif obat yang terpenetrasi dan fluks lebih tinggi dibandingkan kontrol. (Prow, T.W., *et al.*, 2011)

2.2.5 Karakterisasi Nanopartikel

Karakterisasi merupakan hal yang penting dilakukan untuk penghantaran obat nanopartikel. Karakterisasi nanopartikel meliputi ukuran partikel, sifat permukaan partikel, persen penyerapan zat aktif, dan profil pelepasan zat aktif secara *in vitro* dan *in vivo*. Ukuran partikel dan distribusinya menentukan nasib obat pada jaringan biologis, toksisitas, dan kemampuan pentargetan dari nanopartikel. Pelepasan obat dipengaruhi oleh ukuran partikel, partikel berukuran kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar, oleh karena itu, obat umumnya akan bergabung pada atau dekat dengan permukaan partikel, untuk penghantaran obat lepas cepat. Sedangkan, partikel yang lebih besar memiliki rongga yang lebih besar yang memungkinkan obat terenkapsulasi dan berdifusi perlahan. Partikel yang lebih kecil juga memiliki resiko lebih besar beragregasi selama penyimpanan. Ukuran partikel dapat ditentukan dengan metode spektroskopi korelasi foton tetapi viskositas dari medium diperlukan agar diameter partikel dapat ditentukan dengan sifat gerak brownian dan hamburan cahaya. Ukuran partikel dapat ditentukan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) atau TEM (*Transmission Electron Microscopy*). (Mohanraj, V.J., Chen, 2006)

Sifat permukaan dari nanopartikel menggambarkan potensi elektrik partikel dan dipengaruhi oleh komposisi dari partikel dan medium yang digunakan. Secara umum, partikel dengan nilai zeta potensial lebih positif dari +30 mV atau lebih negatif dari -30 mV dianggap stabil, muatan permukaan juga melindungi partikel dari agregasi. Zeta potensial dapat juga digunakan untuk menentukan apakah bahan aktif terenkapsulasi ditengah atau dipermukaan nanopartikel. (Mohanraj, V.J., Chen, Y., 2006)

Keberhasilan dari sistem penghantaran nano adalah tingginya kapasitas pemasukan obat (*drug loading*) dengan demikian dapat mengurangi jumlah dari bahan matriks yang digunakan. Pemasukan obat dan efisiensi penyerapan ditentukan oleh kelarutan obat dalam bahan eksipien matriks (polimer solid atau agen pendispersi liquid), yang berkaitan dengan komposisi matriks, berat molekul, interaksi obat – polimer, dan keberadaan gugus fungsional baik pada obat maupun pada matriks. Protein atau obat yang terenkapsulasi dalam nanopartikel menunjukkan efisiensi pemasukan obat yang tinggi saat protein atau obat tersebut dimasukkan pada atau mendekati poin isoelektriknya. Untuk molekul kecil, penelitian menunjukkan kegunaan interaksi ionik antara obat dan bahan matriks akan bermanfaat untuk meningkatkan pemasukan obat. (Singh, R., lillard, J.W., 2009)

Pelepasan obat bergantung pada kelarutan obat, difusi obat melalui matriks nanopartikel, erosi matriks nanopartikel dan kombinasi antara proses erosi dan difusi. Beberapa metode digunakan untuk mempelajari pelepasan obat secara *in vitro* adalah difusi sel dengan menggunakan membran biologis buatan, difusi dialisis, teknik dialisis terbalik, agitasi, dan ultrasentrifugasi. Teknik sentrifugasi lebih sering digunakan dibandingkan teknik dialisis dimana teknik dialisis memerlukan waktu yang lama dan sulit dalam pemisahan nanopartikel.

2.3 Dendrimer

Dendrimer merupakan kelompok polimer tiga dimensi yang berukuran nano dan dikenal dengan bentuknya yang unik. Dendrimer berasal dari bahasa Yunani

yaitu *dendron* yang bermakna pohon dan *meros* yang berarti cabang. Hal ini sesuai dengan bentuk dari unit polimer ini yang bercabang seperti pohon. Komponen pertama yang memiliki struktur dendritik dilaporkan oleh Vogtle dan tim pada sekitar tahun 1970. Beberapa tahun kemudian yaitu pada tahun 1984, Tomalia dan tim menemukan kelompok pertama dari polimer bercabang banyak yang diberi nama “*starburst dendrimer*”. Dendrimer disintesis melalui tiga cara yaitu metode konvergen, divergen, dan metode gabungan divergen dan konvergen. (Mehdina, S.H., El-Sayed, M.E.H. 2009)

Dendrimer merupakan makromolekul yang berukuran nano yaitu 1 – 100 nm dan memiliki bentuk sferis. Tidak seperti polimer pada umumnya, dendrimer memiliki keseragaman molekular yang tinggi, distribusi berat molekul yang jelas, ukuran yang spesifik, dan karakteristik bentuk yang spesifik. Dendrimer memiliki keuntungan dalam kapasitas pemasukan obat yang tinggi. Tingkat generasi dendrimer dapat mempengaruhi jumlah pemasukan obat yang diinginkan. Hal tersebut didasarkan pada jenis dan jumlah gugus yang terikat pada cabang. Oleh karena itu, distribusi ukuran partikel yang dihasilkan cukup kecil.

Dendrimer memiliki beberapa perbedaan dibandingkan dengan polimer linear, seperti struktur, sintesis, bentuk, kelarutan dalam air, reaktivitas, dan polidispersitas. Dendrimer memiliki struktur yang tersusun rapat dan berbentuk bulat, sedangkan polimer linear tidak tersusun rapat. Dendrimer disintesis secara bertahap dengan beberapa pengulangan sedangkan polimer linear disintesis melalui satu tahap polikondensasi. Dendrimer memiliki bentuk yang sferis dan memiliki kelarutan tinggi dalam air, reaktivitas yang tinggi, dan sifat monodispersi sedangkan polimer linear sebaliknya. Beberapa perbedaan sifat dendrimer tersebut sering dijadikan dasar dalam pemilihan dendrimer disamping polimer linear (Narayan, P.S., Pooja, Khushboo, Diwakar, Ankit, Singhai, 2010)

Dendrimer dimanfaatkan sebagai *nanocarrier* dalam dunia kesehatan. Dendrimer dimanfaatkan dalam penghantaran obat, terapi gen, terapi tumor, bahkan digunakan untuk tujuan diagnostik. Dendrimer memegang peranan penting dalam penghantaran obat berdasarkan kemampuannya untuk meningkatkan kelarutan,

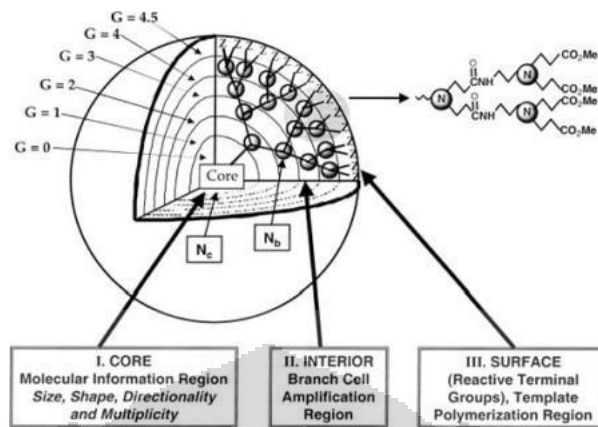
permeabilitas molekul obat dan juga membantu perancangan formulasi obat lepas terkendali. Berdasarkan literatur, proses pengikatan dendrimer dengan molekul obat dijelaskan melalui tiga cara yang berbeda, yaitu enkapsulasi, interaksi kovalen, dan interaksi elektrostatik.

2.3.1 Struktur Dendrimer

Dendrimer dibentuk dari atom awal, misalnya nitrogen, kemudian ditambahkan karbon atau elemen – elemen lainnya secara berulang melalui reaksi kimia yang menghasilkan struktur cabang sferis. Proses penambahan karbon dan elemen lainnya berulang akan menghasilkan lapisan bertambah secara berturut dan berkembang sesuai kebutuhan peneliti. Hasil sintesis dendrimer ini memperlihatkan struktur menyerupai albumin dan hemoglobin, tetapi dapat pula lebih kecil menyerupai kompleks antibody IgM. Secara struktural, dendrimer terdiri dari tiga bagian yang jelas yaitu bagian inti, bagian cabang, dan bagian percabangan dari cabang (*end group*). Ukuran dari dendrimer dapat digambarkan sebagai fungsi dari generasi dendrimer. Angka setelah G (Generasi) menggambarkan jumlah pengulangan setelah reaksi inti. (Mehdina, S.H., El-Sayed, 2009)

Dendrimer terdiri dari tiga komponen utama, yaitu :

- a. sebuah inti inisiator
- b. lapisan interior (generasi) yang terdiri dari unit yang berulang, yang terkait pada inti.
- c. eksterior (gugus terminal fungsional) yang terkait pada generasi interior terluar. (Jain, Dubey, Kaushik, & Tyagi, 2010)



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

Gambar 2.2 Gambaran Komponen Utama Dendrimer

2.3.2 Tipe Dendrimer

Dendrimer terdiri dari beberapa macam tipe, antara lain dendrimer PAMAM, Pamamos, PPI, dendrimer Tecto, dan dendrimer tipe lainnya. Dendrimer Poli (Amidoamin) (PAMAM) merupakan dendrimer yang pertama kali disintesa dan dikomersialkan. Dendrimer PAMAM umumnya secara komersial dijual dalam larutan metanol. Dendrimer PAMAM mampu mengenkapsulasi molekul senyawa hidrofobik pada bagian makromolekulnya. Karakteristik seperti ini yang membuat dendrimer cocok digunakan dalam sistem penghantaran obat dan sebagai pembawa untuk meningkatkan kelarutan obat.

Dendrimer pamamos merupakan dendimer lapisan melingkar dari poli (amidoamin-organosilikon) yang terdiri dari hidrofilik, interior nukleofilik poliamidoamin (PAMAM) dan organosilikon hidrofobik dibagian luar. Dendrimer ini berguna sebagai prekursor untuk pembuatan jaringan, memiliki bentuk seperti sarang lebah dengan nanoskopik PAMAM dan Organosilikon. Dendrimer Poli (propilenimin) atau PPI merupakan dendrimer yang tersusun dari poli-alkil amin dengan amin sebagai gugusan akhirnya. Dendrimer PPI secara komersil terdapat sampai generasi 5. Sebagai nama lain dari PPI, POPAM (propilen amin) terkadang

digunakan. Selain itu, dendrimer ini terkadang disebut sebagai “*DAB-dendrimer*” dimana DAB menunjukkan struktur intinya.

Dendrimer Tecto merupakan dendrimer yang tersusun dari inti dendrimer yang dikelilingi oleh beberapa tahap (disain tiap tahap) untuk menghasilkan fungsi sebagai *nanodevice* terapeutik yang baik. Sama halnya dengan dendrimer multilingual yang pada permukaannya mengandung salinan beberapa gugus fungsional.

Selain dendrimer diatas terdapat pula dendrimer tipe lainnya seperti dendrimer multilingual, miselar, dan amphifilik. Dendrimer multilingual merupakan dendrimer dengan beberapa salinan gugus fungsi pada permukaannya. Dendrimer miselar merupakan misel unimolekular dari *polyphenylenes* bercabang banyak yang larut air. Dendrimer amphifilik merupakan dendrimer yang tersusun dari dua gugus permukaan berbeda, setengah gugus permukaannya mendonorkan elektron sedangkan setengahnya menerima elektron. (Nanjwade, B.K., Behra, Derkar, Manvi, Nanjwade, 2009)

2.3.3 Biokompatibilitas dendrimer

Dendrimer yang dapat digunakan sebagai agen biologis harus memenuhi beberapa syarat yaitu tidak toksik, tidak immunogenik (kecuali untuk vaksin), bersifat *biopermeable* atau mampu menembus membran biologis, mampu untuk bertahan dalam sirkulasi selama waktu tertentu, mampu mentarget struktur spesifik. Hingga saat ini sitotoksisitas dari dendrimer masih terus dipelajari dan diuji secara *in vitro*, meskipun beberapa uji *in vivo* telah dilaporkan. Immunogenitas merupakan salah satu faktor biologis dendrimer yang penting. Pengujian immunogenitas terhadap dendrimer PAMAM dengan gugus akhir amino menghasilkan immunogenitas yang rendah bahkan tidak ada pada dendrimer generasi tiga sampai tujuh. Kobayashi *et al.* menemukan bahwa penggabungan dendrimer PAMAM dengan rantai polietilen glikol (PEG) dapat menurunkan immunogenitasnya dan memberikan waktu yang diperpanjang dalam aliran darah dibandingkan dendrimer yang tidak dimodifikasi. (Nanjwade, B.K., Behra, Derkar, Manvi, Nanjwade, 2009)

2.3.4 Aplikasi Dendrimer

Dendrimer dapat diaplikasikan sebagai pembawa yang efektif pada sistem penghantaran obat. Hal tersebut dikarenakan berberapa alasan yaitu, dendrimer yang dirancang dengan tepat dapat menghasilkan kelarutan, dan kapabilitas biologis yang baik. Selain itu, dendrimer menghasilkan struktur perlindungan yang baik. Dendrimer dalam sistem penghantaran obat dapat digunakan sebagai agen penyalut untuk melindungi atau mendistribusikan obat ke sel spesifik atau sebagai alat pelepasan untuk agen biologis aktif. Struktur makromolekular dendrimer menghasilkan karakteristik polivalen yang dapat menghasilkan interaksi polivalen dengan reseptor dan tempat berikatan yang lebih tinggi aktivitasnya dibandingkan molekul kecil.

Dendrimer PAMAM dapat pula digunakan untuk meningkatkan kelarutan dan penghantaran obat transdermal. Dendrimer PAMAM dapat mengenkapsulasi molekul hidrofobik sehingga kelarutan dapat ditingkatkan kelarutan melalui ukuran dan gugus fungsional permukaan dendrimer. Peningkatan kelarutan memperbaiki bioavaibilitas dari obat yang digunakan. Dendrimer PAMAM meningkatkan bioavaibilitas dari indometasin pada aplikasi penghantaran transdermal. Cheng *et al* menyatakan bahwa penghantaran transdermal untuk obat antiinflamasi yang dimediasi dendrimer meningkatkan bioavaibilitasnya.

Dendrimer juga digunakan sebagai pembawa materi genetik. Dendrimer PAMAM atau PPI digunakan sebagai agen non - viral dalam penghantaran gen. Hal tersebut meningkatkan transfeksi DNA melalui endositosis hingga sampai pada nukleus sel. Reagen transfeksi *SuperFectTM* mengandung dendrimer yang telah dikomersilkan. Efisiensi transfeksi yang tinggi dari dendrimer bukan hanya disebabkan oleh bentuknya tetapi juga karena pKa yang rendah dari amin sehingga dapat menstabilkan perubahan pH pada kompartemen endosomal.

Dendrimer juga dapat digunakan sebagai *imaging agent* dalam teknologi diagnostik. Amerika menggunakan dendrimer fosfonat sebagai *imaging agent* pada sistem skeletal mamalia. Dendrimer menghasilkan pengikatan spesifik kemudian

digunakan MRI (*Magnetic Resonance Imaging*) untuk mendeteksi keberadaan dendrimer.

2.3.4 Dendrimer dalam Penghantaran Obat

Proses pengikatan molekul obat dan dendrimer dapat dijelaskan melalui tiga mekanisme yang berbeda yaitu enkapsulasi, interaksi kovalen, dan interaksi elektrostatik. Proses enkapsulasi dari molekul obat terjadi karena terdapat rongga kosong dalam kerangka dendrimer yang memungkinkan molekul obat secara langsung terenkapsulasi. Beberapa literatur melaporkan indikasi obat terenkapsulasi dalam dendrimer, seperti obat antikanker camptothecin (Cheng *et al.*, 2007), 6-mercaptopurine (Neerman *et al.*, 2007), metotreksat (Myc *et al.*, 2008) terenkapsulasi dalam interior makromolekul dendrimer untuk pentargetan selektif menuju jaringan kanker. Pendekatan lain, fenobarbital terenkapsulasi dalam rongga pada dendrimer untuk meningkatkan kelarutannya.

Interaksi kovalen terjadi karena keberadaan gugus fungsi pada permukaan dendrimer, molekul obat dengan gugus fungsi yang cocok secara kovalen berikatan dengan dendrimer. Molekul obat dapat secara kimia terkonjugasi pada permukaan dendrimer atau secara fisik terbungkus dalam inti dendrimer. Contohnya, propranolol secara kovalen terikat pada dendrimer G3 dan mengindikasikan peningkatan bioavailabilitas dari propranolol. Gugus fungsi dengan densitas yang tinggi (seperti amin dan kelompok karboksil) pada permukaan dendrimer diperkirakan memiliki potensi aplikasi dalam meningkatkan kelarutan dari obat hidrofobik melalui interaksi elektrostatik. (Shishu, Maheswari, M., 2009)

Sedangkan secara kimia, Gugus hidroksil (OH), karboksil (COOH), amin primer (NH₂), tiol (SH) merupakan gugus yang umum terdapat pada molekul obat dan polimer. Gugus hidroksil dapat dijadikan penghubung yang aktif yang menghasilkan reaksi nukleofilik. Contohnya, penggabungan gugus hidroksil dengan gugus amin primer mengakibatkan amin primer menjadi amin sekunder. Amida umumnya stabil pada keadaan basa, asam dan kondisi enzim.

2.4 Dendrimer PAMAM

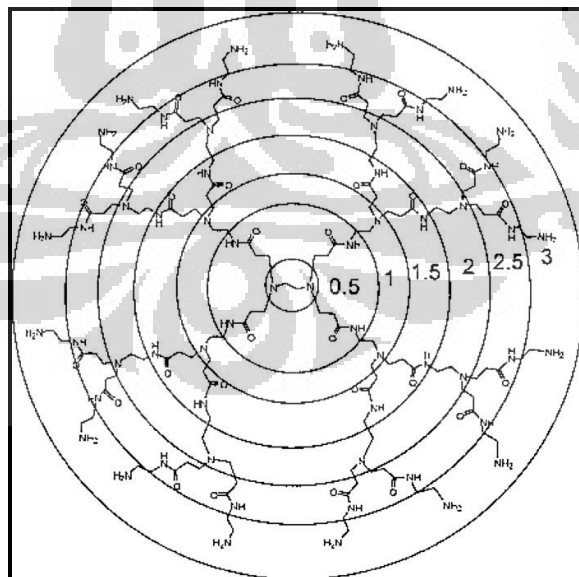
Dendrimer Poliamidoamin (PAMAM) merupakan kelompok dendrimer yang pertama kali disintesis, dikarakterisasi, dan dikomersilkan. Dendrimer PAMAM memiliki sifat non – imunogenik, larut dalam air, dan memiliki gugus fungsional terminal amin termodifikasi untuk berikatan dengan pentarget atau dengan molekul obat. Rongga dalam dari dendrimer PAMAM dapat digunakan sebagai tempat berikatan molekul obat. (Nanjwade, B.K., Bechra, Derkar, Manvi, Nanjwade, 2009)

Dendrimer PAMAM disintesis dengan metode divergen yang dimulai dari ammonia atau reagen inti inisiator etilendiamin. Produk dendrimer PAMAM terdapat hingga generasi 10 dan umumnya dikomersilkan sebagai larutan dalam metanol. Dendrimer PAMAM berbagai generasi tersebut memiliki karakteristik fisik yang terdapat pada tabel 1.1. *Starbust dendrimer* merupakan nama lain yang diketahui dari dendrimer PAMAM. (Narayan, P.S., Pooja, Khushboo, Diwakar, Ankit, Singhai, 2010) Dendrimer PAMAM menunjukkan aplikasi farmasetika yang bermanfaat dan menarik, salah satunya yaitu kemampuannya dalam meningkatkan kelarutan dari obat – obat dengan kelarutan yang rendah. Dendrimer PAMAM juga potensi untuk penghantaran DNA dan oligonukleutida dan perkembangan terapi kanker. (Toraskar, M.P., Pande, Kadam, 2011)

Tabel 1.1. Karakteristik Fisik Dendrimer PAMAM

[sumber : Nanjwade B., Bechra, Derkar, Manvi, Nanjwade V.]

Generasi	Jumlah gugus permukaan	Berat 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	4,5
5	128	28826	5,4
6	256	58408	6,7
7	512	116493	8,1
8	1024	233383	9,7
9	2048	467162	11,4
10	4096	934720	13,5



[sumber : Nanjwade B., Bechra, Derkar, Manvi, Nanjwade V.]

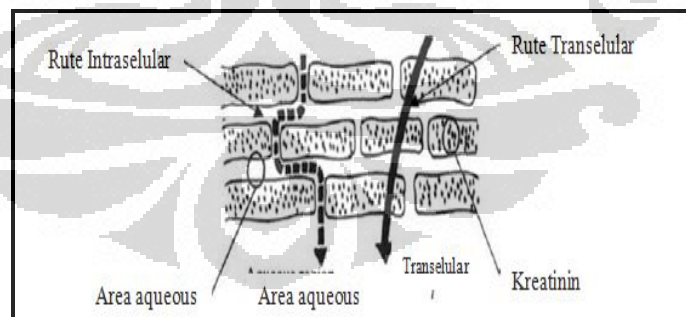
Gambar 2.3. Dendrimer PAMAM Generasi 3

Universitas Indonesia

2.5 Absorpsi Perkulatan

Penetrasi perkulatan yaitu perjalanan melalui kulit meliputi disolusi obat dalam pembawanya, difusi obat terlarut (solut) dari pembawa ke permukaan kulit dan penetrasi obat melalui lapisan – lapisan kulit terutama lapisan *stratum corneum*. Tahapan paling lambat dalam proses absorpsi perkulatan biasanya perjalanan melalui *stratum corneum* merupakan laju yang membatasi atau mengontrol permeasi.

Molekul obat yang berkontak dengan permukaan kulit dapat berpenetrasi melalui beberapa rute yaitu melalui kelenjar keringat, folikel rambut & kelenjar *sebaceous* (rute appendageal), dan langsung melewati *stratum corneum*. Scheupim dan tim menyatakan bahwa rute appendageal memegang peranan penting pada penetrasi molekul polar setelah *steady state* dan fluks dari molekul polar atau ion yang mengalami kesulitan berdifusi melalui *stratum corneum*. Untuk lebih mengetahui bagaimana sifat fisikokimia dari obat yang berdifusi dan pembawanya mempengaruhi penetrasi melalui *stratum corneum*, sangatlah penting menentukan rute utama melewati *stratum corneum*. Secara umum, bahan aktif hidrofobik berdifusi melalui rute intraselular atau transeular yang merupakan area aqueous didekat permukaan terluar dari filamen kreatinin intraselular. Bahan aktif yang lipofilik berdifusi melalui matriks lipid diantara filamen (rute interselular)(gambar 2.4).



[Sumber : Benson, Heather A.E., 2005]

Gambar 2.4 Penggambaran diagramatik rute penetrasi intraselular dan transeular *stratum corneum* (telah diolah kembali)

Stratum corneum dianggap sebagai suatu lapisan homogen yang padat. *Stratum corneum* normal atau bahkan mengandung air merupakan membran biologis yang *impermeable* (tidak dapat ditembus). Nonelektrolit polar yang kecil berpenetrasi ke dalam bulk dari *stratum corneum* dan berikatan dengan kuat dengan komponen – komponennya.

Faktor – faktor penting yang mempengaruhi penetrasi dari suatu obat ke dalam kulit adalah konsentrasi obat terlarut karena laju penetrasi sebanding dengan konsentrasi, koefisien partisi antara kulit dan pembawa yang merupakan ukuran afinitas relatif dari obat tersebut untuk kulit dan pembawanya, dan koefisien difusi yang menggambarkan tahanan pergerakan molekul obat melalui barrier pembawa dan pembatas kulit.

Difusi dari obat dalam pembatas kulit dapat dipengaruhi oleh komponen – komponen pembawa (terutama pelarut dan surfaktan) dan suatu koefisien partisi optimum bisa diperoleh dengan mengubah afinitas dari bahan untuk obat tersebut. Laju penetrasi kulit dari obat *in vitro*, pada 25⁰C didapat secara percobaan pada waktu – waktu tertentu, dan jumlah kumulatif yang mempenetrasi diplot terhadap waktu dalam menit atau dalam jam. Sesudah tercapai *steady state*, kemiringan garis lurus menghasilkan laju. Waktu *lag* diperoleh dengan mengekstrapolasi garis *steady state* ke sumbu waktu.

Ostrenga *et al.* bisa membuktikan suatu hubungan antara pelepasan steroid dari pembawanya, penetrasi *in vitro* melalui kulit manusia yang didapat pada autopsi, dan aktivitas vasokonstriktor dari obat *in vivo* bergantung pada koposisi pembawanya. Hubungan yang didapat menyarankan bahwa informasi yang diperoleh dari penelitian difusi dapat membantu dalam mendesain bentuk sediaan yang efektif. Beberapa petunjuk yang berguna adalah semua obat harus larut dalam larutan pembawanya, campuran pelarut harus mempertahankan koefisien partisi yang diinginkan sehingga obat larut dalam pembawa dan juga mempunyai afinitas besar untuk pembatas kulit ke dalam bagian mana ia berpenetrasi, dan komponen – komponen pembawa harus mempengaruhi dengan baik permeabilitas dari *stratum*

corneum. (Martin, A., Swarbrick, J., Cammarata, A., diterjemahkan oleh : Yoshita, 1993)

2.6 Gel

Gel kadang-kadang disebut jeli, merupakan sistem semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. Jika massa gel terdiri dari jaringan partikel kecil yang terpisah, gel digolongkan sebagai sistem dua fase (misalnya gel aluminium hidroksida). Gel fase tunggal terdiri dari makromolekul organik yang tersebar serba sama dalam suatu cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetik (misalnya karbomer) atau dari karbohidrat alam (misalnya CMC). Gel dapat digunakan untuk obat yang diberikan secara topikal atau dimasukkan ke dalam lubang tubuh .

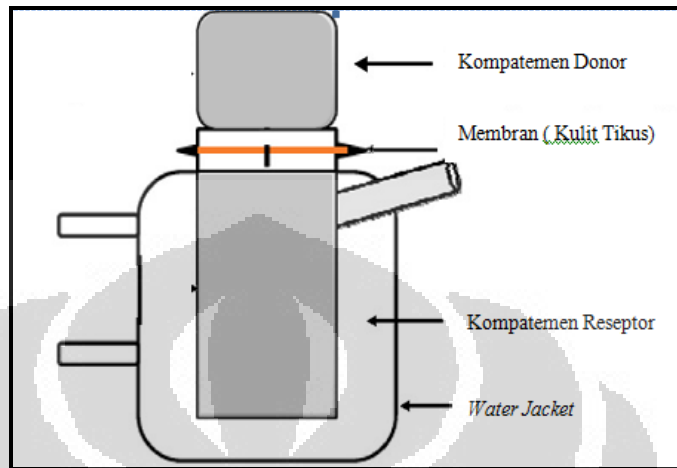
Karbomer atau karbopol merupakan homopolimer dari polimer akrilik. Pemerianaanya berupa serbuk berwarna putih, halus, higroskopis, dan bersifat asam. Karbomer larut dalam air dan setelah dinetralkan larut dalam etanol 95%. Karbomer digunakan sebagai bahan pengemulsi, pembentuk gel, penyuspensi, dan pengikat tablet pada berbagai produk farmasi. Karbomer dengan konsentrasi 0,5-2,0% digunakan sebagai bahan pembentuk gel. Karbomer dalam larutan 0,5% memiliki pH asam yaitu sebesar 2,7-3,5. Larutannya memiliki viskositas yang rendah dan bila telah dinetralkan dengan basa, seperti NaOH, akan memiliki viskositas yang tinggi. Viskositas akan berkurang apabila pH kurang dari 3 atau lebih besar dari 12. (Rowe R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., 2009)

2.4 Uji Penetrasi Secara In Vitro Menggunakan Sel Difusi Franz

Penelitian daya penetrasi dan pelepasan obat melalui kulit secara *in vitro* merupakan cara termudah dan hemat dalam mengarakterisasi absorpsi dan penetrasi obat melalui kulit. Formulasi dan pengembangannya akan mempengaruhi pelepasan obat yang optimal dan deposisi obat menuju lapisan kulit yang diinginkan (*stratum corneum*, epidermis, atau dermis).

Langkah pertama pada pengantaran obat adalah pelepasan obat dari pembawanya. Kecepatan pelepasan obat ditentukan oleh aktivitas termodinamik yang terkait formulasi. Hal tersebut dapat diperlihatkan dengan menggunakan suatu sistem sel difusi yang umumnya digunakan pada penelitian daya penetrasi obat secara *in vitro*. Kecepatan pelepasan obat yang kecil berhubungan dengan rendahnya bioavailabilitas dari formula yang digunakan.

Studi penetrasi kulit secara *in vitro* berhubungan dengan mengukur kecepatan dan jumlah komponen yang menembus kulit dan jumlah komponen yang tertahan pada kulit. Salah satu cara untuk mengukur jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit yaitu dengan menggunakan sel difusi *Franz*. Sel difusi *Franz* terbagi atas dua komponen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor. Membran yang digunakan dapat berupa kulit manusia atau kulit hewan. Membran diletakkan di antara kedua kompartemen yang dilengkapi dengan *o-ring* untuk menjaga letak membran. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dijaga dengan sirkulasi air menggunakan *water jacket* disekeliling kompartemen reseptor. Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit. Pada interval waktu tertentu diambil beberapa ml cairan dari kompartemen reseptor dan jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dapat dianalisis dengan metode analisis yang sesuai. Setiap diambil sampel cairan dari kompartemen reseptor harus selalu digantikan dengan cairan yang sama sejumlah volume yang diambil.



[Sumber : Sonavane, G., Tomoda, K., Sano, A., Ohshima, H., Tereda, H., Makino, K., 2008]

Gambar 2.5 Penggambaran skematik uji penetrasi menggunakan sel difusi Franz (telah diolah kembali)

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi UI dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Fakultas Farmasi UI selama lebih kurang tiga bulan yaitu bulan Maret sampai Mei 2012.

3.2 Bahan

3.2.1 Bahan Kimia

Kurkumin 95% (Insular Multi Natural, Indonesia), Larutan Dendrimer PAMAM Generasi 4 10 % dalam metanol (Sigma-Aldrich, Singapura) ,Metanol pro analisis (Mallinckrodt), Dapar TES pH 7,4, Dapar fosfat pH 7,4, Karbopol 940, NaOH.

3.2.2 Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan tikus putih betina galur *Sprague-Dawley* dengan berat \pm 150 gram berumur 8 – 10 minggu dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.3 Alat

Spektrofotometer UV-1601 (Shimadzu, Jepang), pHmeter (Eutech Instrument pH 510, Singapura), Neraca analitik (AFA-210LC), homogenizer (Multimix Malaysia), pengaduk magnetik (IKA C-MAG HS7), mikropipet (ependrorf), sel difusi *Franz* dengan volume 14 ml, thermostat (Polyscience model 9000) *syringe*, labu tentukur, pipet, silet (The Gillete Company, Jerman), selang, kertas saring, alat-alat gelas dan alat-alat bedah.

3.4 Metode Pelaksanaan

3.4.1 Pembuatan Larutan Dendrimer PAMAM G4 0,1 %

Larutan induk dendrimer PAMAM G4 dalam metanol dengan konsentrasi 10 % diencerkan menjadi 0,1 %. larutan induk dendrimer PAMAM G4 dipipet sebanyak

0,308 ml menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 ml berwarna coklat, volumenya dicukupkan dengan metanol hingga batas. Larutan dikocok hingga homogen, kemudian disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.2. Pembuatan Larutan Kurkumin 105,3 ppm

Kurkumin ditimbang secara seksama sebanyak 52,68 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur berwarna coklat 50,0 ml, volumenya dicukupkan dengan menggunakan metanol hingga batas. Larutan kurkumin tersebut diambil 10,0 ml dengan menggunakan pipet volume untuk dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 ml berwarna coklat, volumenya dicukupkan hingga batas dengan menggunakan metanol, kemudian larutan dikocok homogen. Larutan kurkumin akhir yang dihasilkan adalah larutan kurkumin dengan konsentrasi 105,3 ppm.

3.4.3 Pembuatan Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 dengan Rasio

Molar Kurkumin dan Dendrimer PAMAM G4 (1:0,2) (Markatou, E., Gionis, V., Chryssikos, G.D., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Demetzos, C., 2007).

Larutan kurkumin 105,36 ppm dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 10,0 ml, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer tertutup yang sebelumnya telah dilapisi *aluminium foil*. Setelah itu, larutan dendrimer PAMAM G4 0,1 % dalam metanol sebanyak 10,0 ml ditambahkan ke dalam erlenmeyer tertutup yang telah berisi larutan kurkumin. Campuran larutan kurkumin-dendrimer PAMAM G4 diaduk dengan pengaduk magnetik selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm. Larutan diaduk pada suhu kamar dan kondisi terlindung cahaya. Nanopartikel kurkumin dendrimer-PAMAM G4 dibuat dengan berbagai variasi rasio molar (kurkumin : dendrimer PAMAM) yaitu Formula 2 (1 : 0,02) dan Formula 3 (1: 0,002). Kedua formula tersebut dibuat dengan cara yang sama dengan langkah pembuatan formula 1 (1 : 0,2)

Tabel 3.1 Formulasi Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4

Formula	Kurkumin		Dendrimer PAMAM G4	
	Konsentrasi (ppm)	Volume (ml)	Konsentrasi (ppm)	Volume (ml)
F1 (1 : 0,2)	105,3	10,0	0,10	10,0
F2 (1 : 0,02)	1582	5,0	0,15	5,0
F3 (1 : 0,002)	1582	7,0	0,015	7,0

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

Larutan Dapar TES dibuat dengan mencampur 5 ml larutan Tris 0,01 M ; 1 ml larutan EDTA 0,001 M ; dan 10 ml larutan NaCl 0,1 M dalam gelas piala 500 ml yang telah ditara, kemudian larutan aquadest bebas CO₂ ditambahkan hingga volume 500 ml. Larutan dapar diaduk hingga homogen dengan menggunakan batang pengaduk, kemudian pH dari larutan dapat diperiksa dan diatur hingga menjadi pH 7,4 dengan menggunakan pH meter.

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

3.4.5. Pemisahan Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 dan Kurkumin Bebas dengan Ultrasentrifugasi (Markatou, E., Gionis, V., Chryssikos, G.D., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Demetzos, C., 2007).

Larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 yang telah terbentuk melalui tahap sebelumnya diuapkan untuk menghilangkan metanol. Kemudian, larutan dapar TES 0,01 M (pH 7,4) ditambahkan ke dalam nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 yang telah diuapkan tersebut sebanyak 10,0 ml. Campuran kembali diaduk menggunakan pengaduk magnetik selama 24 jam dengan kecepatan

100 rpm, suhu kamar, dan terlindung dari cahaya. Pemisahan nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dan kurkumin bebas dilakukan dengan ultrasentrifugasi pada 50.000 rpm, dengan suhu 4⁰C, selama 45 menit. Kurkumin bebas yang tidak larut akan mengendap sebagai endapan, sedangkan Nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 akan terdispersi dalam larutan dapar TES sebagai supernatan.

3.4.6. Pembuatan Kurva Kalibrasi Kurkumin

Standar kurkumin ditimbang sebanyak 50,0 mg dengan seksama, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 50,0 ml. Pelarut metanol digunakan untuk melarutkan kurkumin standard. Metanol ditambahkan hingga garis batas labu tentukur, kemudian kocok dengan homogen (dihasilkan kurkumin standard 1000 ppm). 1,0 ml larutan kurkumin standard 1000 ppm dipipet menggunakan pipet volume, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 ml. Metanol ditambahkan hingga garis batas labu tentukur, sehingga dihasilkan larutan kurkumin standar dengan konsentrasi 10 ppm. Larutan kurkumin standard 10 ppm ini digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimum dari kurkumin standard dalam metanol. Setelah itu, larutan standard 10 ppm dipipet 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml, 5,0, dan 6,0 dan dituangkan masing-masing ke dalam labu tentukur 10,0 ml, lalu dicukupkan volumenya dengan metanol, kemudian kocok homogen. Kemudian setiap ppm kurkumin standard diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV – VIS pada panjang gelombang maksimum. Serapan yang diperoleh dan konsentrasi kurkumin tiap serapan di-*plot*-kan untuk menghasilkan kurva kalibrasi, kemudian ditarik ditentukan persamaan regresi linearnya ($y = a + bx$).

3.4.7. Karakterisasi Fisikokimia Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4

3.4.7.1 Pengamatan Bentuk dan Morfologi Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4

Bentuk dan morfologi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 diamati menggunakan alat *Transmission Electron Microscope* (TEM). Sampel

sebanyak 3 tetes diteteskan ke dalam kisi tembaga yang dibungkus karbon yang telah dikeringkan sebelumnya pada suhu kamar. Hasil yang diinterpretasikan oleh TEM berupa gambar, kemudian gambar tersebut diperbesar 80.000 kali, 150.000 kali, 200.000 kali, dan 500.000 kali.

3.4.7.2 Pengamatan Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 dengan *Transmission Electron Microscope* (TEM).

Ukuran partikel dari nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 diamati menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Pengerjaan dilakukan dengan meneteskan sampel sebanyak 3 tetes dalam kisi tembaga yang telah dibungkus karbon yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu kamar. Langkah pengerjaan yang dilakukan sama seperti poin 3.4.7.1

3.4.7.3 Penentuan Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 dengan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Ukuran partikel nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 diamati menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C dengan tehnik *Photon Correlation Spectroscopy* (PSC). Hasil yang didapatkan dari *Particle Analyzer* ini berupa data ukuran partikel dari setiap formula.

3.4.7.4 Penentuan Distribusi Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 dengan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Penyebaran ukuran partikel dari Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 dilakukan dengan *Particle Analyzer* Delsa Nano C. Hasil pengukuran berupa kurva distribusi ukuran partikel setiap formula nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4.

3.4.7.5 Penentuan Indeks Polidispersitas Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 Menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Nilai indeks polidispersitas dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 setiap formula juga ditentukan dengan alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C.

3.4.7.6 Penentuan Nilai Zeta Potensial Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 Menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Nilai zeta potensial dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari setiap formula ditentukan juga dengan alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C. Metode *electrophoretic light scattering* (ELS) diterapkan dalam analisa ini sehingga *electrophoretic mobility* dari partikel dapat diukur.

3.4.7.7 Efisiensi Penjerapan dan *Drug loading* Nanopartikel Kurkumin –Dendrimer PAMAM G4

Penentuan efisiensi penjerapan setiap formula Nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G 4 dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV – VIS. Hasil pemisahan berupa kurkumin yang tidak terjerap dalam dendrimer PAMAM G4 akan mengendap setelah dipisahkan dengan ultrasentrifugasi. Endapan tersebut kemudian dilarutkan dalam labu ukur 5,0 ml menggunakan pelarut metanol. Larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 423,00 nm. Hasil serapan yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear dari kurkumin standard, sehingga didapat konsentrasi kurkumin bebas. Berdasarkan jumlah kurkumin bebas (kurkumin yang tidak terjerap), jumlah kurkumin yang terjerap dan *drug loading* dalam nanopartikel dapat ditentukan.

Persentase kurkumin terjerap ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Efisiensi Terjerap} = \frac{(\text{Konsentrasi Kurkumin Total} - \text{Kurkumin Bebas})}{\text{Konsentrasi Kurkumin Total}} \times 100 \% \quad (3.1)$$

Drug loading dapat ditentukan dengan rumus :

$$\text{Drug loading} = \frac{\text{Bobot Obat Terjerap}}{\text{Bobot Total sediaan}} \times 100\% \quad (3.2)$$

3.4.8. Pembuatan Sediaan Gel

Gel sebanyak 10 gram dibuat dengan mendispersikan 1,0 % w/w karbopol pada air terdestilasi pada pengadukan dengan kecepatan 500 rpm. Dispersi tersebut kemudian dinetralkan (pH 7,4) dengan penambahan 0,2 M NaOH. Kemudian tambahkan 10 ml larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer kedalam gel. Sebagai pembanding, dibuat pula gel kurkumin dengan menambahkan 10 ml larutan kurumin kedalam basis gel.

3.4.9. Penetapan Kadar Kurkumin Dalam Sediaan Gel

Gel Kurkumin ditimbang seksama sebanyak $\pm 1,0$ g, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu tentukur 25,0 ml. Larutan tersebut disaring secara kuantitatif dengan menggunakan kertas saring. Kertas saring pertama kali dijenuhkan terlebih dahulu dengan metanol, kemudian larutan sampel disaring dan 2-3 ml filtrate pertama dibuang. Filtrat yang dihasilkan dipipet sebanyak 1,0 ml dan diencerkan dalam labu tentukur sampai 10,0 ml dengan metanol. Serapan larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum kurkumin, dan dihitung kadarnya dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi. Pada proses preparasi dan pengukuran serapan, larutan sampel dihindarkan dari cahaya.

3.4.10 Uji Penetrasi Sediaan Gel Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer dan Gel Kurkumin Secara In Vitro Dengan Sel Difusi Franz (Zaveri M. *et al*, 2011)

3.4.10.1 Pembuatan Dapar Fosfat pH 7,4

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M diambil sebanyak 420 ml, kemudian ditambahkan dengan larutan kalium dihidrogenfosfat 0,1 M sebanyak 80 ml, dicampur dan diaduk hingga homogen. pH-nya disesuaikan dengan penambahan

asam klorida atau natrium hidroksida hingga didapat pH 7,4 pada pembacaan menggunakan pH meter.

3.4.10.2 Preparasi Membran Kulit

Rambut abdomen dari tikus (tikus betina dari galur *Sprague-Dawley* yang berumur 8-10 minggu, dengan berat ± 150 gram) dibersihkan, kemudian kulit abdomen tersebut dipisahkan dengan pembedahan setelah dilakukan anestesi dengan eter. Lemak subkutan yang melekat juga dibersihkan dengan seksama. Setelah itu, kulit tikus direndam dalam medium yang akan digunakan selama 30 menit setelah itu disimpan dalam suhu 4°C . Kulit dapat digunakan pada rentang waktu 24 jam. Uji penetrasi dilakukan menggunakan sel difusi *Franz* dengan luas area difusi $1,54\text{ cm}^2$ dan volume kompartemen 13 ml dan dijaga suhunya sekitar $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ serta diaduk dengan pengaduk magnetik kecepatan 500 rpm.

3.4.10.3 Uji Penetrasi menggunakan Sel Difusi *Franz*

Kulit yang telah disiapkan diletakkan diantara dua bagian sel difusi *franz* dengan *stratum corneum* menghadap kompartemen donor. Kompartemen reseptor diisi dengan 25 ml dapar fosfat pH 7,4 dengan pengadukan yang kontinu menggunakan pengaduk magnetik. Sampel 1 gram diaplikasikan pada permukaan kulit. Kemudian pada menit ke-10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 diambil sampel sebanyak 0,5 ml dari kompartemen reseptor menggunakan *syringe* dan kompartemen reseptor ditambahkan kembali 0,5 ml dapar fosfat pH 7,4 tiap pengambilan. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur 5,0 ml, kemudian dicukupkan volumenya dengan pelarut yang digunakan. Absorbansi dari sampel diukur pada panjang gelombang 424,5 nm dan kandungan kurkumin pada cairan yang diambil ditentukan dengan regresi linear dari kurkumin standard. Presentase pelepasan obat tiap waktu pengumpulan diukur.

Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dihitung dengan rumus:

$$Q = \frac{C_n \cdot v + \sum_{i=1}^{n-1} C_i S}{A} \quad (3.3)$$

Keterangan :

Q = Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

C_n = Konsentrasi kurkumin $\mu\text{g}/\text{ml}$ pada *sampling* menit ke-n

V = Volume sel difusi Franz (13,0 ml)

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i S$ = Jumlah konsentrasi kurkumin ($\mu\text{g}/\text{ml}$) pada *sampling* pertama (menit ke-30) hingga sebelum menit ke- n

S = Volume *sampling* (0,5 ml)

A = Luas area membran ($1,54 \text{ cm}^2$)

Kemudian dilakukan perhitungan fluks (kecepatan penetrasi tiap satuan waktu) obat berdasarkan hukum Fick I :

$$J = \frac{M}{S \times t} \quad (3.4)$$

Keterangan :

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

M = Jumlah kumulatif kurkumin yang melalui membran (μg)

S = Luas area difusi (cm^2)

t = waktu (jam)

Kemudian dibuat grafik kumulatif kurkumin yang terpenetrasi (μg) per luas area difusi (cm^2) terhadap waktu (jam) dan grafik fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{ jam}^{-1}$) terhadap waktu (jam)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4

Pembuatan Nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dimulai dengan melarutkan dendrimer PAMAM G4 dalam metanol, demikian pula dengan kurkumin yang dilarutkan dengan metanol. Pembuatan nanopartikel kurkumin dendrimer-PAMAM G4 ini dibuat dengan beberapa variasi rasio molar (kurkumin : dendrimer PAMAM G4), yaitu (1 : 0,2), (1 : 0,02), dan (1 : 0,002). Pelarut metanol dipilih karena dapat melarutkan kedua komponen dengan baik. Kemudian, kedua komponen tersebut diaduk homogen selama 24 jam dalam erlenmeyer bertutup yang dikondisikan terlindung cahaya karena sifat fisikokimia kurkumin yang sensitif terhadap cahaya. Pengadukan dilakukan pada suhu kamar dengan kecepatan 100 rpm.

Setelah pengadukan selama 24 jam, nanopartikel yang terbentuk disimpan di dalam lemari pendingin. Penampilan fisik dari nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 berupa cairan kuning yang jernih, kuning keemasan, dan kuning kemerahan, berbau khas. Cairan jernih menunjukkan kelarutan kurkumin yang baik, dimana partikel – partikel kecil terdispersi dengan baik dalam medium pelarut yang hanya dapat dideteksi dengan menggunakan mikroskop elektron.

Berdasarkan literatur terdapat tiga mekanisme yang menjelaskan penyerapan molekul obat pada dendrimer, yaitu enkapsulasi, interaksi kovalen, dan interaksi elektrostatik. Bentuk arsitektur dari dendrimer yang sferis (bulat) dan terdapat ruang kosong (*empty cavities*) yang memungkinkan untuk mengenkapsulasi molekul obat didalamnya. Interaksi kovalen terjadi akibat terdapatnya gugus fungsi permukaan dendrimer yang berinteraksi dengan molekul obat yang sesuai. Gugus fungsi dengan densitas tinggi seperti gugus amin dan karboksil pada permukaan dendrimer diperkirakan memiliki potensi yang besar dalam meningkatkan kelarutan obat hidrofobik melalui interaksi elektrostatik. (Maheswari, M., dan Shishu., 2009). Ketiga mekanisme tersebut diperkirakan mekanisme terjerapnya obat dalam dendrimer PAMAM G4.



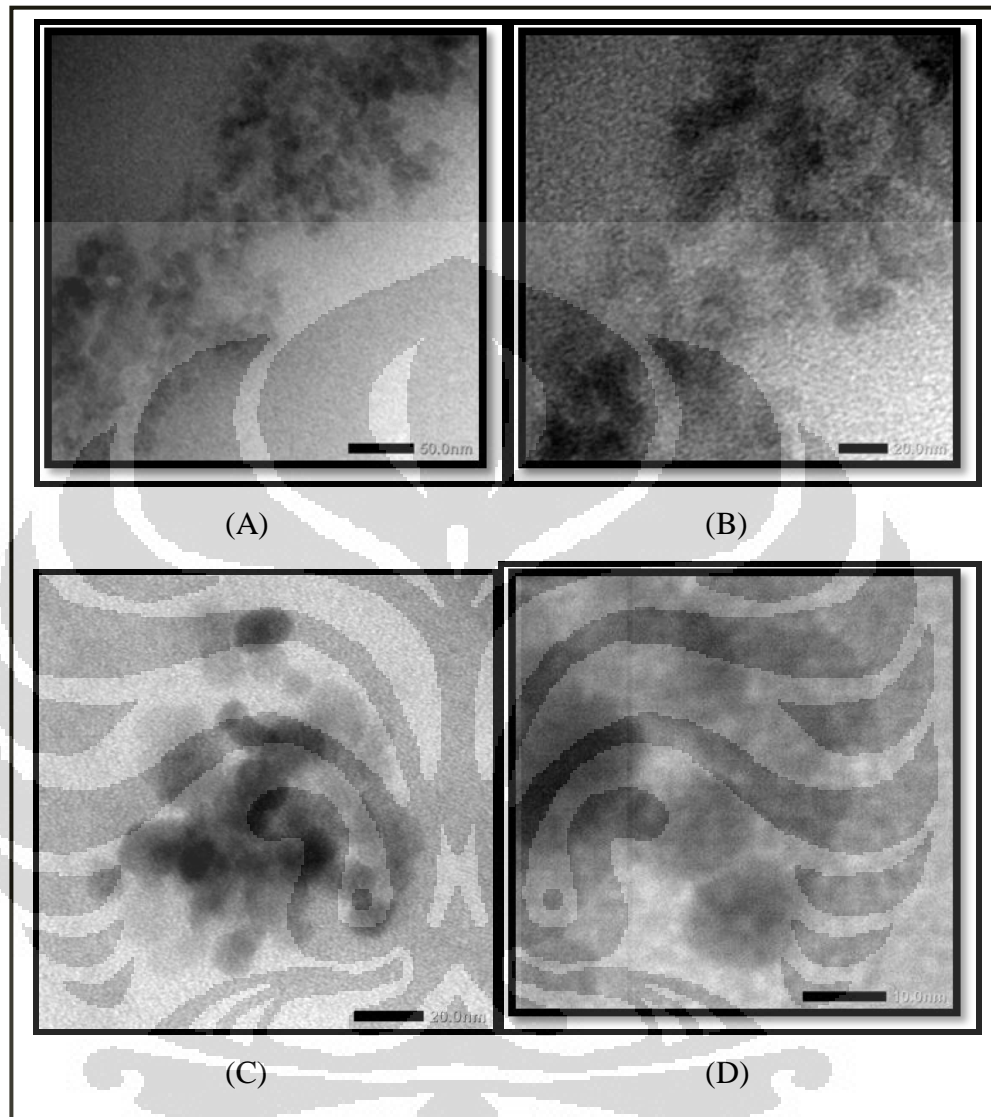
Gambar 4.1 Nanopartikel Kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 1

4.2 Karakterisasi Nanopartikel

Karakterisasi nanopartikel meliputi ukuran partikel, morfologi partikel, muatan permukaan partikel, persen penyerapan zat aktif, profil pelepasan zat aktif secara *invitro* dan *invivo*, serta kemampuan penetrasi menembus *barier* fisiologis. Dalam penelitian ini karakterisasi yang diperlukan yaitu bentuk dan morfologi serta ukuran partikel untuk membuktikan bahwa partikel dalam formula sudah berbentuk nanopartikel. Kemudian, formula dengan penyerapan dan karakteristik yang paling baik digunakan sebagai formula yang digunakan pada tahap uji penetrasi secara *in vitro* menggunakan sel difusi *Franz*.

4.2.1 Penentuan Bentuk dan Morfologi dengan TEM (*Transmission Electron Microscope*)

Bentuk dan morfologi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 (1 : 0,2) diamati menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Berdasarkan hasil yang didapat menunjukkan bentuk partikel yang sferis (bulat) dengan penyebaran yang kurang merata. Gambar bentuk partikel dari nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dapat dilihat pada Gambar 4.2. Bentuk morfologi nanopartikel yang sferis mungkin karena keberadaan dendrimer PAMAM G4 yang memiliki karakteristik bentuk morfologi yang sferis.



Gambar 4.2 Hasil bentuk dan morfologi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 (1 : 0,2) dengan *Transmission Electron Microscope* (TEM) pada pembesaran 80.000 x (A) , 150.000 x (B), 200.000x (C), dan 500.000 x (D).

4.2.2 Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 Menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Ukuran partikel merupakan karakteristik nanopartikel yang penting karena menentukan distribusi obat, toksisitas, mempengaruhi *drug loading*, *drug realease*, dan kestabilan sistem nanopartikel. Larutan nanopartikel kurkumin – dendrimer

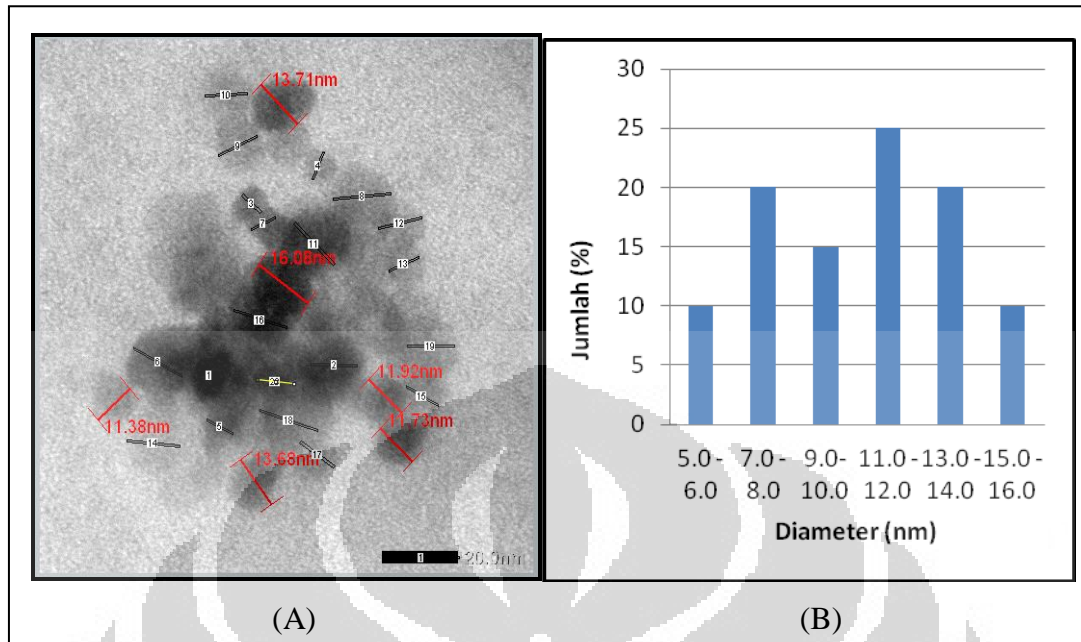
PAMAM G4 formula 1,2,dam 3 dianalisa ukuran partikelnya dengan menggunakan TEM dan PSA (*Particle Size Analyzer*). Hasil dari ukuran partikel formula 1 dengan rasio molar kurkumin 1 : 0,2 yang didapat dari TEM dan dianalisi menggunakan *image analysis*. Sampel partikel sejumlah 20 didapatkan memiliki kisaran diameter partikel 6 – 16 nm dan menunjukkan ukuran partikel rata – rata $10.91 \pm 3,02$ nm. Ukuran partikel 1 tidak terdeteksi dengan *Particle Size Analyzer*.

Ukuran partikel dari nanopartikel formula 2 (1 : 0,02) dan formula 3(1 : 0,002) didapat dari *Particle Size Analyzer* (PSA) dengan metode *Photon Correlation Spectroscopy* (PSC). Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali sehingga didapatkan data triplo dari tiap formula yang diuji. Ukuran diameter partikel rata-rata formula 2 dan formula 3 adalah $61,10 \pm 31.05$ nm dan $32,57 \pm 47,21$ nm. Peningkatan diameter nanopartikel sebanding dengan penurunan konsentrasi dendrimer yang digunakan dari tiap formula. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, ketiga formula tergolong berukuran nano karena berukuran dibawah 100 nm. Berdasarkan hasil tersebut juga dapat ditentukan bahwa formula 1 memiliki ukuran partikel yang paling kecil diantara formula lainnya, sehingga formula 1 digunakan sebagai formula yang digunakan untuk uji penetrasi menggunakan sel difusi *Franz*.

4.2.3. Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 menggunakan Particle Analyzer Delsa Nano C

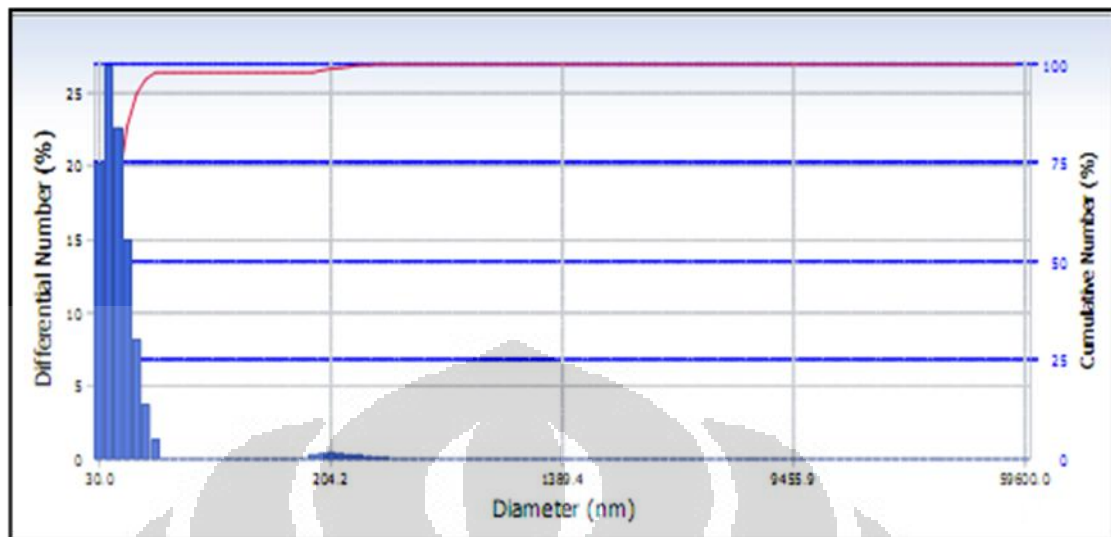
Penentuan distribusi ukuran partikel bertujuan untuk mempelajari pola penyebaran ukuran partikel yang dikelompokkan berdasarkan ukuran partikel yang sama. Distribusi ukuran partikel digambarkan dalam bentuk kurva yang didapatkan dari pengolahan data yang diperoleh dengan *Particle Analyzer* Delsa Nano C dengan metode *photon correlation spectroscopy* (PSC).

Diagram distribusi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 1 memperlihatkan distribusi ukuran partikel yang relative sempit, yaitu pada rentang 6 – 16 nm. Ukuran partikel paling banyak sejumlah 25% yaitu partikel dengan diameter 11 – 12 nm.



Gambar 4.3. (A). Hasil penentuan ukuran partikel NP-kd formula 1 dengan rasio molar (1:0,2) dengan metode *image analysis*. (B). Diagram distribusi ukuran partikel NP-kd formula 1

Diagram distribusi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 2 dengan rasio molar (1 : 0,02) diperoleh menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C dapat dilihat pada gambar 4.4. Distribusi ukuran partikel yang didapat berkisar antara 30 – 48 nm dengan ukuran partikel yang paling banyak jumlahnya berukuran 32,4 nm sebesar 26,79%. Dari diagram distribusi ukuran partikel formula 2 juga didapatkan nilai d_{10} 32,4 nm, nilai d_{50} 32,7 nm, dan nilai d_{90} 39,8 nm dengan rata-rata ukuran partikelnya adalah 39,60 nm. Berdasarkan hal tersebut, distribusi ukuran partikel dari nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 rasio molar (1 : 0,02) tergolong sempit. Distribusi ukuran partikel yang sempit mengindikasikan keseragaman ukuran partikel yang berhubungan dengan indeks polidispersitas dari formula. Distribusi ukuran partikel ini sangat dipengaruhi oleh keberadaan dendrimer karena dendrimer sendiri merupakan polimer yang disusun oleh struktur molekul yang tersusun dengan baik (*well-defined structure*). (Kumar, P., Meena, K.P., Kumar, P., Choudhary, C., Thakur, S., Bajpayee, P., 2010)

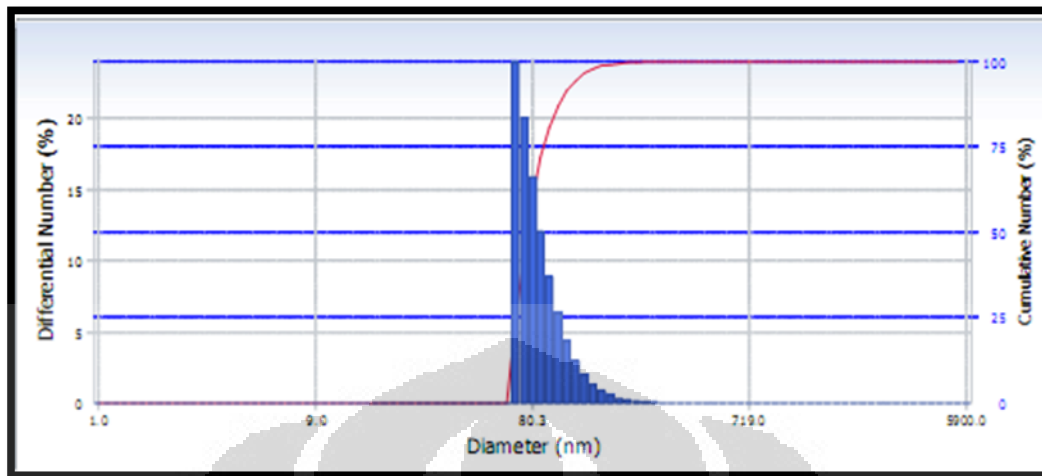


Gambar 4.4 Diagram distribusi ukuran partikel nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 2 dengan rasio molar 1 : 0,02

Tabel 4.1. Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G 4 Formula 2.

Diameter (nm)	Number (%)
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

Pada nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 3 rasio molar (1 : 0,002), distribusi ukuran partikel yang didapat cukup luas yaitu 67 nm – 148 nm, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.5. Ukuran partikel yang mendominasi dari nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 3 adalah partikel berukuran 67,3 nm sebesar 23,89 %. Selain itu, dari diagram distribusi ukuran partikel formula 3 juga didapatkan nilai d_{10} 64,0 nm, nilai d_{50} 76,0 nm, dan nilai d_{90} 110,0 nm.



Gambar 4.5 Diagram distribusi nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 formula 3 rasio molar (1:0,002)

Tabel 4.2 Distribusi Ukuran Partikel Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G 4 Formula 3.

Diameter (nm)	Number (%)
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	2,00
148.3	1.31

4.2.4. Indeks Polidispersitas Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 Menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Penentuan nilai indeks polidispersitas digunakan untuk melihat persebaran ukuran partikel yang terjadi dalam sistem nanopartikel. Berdasarkan hasil *Particle Analyzer* Delsa Nano C didapatkan nilai indeks polidipersitas untuk tiap formula, secara berturut-turut dari formula 1, 2, dan 3 adalah 0,267 ; 0,580 ; dan 0,400.

Universitas Indonesia

Berdasarkan hal tersebut, diketahui bahwa formula 1 memiliki sifat monodispersi atau dengan kata lain distribusi ukuran partikelnya sempit yang ditunjukkan dengan nilai indeks polidispersitas yang rendah. Sebaliknya, pada formula 2 dan formula 3 memiliki nilai indeks polidispersitas yang lebih tinggi yang menandakan bahwa distribusi partikel dari formula 2 dan 3 lebih luas atau cenderung polidispersi. Sistem nanopartikel monodispersi dapat meningkatkan kestabilan dari sistem nanopartikel karena memperlihatkan ukuran, bentuk, dan berat partikel yang homogen.

4.2.5 Nilai Zeta Potensial Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4 Menggunakan *Particle Analyzer* Delsa Nano C

Sifat muatan permukaan partikel dari suatu nanopartikel mempengaruhi stabilitas nanopartikel. Agregasi sangat erat kaitannya dengan nilai zeta potensial suatu sediaan. Teori stabilitas sistem koloid yang dikembangkan oleh DLVO, nilai zeta potensial yang tinggi, baik muatannya negatif atau positif, menunjukkan sistem koloid yang cenderung stabil dan dapat mencegah partikel mengalami agregasi. Secara umum, partikel dengan nilai zeta potensial lebih positif dari +30 mV atau lebih negatif dari -30 mV dianggap stabil. (Mohanraj dan Y Chen, 2005)

Nilai zeta potensial yang rendah akan menyebabkan kurangnya gaya tolak-menolak, sehingga memungkinkan partikel beragregasi. Nilai zeta potensial yang tinggi antar partikel cenderung mencegah partikel beragregasi. Hasil dari alat *Particle Analyzer* berdasarkan konsep *Electrophoretic Light Scattering* (ELS) didapatkan nilai zeta potensial formula 2 adalah (+) $15,92 \pm 6,43$ mV, sedangkan nilai zeta potensial formula 3 adalah (+) $20,95 \pm 0,38$ mV. Dari nilai zeta potensial dari kedua formula tersebut, diduga larutan cenderung stabil karena nilai zeta potensialnya yang cukup tinggi dari kedua formula. Gugus amin primer yang terdapat pada permukaan dendrimer PAMAM G4 yang terprotonasi mungkin menjadi penyebab zeta potensial dari formula 2 dan formula 3 bermuatan positif.

4.2.6 Pemisahan Kurkumin Bebas dari Kompleks Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4 menggunakan ultrasentrifugasi

Nanopartikel yang telah dibentuk kemudian diuapkan untuk menghilangkan metanol. Metanol merupakan pelarut dimana kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 larut didalamnya, oleh karena itu metanol perlu diuapkan terlebih dahulu. Kemudian 10 ml larutan dapar TES 0,01 M (pH 7,4) ditambahkan dengan tujuan memisahkan kurkumin bebas dengan kurkumin yang telah terjerap didalam dendrimer PAMAM G4. Larutan tersebut diaduk homogen dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam dalam suasana yang terlindung cahaya. Pemisahan kurkumin bebas dari kompleks nanopartikel kurkumin dilakukan dengan ultrasentrifugasi kecepatan 50.000 rpm dengan suhu 4⁰C selama 45menit. Hasil dari sentrifugasi adalah berupa endapan dan supernatan yang terpisah dimana kurkumin yang bebas akan mengendap karena tidak terlarut dalam dapar TES pH 7,4, sedangkan kompleks nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 akan terdispersi dalam larutan dapar. Kurkumin yang mengendap yang berhasil dipisahkan setelah mengalami ultrasentrifugasi 50.000 rpm dilarutkan dalam metanol, kemudian kadarnya ditetapkan dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang maksimum 423,00 nm. Kemudian hasil absorbansi yang diperoleh dimasukkan kedalam persamaan kurva kalibrasi kurkumin dalam metanol. (Markatou, E., Gionis, V., Chryssikos, G.D., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Demetzos, C., 2007).

4.2.7 Efisiensi Penjerapan Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer PAMAM G4

Efisiensi penjerapan merupakan langkah yang digunakan untuk mengetahui seberapa besar presentase zat aktif terjerap didalam Dendrimer PAMAM G4 memiliki kemampuan mengenkapsulasi molekul asing. Struktur dendrimer PAMAM G4 yang berbentuk seperti struktur cangkang telur (*egg-shell-like*) sehingga dapat mengenkapsulasi kurkumin. Dendrimer PAMAM G4 memiliki rongga internal (*internal cavity*) yang terletak diantara cabang dan intinya, dimana rongga internal ini memiliki kemampuan mengenkapsulasi molekul lain. Mekanisme penjerapan kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 masih belum diketahui dengan pasti, akan

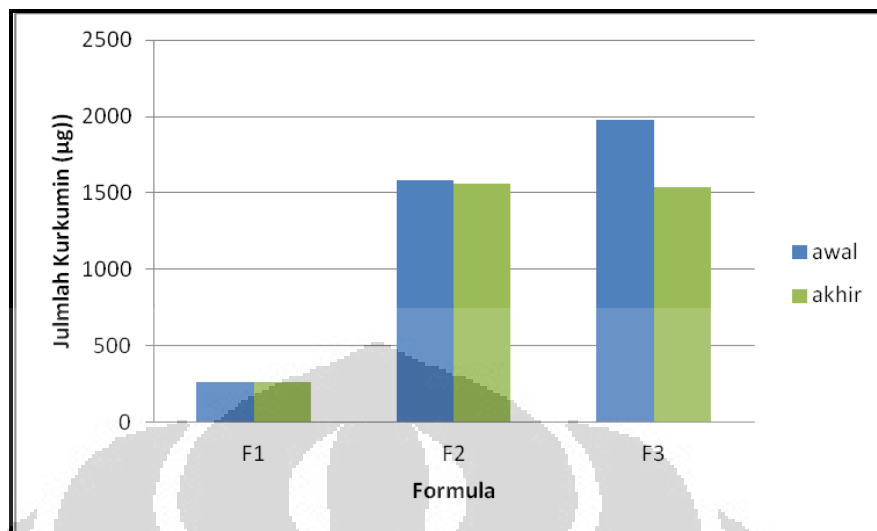
tetapi menurut Jain *et al*, molekul obat dapat secara kimia terkonjugasi pada permukaan dendrimer atau secara fisik terbungkus dalam inti dendrimer. Efisiensi penggabungan dapat dicapai jika gugus fungsional seperti gugus hidroksil (OH), karboksil (COOH), amin primer (NH₂), tiol (SH) terdapat pada molekul obat dan polimer. Misalnya, gugus hidroksil dapat dijadikan penghubung yang aktif yang menghasilkan reaksi nukleofilik

4.2.7.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Kurkumin

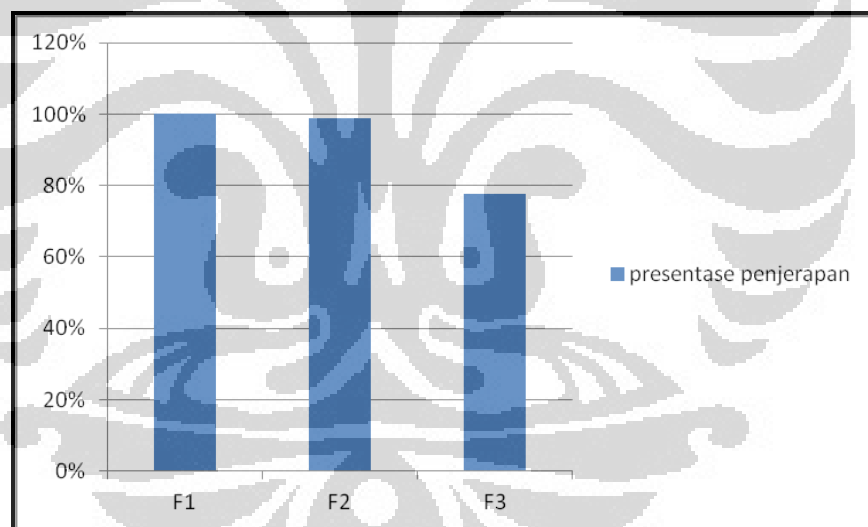
Kurkumin standard menunjukkan serapan maksimum pada 423,00 nm. Konsentrasi kurkumin dalam metanol yang dibuat adalah 1,2,3,4,5, dan 6 ppm. Perasamaan kurva kalibrasi kurkumin standar dalam pelarut metanol adalah $y = 0,0006 + 0,1437 x$ dengan nilai $r=0,9996$

4.2.7.2 Penentuan Persentase Efisiensi Penjerapan Nanopartikel Kurkumin-Dendrimer PAMAM G4

Hasil perhitungan efisiensi penjerapan dapat dilihat pada lampiran 2. Berdasarkan perhitungan didapatkan hasil kurkumin yang terenkapsulasi formula 1 lebih banyak (100%), kemudian diikuti formula 2 (98,73%) dan formula 3 (77,94%). Presentase penjerapan dari ketiga formula nanopartikel kurkumin sebelum dan sesudah dapat dilihat pada grafik Gambar 4.7. Penjerapan yang sangat baik tersebut ditunjukkan dari tidak terdapatnya endapan yang menandakan kurkumin bebas dalam formula 1 sedangkan pada formula 2 dan formula 3 terdapat endapan yang jelas. Besar presentase penjerapan kurkumin berbanding lurus dengan presentase jumlah dendrimer yang digunakan dalam formula. Kemampuan dendrimer menjerap zat aktif pada formula 1 lebih baik mungkin dikarenakan jumlah kurkumin yang sesuai dengan kapasitas penjerapan dendrimer PAMAM G4, sedangkan formula 2 dan 3 menunjukkan kurkumin yang berlebih yang menyebabkan kurkumin yang tidak terjerap berada di luar sistem yang disebut kurkumin bebas



Gambar 4.6 Jumlah kurkumin sebelum dan sesudah ultrasentrifugasi formula 1, formula 2, dan fomula 3



Gambar 4.7. Presentase efisiensi penyerapan kurkumin dalam formula 1, formula 2, dan fomula 3

4.2.8 Drug Loading Nanopartikel Kurkumin – Dendrimer G4

Drug loading didapatkan dengan membagi jumlah kurkumin yang terjerap dalam sistem nanopartikel dengan jumlah larutan total. Hasil *drug loading* yang didapat dari tiga formula berturut adalah 0,0053% dari larutan total 20 ml, 0,0781 %

dari larutan total 10ml dan 0,0616 % dari larutan total 14 ml. Suatu sistem nanopartikel idealnya memiliki kapasitas *drug loading* yang tinggi sehingga mengurangi penggunaan bahan yang digunakan untuk penghantaran obat. Penjerapan obat dan *drug loading* sangat bergantung pada kelarutan obat dalam bahan atau polimer, komposisi polimer, berat molekul polimer, dan interaksi obat dengan polimer

4.3 Pembuatan Gel

Nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dengan rasio (1 : 0,2) digunakan sebagai formula yang diuji penetrasinya. Formula 1 dimasukan ke dalam sistem gel menghasilkan gel berwarna kuning . Sebagai pembanding digunakan sediaan gel kurkumin. Sediaan gel nanopartikel yang telah dibuat, dianalisis ukuran partikelnya menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*). Berdasarkan hasil PSA, sediaan gel nanopartikel menghasilkan ukuran partikel sebesar 553,7 nm. Peningkatan ukuran tersebut mungkin disebabkan oleh beberapa hal seperti terjadinya agregasi partikel. Thomas He, *et al.* menyatakan bahwa agregasi nanopartikel dipengaruhi beberapa hal seperti pH, kekuatan ionik, konsentrasi partikel tersuspensi dan komposisi larutan. Pada kekuatan ionik yang tinggi, gerakan *van der waals* mendominasi sehingga memungkinkan terjadinya interaksi yang dapat meningkatkan ukuran partikel. Pada peningkatan pH, ionisasi dari gugus fungsi permukaan meningkat dan muatan positif pada permukaan partikel menurun. Peningkatan pH juga mengakibatkan peningkatan gugus permukaan yang terdeprotonasi sehingga menghasilkan perubahan yang berujung pada ketidakstabilan. Selain itu, partikel yang kecil memiliki energi permukaan yang tinggi sehingga lebih mudah beragregasi dengan tujuan menurunkan energi bebas pada sistem. Konsentrasi partikel dalam suatu sediaan juga mempengaruhi agregasi. Peningkatan konsentrasi partikel mengakibatkan frekuensi tumbukan antar partikel lebih besar yang dapat mengasikkan kecepatan agregasi lebih besar. Selain itu, sistem gel yang merupakan makropartikel mungkin mempengaruhi peningkatan ukuran partikel nanopartikel sehingga diperlukan tehnik khusus untuk menghasilkan ukuran yang lebih kecil.

4.4 Penetapan Kadar Kurkumin

Kurkumin dapat ditetapkan kadarnya melalui beberapa metode yaitu spektrofotometri secara langsung, fluorometri secara langsung, kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Penetapan kadar kurkumin dalam sediaan ditetapkan menggunakan metode spektrofotometri. Metode ini dipilih karena waktu yang diperlukan untuk penetapan lebih singkat dibandingkan metode lain sehingga pada pelaksanaannya lebih efisien. Pelarut metanol dipilih karena dapat melarutkan kurkumin secara sempurna. Selain kurkumin yang terlarut dalam metanol, basis gel juga dapat terlarut dalam metanol, akan tetapi tidak memberikan serapan pada panjang gelombang maksimum kurkumin. Oleh karena itu, larutan sampel tidak memerlukan ekstraksi lebih lanjut untuk memisahkan kurkumin dari basis gel.

Larutan sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum kurkumin yaitu 423 nm. Besar presentase kadar kurkumin dinyatakan sebagai rasio jumlah kurkumin hasil pengukuran dibandingkan jumlah sediaan yang ditimbang. Hasil penetapan kadar kurkumin dalam tiap gram sediaan gel kurkumin adalah 0,0118 % ; 0,0114% ; dan 0,0119%, sehingga didapatkan rata – rata presentase penetapan kurkumin tiap gram sediaan gel kurkumin adalah 0,0117%. Jika dibandingkan dengan kadar kurkumin dalam sediaan gel yang seharusnya yaitu 0,01053%, diperoleh hasil presentase perbandingan kadar rata - rata yang didapat dibandingkan dengan kadar seharusnya adalah 111,1 %. Kriteria cermat diberikan jika hasil analisis memberikan rasio 80 – 120%, sehingga sediaan yang diaplikasikan masih memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam spesifikasi kecermatan. Sedangkan, sediaan gel nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 menghasilkan penetapan kadar sebesar 0,0063 % dan 0,0064% pada dua kali percobaan yang telah dilakukan. Jika dibandingkan dengan kadar yang seharusnya yaitu 0,005625%, diperoleh hasil presentase perbandingan kadar yang didapat dengan kadar seharusnya adalah 112 % dan 113%.

Pengurangan kadar kurkumin dari jumlah yang diformulasikan dapat disebabkan oleh beberapa hal, salah satunya ialah sifat fisikokimia kurkumin yang sensitif terhadap cahaya mengakibatkan rentannya kurkumin terhadap penguraian. Selain itu,

faktor pengadukan juga merupakan faktor yang mempengaruhi terdispersinya zat aktif secara merata.

4.5 Uji Penetrasi Kurkumin Secara *In Vitro*

4.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Dapar Fosfat pH 7.4

Kadar kurkumin dalam larutan sampel hasil uji penetrasi dapat ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi standar. Kurva serapan standar kurkumin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 menunjukkan panjang gelombang maksimum (λ) pada 424,5. Kurkumin memiliki kelarutan yang buruk dalam buffer fosfat pH 7,4, sehingga pembuatan kurva kalibrasi kurkumin dalam buffer fosfat ini diatasi dengan menggunakan kurkumin dalam bentuk terlarut. Pertama Larutan kurkumin dalam metanol dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian diencerkan mejadi 100 ppm sebagai larutan induk. Setelah itu, pipet 1,0 ml larutan induk kedalam labu tentukur 100,0 ml, kemudian ditambahkan hingga garis batas labu menggunakan buffer fosfat pH 7,4. Setelah itu, beberapa konsentrasi dibuat dan diukur serapannya pada panjang gelombang 424,5 nm, lalu dibuat persamaan kurva kalibrasi. Pengukuran serapan sebaiknya dilakukan dengan seksama untuk menjaga kestabilan dari kurkumin. Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh yaitu :

$$y = 0,0010 + 0,0526 x \text{ dengan } r = 0,9598$$

Pembuatan kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat menggunakan kurkumin yang telah terlarut dimaksudkan untuk meningkatkan kelarutan kurkumin dalam dapar fosfat karena kurkumin hanya larut dalam pelarut – pelarut organik, seperti metanol, etanol, aseton, DMSO, dan larutan dengan pH asam.

4.5.2 Uji Penetrasi Kurkumin

Dalam penelitian ini, dilakukan uji penetrasi secara *in vitro* menggunakan sel difusi *Franz*. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah kurkumin yang dapat berpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu pada dua jenis sediaan kurkumin yaitu gel nanopartikel kurkumin dan gel kurkumin.

Membran yang digunakan yaitu bagian kulit bagian abdomen tikus betina dari galur *Sprague-Dawley* yang berumur 2 – 3 bulan dengan berat $\pm 180 - 200$ gram dengan ketebalan membran $0,6 \pm 0,1$ mm dan luas membran $1,54 \text{ cm}^2$. Kulit tikus digunakan dalam uji penetrasi ini karena kulit tikus sebagai membran mudah diperoleh dan telah dilaporkan sebelumnya bahwa permeabilitasnya mirip dengan permeabilitas kulit manusia. Preparasi kulit tikus yang digunakan dalam uji penetrasi awalnya dicukur terlebih dahulu sedemikian rupa, kemudian dihilangkan lemak subkutannya dimaksudkan agar tidak mengganggu uji penetrasi kurkumin melalui kulit. Setelah itu, kulit yang telah didapat dimasukkan ke dalam medium larutan reseptor yaitu daparfosfat pH 7,4 yang bertujuan untuk mengembalikan kulit ke bentuk semula.

Dapar fosfat pH 7,4 dipilih sebagai cairan reseptor karena simulasi kondisi pH cairan biologis manusia adalah pH 7,4. Sebelum digunakan, dapar fosfat harus dipastikan pH-nya terlebih dahulu. Perubahan pH larutan akan mempengaruhi hasil analisis spektrofotometri UV – VIS karena dapat mempengaruhi perubahan serapan, dan panjang gelombang maksimum zat tersebut, seperti perubahan serapan hiperkromik, hipokromik serta perubahan panjang gelombang hipsokromik, batokromik.

Membran dipastikan telah berkontak dengan cairan kompatemen reseptor agar sediaan yang diaplikasikan pada membran dapat berpenetrasi menembus kulit menuju cairan reseptor. Kondisi seperti terdapat gelembung udara atau pusaran harus dihindari saat proses difusi berlangsung. Gelembung udara tersebut menyebabkan timbulnya celah antara membran dengan cairan kompatemen sehingga menghalangi penetrasi zat aktif menuju kompatemen reseptor.

Pada kompatemen reseptor perlu dilakukan pengadukan yang berfungsi untuk homogenisasi yang dapat mempercepat pelarutan zat yang terpenetrasi. Pengadukan dilakukan dengan menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 300 rpm. Selain itu, suhu dalam kompatemen reseptor perlu dijaga menggunakan *water jacket* pada $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ yang menggambarkan suhu tubuh manusia. Air yang mengalir keluar dari thermostat yang menjaga suhu berada pada kisaran $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Pengujian dilakukan selama 8 jam dan pengambilan sampel dilakukan sebanyak 10 kali yaitu pada menit ke – 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Sampel yang diambil sebanyak 0,5 ml yang diencerkan kedalam labu tentukur 5,0 ml sehingga dilakukan pengenceran sebanyak 10 kali. Pengenceran yang dilakukan mulai dari yang terkecil sebagai antisipasi zat dalam kompatemen donor yang konsentrasinya tidak terlalu besar. Setelah melakukan pengambilan sampel dari kompatemen reseptor, dapar fosfat pH 7,4 sejumlah 0,5 ml segera dikembalikan ke dalam kompatemen reseptor. Hal tersebut dilakukan dengan tujuan menjaga volume cairan reseptor tetap konstan selama percobaan berlangsung. Kemudian dilakukan pengukuran serapan sampel tepat setelah melakukan pengampilan sampel untuk menjaga kurkumin dari penguraian akibat cahaya. Pengukuran serapan sampel dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,4 yaitu pada 424,5 nm. Untuk setiap formula dilakukan uji penetrasi sebanyak tiga kali.

Uji penetrasi secara *in vitro* memiliki dua parameter utama yaitu jumlah kumulatif zat aktif yang terpenetrasi, baik dalam bentuk massa/cm² atau presentasi terpenetrasi dan fluks (laju penetrasi). Jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi dapat dihitung menggunakan persamaan 3.3. Dari hasil jumlah terpenetrasi tersebut dapat dihitung presentase kurkumin yang terpenetrasi. Fluks dapat dihitung dengan menarik garis linear dari kurva jumlah kumulatif zat aktif terpenetrasi terhadap waktu sehingga didapat persamaan $y = a + bx$, b atau kemiringan garis yang menyatakan nilai fluks. Cara lain untuk menghitung fluks adalah menggunakan hukum Fick pertama, yaitu jumlah kumulatif zat aktif yang terpenetrasi melalui satuan luas dalam satuan waktu ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$).

Hasil kumulatif penetrasi kurkumin melalui membran kulit tikus selama 8 jam dari sediaan formula nanopartikel gel dan formula gel berturut – turut adalah $19,58 \pm 1,44 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $11,43 \pm 0,32 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Berdasarkan hasil tersebut, jumlah kurkumin terpenetrasi terbanyak yaitu pada sediaan nanopartikel gel yang mengandung nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4. Hal ini mungkin disebabkan bentuk nanokurkumin membantu penetrasi kurkumin melalui jalur transappendageal

yang merupakan jalur masuknya obat melalui folikel rambut dan kelenjar keringat. Terdapatnya pori-pori di antara jalur ini memungkinkan obat berpenetrasi. Berdasarkan jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi tersebut dapat dihitung presentase kurkumin terpenetrasi dari masing – masing sediaan. Presentase kurkumin terpenetrasi dari sediaan nanopartikel gel dan gel berturut – turut adalah $57,26 \pm 4,22$ % dan $16,72 \pm 0,46$ %.

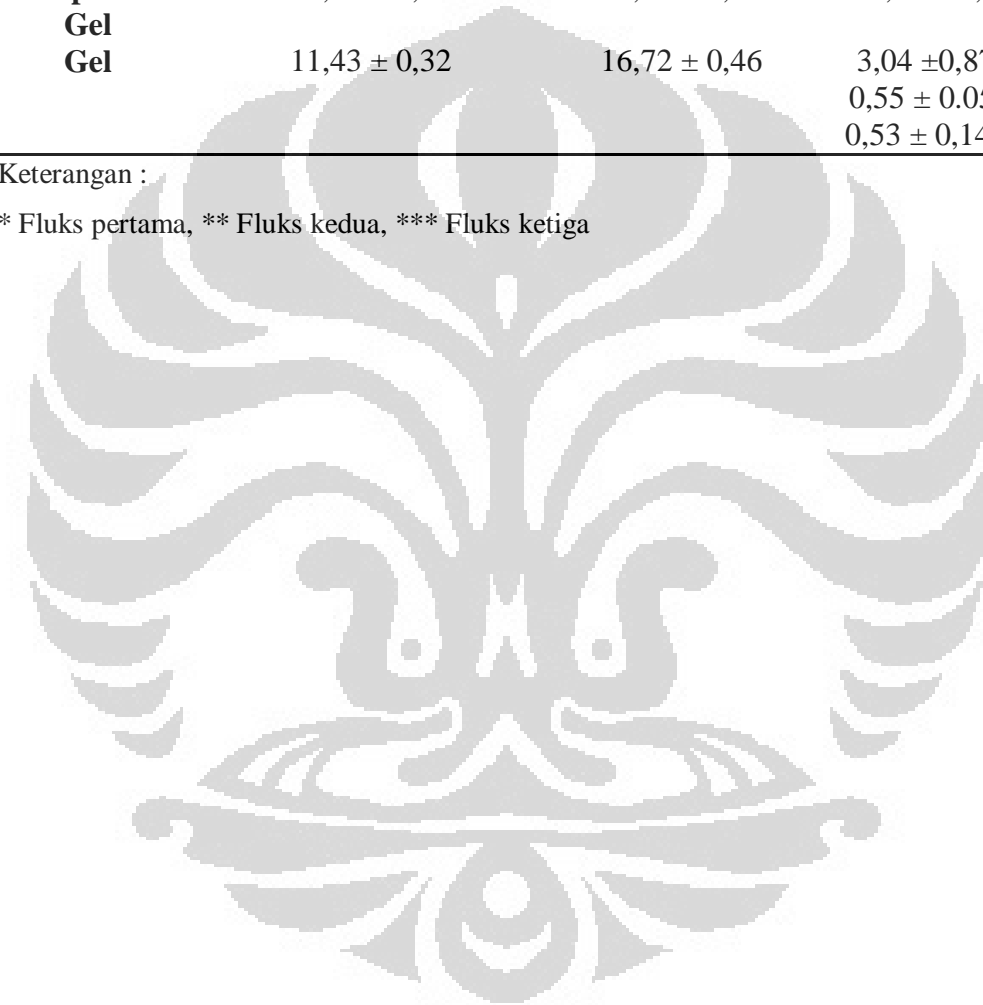
Nilai fluks yang diperoleh dari sediaan nanopartikel gel dan gel bervariasi satu sama lain sehingga menjadi sulit untuk dibandingkan. Hal ini disebabkan oleh nilai fluks nanopartikel gel dan gel berubah pada jam tertentu. Sediaan gel memiliki tiga nilai fluks. Ketiga nilai fluks tersebut tidak dapat mewakili fluks secara keseluruhan dari menit ke-30 sampai jam ke-8. Oleh karena itu parameter yang dapat digunakan untuk membandingkan penetrasi kurkumin dalam kedua sediaan adalah presentase kurkumin yang terpenetrasi selama 8 jam. Berdasarkan Gambar 4.8, nilai fluks gel dibagi menjadi tiga fase. Fase pertama adalah menit ke-30 hingga jam ke - 1,5, sedangkan fluks fase kedua adalah jam ke- 1,5 hingga jam ke-4 dan fase ketiga adalah jam ke-4 hingga jam ke-8. Nilai fluks gel pada fase pertama adalah $3,04 \pm 0,87 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ dan fase kedua adalah $0,55 \pm 0,05 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ dan fase ketiga adalah $0,53 \pm 0,14 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$. Hasil tersebut menunjukkan pelepasan kurkumin yang cepat pada fase pertama yang mungkin disebabkan oleh penjumlahan matriks gel pada tahap awal sehingga pelepasan kurkumin lebih cepat. Ketika kondisinya menjadi tidak jenuh seiring waktu, pelepasan zat aktif menjadi lebih lambat. Sama halnya dengan perhitungan nilai fluks pada nanopartikel gel, nilai fluks nanopartikel gel diperoleh dengan menarik satu garis linear untuk mendapatkan kemiringan yang menunjukkan nilai fluks sediaan tersebut. Fluks nanopartikel gel adalah $1,99 \pm 0,18$.

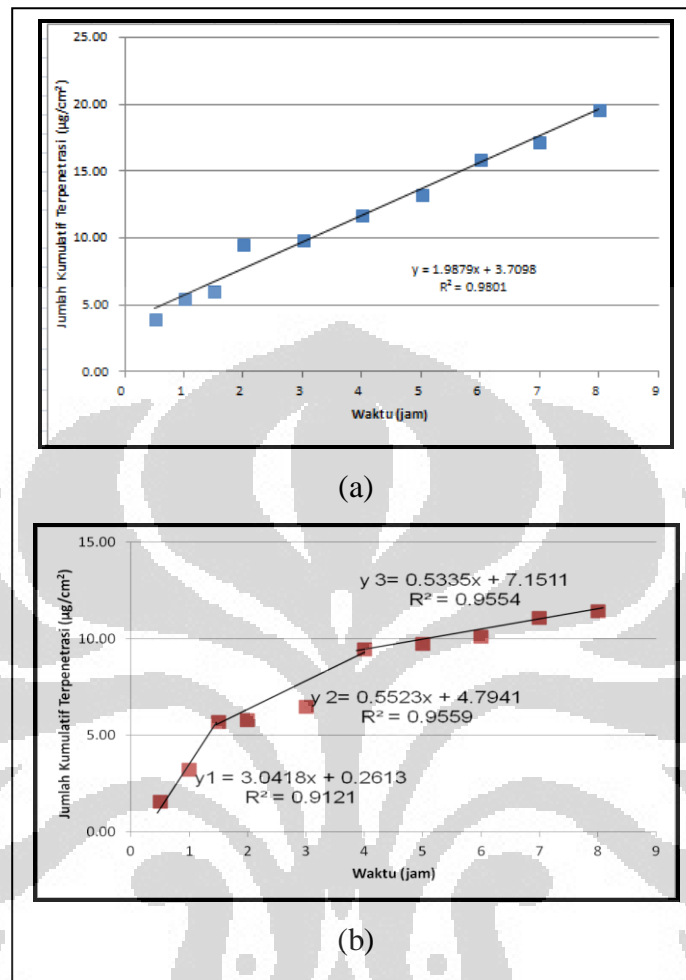
Tabel 4. 3 Data Perhitungan jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi, presentase kurkumin terpenetrasi, dan fluks sediaan nanopartikel gel dan gel

Sediaan	Jumlah Kumulatif Terpenetrasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Presentase Terpenetrasi (%)	Fluks ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$)
Nanopartikel	$19,58 \pm 1,44$	$57,26 \pm 4,22$	$1,99 \pm 0,18$
Gel	$11,43 \pm 0,32$	$16,72 \pm 0,46$	$3,04 \pm 0,87^*$; $0,55 \pm 0,05^{**}$, $0,53 \pm 0,14^{***}$

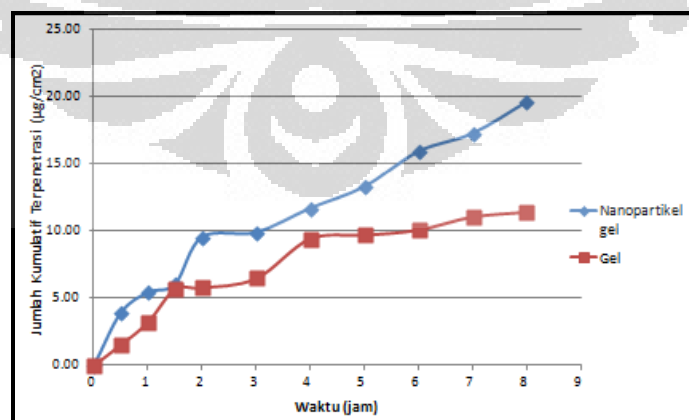
Keterangan :

* Fluks pertama, ** Fluks kedua, *** Fluks ketiga



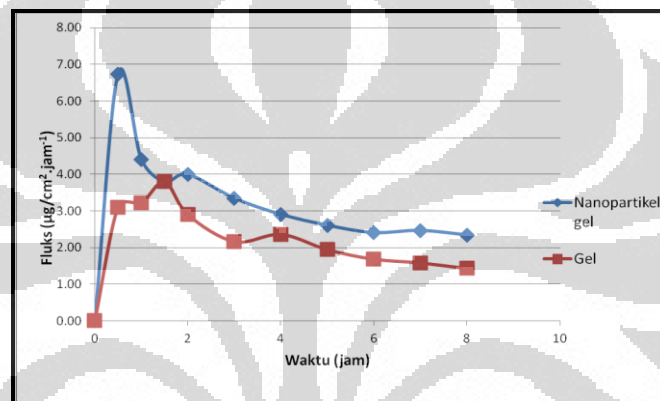


Gambar 4.8 Profil jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi pada sediaan nanopartikel gel (a) dan gel (b)



Gambar 4.9. Jumlah kumulatif terpenetrasi kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan nanopartikel gel dan gel

Apabila nilai fluks yang diperoleh dari persamaan hukum Fick pertama diplotkan terhadap waktu, akan diperoleh kurva yang diamati pada gambar 4.9. Nilai fluks meningkat pada menit ke-30 yang menunjukkan terjadinya pelepasan zat aktif secara cepat pada kedua formula. Setelah itu, nilai fluks mengalami penurunan dan akhirnya membentuk kurva menjadi datar ketika sudah mendapai keadaan *steady state* (masa tunak). Berdasarkan gambar tersebut, dapat dilihat bahwa fluks nanopartikel gel setelah mencapai masa tunak lebih tinggi dibandingkan gel.



Gambar 4.10. Fluks Kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan gel dan Nanopartikel gel.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dengan perbandingan 1 : 0,2 merupakan formula dengan karakteristik paling baik yang menghasilkan ukuran partikel $10,91 \pm 3,02$ nm dengan efisiensi penjerapan 100 %.
2. Uji penetrasi terhadap sediaan gel memberikan hasil jumlah kumulatif terpenetrasi dari formula nanopartikel gel dan gel berturut – turut $19,58 \pm 1,44$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $11,43 \pm 0,32$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

5.2 Saran

Perlu dilakukan perbaikan formula pada penelitian selanjutnya untuk memperbaiki karakteristik ukuran partikel dari sediaan gel sehingga diperoleh ukuran partikel yang lebih baik. Selain itu, penggunaan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dapat dilakukan untuk memperoleh hasil analisis kurkumin yang lebih baik.

DAFTAR ACUAN

- Aggarwal B. Bharat, et al. 2006. *Curcumin – Biological and Medical Properties*. 297-348
- Anand, Preetha, Kunnumakkara, A.B., Newman, Robert A., Aggarwal, Bharat B. (2007). *Review Bioavaibility 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.
- Basnet, Purusotam, et al. (2011). Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment. *Molecules*, 4567-4598
- Benson, Heather A.E. (2005). Transdermal Drug Delivery : Penetration Enhancement Techniques. *Current Drug Delivery* 2, 23 -33.
- Chen, Y., Wu, Q., Zhang, Z., Yuan, L., Zhou, L. (2012). Preparation of Curcumin – Loaded Liposomes and Evaluation of Their Skin Permeation and Pharmacodynamics. *Molecules* 17, 5972 – 5987.
- Goel, A., Kunnumakkara, A.B., Aggarwal, B.B. (2008). Curcumin as “curecumin”. From kitchen to clinic. *Biochemichal Pharmacology* 75, 787 – 809.
- Gupta, R.B., Kompella, U.B. (2006). *Nanoparticle Drug Delivery for Technology*. New York : Taylor & Francis Group.
- Kumar, P., Meena, K.P., Kumar, P., Choudhary, C., Thakur, S., Bajpayee, P. (2010). Dendrimer : A Novel Polymer For Drug Delivery. *JITPS Vol.1* (6), 252 – 269.
- Maheswari, M., dan Shishu. (2009). Dendrimer : The Novel Pharmaceutical drug Carriers. *International Journal of Science and Nanotechnology* Volume 2, 493 – 502.
- Markatou, E., Gionis, V., Chryssikos, G.D., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Demetzos, C. (2007). Molecular Interaction Between Dimethoxycurcumin and PAMAM Dendrimer Carriers. *International Journal of Pharmaceutics* 339, 231 - 236
- Martin, A., Swarbirck, J., Cammarata, A. (1993). *Farmasi Fisik Terj. dari Physical Pharmacy* (Edisi Ketiga, Volume 2). (Yoshita, Penerjemah) Jakarta : UI Press.

Universitas Indonesia

- Mehdina, S.H., El-Sayed, M.E.H. (2009). Dendrimers as Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Agents. *Chem. Pev* 109, 3141 – 3157.
- Mohanraj, V.J., Chen, Y., (2006). Nanoparticle – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 5 (1), 561 – 573
- Nanjwade, B.K., Behra, H.M., Derkar, G.K., Manvi, F.V., Nanjwade, V.K. (2009). Dendrimers : Emerging Polymers for Drug – Delivery System. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 185 – 196.
- Narayan, P.S., Pooja, S., Khushboo, A., Diwakar, T., Ankit, S., Singhai, A.K. (2010). Dendrimers – A Novel Drug Delivery System. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 382 – 388.
- Prajapat, R.P., Soni, B., Jain, S., Bhandari, A. (2010). Dendrimer : A Polymer of 21st Century. *Pharmaceutical Sciences* 1 (10), 1 -10
- Priyadarsini, K.I., *et al.* (2003). Role of Phenolic OH and Methylene Hdrogen on The Free Radical Reactions and Antioxidant Activity of Curcumin. *Free Radical Biology & Medicine* Vol 35, 475 – 484.
- Prow, T.W., *et al.* (2011). Nanoparticles and Microparticles for skin drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 63, 470 – 491.
- Rawat, M., Singh, D., Singh, S.S., Saraf, S. (2006). Nanocarriers : Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Niol. Phharm, Bull* 29 (9), 1790 – 1798.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*. London : Pharmaceutical Press.
- Shishodia, S., Chaturvedi, M. M., Aggarwal, B. B. (2007). *Role of Curucumin in Cancer Theraoy. Curr Probl Cabcer* , 243 - 305.
- Shishu, Maheswari, M., (2009). Dendrimers : The Novel Pharmaceutical Drug Carriers. *International Journal of Pharmaceutical and Nanotechnology* Volume 2, 493 – 502

- Singh Rajesh, Iillard jr. J.W.(2009). Nanoparticle-Based Targeted Drug Delivery. *Elsevier Inc* : 215-223
- Sonavane, G., Tomoda, K., Sano, A., Oshima, H., Terada, H., Makino, K. (2008). In Vitro Permeation of Gold Nanoparticle Through Rat Skin and Rat Intestine : Effect of Particle Size. *Colloids and Surface Biointerfaces* 65, 1 – 10
- Toraskar, M.P., Pande, V.G., Kadam, V.J. (2011). Dendrimer ; A New Approach in Pharmacy. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry* 1 (4), 1100 – 1107.
- Zaveri, M., Gajjar, H., Kanaki, N., Patel, S., (2011). Preparation and Evaluation of Drug Phospholipids Complex For Increasing Transdermal Penetration of Phytoconstituents. *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences* 1 (3), 80 – 92
- Zhang, J., Jinnal, S., Ikeda, R., Wada, M., Hayashida, S., Nakashima, K. (2009). A Simple HPLC – Fluorescence Method for Quantitation of Curcuminoids and Its Application to Turmeric Products. *Analytical sciences* Vol 25, 385 – 388



LAMPIRAN



Daftar Lampiran

Lampiran Perhitungan	1 - 7
Lampiran Tabel	8 - 16
Lampiran Gambar	17 - 25
Lampiran Sertifikat Analisis	26 - 30

Lampiran 1. Contoh perhitungan bahan kurkumin dan dendrimer PAMAM G4
tiap formulasi

A. Rasio molar kurkumin dan dendrimer PAMAM G4 (1:0,2)

Larutan dendrimer PAMAM G4 yang tersedia adalah 10 % (b/b) dalam metanol dengan berat 2,5 g, diencerkan terlebih dahulu menjadi 0,1 % →
 $\frac{0,1\%}{10\%} \times 2,5\text{ g} = 0,025\text{ g}$.

Berat jenis larutan dendrimer PAMAM G4 adalah 0,813 g/ml, maka volume yang diambil adalah $\frac{0,025\text{ g}}{0,813\text{ g/ml}} = 0,03075\text{ ml} = 0,3075\text{ ml}$ (ad 10,0 ml metanol).

$$\begin{aligned} \text{Mol dendrimer } 0,1\% &= \frac{0,0025\text{ g}}{2,5\text{ g}} = \frac{0,0025\text{ g}}{\frac{2,5\text{ g}}{0,813\text{ ml}}} = \frac{0,0025\text{ g}}{3,075\text{ ml}} \\ &= 0,000813\text{ g/ml} = 0,813\text{ g/l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol dendrimer } 0,1\% &= \frac{0,813\text{ g/L}}{14214,17\text{ g/mol}} = 5,72 \times 10^{-5}\text{ mol/L} \\ &= 5,72 \times 10^{-5}\text{ mmol/ml} \end{aligned}$$

$$\text{Mol kurkumin} = \frac{1}{0,2} \times 5,72 \times 10^{-5}\text{ mmol/ml} = 2,86 \times 10^{-4}\text{ mmol/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat kurkumin yang ditimbang} &= 2,86 \times 10^{-4}\text{ mmol/ml} \times 368,37\text{ mg/mmol} = \\ &0,10535\text{ mg/ml} = 105,35\text{ ppm (sebanyak 10,0 ml)} \end{aligned}$$

$$\text{Volume larutan dendrimer } 0,1\% \text{ yang ditambahkan} = 10,0\text{ ml}$$

B. Rasio molar kurkumin dan dendrimer PAMAM (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 % →
 $\frac{0,15\%}{10\%} \times 2,5\text{ g} = 0,0375\text{ g}$.

Berat jenis 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).

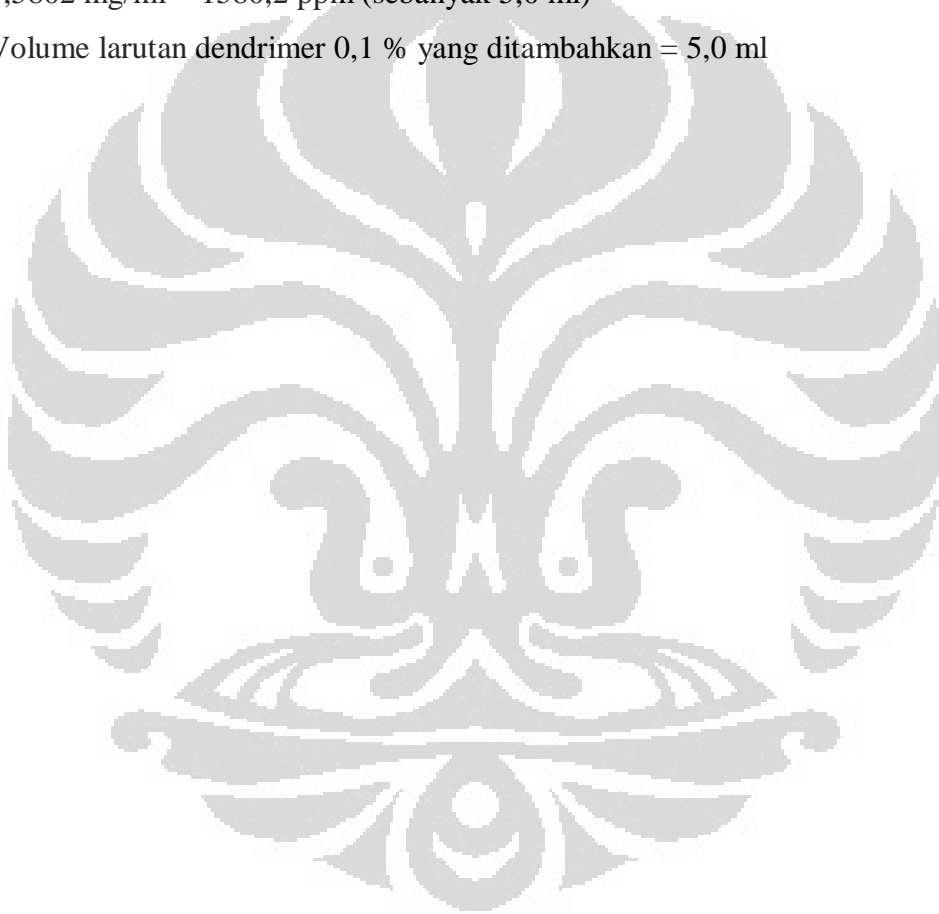
$$\begin{aligned} \text{Mol dendrimer } 0,15 \% &= \frac{0,00375 \text{ g}}{2,5 \text{ g}} = \frac{0,00375 \text{ g}}{\frac{2,5 \text{ g}}{0,815 \text{ ml}}} = \frac{0,00375 \text{ g}}{3,075 \text{ ml}} \\ &= 0,0012195 \text{ g/ml} = 1,2195 \text{ g/l} \end{aligned}$$

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

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

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

$$\text{Volume larutan dendrimer } 0,1 \% \text{ yang ditambahkan} = 5,0 \text{ ml}$$



Lampiran 2. Contoh rumus dan perhitungan penetapan kadar kurkumin dalam nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 (*drug loading*)

$$\text{Drug loading} = \frac{\text{Bobot Obat Terjerap}}{\text{Bobot Total sediaan}} \times 100\%$$

- a. Kadar kurkumin dalam nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1 : 0,2)

$$\begin{aligned} \text{Bobot kurkumin total} &= 105,36 \text{ ppm} = 105,36 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 10,0 \text{ ml} \\ &= 1053,6 \mu\text{g} \\ \text{Konsentrasi kurkumin bebas} &= 0,00 \text{ ppm.} \\ \text{Bobot kurkumin bebas} &= 0,00 \mu\text{g} \\ \text{Bobot kurkumin terjerap} &= 1053,6 \mu\text{g} - 0,00 \mu\text{g} = 1053,6 \mu\text{g} \\ \text{Presentase drug loading} &= \frac{1053,6 \mu\text{g}}{20 \text{ ml}} = 52,68 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = 0,005268 \% \\ &= 0,0053\% \end{aligned}$$

- b. Kadar kurkumin dalam nanopartikel kurkumin – dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1 : 0,02)

$$\begin{aligned} \text{Bobot kurkumin total} &= 1582 \text{ ppm} = 1582 \times 5,0 \text{ ml} = 7910 \mu\text{g} \\ \text{Konsentrasi kurkumin bebas} &= 1,005 \text{ ppm.} \\ \text{Bobot kurkumin bebas} &= 1,005 \text{ ppm} = 1,005 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 2,0 \text{ ml} = 2,01 \mu\text{g} \\ \text{Bobot kurkumin bebas} \times F_p &= 2,01 \times 10 = 20,10 \mu\text{g} \text{ (dalam 2 ml)} \\ \text{Jika dalam 10,0 ml, maka } \frac{10}{2} \times 20,10 &= 100,5 \mu\text{g} \\ \text{Bobot kurkumin terjerap} &= 7910 \mu\text{g} - 100,5 \mu\text{g} = 7809,5 \mu\text{g} \\ \text{Presentase drug loading} &= \frac{7809,5 \mu\text{g}}{10 \text{ ml}} = 780,95 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = 0,078095 \% \\ &= 0,0781 \% \end{aligned}$$

Lampiran 3. Contoh rumus dan perhitungan persentase efisiensi penjerapan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4

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

- a. Efisiensi Penjerapan pada nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1 : 0,2)

$$\text{Konsentrasi kurkumin total} = 52,68 \text{ ppm}$$

$$\text{Bobot kurkumin total} = 52,68 \text{ ppm} = 52,68 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 5 \text{ ml} = 263,4 \mu\text{g}$$

$$\text{Konsentrasi kurkumin bebas} = 0,00 \text{ ppm} \times F_p = 0,00 \text{ ppm}$$

$$\text{Bobot kurkumin bebas} = 0,00 \text{ ppm} \times \text{volume yang diuapkan}$$

$$= 0,00 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 3 \text{ ml} = 0,00 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ Efisiensi Penjerapan} = \frac{(263,4 \mu\text{g} - 0 \mu\text{g})}{263,4 \mu\text{g}} \times 100\% = 100\%$$

- b. Efisiensi Penjerapan pada nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan rasio molar (1 : 0,02)

$$\text{Konsentrasi kurkumin total} = 791 \text{ ppm}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi kurkumin bebas} &= 1,005 \text{ ppm} \times F_p = 1,005 \text{ ppm} \times 10 \\ &= 10,05 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\text{Bobot kurkumin bebas} = 10,05 \text{ ppm} \times \text{volume yang diuapkan}$$

$$= 10,05 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 2 \text{ ml} = 20,10 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ Efisiensi Penjerapan} = \frac{(1582 \mu\text{g} - 20,10 \mu\text{g})}{1582 \mu\text{g}} \times 100\% = 98,73\%$$

Lampiran 4. Contoh perhitungan penetapan kadar kurkumin

Persamaan regresi : $y = 0,0006 + 0,1437 x$

Bobot gel yang ditimbang : $\pm 1,0$ g (konsentrasi gel kurkumin 0,01053%)

Gel ditambahkan metanol 10 ml



Larutan tersebut disaring dalam labu tentukur 25,0 ml. Kemudian beberapa basis gel yang tersisa pada kertas saring dicuci menggunakan metanol



Larutan dicukupkan hingga 25,0 ml



Larutan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 423,0 nm

Data 1

Massa gel yang ditimbang = 1,0413 g
 Serapan yang terukur (y) = 0,70475
 Konsentrasi kurkumin = 4,9001ppm
 Penetapan kadar kurkumin = 0,0118 %

Data 2

Massa gel yang ditimbang = 1,0655 g
 Serapan yang terukur (y) = 0,6985
 Konsentrasi kurkumin = 4,8566 ppm
 Penetapan kadar kurkumin = 0,0114 %

Data 3

Massa gel yang ditimbang = 1,0121 g
 Serapan yang terukur (y) = 0,6924
 Konsentrasi kurkumin = 4,8225 ppm
 Penetapan kadar kurkumin = 0,01191 %

Lampiran 5. Contoh perhitungan jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan gel kurkumin pada menit ke- 60

$$\text{Serapan (y)} = 0,0050$$

$$y = 0,0010x + 0,0326$$

$$x = 0,07650 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor pengenceran (FP)} &= \text{volume labu tentukur} : \text{volume } \textit{sampling} \\ &= 5 \text{ ml} : 0,5 \text{ ml} = 10x \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi terpenetrasi} &= x \times \text{FP} \\ &= 0,07650 \times 10 \\ &= 0,7650 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi :

$$Q = \frac{\{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C \cdot S\}}{A}$$

$$C_n = \text{Konsentrasi kurkumin (} \mu\text{g/ml) pada } \textit{sampling} \text{ menit ke-60} = 0,7659 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$V = \text{Volume sel difusi Franz} = 13,0 \text{ ml}$$

$$\sum_{i=1}^{n-1} C = \text{Nilainya } 2,3823 \text{ untuk } \textit{sampling} \text{ pertama (menit ke-60)}$$

$$S = \text{Volume } \textit{sampling} = 0,5 \text{ ml}$$

$$A = \text{Luas area membran} = 1,54 \text{ cm}^2$$

$$Q = \frac{(0,7659 \text{ } \mu\text{g/ml} \times 13 \text{ ml}) + (2,3823 \times 0,5 \text{ ml})}{1,54 \text{ cm}^2} = 6,44 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$$

Jadi, jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-60 adalah 6,44 $\mu\text{g/cm}^2$

Lampiran 6 . Contoh perhitungan fluks kurkumin setiap jam dari sediaan gel Nanopartikel Kurkumin

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

$$J = \frac{M}{S \times t}$$

Dimana:

- J = Fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$)
M = Jumlah kumulatif kurkumin yang melalui membran (μg)
S = Luas area difusi (cm^2)
t = Waktu (jam)

Diketahui:

- $M / S = 19,58 \pm 1,44 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
 $(M / S)_1 = 19,93 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
 $(M / S)_2 = 17,15 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
 $(M / S)_3 = 19,221 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

$$J_1 = \frac{19,93}{8} = 2,49 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J_2 = \frac{17,15}{8} = 2,14 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J_3 = \frac{19,22}{8} = 2,40 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J \text{ rata-rata} = 2,36 \pm 0,18 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

Jumlah fluks kurkumin dari sediaan gel adalah $2,36 \pm 0,18 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$

Lampiran 7. Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan gel kurkumin pada menit ke- 480

Jumlah kurkumin dalam 1 g sampel adalah 105,3 μg

Sampel yang diaplikasikan pada kulit sebanyak 1 g

Data 1

$$\begin{aligned} \% \text{ jumlah kumulatif terpenetrasi} &= \frac{11,15 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times 1,54 \text{ cm}^2}{105,3 \mu\text{g}} \times 100\% \\ &= 16,31\% \end{aligned}$$

Data 2

$$\begin{aligned} \% \text{ jumlah kumulatif terpenetrasi} &= \frac{11,78 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times 1,54 \text{ cm}^2}{105,3 \mu\text{g}} \times 100\% \\ &= 17,22 \% \end{aligned}$$

Data 3

$$\begin{aligned} \% \text{ jumlah kumulatif terpenetrasi} &= \frac{11,36 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times 1,54 \text{ cm}^2}{105,3 \mu\text{g}} \times 100\% \\ &= 16,61\% \end{aligned}$$

Jadi % jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan gel adalah 16,72 \pm 0,46 %

Lampiran 8. Hasil penentuan ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C berdasarkan jumlah partikel

	Formula 2	Formula 3
	(1:0,02)	(1:0,002)
1	96,70 nm	1,60 nm
2	39,60 nm	86,90 nm
3	47,00 nm	9,20 nm
Rata-Rata	61,10 nm	32,57 nm
Standar Deviasi	± 31,05 nm	± 47,21 nm
d 10	32,4 nm	64,0 nm
d 50	32,7 nm	76,0 nm
d 90	39,8 nm	110,0 nm

Lampiran 9. Tabel hasil penentuan diameter ukuran partikel nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM) pada formula 1

Partikel	Diameter (nm)
1	7.387
2	12.003
3	6.374
4	7.058
5	7.492
6	14.206
7	6.828
8	15.052
9	10.966
10	11.011
11	14.320
12	11.524

13	8.404
14	13.807
15	9.511
16	14.400
17	10.378
18	15.734
19	12.250
20	9.552
Rata-rata	10.913
Standar Deviasi	3.02

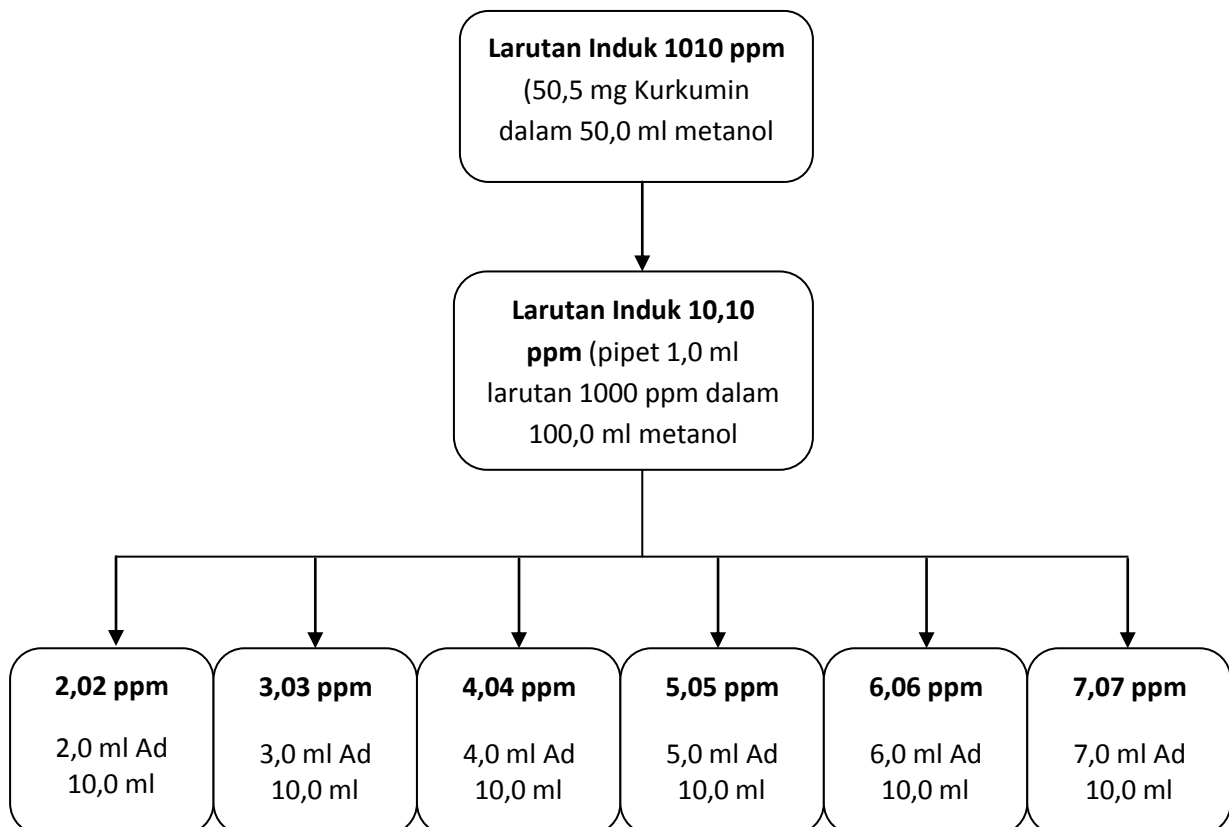
Lampiran 10. Tabel hasil nilai indeks polidispersitas nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C

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

Lampiran 11. Tabel hasil nilai zeta potensial nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dari alat *Particle Analyzer* Delsa Nano C

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

Lampiran 12. Bagan perhitungan kurva kalibrasi larutan standar kurkumin pada berbagai konsentrasi



Lampiran 13. Data serapan (A) standar kurkumin tiap konsentrasi (ppm) pada panjang gelombang 423,00 nm

Konsentrasi kurkumin standar (ppm)	Serapan (A)
2,020	0,2933
3,030	0,4452
4,040	0,5851
5,050	0,7278
6,060	0,8895
7,070	1,0139

Lampiran 14. Data serapan (A) standar kurkumin tiap konsentrasi (ppm) pada panjang gelombang 424,50 nm

Konsentrasi kurkumin standar (ppm)	Serapan (A)
0,03	0,0011
0,05	0,0017
0,10	0,0087
0,20	0,0146
0,30	0,0157
0,40	0,0217
0,50	0,0269

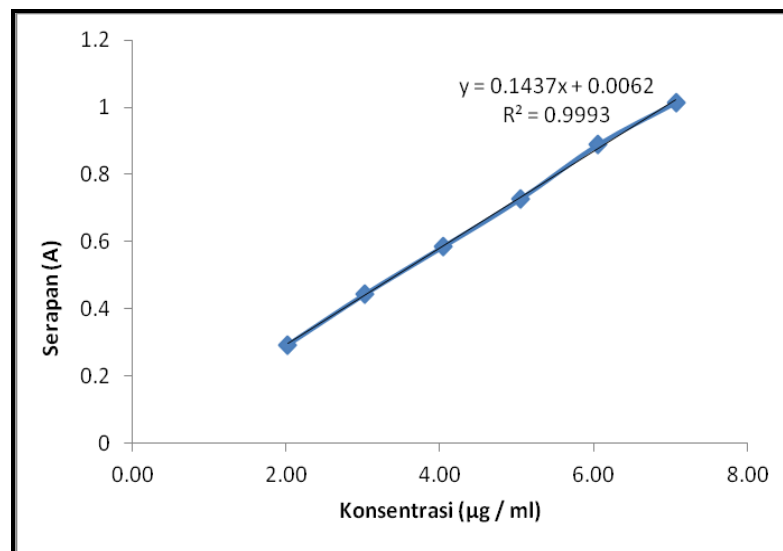
Lampiran 15. Hasil uji penetrasi kurkumin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan gel formula nanopartikel gel dan formula gel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

Waktu (Menit)	Jumlah Kurkumin Terpenetrasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
	Nanopartikel gel	Gel
30	3,93 \pm 1,12	1,55 \pm 2,14
60	5,45 \pm 2,32	3,22 \pm 2,81
90	6,05 \pm 4,21	5,69 \pm 2,55
120	9,56 \pm 3,11	5,80 \pm 3,62
180	9,91 \pm 1,90	6,49 \pm 2,39
240	11,70 \pm 2,59	9,44 \pm 1,91
300	13,30 \pm 2,00	9,72 \pm 2,26
360	15,92 \pm 2,53	10,10 \pm 2,51
420	17,25 \pm 0,07	11,07 \pm 0,50
480	19,58 \pm 1,44	11,43 \pm 0,32

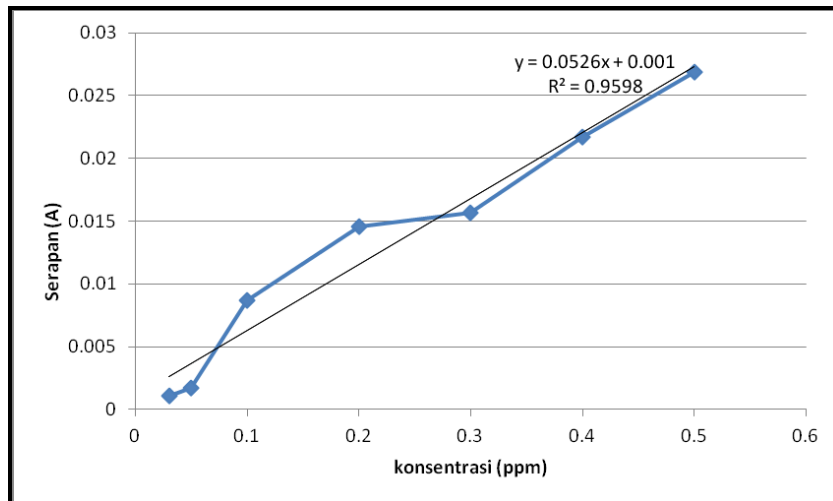
Lampiran 16. Hasil perhitungan fluks kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan gel formula nanopartikel gel dan formula gel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

Waktu (Menit)	Fluks kurkumin ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{jam}^{-1}$)	
	Formula Nanopartikel gel	Formula gel
30	$6,74 \pm 2,25$	$3,10 \pm 4,27$
60	$4,41 \pm 2,32$	$3,22 \pm 2,81$
90	$3,80 \pm 2,81$	$3,79 \pm 1,70$
120	$4,45 \pm 1,76$	$2,90 \pm 1,81$
180	$3,36 \pm 0,62$	$2,16 \pm 0,80$
240	$2,92 \pm 0,64$	$2,36 \pm 0,48$
300	$2,62 \pm 0,39$	$1,94 \pm 0,45$
360	$2,42 \pm 0,43$	$1,68 \pm 0,42$
420	$2,47 \pm 0,01$	$1,58 \pm 0,07$
480	$2,35 \pm 0,19$	$1,43 \pm 0,04$

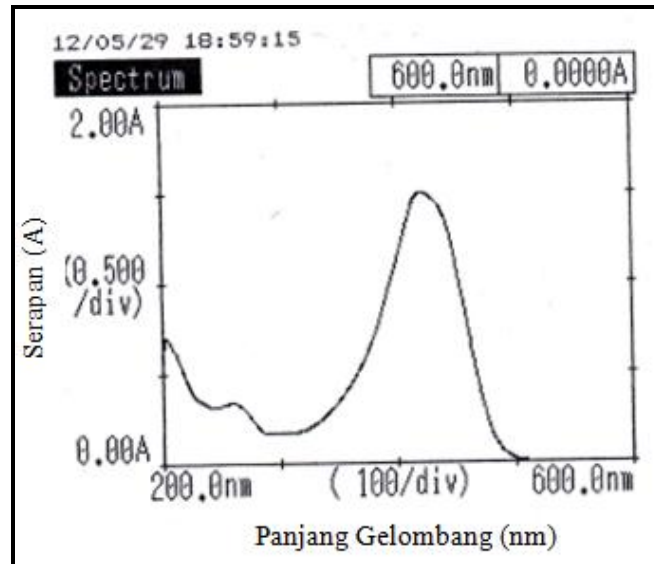
Lampiran 17. Kurva kalibrasi larutan standar kurkumin dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 423,00 nm



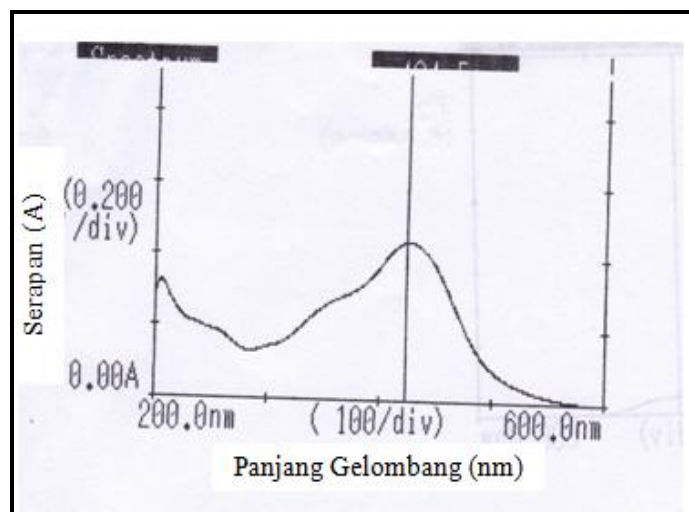
Lampiran 18. Kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat pada panjang gelombang 424,5 nm

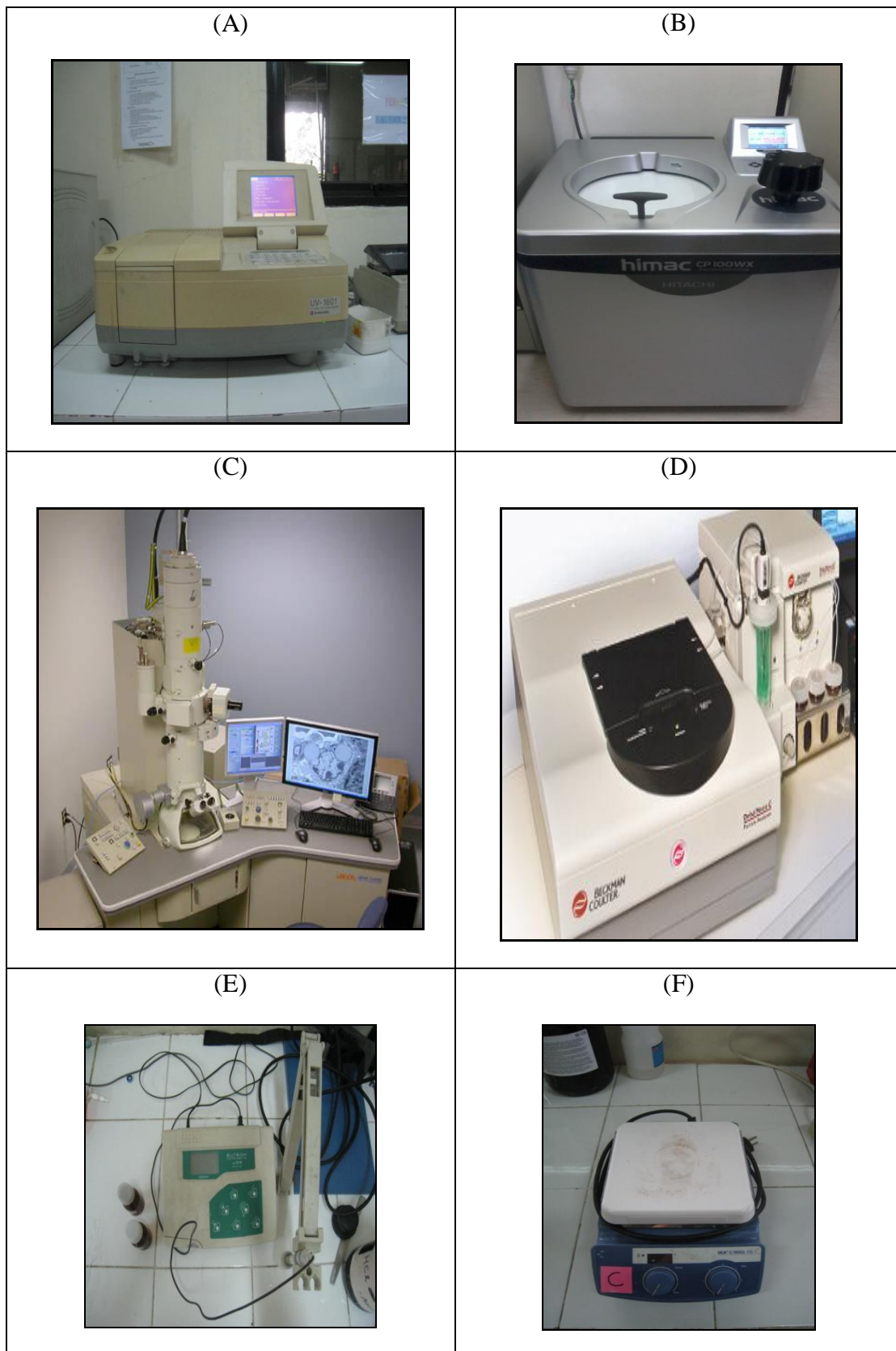


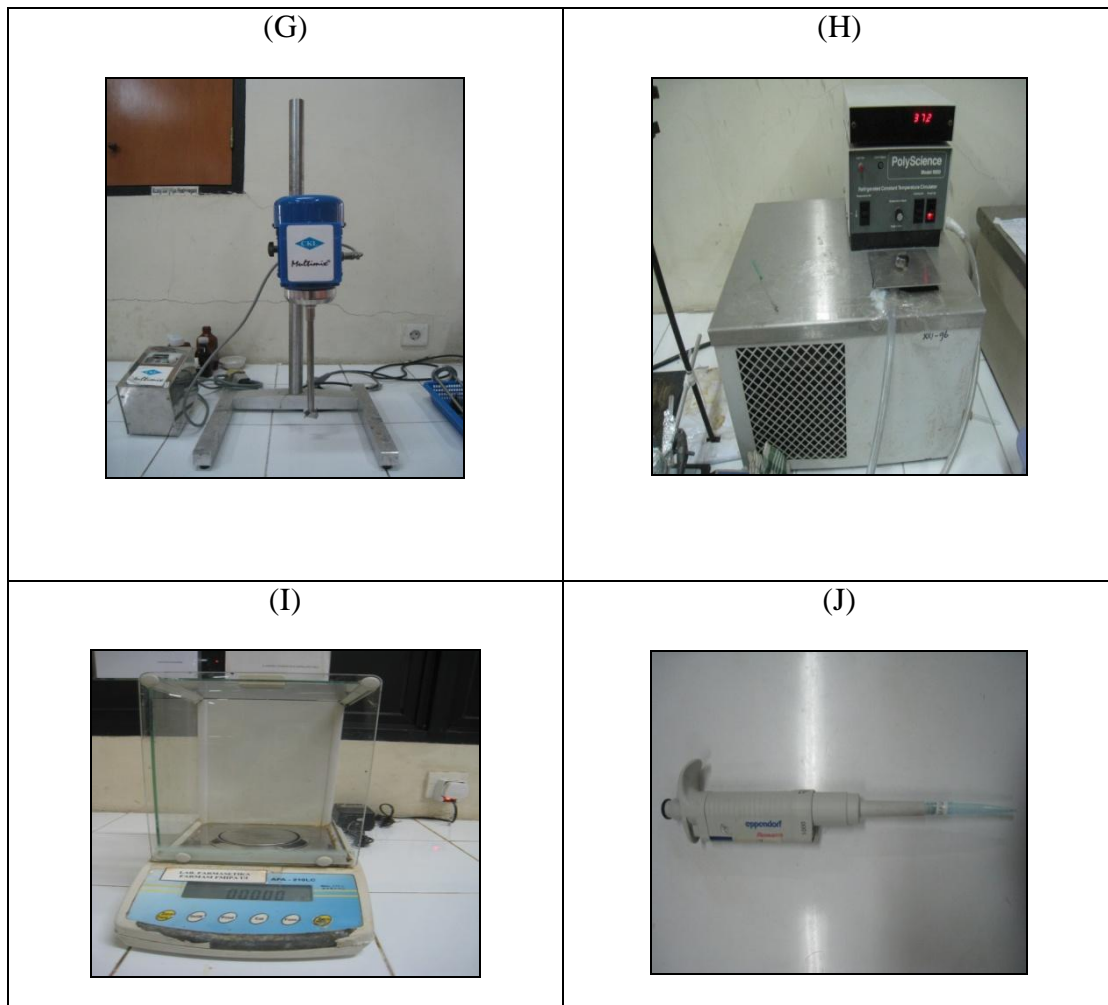
Lampiran 19. Kurva spektrum serapan kurkumin dalam metanol pada panjang gelombang 423,00 nm



Lampiran 20. Kurva spektrum serapan kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,4 pada panjang gelombang 424,50 nm



Lampiran 21. Foto alat yang digunakan



Keterangan :

(A) Alat Spektrofotometer UV-Vis

(B) Ultrasentrifugasi

(C) TEM

(D) *Particle Analyzer*

(E) Pengaduk Magnetik

(F) pH-meter

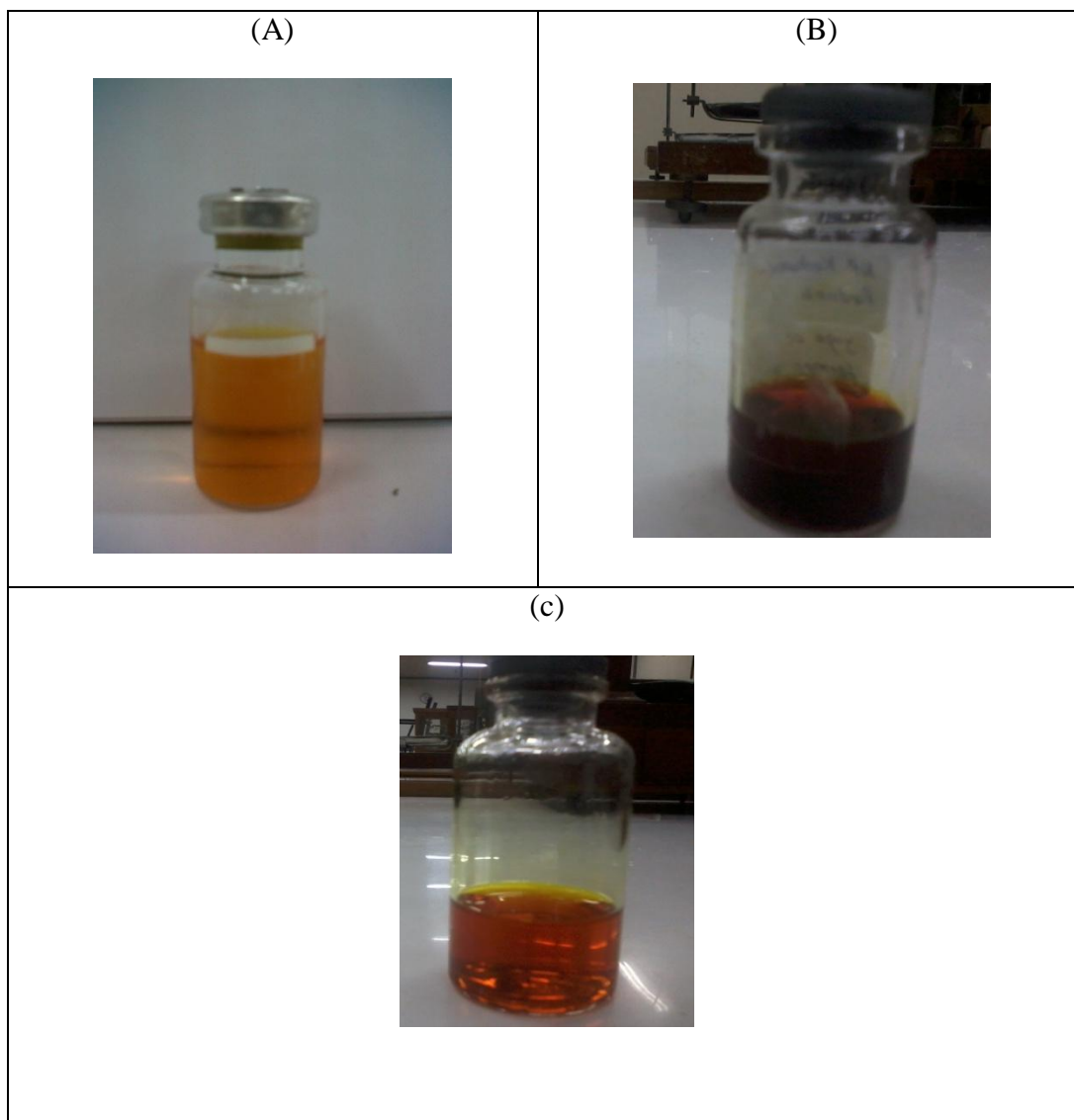
(G) Homogenizer

(H) *Water Heater*

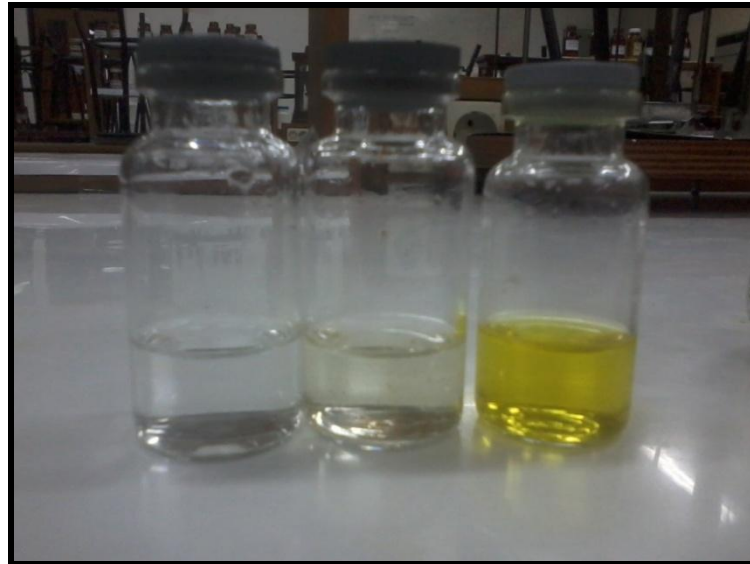
(I) Timbangan Analitik

(J) Mikropipet

Lampiran 22. Penampilan larutan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM
G4. Keterangan (A) formula 1 ; (B) formula 2 ; (C) formula 3



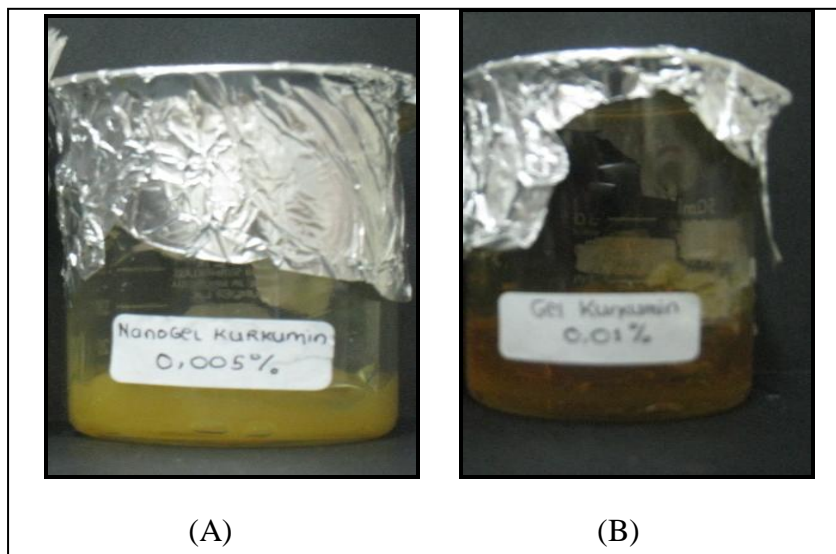
Lampiran 23. Hasil endapan kurkumin bebas setelah dipisahkan dengan ultrasentrifugasi dan ditambah metanol formula 1, formula 2, dan formula 3 (kiri – kanan)



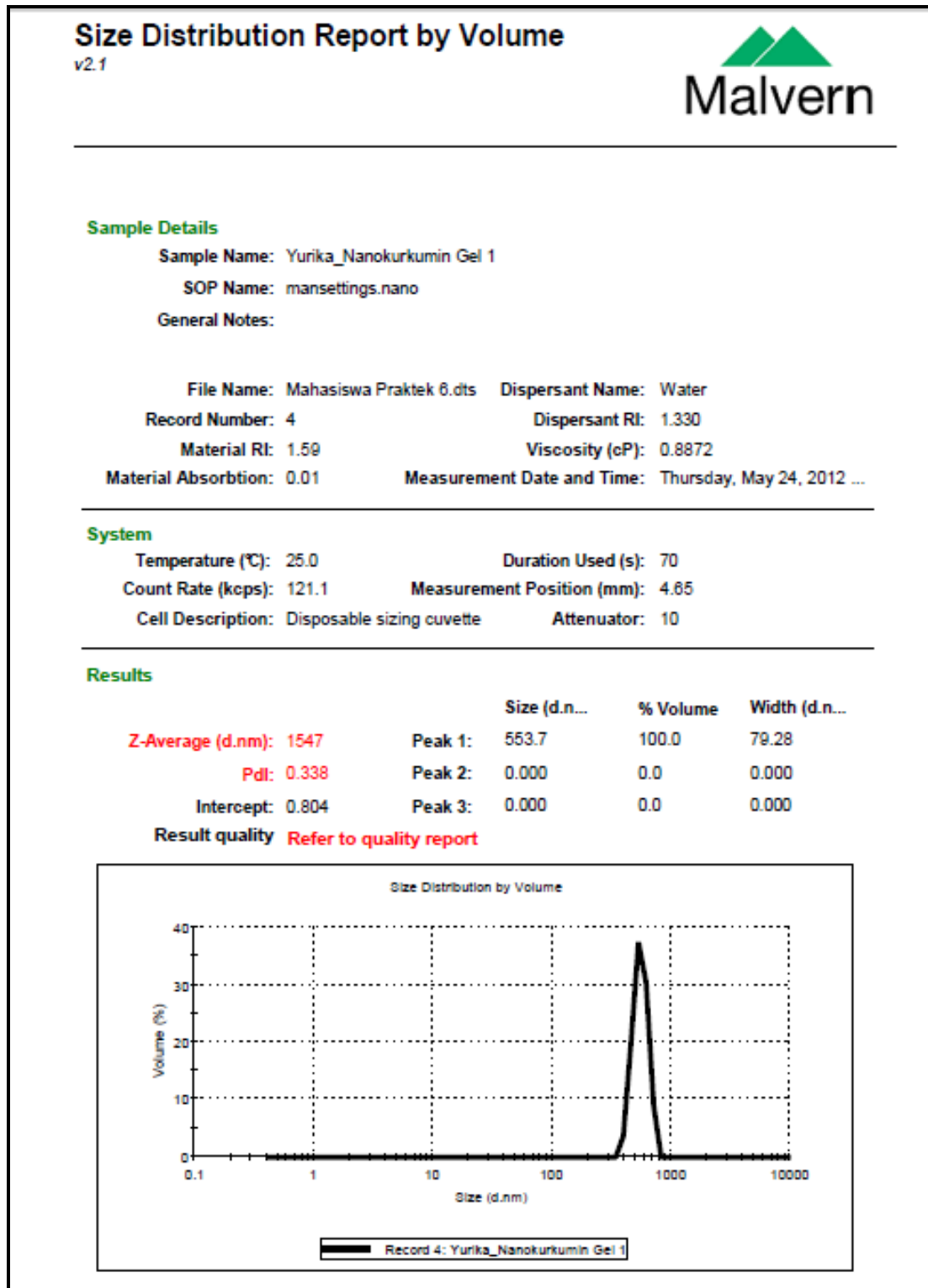
Lampiran 24. Gambar proses pengadukan nanopartikel kurkumin-dendrimer PAMAM G4 dengan pengaduk magnetik selama 24 jam



Lampiran 25. Gambar gel nanopartikel kurkumin (A) dan gel kurkumin (B)



Lampiran 26. Hasil pengukuran partikel gel nanopartikel kurkumin



Lampiran 27. 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 ,

Y. Matinda
(YUONNE MATINDA P.)


Lampiran 28. Sertifikat analisis Karbopol 940

 <p>LUBRIZOL ADVANCED MATERIALS ASIA PACIFIC LTD 1107-1110 SHILON CENTRE, 45 HARBOUR ROAD WANCHAI, HONGKONG TEL: +852 2508 1021</p>		CERTIFICATE OF ANALYSIS			
<i>LZ Sales Order No.:</i> 1365869 <i>Customer PO No.:</i> 275843 <i>Delivery No.:</i> 81732891 <i>Ex-Plant Date:</i> April 25, 2011		<i>Date:</i> April 29, 2011 <i>Page:</i> 3 of 3	<i>Certificate recipient:</i>		
<i>Delivery Point:</i> JAKARTA <i>Transportation ID:</i> #B88996 <i>Compartment/Seals:</i>		<i>Material:</i> CARBOPOL® 940 POLYMER, BOX <i>Qty:</i> 18.0 CT <i>Batch No.:</i> KK138KC342 <i>Mfg. Date:</i> March 13, 2011 <i>Recommended Retest:</i> March 12, 2013			
<i>Sold-to:</i>  <p>CV. TRISTAR CHEMICALS www.tristarchemical.com Jl. Tungku Mapan Utara CA - 24 Surabaya Telp. 031 - 8708071, Fax 031 - 8708072</p>		<i>Ship-to:</i>			
Characteristics		Product Specifications			
		Minimum	Typical	Maximum	Result
BROOKFIELD VIS, 0.2% MUCILAGE @25°C		cP	19000	35000	
BROOKFIELD VIS, 0.5% MUCILAGE @25°C		cP	40000	60000	48800
BROOKFIELD VIS, 1.0% MUCILAGE @25°C		cP	45000	80000	
PPM BENZENE		ppm		5000	200
CLARITY, % TRANSMITTANCE		%	85		97
LOSS ON DRYING		%		2.0	
HM AS (PILAS, H, SB) TO PPM MAX					Pass
<p>Where actual values for Loss on Drying (Once/10 lots), 0.2% Brookfield Viscosity (Once/20 lots), 1.0% Brookfield Viscosity (Once/20 lots) and Heavy Metals (Once/200 lots) are not given, Lubrizol Advanced Materials, Inc. certifies that each batch/lot meets requirements for the characteristics based on historical process and product data. Because these characteristics are tested on a skip-lot test frequency as indicated on the product specification, results are not reported on the Certificate of Analysis.</p>					
<p style="text-align: right;"><i>We guarantee that the above analytical results are in conformity with the agreed upon specifications.</i></p> <p style="text-align: right;"><i>Approved by: Lubrizol Quality Assurance</i></p>					

Lampiran 29. 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, ethylenediamine core, generation 4.0 solution - 10 wt. % in methanol			
Product Number:	412449		
Lot Number:	MK8G8078		
Brand:	ALDRICH		
MDL Number:	MFC00197936		
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	
<i>Jamie Gleason</i>			
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 30. Sertifikat analisis tikus putih



**BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dr. Ir. Asnath M.Fuah, MS

Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja dan Aneka Ternak

Alamat : Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga-Bogor



Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *spraque dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Aneka Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Bogor 8 Maret 2012

Kepala Bagian
Produksi Ternak Daging, Kerja dan Aneka Ternak

Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS
NIP.195410151979032001