OPTIMASI FORMULA INTRANASAL NANOPARTIKEL KITOSAN PEMBAWA FENOBARBITAL DENGAN VARIASI JENIS *CROSSLINKER*, WAKTU SONIKASI, DAN WAKTU PENGADUKAN

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas FMIPA

Oleh:

NOVITA DWILISTIANA

08061181520083

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2019

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah Hasil	:OPTIMASI FORMULA INTRANASAL NANOPARTIKEL KITOSAN PEMBAWA FENOBARBITAL DENGAN VARIASI JENIS *CROSSLINKER*, WAKTU SONIKASI, DAN WAKTU PENGADUKAN
Nama Mahasiswa	: NOVITA DWILISTIANA
NIM	: 08061181520083
Jurusan	: FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sriwijaya pada tanggal 12 Juli 2019 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 15 Juli 2019

Pembimbing :

1. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. (.....)
   NIP. 197103101998021002
2. Annisa Amriani S, M.Farm., Apt. (.....)
   NIPUS. 198412292014082201

Pembahas :

1. Dr. Nirwan Syarif, M.Si. (.....)
   NIP. 197010011999031003
2. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt (.....)
   NIP. 199308162019032025
3. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt. (.....)
   NIP. 160302580192001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI

Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si.,Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : OPTIMASI FORMULA INTRANASAL NANOPARTIKEL KITOSAN PEMBAWA FENOBARBITAL DENGAN VARIASI JENIS *CROSS-LINKER*, WAKTU SONIKASI, DAN WAKTU PENGADUKAN

Nama Mahasiswa : NOVITA DWILISTIANA

NIM : 08061181520083

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 26 Juli 2019 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 29 Juli 2019

Ketua :

1. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. (.....)
   NIP. 197103101998021002

Anggota :

1. Herlina, M.Kes., Apt (.....)
   NIP. 197107031998022001
2. Annisa Amriani S, M.Farm., Apt. (.....)
   NIPUS. 198412292014082201
3. Indah Solihah, M.Sc., Apt. (.....)
   NIP. 198803082019032015
4. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt. (.....)
   NIP. 160302580192001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI

Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa	: Novita Dwilistiana
NIM	: 08061181520083
Fakultas/Jurusan	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 19 Juli 2019
Penulis,

Novita Dwilistiana
NIM. 08061181520083

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa	: Novita Dwilistiana
NIM	: 08061181520083
Fakultas/Jurusan	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya	: Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "hak bebas royalti non-ekslusif" (*non-exclusively royalty-freeright*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: "Optimasi Formula Intranasal Nanopartikel Kitosan Pembawa Fenobarbital dengan Variasi Jenis *Crosslinker*, Waktu Sonikasi, dan Waktu Pengadukan" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-ekslusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, 19 Juli 2019

Penulis,

Novita Dwilistiana
NIM. 08061181520083

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيْمِ

(*Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang*)

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua, kakak dan adik tercinta, keluarga besar, guru, almamater, sahabat, serta teman yang saya sayangi.

Motto:

"Barang siapa bertakwa kepada Allah niscaya Dia akan membukakan jalan keluar baginya, dan Dia memberinya rezeki dari arah yang tidak disangka-sangkanya. Dan barang siapa bertawakal kepada Allah, niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya. Sesungguhnya Allah melaksanakan urusan-Nya. Sungguh, Allah telah mengadakan ketentuan bagi setiap sesuatu"
(Q.S At-Talaq: 2-3)

"Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui"
(Q.S. Al-Baqarah: 216)

Life is like riding a bicycle. To keep your balance, you must keep moving
(Albert Einstein)

Man Jadda Wa Jadda

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah, Tuhan Semesta Alam yang atas rahmat dan karunia- Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul "Optimasi Formula Optimum Intranasal Nanopartikel Kitosan Pembawa Fenobarbital dengan Variasi Jenis *Crosslinker*, Waktu Sonikasi, dan Waktu Pengadukan". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Jurusan Farmasi pada Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terima kasih setulus-tulusnya kepada:

1. Allah SWT, Berkat izin dan kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan studi.
2. Kedua orang tua penulis yang sangat penulis sayangi, yaitu Mama (Marhana) dan Bapak (M.Sadar) yang selalu menyayangi, mencintai, menjaga, mendoakan, dan mendukung penulis tanpa henti. Terimasih kepada Kakak (Melta Marda Piana) dan Adik (Hilda Tri Yunisa) yang juga selalu menyayangi dan menjaga penulis. Terima kasih Mama, Bapak, Kakak, dan Adik kalian sangat berarti bagiku, semoga kita dipertemukan kembali di surganya Allah SWT.
3. Rektor Universitas Sriwijaya (Prof.Dr.Ir.H.Anis Saggaff, MSCE), Dekan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (Prof. Dr. Iskhaq Iskandar, M.Sc.), dan Ketua Jurusan Farmasi (Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.) yang telah menyediakan sarana dan prasarana selama perkuliahan dan penelitian hingga selesai.
4. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M. Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Annisa Amriani S, M.Farm., Apt serta Najma Annuria Fithri, M.Sc., Apt. selaku pembimbing II yang telah memberikan ilmu dan bimbingan, waktu, doa, serta semangat dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.

5. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dari awal perkuliahan sampai penyusunan skripsi selesai.
6. Ibu Fitrya, M.Si., Apt., Ibu Dr. Hj. Budi Untari, M. Si., Apt., Ibu Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt., Ibu Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt., dan Bapak Nirwan Syarif, M.Si. selaku dosen pembahas serta seluruh dosen Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan serta dukungan selama perkuliahan.
7. Seluruh Staf (Kak Ria dan Kak Adi) dan analis (Kak Tawan, Kak Isti, Kak Fitri, Kak Erwin, dan Kak Putri) Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan banyak bantuan selama perkuliahan.
8. Sahabat-sahabat dan Kakak-kakak penghuni Apartemen, Kak Melta, Yuk Devia, Yuk Tiara, Yuk Septy, Yuk Rani, Nadya, Yuliska, Dek Lisya, dan Dek Gia yang insyaAllah akan selalu penulis sayangi, cintai, dan penulis ingat. Terima kasih atas waktu, kenangan, kenyamanan, kebahagiaan, dan motivasi yang kalian berikan kepadaku selama ini. *Saranghaeo*!
9. Grup "Cherrybelle" Oktari dan Dea sahabat yang selalu ada dikala suka dan duka, sahabat curhatku, sahabat recehku, sahabat yang selalu membawa kebahagiaan dimana pun berada, jangan lupakan aku, sukses terus untuk kalian! dan juga Nindi, Beta, Desi, Miranti, Mak Nop, dan Kak Rina terima kasih telah membuat hari-hariku di masa perkuliahan menjadi lebih bermakna. Suka dan duka, kebersamaan dan keceriaan yang telah kita lewati bersama insyaAllah tidak akan pernah terlupakan. *Love you*!
10. Penghuni "Kosan Sepetak" (Atikah Haniyah dan Regina Astryani) terima kasih untuk semua kebersamaan nan indah selama kurang lebih 1 bulan di "Kosan Sepetak". Takkan terlupakan kenangan makan ayam geprek sampai kepedesan keluar air mata, wkwkwk. Terima kasih sudah mau menampung orang penakut seperti aku. Jangan lupakan aku ya teman.
11. Teman seperjuangan TA Tekfar (Dea Palupi Iranti, Oktari, Dwi Rahmawati Lestari, Tuti Nanda Yuliana, Anindiah Sri Utami, Desi Rosdiana Sari, Beta Aulia, Atikah Haniyah, Intan Raudya Tuzahra, Ria Nanda Dwi Utami, Annisya Dia Pitaloka, Peeni Dwi Rezky Z, Marcelin Anggraini, Regina

Astryani, Emilia Contesa, Dian Adiyatama, Suryani, Putri Siti Rahayu) terima kasih untuk semua bantuan, semangat, doa, dan kerja samanya.

12. Keluargaku, 11 Juli (Nindi, Dian, Suryani, Siti) sebagai teman yang berjuang menuju semhas, segala rintangan telah kita lewati bersama teman, tangis, tawa, membawa kita menjadi lebih kuat. Teman yang setia membantu dan menemani dalam keadaan apapun. Semangat untuk kedepannya teman seperjuangan semhas, *U can do it*!
13. Partner penelitianku, Dwi Rahmawati Lestari dan Tuti Nanda Yuliana yang selalu tanpa henti memberi motivasi, semangat, teman berbagi keluh kesah, terima kasih untuk selalu sabar menjawab segala pertanyaan seputar penelitian. Partner penelitian setengah jalan, Marcelin Anggraini yang selalu saling mengingatkan, saling menguatkan. Sukses terus untuk kalian semua partner penelitian ku.
14. Teman-teman seperjuangan Farmasi angkatan 2015 terima kasih atas segala bantuan, kerja sama, dan kenangan yang telah kita lewati bersama. Semoga kita dipertemukan lagi di kesempatan lain.
15. Terima kasih kakak-kakak dan adik-adik tingkat di Farmasi UNSRI (2011, 2012, 2013, 2014, 2016, 2017, dan 2018) atas bantuan dan semangatnya.
16. Seluruh pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan studi hingga selesai.

Semoga Allah membalas setiap kebaikan semua pihak yang membantu penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Inderalaya, 19 Juli 2019

Penulis,

Novita Dwilistiana
NIM. 08061181520083

Formula Optimation Intranasal of Chitosan Phenobarbital Carrier Nanoparticles with Variation of *Crosslinker* Types, Sonication Time, and Stirring Time

Novita Dwilistiana
08061181520083

ABSTRACT

Phenobarbital is one of the first-line antiepileptic drug that is widely used by adult through decreasing sodium and potassium conductants that have a direct effect on GABA receptors, therefore the increacy duration of opening of GABA receptors and increasing post-synapic chloride conductants. Intranasal preparations of phenobarbital were formulated to increase the effectiveness of epilepsy treatment with brain targets made in the form of nanoparticles with chitosan composing components, crosslinkers with variations in crosslinker types, stirring time, and sonication time using the Design Expert® factorial design 10. Effect of crosslinker types (STPP and $CaCl_2$), stirring time (60' and 90') and sonication time (5' and 30') observed for organoleptic response, pH, percent EE, decrease of thermodynamic stability level, viscosity, time of sedimentation, redispersion, and volume of sedimentation. The response of the optimum formula was organoleptic 5 (had no sedimentation), pH 4.723, EE percent 95.865%, decrease of thermodynamic stability levels 2.695%, viscosity 1.055 cPs, sedimentation time 911 seconds, redispersion 3, and sedimentation volumes 3.947. The optimum formula produces particle size of 1245.0 nm with PDI values of 0.352 and potential zeta of 2.3 mV. The results of FTIR analysis showed that there was no interaction between the polymer matrix and phenobarbital so it did not show a new functional group. Percent diffused by phenobarbital nanoparticles was 61.8333% compared to pure phenobarbital by 40.6988%. Evaluation results indicate that phenobarbital had a good characteristics as intranasal preparations.
Keyword(s): phenobarbital, intranasal, nanoparticles, chitosan, crosslinker

Optimasi Formula Intranasal Nanopartikel Kitosan Pembawa Fenobarbital dengan Variasi Jenis *Crosslinker*, Waktu Sonikasi, dan Waktu Pengadukan

Novita Dwilistiana
08061181520083

ABSTRAK

Fenobarbital merupakan salah satu obat antiepilepsi lini pertama yang banyak digunakan orang dewasa melalui penurunan konduktan natrium dan kalium yang berefek langsung terhadap reseptor GABA, sehingga akan meningkatkan durasi pembukaan reseptor GABA dan meningkatkan konduktan post-sinap klorida. Sediaan intranasal fenobarbital diformulasikan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan epilepsi dengan target otak yang dibuat dalam bentuk nanopartikel dengan komponen penyusun kitosan, *crosslinker* dengan variasi jenis *crosslinker*, waktu pengadukan, dan waktu sonikasi menggunakan desain faktorial program Design Expert®10. Pengaruh jenis *crosslinker* (STPP dan $CaCl_2$), waktu pengadukan (60’ dan 90’), dan waktu sonikasi (5’ dan 30’) diamati terhadap respon organoleptis, pH, persen EE, penurunan kadar stabilitas termodinamika, viskositas, waktu sedimentasi, redispersi, dan volume sedimentasi. Respon formula optimum yang dihasilkan yaitu organoleptis 5 (tidak terdapat endapan), pH 4,723, persen EE 95,865%, penurunan kadar stabilitas termodinamika 2,695%, viskositas 1,055 cPs, waktu sedimentasi 911 detik, redispersi 3 kali, dan volume sedimentasi 3,947. Formula optimum menghasilkan ukuran partikel 1245,0 nm dengan nilai PDI 0,352 dan zeta potensial 2,3 mV. Hasil analisis FTIR menunjukan tidak adanya interaksi antara matriks polimer dengan fenobarbital sehingga tidak menunjukkan gugus fungsi yang baru. Persen terdifusi nanopartikel fenobarbital sebesar 61,8333%, sedangkan fenobarbital murni sebesar 40,6988%. Berdasarkan hasil penelitian, fenobarbital memiliki karakteristik yang baik untuk sediaan intranasal.

Kata kunci: fenobarbital, intranasal, nanopartikel, kitosan, *crosslinker*

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL..... ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI..... iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH..... . iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS..... v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO..... vi
KATA PENGANTAR..... vii
ABSTRACT x
ABSTRAK xi
DAFTAR ISI xii
DAFTAR TABEL xv
DAFTAR GAMBAR xvi
DAFTAR LAMPIRAN xvii
DAFTAR SINGKATAN xviii
DAFTAR ISTILAH xx

BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.1 Tujuan Penelitian..... 6
1.4 Manfaat Penelitian..... 6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 7
2.1 Fenobarbital..... 7
2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia Fenobarbital..... 8
2.1.2 Farmakokinetika 9
2.1.3 Farmakodinamik..... 10
2.1.4 Penggunaan dan Dosis..... 10
2.1.5 Indikasi dan Kontraindikasi..... 10
2.1.6 Mekanisme Kerja..... 11
2.1.7 *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) Fenobarbital..... 11
2.1 Epilepsi 12
2.3 Teknologi Partikel 13
2.4 Bahan Pembuat Nano Partikel..... 16
2.4.1 Kitosan 16
2.4.2 *Cross Linking Agent* 18
2.4.2.1 *Sodium Tripolyphospate* (STPP)..... 18
2.4.2.2 Kalsium Klorida 19
2.4.3 Metode Pembuatan Partikel Kitosan 20
2.4.3.1 Gelasi Ionik (*Ionic Gelation*) 20
2.4.3.2 *Covalent Cross Linking*..... 21
2.5 Sediaan Intranasal..... 21
2.5.1 Mekanisme Penghantaran Obat secara Intranasal..... 23

2.6 Evaluasi Sediaan 23
2.7 Karakteristik Nanopartikel 24
2.7.1 Karakterisasi Nanopartikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) 25
2.7.2 Spektroskopi FTIR 26
2.8 Karakteristik Sediaan Intranasal 29
BAB III METODOLOGI PENELITIAN 30
3.1 Waktu dan Tempat 30
3.2 Alat dan Bahan 30
3.2.1 Alat 30
3.2.2 Bahan 31
3.3 Formula dan Optimasi Nanopatikel Fenobarbital 31
3.4 Pembuatan Sediaan 32
3.5 Penentuan Formula Optimum 33
3.5.1 Organoleptis 33
3.5.2 Pengukuran Persen Efisiensi Penjerapan 33
3.5.3 Pengukuran pH Sediaan 34
3.5.4 Analisis Stabilitas Termodinamika 34
3.5.5 Pengujian Waktu dan Volume Sedimentasi 34
3.5.6 Pengujian Redispersi 35
3.6 Karakterisasi dan Evaluasi Formula Optimum 35
3.6.1 Karakterisasi dan Evaluasi Nanopartikel 35
3.6.1.1 Penentuan Ukuran Partikel, Zeta Potensial, dan *Polydispersity Index* (PDI) 35
3.6.1.2 Interaksi Matriks Nanoprtikel-Fenobarbital ... 36
3.6.2 Karakterisasi Sediaan Intranasal 36
3.6.2.1 *Pump Delivery* 36
3.6.2.2 Keseragaman Bobot Semprot 36
3.6.2.3 Pola Penyemprotan dan Geometri Semprot ... 37
3.6.2.4 Viskositas 37
3.6.3 Studi Pelepasan Nanoprtikel Fenobarbital secara *Ex-Vivo* 38
3.6.3.1 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 6,4 38
3.6.3.2 Pembuatan Kurva Baku Fenobarbital dalam Larutan Dapar Fosfat pH 6,4 38
3.6.3.3 Uji Pelepasan Obat secara *Ex-Vivo* 39
3.7 Analisis Data 39
3.7.1 Penafsiran Formula Optimum 39
3.7.2 Penafsiran Data Hasil Uji Persen Efisiensi Penjerapan 40
3.7.3 Penafsiran Data Hasil PSA 40
3.7.4 Penafsiran Data Hasil Uji Pelepasan Obat secara *Ex-Vivo* dan Kinetika Pelepasan Obat 41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 42
4.1 Preparasi Nanopartikel Fenobarbital 42
4.2 Penentuan Formula Optimum 48
4.2.1 Penentuan Organoleptis 48
4.2.2 Penentuan pH 49

4.2.3 Penentuan Persen Efisiensi Penjerapan (%EE) 51
4.2.4 Penentuan Stabilitas Termodinamik..... 53
4.2.5 Penentuan Waktu Sedimentasi 55
4.2.6 Penentuan Volume Sedimentasi..... 57
4.2.7 Penentuan Jumlah Redispersi..... 58
4.3 Analisis Formula Optimum 60
4.4 Karakterisasi dan Evaluasi Formula Optimum..... 61
4.4.1 Analisis Respon Prediksi Design Expert..... 61
4.4.2 Analisis Korelasi 62
4.4.3 Karakterisasi dan Evaluasi Nanopartikel 63
4.4.3.1 Interaksi Matriks Nanopartikel Fenobarbital..... 63
4.4.3.2 Penentuan Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas (*Polydispersity Index*), dan Zeta Potensial Nanopartikel 65
4.4.3.4 Stabilitas..... 67
4.4.4 Karakterisasi dan Evaluasi Sediaan Intranasal..... 69
4.4.4.1 *Pump Delivery*..... 69
4.4.4.2 Keseragaman Bobot Semprot..... 70
4.4.4.3 Pola dan Geometri Semprot 71
4.4.4.3 Viskositas 72
4.5 Studi Pelepasan Nanopartikel Fenobarbital secara *Ex Vivo* 73
4.5.1 Analisis Kompartemen Difusi 74
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... 75
5.1 Kesimpulan 75
5.2 Saran 76

DAFTAR PUSTAKA 77
LAMPIRAN 86

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Karakteristik evaluasi sediaan 24
Tabel 2. Karakteristik nanopartikel 24
Tabel 3. Frekuensi regangan inframerah untuk beberapa jenis ikatan 28
Tabel 4. Karakteristik sediaan intranasal 29
Tabel 5. Susunan faktor level variabel dalam formulasi nanopartikel fenobarbital 32
Tabel 6. Komposisi formula berdasarkan desain faktorial 32
Tabel 7. Target optimal respon 40
Tabel 8. Hasil penentuan organoleptis sediaan nanopartikel fenobarbital 48
Tabel 9. Hasil penentuan pH sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 50
Tabel 10. Hasil uji ANOVA pH sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital. 50
Tabel 11. Hasil penentuan %EE sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 51
Tabel 12. Hasil uji ANOVA %EE sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 51
Tabel 13. Persen penurunan kadar sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 53
Tabel 14. Hasil uji ANOVA stabilitas termodinamik sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 54
Tabel 15. Hasil uji waktu sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 55
Tabel 16. Hasil uji ANOVA waktu sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 55
Tabel 17. Hasil uji volume sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 57
Tabel 18. Hasil uji ANOVA volume sedimentasi sediaan intranasal Nanopartikel fenobarbital 57
Tabel 19. Hasil uji redispersi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 58
Tabel 20. Hasil uji ANOVA redispersi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 59
Tabel 21. Target optimal respon 60
Tabel 22. Hasil pengujian delapan respon formula optimum 61
Tabel 23. Analisis korelasi Pearson 62
Tabel 24. Interpretasi spektra IR fenobarbital, placebo intranasal, dan Intranasal fenobarbital 64
Tabel 25. Organoleptis uji stabilitas formula optimum 67
Tabel 26. Kadar stabilitas formula optimum 68
Tabel 27. Kadar stabilitas fenobarbital murni 68
Tabel 28. Kadar stabilitas sediaan di pasaran 68
Tabel 29. Hasil uji *pump delivery* formula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 70
Tabel 30. Hasil uji keseragaman bobot semprot formula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 71
Tabel 31. Hasil uji viskositas formula optimum 72

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Struktur senyawa fenobarbital 7
Gambar 2. Struktur kitosan 17
Gambar 3. Struktur natrium tripolifosfat 19
Gambar 4. Struktur kalsium klorida 20
Gambar 5. Instrumentasi *Particle Size Analyzer* (PSA) 26
Gambar 6. Skema prinsip kerja FTIR 28
Gambar 7. Interaksi kitosan dan *crosslinker* 45
Gambar 8. Hasil pengujian organoleptis formula sediaan intranasal fenobarbital 49
Gambar 9. Proses sedimentasi pada sediaan nanopartikel fenobarbital (a) sediaan homogen, (b) sediaan telah mengalami sedimentasi… 56
Gambar 10. Hasil pengujian waktu dan volume sedimentasi formula sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital 57
Gambar 11. Spektrum FTIR serbuk murni fenobarbital, plasebo intranasal, dan intranasal fenobarbital 64
Gambar 12. Grafik % kadar formula optimum, fenobarbital murni, dan sediaan fenobarbital dipasaran 68
Gambar 13. Botol nasal *spray* 70
Gambar 14. Sudut geometri formula optimum 71
Gambar 15. Grafik rata-rata %terdifusi larutan fenobarbital murni dan sediaan nanopartikel fenobarbital 73

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Pembuatan Larutan Stok	86
Lampiran 2.	Skema Kerja Umum	88
Lampiran 3.	Preparasi Sediaan Intranasal Nanopartikel	89
Lampiran 4.	*Certificate of Analysis Phenobarbital*	90
Lampiran 5.	Proses Pembuatan Sediaan Nanopartikel Fenobarbital	91
Lampiran 6.	Kurva Baku Fenobarbital	92
Lampiran 7.	Analisis pH Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital	93
Lampiran 8.	Analisis %EE Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital	94
Lampiran 9	Analisis Waktu Sedimentasi, Volume Sedimentasi, dan Redispersi Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital	96
Lampiran 10.	Analisis Viskositas Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital	98
Lampiran 11.	Analisis Stabilitas Termodinamika Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital	99
Lampiran 12.	Hasil Analisis Desain Faktorial 2^3	101
Lampiran 13.	Tabel Solusi dan Prediksi Desain Faktorial 2^3	112
Lampiran 14.	Hasil Ukuran, Distribusi, dan Zeta Potensial	114
Lampiran 15.	Kurva Kalibrasi Difusi Sediaan Intranasal Fenobarbital	118
Lampiran 16.	Analisis Laju Difusi dan WinSAAM™	119
Lampiran 17.	Analisis FTIR	124
Lampiran 18.	Analisis Uji Stabilitas Formula Optimum, Fenobarbital, dan Sediaan di Pasaran	125
Lampiran 19.	Analisis *Pump Delivery* Formula Optimum	128
Lampiran 20.	Analisis Keseragaman Bobot Semprot Formula Optimum	129
Lampiran 21.	Dokumentasi Analisis Sediaan Intranasal Fenobarbital	130
Lampiran 22.	Dokumentasi Analisis Formula Optimum Sediaan Intranasal Fenobarbital	132

DAFTAR SINGKATAN

%CV	: persen *coefficient of variance*
%EE	: persen *entrapment efficiency*
µg/mL	: mikrogram per mililiter
µm	: mikrogram
^{0}C	: derajat Celcius
ANOVA	: *analysis of variance*
BBB	: *blood-brain barrier*
BCS	: *biopharmaceutical classification system*
Ca	: kalsium
$CaCl_2$	: kalsium klorida
CCD	: *charge-coupled device*
Cl	: klorida
cm	:*centimeter*
CNS	: *central nervous system*
cP	: centiPoise
Cu	: cupri
DE	: *dissolution of efficiency*
DLS	: *dynamic light scattering*
DNA	: *deoxyribonucleic acid*
DX	: design expert
FDC	: *franz diffusion cell*
Fe	: ferrum
FPE	: *first pass effect*
FTIR	: *fourier transform infrared*
g	: gram
g/mol	: gram per mol
g/L	: gram per liter
GABA	: *gamma amino butyric Acid*
i.m	: intramuskular
i.v	: intravena
K	: kalium
KH_2PO_4	: kalium dihidrogen fosfat
LD_{50}	: *lethal dose* 50
LogP	: *logarithm of partition*
M	: molaritas
mg	: milligram
mg/kgBB	: milligram per kilogram berat badan
mL	: mililiter
mm	: milimeter
mV	: mega volt
Na	: natrium
NaOH	: natrium hidroksida
Ni	: nikel
nm	: nanometer
OAE	: obat-obat anti epilepsi

p.a	: *pro analysis*
Pb	: plumbum
PDI	: *polydispersity index*
PEG	: polietilen glikol
pH	: *power of hydrogen*
pKa	: konstanta disosiasi
PSA	: *particle size analyzer*
Qo	: *quantitative observed*
Qc	: *quantitative calculated*
rpm	: *rotation per minute*
RSE	: *relative standard error*
SD	: *standard deviation*
SPSS	: *statistical product and service solution*
SSP	: sistem saraf pusat
STPP	: *sodium tripolyphospat*
TPP	: *tripoliphospat*
Uv-Vis	: *ultraviolet visible*
WHO	: World Health Organisazion
WinSAAM	: *windows of simulation analysis and modeling*

DAFTAR ISTILAH

%RSE	: nilai yang menunjukkan keakuratan nilai prediksi terhadap hasil penelitian
3D *surface plot*	: grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil *contour plot* dengan penambahan bentuk dan warna yang disajikan dalam model tiga dimensi
Absorbansi	: suatu polarisasi cahaya yang terserap oleh bahan (komponen kimia) tertentu pada panjang gelombang tertentu sehingga akan memberikan warna tertentu terhadap baham
Absorbsi	: penyerapan
Aglomerasi	: pengumpulan, dan/atau penumpukan partikel atau zat menjadi satu
Agregasi	: terkumpulnya sejumlah partikel yang terpisah-pisah menjadi satu
Akseptor	: tempat untuk meletakkan cairan yang akan diambil secara berkala untuk dianalisis
Aktuasi	: menggerakkan dan mengarahkan
Analisis korelasi	: derajat hubungan linier (searah bukan timbal balik) antara dua variabel atau lebih
Anion	: ion yang bermuatan negatif
ANOVA	: membandingkan variansi data numerik pada dua kelompok atau lebih
Bioavailabilitas	: ketersediaan hayati adalah fraksi dari dosis obat diberikan yang dapat mencapai sirkulasi sistemik
Contour plot	: nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi
Crosslinker	: molekul yang reaktif secara kimia mampu menyerang gugus fungsi spesifik (seperti amina primer dan sulfidril) pada protein atau molekul lainya
Degradasi	: dekomposisi senyawa kimia secara bertahap
Densitas	: suatu besaran kerapatan massa benda yang dinyatakan dalam berat benda per satuan volume benda tersebut
Derivat	: turunan
Desain faktorial	: meneliti pengaruh dari dua atau lebih faktor dan kombinasi tiap level dari faktor-faktor dapat diselidiki secara lengkap
Desirability	: nilai yang menyatakan seberapa dekat nilai respon yang diprediksi dengan nilai respon yang diinginkan
Difusi	: peristiwa mengalirnya/berpindahnya suatu zat dalam pelarut dari bagian berkonsentrasi tinggi ke bagian yang berkonsentrasi rendah
Dispersi	: campuran antara zat terlarut dan pelarut
Efek terapi	: efek yang diinginkan dari sebuah pengobatan dalam rentang dosis terapi

Efikasi	: kemanjuran; kemujaraban
Elektrolit	: suatu zat yang larut atau terurai ke dalam bentuk ion-ion dan selanjutnya larutan menjadi konduktor elektrik, ion-ion merupakan atom-atom bermuatan elektrik
Elektron	: partikel subatom yang bermuatan negatif dan umumnya ditulis sebagai e^-
Epilepsi	: gangguan saraf kronik dengan ciri timbulnya gejala-gejala yang datang dalam serangan-serangan berulang secara spontan yang disebabkan lepasnya muatan listrik abnormal sel-sel saraf otak yang bersifat reversibel dengan berbagai etiologi
Epilepsi mioklonik	: kejang yang bersifat sporadic pada kedua bagian tubuh (anggota gerak)
Epilepsi kriptogenik	: kejang yang penyebabnya belum diketahui secara pasti
Ex vivo	: mengacu pada eksperimen yang dilakukan di atau pada jaringan dari suatu organisme di lingkungan eksternal dengan perubahan minimal kondisi alam
Farmakologi	: ilmu pengetahuan yang berhubungan dengan obat-obatan
Fisikokimia	: sifat-sifat yang menunjukkan identitas suatu senyawa yang berbeda dengan senyawa lainnya
First pass effect	: fenomena metabolisme obat dimana konsentrasi obat berkurang cukup signifikan sebelum mencapai sirkulasi sistemik
Fisiologi	: metode untuk mempelajari biomolekul, sel, jaringan, organ, sIstem organ, dan organisme secara keseluruhan menjalankan fungsi fisik dan kimiawinya untuk mendukung kehidupan
Formulasi	: mencampurkan bahan aktif dengan bahan lainnya yang dimaksudkan untuk suatu tujuan tertentu
Franz *diffusion cell*	: alat yang digunakan untuk melakukan uji difusi
FTIR	: teknik analisis yang umum digunakan untuk menganalisis gugus fungsi yang terkandung dalam suatu senyawa
Heating cooling	: metode pengujian stabilitas dipercepat menggunakan dua suhu
Idiopatik	: kondisi medis yang belum dapat terungkap jelas penyebabnya
Importance	: kepentingan, keutamaan
Intranasal	: penghantaran agen terapetik dari rongga nasal ke otak secara langsung
Interaction plot	: grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda
In range	: dalam rentang nilai
Kation	: ion yang bermuatan positif

Karakterisasi	: beberapa prosedur pengujian untuk melihat apakah produk yang dibuat sesuai dengan spesifikasi atau tidak
Kompartemen	: ruang atau tempat di dalam tubuh untuk senyawa kimia atau obat menetap setelah diserap
Kontraindikasi	: petunjuk (indikasi) yang berlawanan dengan yang ada
Korelasi	: salah satu analisis dalam statistika yang dipakai untuk mencari hubungan antara dua variabel yang bersifat kuantitatif
Kromofor	: bagian molekul yang mengabsorpsi dalam daerah UV dan daerah sinar tampak
Kurva kalibrasi	: metode untuk menentukan konsentrasi suatu zat dalam suatu sampel yang tidak diketahui dengan membandingkan yang tidak diketahui ke dalam seperangkat sampel standar dari konsentrasi yang telah diketahui
Lag time	: jeda waktu saat pemberian obat dan kadar obat dalam sirkulasi sistemik
Larutan	: campuran homogen yang terdiri dari dua atau lebih zat
LD_{50}	: dosis tertentu yang dinyatakan dalam milligram berat bahan uj per kilogram berat badan (BB) hewan uji yang menghasilkan 50% respon kematian pada populasi hewan uji dalam jangka waktu tertentu
Magnetic stirrer	: alat untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan
Membran	: selaput, kulit tipis, atau lembaran bahan tipis, yang berfungsi sebagai pemisah selektif
Metabolisme	: semua proses kimiawi yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup
Morfologi	: permukaan partikel
Olfactory	: organ penciuman
Optimasi	: suatu proses untuk mencapai hasil yang ideal
Optimum	: kondisi yang terbaik
Organoleptis	: uji indra atau uji sensori merupakan cara pengujian dengan menggunakan indra manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap produk
p.a.	: bahan kimia yang memiliki kemurnian sangat tinggi (>99,5%)
Paraseluler	: molekul sekitar atau diantara sel
PDI	: jumlah yang dihitung dari dua parameter sederhana untuk data korelasi (*cumulants*)
Pearson *correlation*	: analisis korelasi untuk data yang terdistribusi normal
Permeabel	: suatu keadaan yang menunjukkan segala macam zat yang ada di luar sel dapat masuk ke dalam sel

Permeabilitas	: kemampuan yang dimiliki oleh suatu zat/membrane untuk meloloskan sejumlah partikel yang menembus atau melaluina
Piknometer	: alat yang digunakan untuk mengukur nilai massa jenis atau densitas dari fluida
Plasebo	: suatu formula yang tidak mengandung senyawa aktif dan tidak menimbulkan efek terapi, samping, maupun toksik
Protonasi	: reaksi terikatnya sebuah proton pada sebuah molekul
PSA	: alat yang digunakan untuk menentukan distribusi, ukuran, dan zeta potensial partikel
Reseptor	: molekul protein yang menerima sinyal kimia dari luarsel yang mengarahkan kegiatan sel seperti membelah atau mengizinkan molekul tertentu untuk masuk atau keluar sel
Sink	: mempertahankan volume pelarut lebih besar terhadap titik kejenuhan
Simptomatik	: pengobatan berdasarkan gejala yang timbul
Spektra	: hasil transisi antara tingkat getaran yang berlainan pada FTIR untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa
Spektrofotometri	: suatu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk mengukur konsentrasi sampel secara kuantitatif, berdasarkan interaksi materi dengan cahaya
Stabilitas	: kemampuan suatu produk untuk bertahan dalam batas yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan, sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat
Supernatan	: substansi hasil sentrifugasi yang berbobot ringan dan berwarna lebih jernih
Tight junction	: area di antara membran dari dua sel berdekatan bergabung bersama untuk membentuk penghalang
Transeluler	: rongga khusus pada tubuh
Variabel bebas	: variabel yang menyebabkan atau mempengaruhi, yaitu faktor-faktor yang diukur, dimanipulasi atau dipilih oleh peneliti untuk menentukan hubungan antara fenomena yang diobservasi atau diamati
Viskositas	: kekentalan suatu fluida yang menunjukkan besar kecilnya gesekan internal fluida
Zeta potensial	: teknik untuk menentukan muatan permukaan nanopartikel dalam larutan (koloid)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Konsep sistem penghantaran obat tertarget sudah mulai dikembangkan untuk memperbaiki penghantaran obat pada penyakit-penyakit yang membahayakan jiwa yang berkembang saat ini. Salah satu sistem penghantaran obat yang bersifat target spesifik yaitu rute pemberian intranasal. Rute intranasal merupakan salah satu rute pengobatan yang telah dipertimbangkan dalam membantu penghantaran obat yang sulit menembus sawar darah otak (BBB) untuk mencapai sistem saraf pusat (*Central Nervous System/CNS*) dengan penyerapan melalui mukosa olfaktori. Pengobatan menggunakan rute intranasal dengan target otak telah diakui sebagai alternatif yang dapat dimanfaatkan selain rute oral dan rute parenteral (Vyas *et al.*, 2005).

Salah satu penyakit yang membutuhkan sistem penghantaran obat tertarget pada otak dengan rute intranasal adalah penyakit epilepsi. Penyakit epilepsi merupakan penyakit neurologi atau manifestasi gangguan fungsi otak dengan berbagai etiologi, dengan gejala tunggal yang khas, yaitu kejang berulang akibat lepasnya muatan listrik neuron otak secara berlebihan dan paroksimal (Gidal *and* Garnett, 2005). Epilepsi dapat dijumpai pada semua ras di dunia dengan insidensi dan prevalensi yang hampir sama, namun lebih tinggi di Negara berkembang. Insidensi epilepsi di berbagai Negara bervariasi antara 0,2-0,7%. Sejumlah studi menunjukkan prevalensi penderita epilepsi di Indonesia berkisar antara 0,5-4 % dengan rata-rata prevalensi epilepsi 8,2 per 1.000 penduduk, angka ini tergolong cukup tinggi dibanding negara berkembang lainnya (Setiaji, 2014).

Terapi utama epilepsi adalah dengan pemberian obat-obat antiepilepsi (OAE) atau antikonvulsi untuk mengontrol kejang. Salah satu obat antiepilepsi lini pertama yang biasa digunakan pada orang dewasa yaitu fenobarbital. OAE ini bisa digunakan pada semua tipe epilepsi, terutama pada epilepsi umum yang idiopatik (Brodie and French, 2000). Fenobarbital merupakan derivat asam barbiturat dengan etil pada rantai karbon 5a dan phenil pada rantai karbon 5b. Fenobarbital dikembangkan dalam upaya untuk memperoleh efek hipnotik agar dapat menembus sawar darah otak, dan untuk mengurangi dampak *first pass effect* pada metabolisme obat di hati.

Aksi utama fenobarbital sebagai depresi sistem saraf pusat terletak pada kemampuannya untuk menurunkan konduktan natrium dan kalium yang berefek langsung terhadap reseptor GABA, aktivasi reseptor barbiturat akan meningkatkan durasi pembukaan reseptor GABA dan meningkatkan konduktan post-sinap klorida (Wibowo dan Gofir, 2006). Kelemahan fenobarbital yaitu sediaan fenobarbital peroral memiliki masalah pada laju kelarutan obat dalam tubuh yang rendah sehingga termasuk klasifikasi *biopharmaceutical classification system* (BCS) kelas II. Kelarutan fenobarbital dalam air yaitu sebesar 1 g/L dengan nilai log P sebesar 1,47 (*Pubchem*, 2017).

Efikasi fenobarbital dapat ditingkatkan dengan rute pemberian secara intranasal, dimana obat difomulasikan dalam bentuk nanopartikel menggunakan kitosan sebagai polimer kation. Kitosan merupakan polimer kation yang paling banyak digunakan karena bersifat tidak toksik, biodegradabel, biokompatibel, serta memiliki kemampuan dalam mengontrol pengeluaran zat aktif (Masotti *and* Ortaggi, 2009). Menurut penelitian Petrilia (2018), penyerapan obat melalui

intranasal akan lebih baik jika memiliki ukuran partikel lebih kecil dari 10 µm. Partikel obat yang lebih besar dari 10 µm akan tertahan pada rongga hidung. Berdasarkan penelitian Musumeci (2019), nanopartikel berukuran 200-400 nm dapat dengan mudah melewati jalur olfaktori menuju sawar darah otak serta masuk ke sel-sel saraf sehingga nanopartikel dapat digunakan sebagai pembawa obat antiepilepsi.

Obat dalam bentuk nanopartikel akan meningkatkan luas permukaan obat sehingga kelarutan, bioavailabilitas dan efikasi obat akan meningkat pula. Keuntungan sediaan nanopartikel antara lain dapat menghantarkan senyawa obat dengan baik sampai ke unit-unit terkecil dalam tubuh, pencegahan dosis pembuangan melalui pelepasan lambat dan pelepasan terkontrol, meningkatkan efisiensi distribusi, serta obat tepat target, sehingga secara tidak langsung dapat meningkatkan efek terapetik, membantu dalam mengurangi dosis dan frekuensi pemberian yang meningkatkan kepatuhan pasien serta dapat mengurangi toksisitas (Rawat *et al*., 2006).

Sediaan nanopartikel dapat dilakukan salah satunya dengan metode gelasi ionik dengan mengkombinasikan polimer kationik dan polimer anionik. Teknik gelasi ionik ini dapat dilakukan untuk zat dengan kelarutan dalam air yang buruk (Khanam *et al.*, 2011), dengan prosedur yang sederhana meliputi pencampuran dua fase cair yaitu fase satu mengandung kitosan dan fase lainnya mengandung anion *multivalent* (Iswandana, 2012). Jenis *crosslinker* terbaik berdasarkan penelitian Petrilia (2018) dan Annisa (2018) dalam optimasi sediaan intranasal mikropartikel adalah natrium tripolifosfat dan kalsium klorida, dimana konsentrasi kitosan, *crosslinker* serta jenis *crosslinker* mempengaruhi respon dari

evaluasi sediaan secara signifikan. Pemilihan sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital pada terapi epilepsi merupakan alternatif yang sangat baik untuk menghindari *first pass effect* di hati.

Lama pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dan lama sonikasi menggunakan *bath sonicator* mempengaruhi ukuran partikel sediaan yang dihasilkan. Semakin lama waktu sonikasi, ukuran partikel akan semakin mengecil dan homogen sehingga menghasilkan sediaan yang lebih stabil. Hal ini disebabkan karena adanya gelombang kejut pada saat sonikasi sehingga terjadi pemisahan partikel yang menggumpal (Mason *et al*., 1996). Variasi waktu pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dalam pembuatan nanopartikel berdasarkan penelitian Gupta *and* Karar (2010) yang menyatakan waktu pengadukan tidak berbanding lurus dengan persen EE yaitu pada pengadukan menit ke-45, 60, 90, 120, dan 180 menghasilkan persen EE secara berturut-turut sebesar 78; 82,67; 90,90; 82, dan 81,94%.

Optimasi formula pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode desain faktorial. Desain faktorial merupakan desain yang digunakan untuk mendeterminasi efek-efek secara simultan dan interaksi antar efek tersebut. Metode desain faktorial dapat pula digunakan untuk menentukan formula optimum dalam suatu sediaan dengan melihat hasil solusi yang diberikan pada program desain faktorial berdasarkan nilai desirabilitas tertinggi yaitu mendekati satu. Selain itu juga dapat melihat efek konsentrasi tiap-tiap faktor serta bagaimana hasil interaksi kedua faktor tersebut (Bolton, 1997). Metode desain faktorial memiliki kelebihan yaitu praktis, dapat melihat pengaruh dari variabel bebas terhadap variabel terikat, dapat menganalisis lebih dari satu faktor secara

bersamaan dan dapat menganalisis kombinasi antara kedua bahan atau faktor yang jumlah perbandingan komposisi komponennya tidak bernilai satu (Sainah, 2013).

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan fomulasi sediaan nanopartikel kitosan pembawa zat aktif fenobarbital dengan variasi jenis *crosslinker,* lama sonikasi, dan lama pengadukan *magnetic stirrer* menggunakan desain faktorial untuk menghasilkan formula sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital yang optimum. Peneliti berharap akan memperoleh formula optimum sediaan nanopartikel yang akan dilihat dari hasil pengujian terhadap evaluasi sediaan, karakterisasi partikel, karakterisasi intranasal, dan laju difusi obat sehingga sediaan yang dihasilkan dapat digunakan dalam terapi epilepsi dengan rute intranasal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh jenis *cross linking agent*, waktu pengadukan *magnetic stirrer* dan waktu sonikasi terhadap organoleptis, %EE, pH, stabilitas, kemampuan redispersi, waktu dan volume pengendapan sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital?
2. Bagaimana kondisi dan jenis *crosrlinker*, waktu pengadukan *magnetic stirrer* dan waktu sonikasi terbaik yang diperlukan untuk menghasilkan formula optimum menggunakan desain faktorial?
3. Bagaimana karakterisktik partikel (ukuran partikel, zeta potensial, PDI (*polydispersity index*), dan interaksi nanopartikel-fenobarbital) dari formula optimum?

4. Bagaimana karakteristik sediaan intranasal (*pump delivery*, keseragaman kadar semprot, pola dan geometri semprot) dari formula optimum?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Menganalisis pengaruh variasi jenis *cross linking agent*, waktu pengadukan *magnetic stirrer* dan waktu sonikasi terhadap karakeristik organoleptis, %EE, pH, stabilitas, kemampuan redispersi, waktu dan volume pengendapan sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital.
2. Menentukan kondisi dan jenis *crosslinker*, waktu pengadukan *magnetic stirrer* dan waktu sonikasi terbaik yang diperlukan untuk menghasilkan formula optimum menggunakan desain faktorial.
3. Mengevaluasi karakterisktik partikel (ukuran partikel, zeta potensial, PDI (*polydispersity index*), dan interaksi nanopartikel-fenobarbital) dari formula optimum.
4. Mengetahui karakteristik sediaan intranasal (*pump delivery*, keseragaman kadar semprot, pola dan geometri semprot) dari formula optimum.

1.4 Manfaat Penelitian

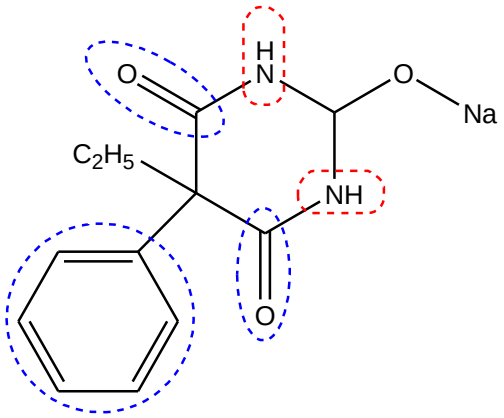
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca. Manfaat penelitian ini adalah memperluas wawasan pemahaman tentang sediaan intranasal nanopartikel dengan bahan aktif fenobarbital. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai sediaan obat untuk terapi epilepsi. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan pengembangan sediaan obat berbahan sintetis untuk terapi epilepsi pada jangka panjang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fenobarbital

Fenobarbital (asam 5,5 fenil etil barbiturat) merupakan derivat barbiturate yang berdurasi lama (*long acting*) karena berada dalam darah antara 2-7 hari. Fenobarbital merupakan senyawa organik pertama yang digunakan dalam pengobatan antikonvulsi yang efektif untuk kejang parsial sederhana kompleks dan kejang tonik-klonik umum (grand mal). Efikasi, toksisitas yang rendah, serta harga yang murah menjadikan fenobarbital obat yang penting untuk tipe-tipe epilepsi ini (Harsono, 2001). Aksi utama fenobarbital terletak pada kemampuannya untuk menurunkan konduktan natrium dan kalium. Fenobarbital menurunkan kadar kalsium dan mempunyai efek langsung terhadap reseptor GABA, aktivasi reseptor barbiturat akan meningkatkan durasi pembukaan reseptor GABA dan meningkatkan konduktan post-sinap klorida (Wibowo dan Gofir, 2006).



Keterangan:
---------- = kromofor
---------- = auksokrom

Gambar 1. Struktur senyawa fenobarbital (Lissanta, 2008)

Senyawa antikonvulsan ini memiliki sifat keasaman yang tinggi, dimana didalam tubuh organisme bertindak sebagai anion dan tidak dapat menembus sawar darah otak. Untuk menurunkan sifat keasaman dari fenobarbital dan meningkatkan sifat lipofilnya maka kedua atom H pada C-5 dari asam barbiturat disubstitusi, selanjutnya dapat dicapai dengan cara metilasi pada N-1 (Poupaert *et al.*, 1984). Kelemahan fenobarbital yaitu sediaan fenobarbital peroral memiliki masalah pada laju kelarutan obat dalam tubuh yang rendah sehingga termasuk klasifikasi *biopharmaceutical classification system* (BCS) kelas II. Kelarutan fenobarbital dalam air yaitu sebesar 1 g/L dengan nilai log P sebesar 1,47 (*Pubchem*, 2017). Dengan memanfaatkan teknologi partikel dapat mengatasi masalah tersebut dan meningkatkan efikasi fenobarbital dengan cara memperkecil ukuran partikel fenobarbital.

2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia Fenobarbital

Nama kimia : Fenobarbital (asam 5-etil-5 fenilbarbiturat)

Rumus molekul : $C_{12}H_{12}N_2O_3$

Berat molekul : 232,24 g/mol

Pemerian : Kristal tidak berwarna atau serbuk kristal putih, tidak berbau, rasa agak pahit

Kelarutan : Sangat sukar larut dalam air; agak larut dalam kloroform dan eter; larut dalam etanol dan alkali karbonat

Titik leleh : 174-178 ^oC

pKa : 7,33 (asam lemah)

LogP : 1,47

LogKow : 1,57

BCS : II (kelarutan rendah dan permeabilitas baik)

Bioavailabilitas : >95%

λ maksimum : 206 nm

(Anggrimulja, 1988; Irianto, 1987; PubChem, 2017; Drugbank, 2017).

2.1.2 Farmakokinetika

Fenobarbital menunjukkan penyerapan yang cepat dan hampir sempurna (> 95%) setelah pemberian oral dan beredar luas diseluruh tubuh (Richens, 1979). Fenobarbital diabsorpsi dilambung karena senyawa ini bersifat asam lemah (pKa 7,33) sehingga akan sulit terionkan dan lebih cepat diabsorpsi (Anggrimulja, 1988). Konsentrasi obat dalam plasma terjadi 6-18 jam setelah pemberian dosis tungal. Ikatan fenobarbital pada protein plasma tinggi (40-60%) dan mempunyai efek pada jaringan ikat, termasuk otak tetapi tingkat kelarutan lemak tidak begitu tinggi. Waktu paruh eliminasi dari fenobarbital adalah 80-120 jam (Richens, 1979). Distribusi fenobarbital terjadi merata pada banyak organ vascular tubuh kecuali di otak, karena kemampuan obat untuk masuk ke otak dan terakumulasi dalam cairan cerebrospinal tergantung pada koefisien partisinya, sedangkan koefisien partisi fenobarbital rendah (Anggrimulja, 1988).

Fenobarbital dimetabolisme di hati dengan mengalami oksidasi pada jalur utama metabolisme hidroksilasi yang menghasilkan metabolit utama p-hidroksi fenobarbital mencapai 65% dan diekskresikan melalui urin sebagian dalam bentuk terkonjugasi dengan asam glukoronat atau sulfat. Kira-kira >25% fenobarbital diekskresikan ke urin dalam bentuk utuh. Proses eksresi berkisar antara 3-6 hari dan pada pemberian dosis tunggal diperlukan 3 minggu agar semua obat tereliminasi sempurna. Alkalinisasi urin mempercepat ekskresi fenobarbital

karena meningkatnya ionisasi sehingga obat lebih mudah diekskresikan melalui urin (Anggrimulja, 1988).

2.1.3 Farmakodinamik

Fenobarbital (asam 5,5 fenil etil barbiturat) secara struktural adalah turunan dari barbiturate yang berdurasi lama (long acting) karena berada dalam darah antara 2-7 hari. Fenobarbital merupakan senyawa organik pertama yang digunakan dalam pengobatan antikonvulsi yang efektif untuk kejang parsial sederhana kompleks dan kejang tonik-klonik umum (grand mal). Efikasi, dan toksisitas yang rendah menjadikan fenobarbital obat yang penting untuk tipe-tipe epilepsi ini (DrugBank, 2017).

2.1.4 Penggunaan dan Dosis

Fenobarbital secara umum digunakan oral, sediaan yang umum digunakan tablet, suspensi, dan injeksi. Dosis untuk fenobarbital peroral 5-8 mg/hari. Untuk injeksi i.m dan i.v 50-200 mg, ulang setelah 6 jam bila perlu, maksimal 600 mg/hari. Encerkan dalam air 1:10 untuk intravena status epileptikus dengan kecepatan injeksi intravena tak lebih dari 100 mg/menit, sampai bangkitan teratasi atau sampai maksimal 15 mg/hari tercapai (BPOM, 2015).

2.1.5 Indikasi dan Kontraindikasi

Indikasi pada fenobarbital digunakan untuk semua jenis epilepsi kecuali petit mal. Untuk pengobatan epilepsi terutama untuk terapi penderita serangan grand mal atau berbagai serangan kortikal lainnya, juga terhadap status epileptikus (BPOM, 2015). Penyakit tersebut disebabkan gangguan saraf kronik dengan ciri timbulnya gejala-gejala yang datang dalam serangan-serangan berulang secara spontan. Kontraindikasi fenobarbital pada pasien dengan penyakit

depresi pernapasan berat dan porfiria serta hipersensitivitas yang diketahui terhadap fenobarbital atau komponennya.

2.1.6 Mekanisme Kerja

Aksi utama fenobarbital terletak pada kemampuannya untuk menurunkan konduktan Na dan K. Fenobarbital menurunkan influx kalsium dan mempunyai efek langsung terhadap reseptor GABA, aktivasi reseptor barbiturat akan meningkatkan durasi pembukaan reseptor GABA dan meningkatkan konduktan post-sinap klorida (Wibowo dan Gofir, 2006).

2.1.7 *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) Fenobarbital

The Biopharmaceutics Classification System (BCS) merupakan sebuah metode untuk mengklasifikasikan zat obat berdasarkan pada kelarutan air dan permeabilitas. Zat obat dianggap sangat mudah larut jika dosis tertinggi larut dalam ≤ 250 mL media berair pada kisaran pH 1–7,5 (kelarutan setimbang pada suhu 37°C). Obat dianggap sangat permeabel bila laju atau tingkat penyerapan pada manusia ≥ 90% dosis pemberian berdasarkan penentuan *mass balance* atau perbandingan dengan dosis referensi intravena (Kuruvila *et al*., 2017).

Berdasarkan BCS obat digolongkan menjadi empat kelas, yaitu kelas I, II, III, dan IV. Obat yang memiliki sifat permeabilitas dan kelarutan yang tinggi digolongkan ke dalam BCS kelas I, sedangkan pada BCS kelas II terdiri dari obat-obat yang memiliki permeabilitas tinggi dan kelarutan rendah, BCS kelas III memiliki permeabilitas rendah dan kelarutan tinggi, serta pada BCS kelas IV memiliki permeabilitas dan kelarutan rendah (Kawabata *et al*., 2011). Fenobarbital diklasifikasikan oleh *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) sebagai zat aktif kelas II). Kelarutan fenobarbital dalam air sangat rendah yaitu

sebesar 1 g/L namun memiliki permeabilitas yang baik dengan nilai log P sebesar 1,47 (PubChem, 2017).

2.2 Epilepsi

Epilepsi merupakan gangguan saraf kronik dengan ciri timbulnya gejala-gejala yang datang dalam serangan-serangan berulang secara spontan yang disebabkan lepasnya muatan listrik abnormal sel-sel saraf otak yang bersifat reversibel dengan berbagai etiologi. Menurut *International League Against Epilepsy* (ILAE), yang disebut epilepsi adalah kecenderungan untuk terjadinya kejang tipe apapun secara klinis. Tiap individu yang mengalami epilepsi mempunyai risiko yang bermakna untuk mengalami kekambuhan kejang. Waktu munculnya kejang terjadi secara mendadak, tidak disertai demam berulang dan tidak dapat diprediksi (Gidal *and* Garnett, 2005).

Dasar serangan epilepsi adalah gangguan fungsi neuron-neuron otak dan transmisi pada sinaps. Setiap sel hidup, termasuk neuron-neuron otak mempunyai kegiatan listrik yang disebabkan oleh adanya potensial membran sel. Potensial membran neuron bergantung pada permeabilitas selektif membran neuron yaitu perbedaan konsentrasi ion-ion seperti K, Na, Ca, dan Cl (Shih, 2007). Menurut Deliana (2002) ditinjau dari penyebabnya dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

a. Epilepsi primer (idiopatik) yang penyebabnya tidak diketahui meliputi ±50% dari penderita epilepsi anak, umumnya mempunyai predisposisi genetik dan onset biasanya pada usia >3 tahun.
b. Epilepsi simptomatik disebabkan oleh kelainan/lesi pada susunan saraf pusat, misalnyapost trauma kapitis, infeksi SSP, gangguan peredaran darah otak, kelainan neurodegeneratif dan kejang demam.

c. Epilepsi kriptogenik dianggap simptomatik tetapi penyebabnya belum diketahui, termasuk disini adalah sindrom West, sindrom Lennox-Gastaut dan epilepsi mioklonik.

Epilepsi dapat kambuh kembali dikarenakan beberapa faktor pencetus timbulnya serangan, diantaranya yaitu: gangguan emosional, stres, tidur, haid dan cahaya tertentu. Faktor lainnya yaitu faktor makan dan minum, suara tertentu, membaca, drug abuse, lupa atau enggan minum obat, faktor hiperventilasi dan suhu tubuh penyandangnya (Harsono, 2001). Serangan epilepsi terjadi apabila proses eksitasi di dalam otak lebih dominan daripada proses inhibisi. Perubahan-perubahan di dalam eksitasi aferen, disinhibisi, pergeseran konsentrasi ion ekstraseluler, *voltage-gated ion-channel opening*, dan menguatnya sinkron neuron sangat penting artinya dalam hal inisiasi serangan epileptik. Aktivitas neuron diatur oleh konsentrasi ion di dalam ruang ekstraseluler dan intraseluler, dan oleh gerakan keluar masuk ion-ion menembus membran neuron (Harsono, 2007).

Serangan epilepsi akan muncul apabila sekelompok kecil neuron abnormal mengalami depolarisasi yang berkepanjangan berkenaan dengan cetusan potensial aksi secara cepat dan berulang-ulang. Cetusan listrik abnormal ini kemudian menstimulasi neuron-neuron sekitarnya yang terkait di dalam proses. Secara klinis serangan epilepsi akan tampak apabila cetusan listrik dari sejumlah besar neuron abnormal muncul secara bersama-sama, membentuk suatu badai aktivitas listrik di dalam otak (Harsono, 2007).

2.3 Teknologi Partikel

Dasar pertimbangan pada pengembangan teknologi untuk terapi farmasetis terdiri dari tiga faktor utama yaitu menciptakan sistem yang efektif

(*effectiveness*), menekan efek bahaya pada sistem jika diaplikasikan (*safety*), dan membuat agar sistem dapat diterima dengan baik oleh pasien (*acceptability*). Permasalahan yang sering terjadi pada zat aktif adalah stabilitasnya yang buruk, tidak larut dalam air, selektifitas yang rendah, toksisitas tinggi, dan adanya efek samping (Wang *et al*., 2008). Teknologi partikel dalam farmasi adalah teknik untuk memodifikasi fisikokimia, micrometrics dan sifat biofarmasi obat yang sukar larut, untuk meningkatkan kelarutannya. Modifikasi fisik produk obat seperti mengurangi ukuran partikel dan memodifikasi kebiasaan kristal adalah pendekatan umum untuk meningkatkan kelarutan obat (Savjani *et al*., 2012).

Nanopartikel adalah partikel berukuran 1 – 100 nm dan kebanyakan metode menyarankan sebaiknya ukuran diameter partikel antara 200 dan 400 nm. Terdapat dua pengertian nanopartikel dalam bidang farmasi yaitu senyawa obat melalui suatu cara dibuat berukuran nanometer (nanokristal) dan suatu obat dienkapsulasi dalam suatu sistem pembawa berukuran nanometer, yaitu nanocarrier (Rachmawati *et al*., 2007). Obat pada sistem ini dapat terperangkap, dilarutkan, atau dienkapsulasi pada nanopartikel matriks (Mohanraj *and* Chen, 2006). Fitur utama nanopartikel, menjadikannya kandidat ideal untuk pengiriman obat, berukuran kecil dan menggunakan bahan *biodegradable* dalam persiapannya. Nanopartikel dapat mengantarkan obat ke sistem saraf pusat karena ukurannya yang lebih kecil dan permeabilitas penghalang yang lebih tinggi (Sachan *and* Singh, 2014).

Penggunaan teknik nanopartikel dapat menunjang sistem penghantaran intranasal. Rute intranasal adalah rute penghantaran agen terapetik dari rongga nasal ke otak secara langsung. Rute ini melibatkan rute ekstraseluler dan

transeluler, melibatkan indra penciuman (*olfactory*) dan pernafasan dari rongga hidung (Woensel *et al*., 2013). Penggabungan nanopartikel dan rute intranasal akan semakin meningkatkan kelarutan obat dan akan menyebabkan peningkatan penghantaran obat untuk mencapai sistem saraf pusat.

Beberapa kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Buzea *et al*., 2007), kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi, baik melalui difusi maupun opsonifikasi, dan fleksibilitasnya untuk dikombinasi dengan berbagai teknologi lain sehingga membuka potensi yang luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target (Kawashima *et al*., 2000). Partikel mikro dan nano dapat memperlama waktu kontak antara obat dengan mukosa sehingga luas permukaan kontak dengan mukosa meningkat (Schnurch *et al*., 2006). Pemanfaatan teknologi ini dalam penghantaran obat secara intranasal dapat meningkatkan absorpsi obat pada mukosa hidung sehingga meningkatkan bioavailabilitas dan efek terapi yang diinginkan (Puvvada *et al*., 2012).

Keunggulan penggunaan teknologi partikel berukuran nano atau mikro sebagai sistem penghantaran obat, yaitu: (1) ukuran partikel dan karakteristik permukaan yang dihasilkan dapat diatur dengan mudah untuk penghantaran obat aktif atau pasif yang tertarget setelah pemberian secara parenteral; (2) dapat mengontrol pelepasan obat, meningkatkan efikasi, dan menimalkan efek samping obat; (3) karakteristik pelepasan terkontrol dan degradasi partikel dapat dimodulasi dengan pemilihan matriks yang sesuai; (4) lokasi kerja obat yang tertarget dapat diperoleh dengan menempatkan ligan target ke permukaan partikel atau menggunakan bantuan sistem magnetik; dan (5) sistem mikro partikel dapat

digunakan untuk berbagai macam rute pemberian termasuk oral, nasal, parenteral intra okular, dan lainnya (Mohanraj *and* Chen, 2006).

2.4 Bahan Pembuat Nano Partikel

Pembuatan partikel berukuran nano atau mikro terdiri bahan makromolekul dan dapat digunakan dalam terapi sebagai pembawa atau penghantar obat. Mekansime pembawa atau penghantaran teknologi partikel yaitu dapat melarutkan, memerangkap, menenkapsulasi, menjerap, atau menempel dangan zat aktif secara kimia (Tiyaboonchai, 2003). Preparasi partikel dapat dilakukan menggunakan beberapa bahan seperti protein, polisakarida, dan polimer sintetik. Pemilihan bahan yang akan menjadi matriks polimer dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain ukuran partikel yang diperlukan, sifat obat seperti kelarutan dan stabilitas, karakteristik permukaan seperti muatan dan permeabilitas, derajat biodegradabilitas, biokompatibilitas, toksisitas, profil pelepasan obat yang diinginkan, dan antigenisitas produk akhir (Mohanraj *and* Chen, 2006).

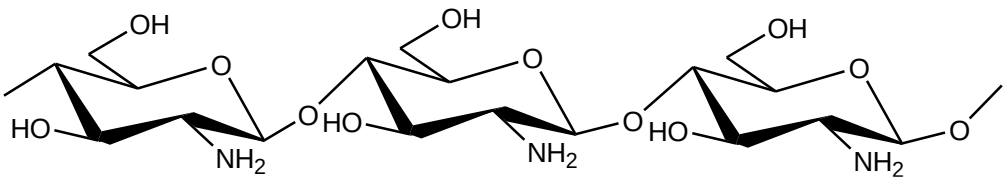
2.4.1 Kitosan

Kitosan adalah polisakarida alam yang diperoleh dari deasetilasi kitin. Jika sebagaian besar gugus asetil pada kitin disubtitusikan oleh atom hidrogen menjadi gugus amino dengan penambahan larutan basa kuat berkonsentrasi tinggi, hasilnya dinamakan kitosan atau kitin terseasetilasi. Rumus umum kitosan adalah $(C_6H_9NO_3)n$ atau disebut sebagai poli (β-(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-Glukopiranosa). Kitosan bukan merupakan senyawa tunggal tetapi merupakan kelompok yang terseasitilasi sebagian dengan derajat polimeriasasi yang berbeda. Kitin dan kitosan adalah nama dua kelompok senyawa yang dibatasi dengan

stoikiometri, kitin adalah poli N-aserilglukosamin yang terdeaesetilasi sedikit (Isnaini, 2015).

Kitosan merupakan polimer rantai panjang yang disusun oleh monomer-monomer glukosamin (2-amino-2-deoksi-D-glukosa). Biopolimer ini disusun oleh dua jenis amino yaitu glukosamin (2-amino-2-deoksi-D-glukosa, 70-80%) dan N-asetilglukosamin (2-asetamino-2- deoksi-D-glukosa, 20-30%). Kitosan larut dalam sebagian besar larutan asam organik pada pH kurang dari 6,5 seperti formiat, asetat, tartarat, dan asam sitrat serta tidak larut dalam asan fosfat dan asam sulfat. Kitosan merupakan basa lemah dengan nilai pKa 6,2-7,0. Pemanfaatan kitosan dalam aspek medis sebagai biopolimer memiliki sifat *biocompatible* terhadap tubuh. Kitosan merupakan biopolimer alam yang bersifat polielektrolit kationik yang berpotensi tinggi untuk penyerapan logam dengan mudah terbiodegradasi serta tidak beracun (Thariq dkk., 2016).

Mutu kitosan yang diperdagangkan secara komersial tergantung pada penggunaannya, misalnya pada penanganan limbah diperlukan kitosan dengan kemurnian yang rendah, sedangkan jika untuk obat-obatan diperlukan kitosan dengan kemurnian yang tinggi. Mutu kitosan tersebut dipengaruhi oleh beberapa parameter yaitu kadar air, kadar abu, derajat deastilasi (Thariq dkk., 2016).



Gambar 2. Struktur kitosan (Dompeipen, 2017)

Kitosan biasa digunakan sebagai polimer hidrofilik *biodegradable* dalam gelasi ionik dengan natrium tripolifosfat dalam pembuatan nanopartikel. Gugus amino bermuatan positif dari kitosan berinteraksi dengan muatan negatif

tripolifosfat untuk membentuk *coacervates* dengan ukuran nanometer. *Coacervates* terbentuk sebagai hasil interaksi elektrostatik antara dua larutan, sedangkan gelasi ionik melibatkan bahan yang mengalami transisi dari cair menjadi gel (Hasriani, 2014). Pemanfaatan kitosan sebagai polimer dalam sediaan internasal sebelumnya telah dilakukan oleh Illum *et al*. (2001). Dimana kitosan digunakan untuk penghantaran insulin.

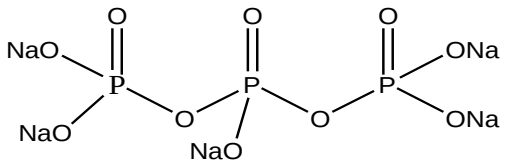
2.4.2 *Cross Linking Agent*

Cross linking adalah proses stabilisasi dalam kimia polimer yang mengarah ke perpanjangan multidimensional dari rantai polimer yang menghasilkan struktur jaringan (Maitra *and* Shukla, 2014). Suatu proses kimia yang terjadi pada teknik ini yaitu menggabungkan dua atau lebih molekul melalui ikatan kovalen. Teknik ini sering disebut sebagai biokonjugasi karena sering digunakan pada molekul protein dan biomolekul lainnya. *Cross linking agent* adalah molekul yang reaktif secara kimia mampu menyerang gugus fungsi spesifik (seperti amina primer dan sulfidril) pada protein atau molekul lainnya (Thermo-Scientific, 2012).

2.4.2.1 *Sodium Tripolyphosphate* (STPP)

Sodium tripolyphosphate (STPP) merupakan salah satu agen sambung silang (*cross-linking agent*). STPP memiliki rumus kimia Na_5P_3O, merupakan senyawa polifosfat dari natrium berbentuk bubuk atau granula berwarna putih dan tidak berbau serta mempunyai muatan negatif yang banyak. STTP sebagai multivalen fosfat adalah anion dengan berat molekul rendah. Melalui pendekatan gelasi ionik, kitosan yang memiliki polikation atau muatan positif hasil protonasi dalam suasana asam, dapat berinteraksi secara elektrostatis dengan polianion

sebagai *crosslinker* yaitu tripolifosfat. Tripolifosfat sering digunakan karena bersifat nontoksik, mempunyai kemampuan untuk membentuk gel secara cepat dan kemampuannya untuk berinteraksi secara elektrostatik dengan kitosan (Prayogo, 2014).



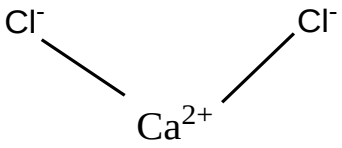
Gambar 3. Struktur natrium tripolifosfat (Hasriani, 2014)

Salah satu tujuan penambahan *crosslinking agent* pada penggunaan polimer kitosan adalah untuk memperbaiki stabilitas membran kitosan yang mudah larut dalam suasana asam (Miranda, 2016). Derajat taut silang kitosan dengan natrium tripolifosfat dipengaruhi oleh keberadaan sisi kationik dan senyawa anionik sehingga pH dari natrium tripolofosfat memiliki peran penting selama proses taut silang. Proses taut silang dilakukan pada dua kondisi pH, yaitu pH 3 dan 9. Pada pH 3 hanya dihasilkan ion tripolofosfat yang akan berinteraksi dengan $–NH_3^+$ dari kitosan sehingga pada kondisi tersebut didapatkan kitosan-tripolofosfat yang didominasi oleh interaksi ionik. Pada pH 9, dihasilkan ion hidroksil dan tripolofosfat. Kedua ion tersebut berkompetisis untuk berinteraksi dengan $–NH_3^+$. Pada kondisi tersebut, taut silang kitosan didominasi oleh deprotonasi oleh ion hidroksil (Bhumkar & Pokharkar, 2006).

2.4.2.2 Kalsium Klorida

Kalsium klorida memiliki rumus kimia $CaCl_2$, merupakan salah satu senyawa yang sering digunakan sebagai pengganti elektrolit. Sifat fisika kalsium klorida yaitu sangat mudah larut dalam air dan dapat mengkristalisasi pada suhu dan kondisi tertentu, bersifat sangat higroskopis, dapat mengabsorbsi kelembaban

dari udara yang menyebabkan senyawa ini melarut atau mencair (Oxychem, 2016). Kalsium klorida memiliki berat molekul 110,99 g/mol, titik lebur 773ºC, titik didih 1935 ºC, densitas 2,16 g/cm^{3,} dan pH larutan 4,5-9,2 (Dow, 2003).



Gambar 4. Struktur kalsium klorida (Drugbank, 2017)

Senyawa ini mudah terdisosiasi menjadi ion kalsium dan klorida di dalam air. Penelitian menunjukkan bahwa kalsium klorida tidak memiliki atau hanya sedikit memiliki sifat mengiritasi kulit. Selain itu, penelitian terhadap kelinci menunjukkan bahwa kalsium klorida dapat mengiritasi mata kelinci (UNEP, 2002). *Lethal dose* 50% (LD_{50}) kalsium klorida pada tikus sebesar 2301 mg/kgBB (oral) dan 2630 mg/kgBB (dermal) (Tetra, 2016).

2.4.3 Metode Pembuatan Partikel Kitosan

2.4.3.1 Gelasi Ionik (*Ionic Gelation*)

Metode gelasi ionik melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Gelasi ionik seringkali diikuti dengan kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Pembentukan ikatan sambung silang ini akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk. Contoh pasangan polimer yang dapat digunakan untuk gelasi ionik ini antara lain kitosan dengan tripolifosfat dan kitosan dengan karboksimetilselulosa (Swarbrick (ed.), 2007).

Metode gelasi ionik adalah metode yang digunakan dalam pebuatan sediaan intranasal fenobarbital-kitosan. Teknik gelasi ionik dipilih karena prosedur yang sederhana, biaya yang rendah dan persen penjerapan yang tinggi

untuk obat yang kelarutan dalam air yang buruk (Khanam *et al*., 2011). Kitosan dilarutkan pada larutan dengan pH asam untuk mengubah gugus amina ($-NH_2$) menjad terionisasi positif ($-NH_3^+$). Gugus yang telah terionisasi positif ini selanjutnya mampu membentuk interaksi ionik dengan obat yang bermuatan negatif sehingga akan menyisakan gugus ammonium bebas yang akan saling tolak-menolak yang dapat melemahkan kompleks nanopartikel yang telah terbentuk, sehingga diperlukan penambahan suatu pengikat silang (*crosslinker*) yang mampu menstabilkan muatan positif yang tersisa. Pengikat silang ini harus berupa poli-anion, dan salah satu yang banyak digunakan adalah anion tripolifosfat (TPP) (Martien *et al*., 2012)

2.4.3.2 *Covalent Cross Linking*

Sambung silang kovalen terbentuk dari jaringan permanen yang menyebabkan difusi bebas dari air dan meningkatkan sifat mekanis dari gel. Agen penaut silang yang paling umum digunakan pada kitosan adalah golongan seperti glioksal dan glutaraldehid. Reaksi taut silang kovalen terjadi pada gugus aldehid dari penaut silang bereaksi dengan gugus amin dari kitosan membentuk ikatan imin kovalen. Penggunaan agen taut silang tersebut dapat menginduksi sifat toksik, glutaraldehid yang memiliki sifat neurotoksik dan glioksal memiliki sifat mutagenik (Berger *et al*., 2004). Selain itu agen sambung silang yang sering digunakan yaitu polietilenglikol (PEG), asam dikarboksilat, atau agen monofungsional seperti apiklorohidrin (Wang *et al*., 2011; Puvvada *et al*., 2012).

2.5 Sediaan Intranasal

Rute intranasal telah menerima perhatian yang signifikan dalam beberapa tahun terakhir sebagai rute yang nyaman dan dapat diandalkan, tidak hanya untuk

lokal tetapi juga untuk administrasi sistemik obat (Ghori *et al*., 2015). Saat ini, rute intranasal telah digunakan dalam sitem penghantaran obat dengan barbagai indikasi, seperti sumatriptan untuk migrain, desmopressin sebagai antidiuretik dalam pengobatan diabetes insipidus, dan oksitoksin untuk mempercepat persalinan (Parvathi, 2012). Obat akan mencapai sirkulasi sistemik melalui pemberiaan intranasal (Woensel *et al*., 2013).

Rute intranasal adalah rute penghantaran agen terapetik dari rongga nasal ke otak secara langsung. Rute ini melibatkan rute ekstraseluler dan transeluler, melibatkan indra penciuman (*olfactory*) dan pernafasan dari rongga hidung (Woensel *et al*., 2013). Keuntungan rute intranasal yaitu luas permukaan yang luas untuk penyerapan obat, kenyamanan dan kepatuhan pasien yang baik, pencapaian tingkat terapeutik obat yang cepat dalam darah, permeabilitas obat yang tinggi terutama untuk obat-obatan dengan berat molekul rendah dan lipofilik, menghindari kondisi lingkungan dan gastrointestinal yang keras, melewati efek lintas pertama (*first pass effect*), pengiriman obat langsung potensial ke otak di sepanjang saraf penciuman, serta situs kontak langsung untuk vaksin dengan jaringan limfatik (Ghori *et al*., 2015).

Selain memiliki keunggulan rute intranasal juga memiliki kelemahan yaitu beberapa obat mungkin dapat mengiritasi mukosa hidung, hidung yang sedang tersumbat akibat flu atau alergi dapat menurunkan absorbsi obat, penghantaran obat akan menurun dengan dipengaruhi oleh peningkatan berat molekul obat, terlalu sering menggunakan rute ini menyebabkan gangguan pada mukosa hidung, dan jumlah obat yang sampai berbeda-beda pada setiap bagian otak (Parvathi, 2012).

2.5.1 Mekanisme Penghantaran Obat Secara Intranasal

Untuk mencapai efek terapi yang optimal dalam pengobatan epilepsi menggunakan fenobarbital, obat harus sampai ke otak dengan bioavailabilitas yang tinggi. Rute intranasal dapat menghantarkan obat ke dalam rongga hidung dan dapat dengan cepat diserap ke dalam sirkulasi sistemik tanpa degradasi enzimatik biasa dan efek lintas pertama di hati sehingga ketersediaan hayati dan kecepatan onset dari efek farmakologis meningkat (Katare *et al*., 2016). Menurut Gulati (2013), pemberian obat melalui rute intranasal membantu obat melewati *blood-brain barrier* (BBB) atau sawar darah otak dan dapat langsung menargetkan otak yang dicapai dengan penyerapan melalui mukosa olfaktori.

Obat yang diabsorbsi dari rongga hidung terlebih dahulu akan melewati lapisan lendir (*mucus*) yang merupakan langkah awal dalam absorbsi obat. Obat bermuatan kecil dan tidak mengalami perubahan dengan mudah dapat melewati lapisan ini tapi obat-obatan bermuatan besar menemukan kesulitan untuk melewatinya (Kumar *et al*., 2013). Mekanisme penyerapan melalui mukosa hidung termasuk penghantaran secara paraseluler melalui gerakan antara sel dan transitosis dengan bantuan *carrier*, atau secara transeluler yaitu difusi sederhana melewati membran (Parvathi, 2012).

2.6 Evaluasi Sediaan

Sediaan yang telah dibuat dilakukan evaluasi meliputi organoleptis, pH, stabilitas, %EE, waktu sedimentasi, dan redispersi. Evaluasi dilakukan untuk memaksimalkan keuntungan pemakaian dan menjamin keselamatan pasien dengan mengurangi efek merugikan yang mungkin timbul. Evaluasi sediaan yang dilakukan untuk menentukan formula optimum dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik evaluasi sediaan

Karakteristik	Keterangan
Organoleptis	Bertujuan untuk melihat tampilan fisik sediaan melalui warna, bau, dan tekstur. Syaratnya adalah memiliki warna yang menarik, tidak menyengat, dan tidak terpisah menjadi dua fase
Waktu Sedimentasi dan redispersi	Bertujuan untuk menentukan kestabilan sediaan nanopartikel. Aglomerasi dan sedimentasi nanopartikel dapat mempengaruhi stabilitas koloid.
pH	Uji pH dilakukan untuk mengetahui stabilitas dan penyesuaian pH sediaan dengan pH nasal (4,5 - 6,5) agar tidak terjadi iritasi nasal.
Stabilitas	Merupakan kemampuan suatu produk untuk mempertahankan batas-batas tertentu selama penyimpanan dan penggunaannya atau bisa juga disebut dengan umur simpan produk yang masih mempunyai sifat dan karakteristik yang sama seperti pada waktu pembuatan. Pengujian stabilitas suatu produk dapat dilakukan dengan menggunakan uji *heating cooling cycle.*
Persen Efisien Penjerapan (%EE)	Proses penjerapan yang baik dapat digunakan untuk menghantarkan obat dengan pelepasan terkontrol dalam jangka waktu tertentu. Nilai %EE yang baik yaitu mendekati 100% akan menunjukkan kemampuan interaksi polimer dengan bahan obat yang baik.

(Dewi dan Rusita, 2017; Estanqueiro *et al*., 2014; Kushwaha *et al*., 2011; Ganguly *and* Chakraborty, 2011; Gaskal *et al*., 2008).

2.7 Karakteristik Nanopartikel

Karakteristik nanopartikel yang dilakukan meliputi ukuran dan distribusi partikel, zeta potensial, dan persen efisien penjerapan (%EE). Alat yang digunakan untuk mengkarakterisasi ukuran dan distribusi partikel adalah *Particle Size Analyzer* (PSA). Nanopartikel memiliki ukuran yang kecil dan sifat fisikokimia yang unik sehingga diperlukan evaluasi agar penggunaannya aman dan efeknya maksimal. Karakteristik nanopartikel yang diinginkan seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik nanopartikel

Karakteristik	Keterangan
Ukuran partikel dan distribusi partikel	Mempengaruhi nasib biologis obat, sifat toksisitas, stabilitas obat, dan pelepasan obat pada sel target. Sediaan intranasal diharapkan memiliki ukuran partikel <10 µm untuk mencegah obat tertahan pada rongga hidung. Distribusi partikel dapat ditunjukkan

	dengan indeks polidispersitas (PDI) dengan nilai rentang 0 – 1. Nilai 0 menunjukkan disperse yang homogen atau distribusi partikel yang seragam.Ukuran dan distribusi partikel dapat diamati dengan menggunakan instrument *particle size analyzer* (PSA).
Zeta potensial	Zeta potensial digunakan untuk mengetahui sifat dari muatan permukaan partikel dan juga menentukan apakah bahan aktif terjerap di tengah atau pada permukaan partikel. Nanopartikel dengan potensial zeta (+/-) 30 mV menunjukkan suspensi yang stabil.

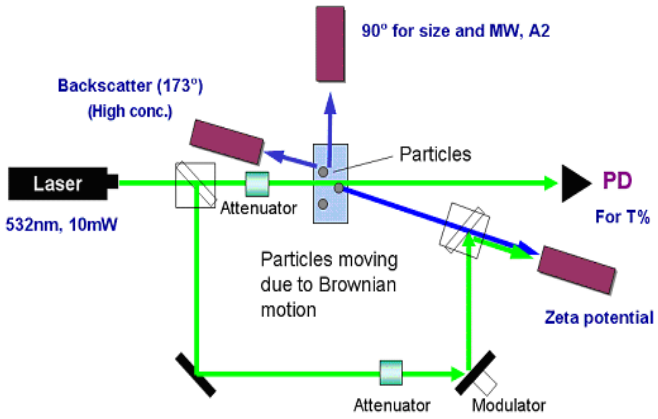
(Mohanraj *and* Chen, 2006; Ali *et al*., 2012; Avadi *et al*., 2009; Jahanshahi dan Zahra, 2008).

2.7.1 Karakteristik Nanopartikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Particle size analyzer (PSA) digunakan untuk mengukur ukuran nanopartikel, koloidal, dan protein, distribusi ukuran nanopartikel, zeta potensial, dan bobot molekul secara kuantitatf. Alat ini mampu mengukur ukuran partikel dan molekul yang berada dalam rentang 0,15 nm sampai 10 μm. Prinsip kerja dari alat ini adalah hamburan cahaya dinamis atau *dynamic light scattering* (DLS). Dengan teknik DLS ini, PSA dapat dipalikasikan untuk mengukur ukuran dan distribusi ukuran dari partikeldan molekul yang terdispersi atau terlarut di dalam sebuah larutan, contohnya antara lain protein, polimer, misel, karbohidrat, nanopartikel, disperse koloid, emulsi, dan mikroemulsi (Malvern, 2012).

Partikel, emulsi, dan molekul didalam suspensi pada dasarnya memiliki gerak Brown, yang diinduksi oleh pengeboman molekul pelarut. Molekul pelarut bergerak karena energi termal. Jika partikel atau molekul tersebut disinari cahaya, intensitas dari cahaya yang dihamburkan oleh partikel akan berfluktuasi dengan kecepatan yang tergantung pada ukuran partikel tersebut. Partikel-partikel yang lebih kecil akan berfluktuasi lebih cepat daripada partikel-partikel besar (Holler, Skoog, dan Crounch, 2007). Metode yang digunakan dalam pengukuran PSA yaitu metode basah dan kering. Pada metode basah digunakan media pendispersi

untuk mendispersikan material uji. Sedangkan metode kering, merupakan metode yang memanfaatkan udara atau aliran udara yang berfungsi untuk melarutkan partikel dan membawanya ke *sensing zone*. Metode ini baik digunakan untuk ukuran yang kasar, dimana hubungan antar partikel lemah dan kemungkinan untuk beraglomerasi kecil (Malvern, 2012).



Gambar 5. Instrumentasi *Particle Size Analyzer* (PSA) (Malvern, 2012)

Pengukuran partikel dengan menggunakan PSA biasanya menggunakan metode basah. Metode ini dinilai lebih akurat jika dibandingkan dengan metode kering. Terutama untuk sampel-sampel dalam orde nanometer yang cenderung memiliki aglomerasi yang tinggi. Hal ini dikarenakan partikel didispersikan ke dalam media sehingga partikel tidak saling aglomerasi. Dengan demikian, ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari *single particle.* Selain itu hasil pengukuran ditampilkan dalam bentuk distribusi, sehingga hasil pengukuran dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel (Malvern, 2012).

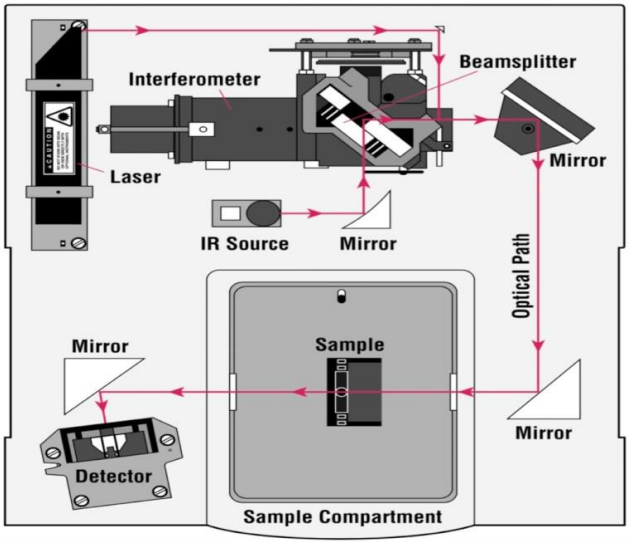
2.7.2 Spektroskopi FTIR

Spektroskopi inframerah tertransformasi *fourier* (*Fourier Transformed Infrared*, FTIR) dapat mengukur secara cepat gugus fungsi tanpa merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak. Pada dasarnya Spektroskopi FTIR adalah sama dengan spektroskopi IR dispersi, yang

membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra-merah melewati sampel. Beberapa radiasi inframerah diserap oleh sampel dan sebagian dilewatkan (ditransmisikan). Spektrum yang dihasilkan merupakan penyerapan dan transmisi molekul, menciptakan bekas molekul dari sampel. Seperti sidik jari tidak ada dua struktur molekul khas yang menghasilkan spektrum inframerah sama (Rohaeti *et al.*, 2011).

FT-IR merupakan suatu teknik yang berdasarkan atas vibrasi-vibrasi dari atom-atom yang berada dalam sebuah molekul. Sebuah spektrum inframerah didapatkan dengan melewatkan radiasi infra merah melalui sampel dan menentukan fraksi apa yang terjadi saat melewatkan radiasi yang terabsorp dengan energi khusus. Energi yang terdapat pada beberapa puncak dalam sebuah spektrum absorpsi menunjukan kecocokan terhadap frekuensi pada vibrasi dari sebagian molekul sampel (Hart dkk., 2003). Spektrofotometri Infra Merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75 – 1.000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000 – 10 cm^{-1}.

Spektroskopi FTIR menggunakan sistem optik dengan laser sebagai sumber radiasi kemudian diinterferensikan oleh radiasi inframerah menjadi sinyal radiasi yang diterima oleh detektor dengan kualitas yang baik dan bersifat utuh. Prinsip kerja FTIR, berupa sinar *infrared* yang melewati celah ke sampel, yang akan mengontrol jumlah energi yang disampaikan ke sampel. Kemudian *infrared* diserap oleh sampel dan yang lainnya ditransmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar *infrared* lolos ke detektor dan sinyal yang terukur kemudian dikirim ke komputer seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5 (Thermo, 2001).



Gambar 6. Skema prinsip kerja FTIR (Thermo, 2001)

Frekuensi inframerah biasanya dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang yang didefinisikan sebagai banyaknya gelombang per sentimeter. Spektrum inframerah suatu senyawa dapat dengan mudah diperoleh dalam beberapa menit. Sedikit sampel senyawa diletakkan dalam instrumen dengan sumber radiasi inframerah. Spektroskopi secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas berapa persen radiasi yang ditransmisikan. Radiasi yang diserap oleh molekul muncul sebagai pita pada spektrum (Hart dkk., 2003).

Tabel 3. Frekuensi regangan inframerah untuk beberapa jenis ikatan

Jenis Ikatan	Gugus	Golongan Senyawa	Kisaran Frekuensi (cm^{-1})
Ikatan tunggal dengan hidrogen	C–H	Alkana	2850-3000
	=C–H	Alkena dan senyawa aromatik	3030-3140
	≡C–H	Alkuna	3300
	O–H	Alkohol dan fenol	3500-3700 (bebas)
			3200-3500 (berikatan hidrogen)
	COOH	Asam karboksilat	2500-3000
	N–H	Amina	3200-3600
	S–H	Tiol	2550-2600
Ikatan rangkap	C=C	Alkena	1600-1680
	C=N	Imina, oksim	1500-1650
	C=O	Aldehid, keton, ester, asam karboksilat	1650-1780
Ikatan rangkap tiga	C≡C	Alkuna	2100-2260
	C≡N	Nitril	2200-2400

(Hart dkk., 2003).

2.8 Karakteristik Sediaan Intranasal

Karakterisasi sediaan intranasal meliputi *pump delivery*, pola penyemprotan, keseragamaan bobot dan geometri semprotan. Tujuan dilakukan karakteristik *pump delivery* dan keseragaman bobot semprotan adalah untuk melihat dosis yang dihantarkan dan bobot sediaan yang disemprotkan. Karakteristik pola penyemprotan dan geometri penyemprotan dilakukan untuk melihat penyebaran sediaan yang disemprotkan. Karakteristik sediaan intranasal yang diinginkan seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik sediaan intranasal

Karakteristik	Keterangan
Pump delivery	Pengujian yang digunakan untuk menilai reproduktifitas pompa dalam pengiriman obat dan mengevaluasi kemampuan pemakaian pompa. Bobot yang dihasilkan dari masing-masing semprotan tidak boleh menyimpang dari 6% bobot sebelumnya dan lebih dari 10% dari bobot rata-rata sepuluh semprotan.
Keseragaman Bobot Semprot	Pengujian yang digunakan untuk memastikan kadar yang keluar dari wadah seragam atau sama. Kriteria penerimaan pengujian ini yaitu: (1) jumlah zat aktif setiap semprotan tidak boleh menimpang dari 80 – 120% kandungan zat aktif yang tertera pada label untuk lebih dari 1 dalam 10 kontainer dan rata-ratanya tidak boleh menyimpang dari 85 – 115% dari yang tertera pada label; dan (2) jika 2 atau 3 data dari 10 data dinyatakan menimpang, maka pengujian dilanjutkan terhadap 20 sampel lapis kedua dengan persyaratan yang sama seperti pada poin pertama
Pola Penyemprotan dan Geometri Semprot	Pengujian untuk mengevaluasi kinerja pompa dan *nozzle* yang ditentukan dengan menggunakan alat *E-lite* CCD kamera dan selembar cahaya.

(Pawar and Chaudry, 2015; Bankar *et al*., 2012)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan bulan Januari 2019 sampai dengan Mei 2019. Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, Laboratorium Pengujian dan Penelitian Terpadu Kimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Inderalaya, Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Palembang, dan Laboratorium *Nanofabrication* Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik *readability* 0,0001 g (Nimbus®NBL-2541), spektrofotometer UV-VIS (Biobase® BK-UV1900PC), *magnetic stirrer* 1500 rpm (IKA®C-MAG HS 4), *bath sonicator* 40kHz (GT Sonic® VGT-1620QTD), spinbar, kulkas (Sanyo®), Oven (Autonic® TC4S), pH meter (Leutron® pH Electrode PE-03), pipet mikro (Dragonlab® 0,1 – 2,5 µL, 10 – 100 µL, dan 100 – 1000 µL), stopwatch, *particle size analyzer* (PSA) (Horiba Scientific® SZ-100), FTIR *spectroscopy* (Thermo Scientific®), Franz *diffusion cell* (Prima Medicha), viskometer Ostwald (PTC *Chemical Equipment*), *ultrasentrifuse* 100 − 15000 rpm (Hettich EBA BS®), *software* Minitab®17, *software* SPSS®16, *software* DX®10, *software* ImageJ®, *software* WinSAAM™, dan alat-alat gelas (Pyrex® dan Iwaki®).

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fenobarbital (PT. Mersi Farma, Jakarta), kitosan (CV. ChiMultiguna, Indramayu), natrium tripolifosfat (Maju Kimia), kalsium klorida ($CaCl_2$) (Merck®), asam asetat glasial (PT. Brataco, Palembang), tween 80 (PT. Brataco, Palembang), natrium hidroksida (NaOH) (PT. Brataco, Palembang), natrium klorida (NaCl) (PT. Brataco, Palembang), membran mukosa hidung kambing (Pasar Kuto, Palembang), kalium dihidrogen fosfat (KH2PO4) (PT. Brataco, Palembang), etanol *p.a* (PT. Brataco, Palembang), tabung Eppendorf®, *blue tip*; *yellow tip*; *white tip* (OneMed), dan akuades (PT. Bratachem, Palembang).

3.3 Formulasi dan Optimasi Nanopartikel Fenobarbital

Formula optimum sediaan nanopartikel fenobarbital dengan variasi jenis *crosslinker,* waktu pengadukan *magnetic stirrer* dan waktu sonikasi dirancang menggunakan program DX®10. Formula optimum diambil berdasarkan penelitian Annisa (2018) dengan formulasi kitosan-STPP yaitu 0,1% kitosan, 0,1% STPP, kecepatan pengadukan 1186,076 rpm dan fomulasi kitosan-$CaCl_2$ yaitu 0,161% kitosan, 0,5% $CaCl_2$, kecepatan pengadukan 572,930 rpm. Nilai %terdifusi dari masing-masing fomula optimum yaitu fomula optimum STPP 74,9201% dan fomula optimum $CaCl_2$ 71,1910% dalam waktu 24 jam. Kitosan dan STPP diformulasikan bersama fenobarbital dengan konsentrasi dan penambahan *stabilizer* yaitu tween 80 dengan konsentrasi 0,5%. Penggunaan desain faktorial akan didapatkan formula dasar yang dapat dilihat pada Tabel 5 merupakan susunan faktor dan level yang digunakan dalam formulasi nanopartikel fenobarbital.

Variasi waktu pengadukan *magnetic stirrer* diperoleh dari penelitian Gupta *and* Karar (2010) dengan %EE 82,67% waktu pengadukan 60 menit dan %EE 87% waktu pengadukan 90 menit. Waktu sonikasi diperoleh dari hasil penelitian Keum *et al*. (2011) dengan %EE sebesar 90% hasil sonikasi selama 5 menit dan 30 menit dengan penurunan aglomerasi yang baik pada sediaan diperoleh dari hasil penelitian Amar *et al*. (2015). Batas maksimum dan minimum variabel bebas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Susunan faktor level variabel dalam formulasi nanopartikel fenobarbital

Faktor		
Jenis *crosslinker*	Waktu *magnetic stirrer*	Waktu sonikasi
STPP	60 menit	5 menit
$CaCl_2$	90 menit	30 menit

(Gupta *and* Karar, 2010; Keum *et al*., 2011)

Tabel 6. Komposisi formula berdasarkan desain faktorial

Kode Formula	Jumlah Bahan dalam Formulasi				
	Fenobarbital	Kitosan (%)	Jenis *crosslinker*	Waktu sonikasi (Menit)	Waktu *magnetic stirrer* (Menit)
F1	10 mg	0,1	STPP	5	60
F2	10 mg	0,161	$CaCl_2$	5	90
F3	10 mg	0,1	STPP	30	60
F4	10 mg	0,161	$CaCl_2$	30	90
F5	10 mg	0,1	STPP	5	90
F6	10 mg	0,161	$CaCl_2$	5	60
F7	10 mg	0,1	STPP	30	90
F8	10 mg	0,161	$CaCl_2$	30	60

(Yu *et al.*, 2014; Annisa, 2018)

3.4 Pembuatan Sediaan

Pembuatan sediaan nanopartikel fenobarbital dilakukan dengan menggunakan teknik gelasi ion. Sediaan dibuat dengan menambahkan 10 mg fenobarbital yang telah ditambah 1 mL etanol dengan larutan kitosan yang telah dipreparasi sebanyak 7 mL diaduk dengan *magnetic stirrer*. Selanjutnya dilakukan penambahan 1 tetes tween 80 kedalam larutan, diaduk hingga diperoleh larutan yang stabil. *Crosslinker* ditambahkan tetes demi tetes dari larutan stok sebanyak 7

mL kedalam larutan kitosan-fenobarbital sambil diaduk, waktu pengadukan disesuaikan dengan formula pada Tabel 6. Homogenkan dan dilakukan pengecilan ukuran partikel dengan *bath sonicator* dengan waktu sonikasi sesuai dengan formula pada Tabel 6.

3.5 Penentuan Formula Optimum

3.5.1 Organoleptis Sediaan

Uji organoleptis dilakukan terhadap sediaan intranasal nanopartikel yang dihasilkan, beberapa parameter yang diperhatikan yaitu dari segi endapan dan kemampuan redispersi. Penilaian organoleptis sediaan dilakukan dengan dengan menentukan nilainya dari 1–5, dengan ketentuan sebagai berikut: (1) endapan menggumpal dan menyatu seperti *caking*; (2) endapan menggumpal tetapi banyak dan berupa gumpalan kecil-kecil; (3) mengendap dan sulit terdispersi; (4) mengendap tetapi mudah terdispersi; dan (5) tidak mengendap (Dewi dan Rusita, 2017).

3.5.2 Pengukuran Persen Efisiensi Penjerapan

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis diawali dengan membuat larutan induk fenobarbital 100 µg/mL, 10 mg fenobarbital dilarutkan dalam 100 mL etanol *p.a*. Selanjutnya dilakukan pengenceran pada seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL, lalu dilakukan pembacaan absorbansi pada setiap pengenceraan konsentrasi dan dibuat persamaan garis (y= a + bx) yang sebelumnya dilakukan uji *scanning* panjang gelombang fenobarbital.

Penentuan persen efisiensi penjerapan dilakukan menggunakan teknik sentrifugasi dan spektrofotometri (Gulati *et al*., 2013). Sentrifugasi suspensi

nanopartikel fenobarbital-kitosan sebanyak 2 mL dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit pada suhu 20ºC. Selanjutnya dilakukan penentuan absorbansi fenobarbital dari fase supernatan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penafsiran uji %EE dilakukan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi superanatan kedalam persamaan garis (y = a + bx) sehingga akan diperoleh konsentrasi dari masing-masing supernatan. Penentuan persen efisiensi penjerapan dilakukan dengan menggunakan Persamaan 1.

$$\% \text{ EE} = \frac{\sum \text{konsentrasi obat dalam nanopartikel} - \sum \text{konsentrasi obat bebas}}{\sum \text{konsentrasi obat dalam nanopartikel}} \times 100\% \quad \text{.....(1)}$$

3.5.3 Pengukuran pH Sediaan

Pengukuran pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter digital. Pengujian dilakukan dengan mencelupkan elektroda dari pH meter digital ke dalam sediaan. Proses ini dilakukan selama 30 detik, kemudian catat nilai pH yang muncul pada alat (Aremu *and* Oduyela, 2015).

3.5.4 Pengujian Redispersi

Uji redispersi dilakukan secara manual. Sediaan yang berada di dalam wadah diputar 180^0 dan dibalikkan ke posisi semula. Penilaian dilakukan berdasarkan jumlah putaran yang diperlukan untuk mendispersikan kembali endapan sediaan agar kembali tersuspensi sempurna (Gebresamuel and Gebremariam, 2013).

3.5.5 Analisis Stabilitas Termodinamika

Berdasarkan penelitian Estanqueiro *et al*. (2014) *heating cooling cycle* merupakan salah satu metode untuk menguji stabilitas sediaan. Pengujian dilakukan dengan menyimpan sediaan pada lemari pendingin suhu 4ºC dan oven suhu 40ºC secara bergantian setiap 24 jam selama 7 hari. Setelah pengujian,

dilakukan pengamatan terhadap sediaan ada atau tidaknya perubahan warna dan endapan yang terbentuk serta perubahan pada kadar zat aktif dalam sediaan dihitung dengan Persamaan 2.

$$\% \text{ Penurunan Kadar} = \frac{kadar\ awal - kadar\ setelah\ pengujian}{kadar\ awal} \times 100\% \quad \text{.....(2)}$$

3.5.6 Pengujian Waktu dan Volume Sedimentasi

Pengujian dilakukan dengan memasukkan sediaan sebanyak 2 mL kedalam tabung reaksi kemudian didiamkan pada suhu kamar. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui berapa waktu yang diperlukan dispersi nanopartikel untuk mengendap secara sempurna, tidak terdapat partikel melayang dengan bagian atas sediaan terlihat jernih lalu diukur volume endapan yang dihasilkan dan dihitung berapa volume sediaan yang mengendap (Naveed *et al*., 2015).

3.6 Karakterisasi dan Evaluasi Formula Optimum

3.6.1 Karakterisasi dan Evaluasi Nanopartikel

3.6.1.1 Penentuan Ukuran Partikel, Zeta Potensial, dan *Polydispersity Index* (PDI)

Penentuan ukuran partikel, zeta pontensial, dan indeks polidispersitas (PDI) dengan menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA) melalui metode *dynamic light scaterring* (DLS). Sampel formula optimum yang cair dimasukkan ke dalam kuvet PSA, lalu cahaya monokromatik akan ditembakkan oleh instrumen, hasil cahaya yang dibiaskan pada sudut 173° dan detektor akan menangkap hasil pembiasan cahaya untuk menghasilkan zeta potensial, sedangkan hasil penghamburan cahaya pada sudut 90° akan ditangkap oleh detektor sehingga dapat menghasilkan diameter dan distribusi partikel. Detektor kemudian akan mendeteksi hasil dari hamburan cahaya ini (Amdira, 2017).

3.6.1.2 Interaksi Matriks Nanopartikel-Fenobarbital

Analisis interaksi matriks nanopartikel-fenobarbital dilakukan dengan menggunakan FTIR spektrofotomer. Analisis dilakukan pada rentang panjang gelombang 4000 – 500 cm^{-1}, FTIR spektrofotometer dapat mendeteksi gugus fungsional yang ada pada sampel. Sediaan diletakkan pada preparat FTIR, kemudian spektrum sampel dikumpulkan (Gudipati *et al*., 2015).

3.6.2 Karakterisasi Sediaan Intranasal

3.6.2.1 *Pump Delivery*

Uji *pump delivery* dilakukan dengan menyemprotkan ke udara sediaan yang dihasilkan sebanyak satu kali, kemudian timbang beberapa bobot yang dikeluarkan. Proses ini diulangi sebanyak sepuluh kali dan dihitung bobot rata-rata semprot yang dihasilkan tiap semprot (bobot individual). Syarat untuk uji ini yaitu perbedaan antar bobot yang dihasilkan pada masing-masing percobaan tidak boleh lebih dari 6% dan tidak boleh lebih dari 10% dari bobot rata-rata dari sepluh percobaan (Pawar *and* Chaudhary, 2015).

3.6.2.2 Keseragaman Bobot Semprot

Uji keseragamaan bobot dilakukan dengan terlebih dahulu sediaan intranasal (*nasal spray*) bobot terukur dalam bentuk larutan di masukkan ke dalam pengemas (perangkat atomisasi) berupa botol *nasal spray*. Selanjtnya *nasal spray* dikocok selama 5 detik dan buang sekali atau dilakukan penyemprotkan sediaan ke udara untuk membersihkan pengotornya. Diamkan selama 5 detik, kocok lagi selama 5 detik dan buang lagi. Prosedur ini dilakukan sebanyak 3 kali. Bobot obat pada setiap semprotan dalam larutan secara kolektif ditentukan dengan mengevaluasi keseragaman bobot pada semprotan tertentu. Penimbangan

dilakukan pada semprotan ke-6, 7, 8, 82, 164, 165, dan 166 (Pawar *and* Chaudhary, 2015).

3.6.2.3 Pola Penyemprotan dan Geometri Semprot

Data pola semprot diperoleh dari hasil pengamatan terhadap hasil semprot pada satu jarak aktuasi atau penyemprotan optimum yaitu 5 cm (Guo *and* Doub, 2006). Uji pola semprot dilakukan dengan cara menyemprotkan sediaan pada selembar plastik dengan ukuran tertentu dan diberi nomor dengan jarak 5 cm sebanyak tiga kali replikasi dan diamati pola semprotan yang terbentuk dan diameternya (Suyudi, 2014). Pengujian geometri semprotan dilakukan dengan menyemprotkan sediaan intranasal *spray* dengan latar belakang hitam dan menangkap gambar secara *slow-motion*. Hasil foto akan terlihat geometri penyemprotan dan diukur sudut semprotan menggunakan ImageJ®.

3.6.2.4 Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan menuangkan sediaan ke dalam viskometer, viskometer yang digunakan dalam pengujian adalah viskometer Ostwald. Hisap menggunakan *bulb* hingga batas garis atas alat, siapkan *stopwatch*, catat waktu yang diperlukan sediaan untuk mengalir dari batas garis atas ke batas garis bawah alat. Setelah itu dibandingkan waktu alir yang dihasilkan dengan waktu alir akuades yang telah diketahui viskositasnya (Nahumury, 2009). Perhitungan viskositas dapat dilakukan menggunakan Persamaan 3.

$$\frac{\eta}{\eta_0} = \frac{\rho t}{\rho_0 t_0} \quad \text{.....(3)}$$

Keterangan:

η	= viskositas sampel	ρ_0	= bobot jenis air
η_0	= viskositas air	t_0	= waktu alir air
ρ	= bobot jenis sampel	t	= waktu alir sampel

3.6.3 Studi Pelepasan Nanopartikel Fenobarbital secara *Ex-Vivo*

3.6.3.1 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 6,4

Pembuatan larutan dapar fosfat pH 6,4 dibuat dengan menambahkan NaOH 0,2 M ke dalam larutan KH_2PO_4 0,2 M. Sebelumnya dilakukan perhitungan untuk mengetahui masing-masing bobot bahan NaOH dan KH_2PO_4 yang diperlukan dalam 100 mL akuades. Pembuatan larutan NaOH 0,2 M yaitu sebanyak 0,8 g NaOH dilarutkan ke dalam 100 mL akuades, sedangkan untuk pembuatan larutan KH_2PO_4 0,2 M yaitu sebanyak 2,722 g KH_2PO_4 dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Larutan KH_2PO_4 0,2 M dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu ditambahkan NaOH 0,2 M sebanyak 11,6 mL. Volume akhir larutan dapar dicukupkan hingga 200 mL dengan akuades dan dihomogenkan (USP Convention, 2007).

3.6.3.2 Pembuatan Kurva Baku Fenobarbital Dalam Larutan Dapar Fosfat pH 6,4

Sebanyak 100 mg fenobarbital ditimbang dan dilarutkan dengan 100 mL larutan dapar fosfat pH 6,4 sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL sebagai larutan induk untuk pembuatan kurva baku fanobarbital. Seri konsentrasi 10; 50; 100; 150; dan 200 µg/mL diperoleh dengan pengenceran larutan induk fenobarbital dengan menggunakan larutan dapar fosfat pH 6,4. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi untuk masing-masing seri pengenceran pada panjang gelombang maksimum yaitu 206 nm. Setelah itu dibuat plot konsentrasi vs absorbansi berdasrkan hasil absorbansi yang diperoleh sehingga diperoleh persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menghitung kadar pada uji difusi.

3.6.3.3 Uji Pelepasan Obat secara *Ex Vivo*

Uji pelepasan obat secara *ex vivo* dilakukan dengan menggunakan membran mukosa hidung kambing dan medium dari larutan dapar fosfat pH 6,4. Selain itu, juga digunakan alat Franz *diffusion cell* untuk melihat pelepasan obat secara *ex vivo*. Terlebih dahulu membran mukosa hidung kambing dicuci dengan larutan dapar fosfat pH 6,4 dan disesuaikan diameternya dengan diameter Franz *diffusion cell*, lalu membran tersebut dipasang ke bagian penghubung akseptor dan donor dengan bagian dermal membran mengenai larutan dapar fosfat pH 6,4 pada bagian akseptor.

Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi dan suhu pengujian dijaga 37± 0,5^{o}C dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Sebanyak 2 mL sediaan formula optimum diletakkan di atas membran mukosa hidung kambing dengan diameter 18,5567 ± 0,4396 mm dan ketebalan 0,2267 ± 0,0112 mm (pada bagian donor). Sampling dilakukan dengan mengambil 2 mL larutan sampel pada bagian akseptor (kompartemen reseptor) pada menit ke-0; 5; 10; 15; 30; 45; 60; 120; 240; 360; 480; 960; dan jam ke-24. Untuk menjaga kondisi *sink*, setiap pengambilan sampling 2 mL diganti dengan 2 mL larutan dapar fosfat pH 6,4. Setelah itu, sampel yang dihasilkan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan ditentukan jumlah obat yang mengalami permeasi pada setiap interval waktu yang ditentukan (Sunena *et al*., 2016).

3.7 Analisis Data

3.7.1 Penafsiran Formula Optimum

Formula optimum sediaan nanopartikel intranasal fenobarbital diperoleh dari sediaan dengan formula yang memiliki nilai *desirability* paling tinggi dan

menghasilkan hasil terbaik dari delapan respon yang diamati yaitu hasil analisis terhadap formula desain eksperimental faktorial menggunakan program DX®10 berdasarkan hasil nilai organoleptis pada hari ke-1 pembuatan sediaan, %EE, pH, penurunan kadar setelah uji stabilitas *heating cooling*, waktu sedimentasi, volume sedimentasi, dan kemampuan redispersi sediaan. Target optimal respon dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Target optimal respon

Respon	**Target**	***Importance***
Organoleptis hari ke-1	Target (5)	++++
EE (%)	Maksimal	+++++
pH	*In range* (4,5-6,5)	++++
Penurunan kadar setelah uji stabilitas	Maksimal	+++++
Waktu sedimentasi	Maksimal	+++
Volume sedimentasi	Minimal	+++
Redispersi	Minimal	++++
Viskositas	Minimal	++++

3.7.2 Penafsiran Data Hasil Uji Persen Efisiensi Penjerapan

Penentuan banyaknya partikel fenobarbital yang dapat terjerap oleh kitosan membentuk nanopartikel dapat dilakukan berdasarkan %EE yang terbentuk. Semakin besar %EE yang dihasilkan maka semakin baik formulanya. Persen efisiensi enkapsulasi yang diperoleh diuji menggunakan program DX®10 dan ditentukan formula optimum yang memiliki nilai %EE maksimum.

3.7.3 Penafsiran Data Hasil PSA

Ukuran partikel dapat ditentukan dengan diolah menggunakan ImageJ®, hal ini dilakukan agar dapat dihitung ukuran masing-masing partikel. Dari perhitungan ini dapat ditentukan indeks polidispersitasnya (PDI). Hasil dari PSA berupa rata-rata diameter partikel, PDI, dan zeta potensial. Data hasil ukuran partikel ini dapat diuji normalitasnya menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk

software SPSS®. Data yang terdistribusi normal dari hasil uji, uji dapat dilanjutkan dengan uji *independent t-test*.

3.7.4 Penafsiran Data Hasil Uji Pelepasan Obat secara *Ex Vivo* dan Kinetika Pelepasan Obat

Nilai efisiensi disolusi (DE) dapat diperoleh dari data hasil uji disolusi berdasarkan kadar obat yang terdisolusi per satuan waktu. Perhitungan nilai DE dapat dilakukan dengan batuan Microsoft Excel®, selanjutnya dilakukan uji nomalitas dari data hasil DE dan persen pelepasan obat melalui uji normalitas Shapiro-Wilk. Persen pelepasan obat dilanjutkan analisisnya menggunakan uji ANOVA *one way* jika diperoleh data terdistribusi normal, selain itu analisis data hasil uji pelepasan obat secara *ex vivo* juga dilakukan dengan menggunakan WinSAAM™.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Nanopartikel Fenobarbital

Preparasi nanopartikel fenobarbital dibuat berdasarkan formula yang diperoleh menggunakan desain faktorial 2^3 yaitu dua level dan tiga faktor dari program DX®10. Formula sediaan nanopartikel fenobarbital menggunakan desain faktorial dipengaruhi oleh faktor (variabel bebas) berupa jenis *crosslinker*, waktu sonikasi dan waktu pengadukan. Jenis crosslinker yang dipakai adalah STPP dan $CaCl_2$, waktu sonikasi selama 5 dan 30 menit serta waktu pengadukan selama 60 dan 90 menit.

Komponen utama dalam pembentukan formula nanopartikel fenobarbital adalah kitosan, tween 80, dan *crosslinker*. Pemilihan STPP dan $CaCl_2$ sebagai *crosslinker* karena dapat membentuk ikatan yang kuat dengan kitosan yang berperan sebagai polimer pembawa. Gugus bermuatan positif dari kitosan dan gugus bermuatan negatif dari natrium tripolifosfat akan membentuk nanopartikel melalui metode gelasi ionik (Mohanraj and Chen, 2006). Sedangkan mekanisme terbentuknya ikatan antara kitosan dengan kalsium klorida belum diketahui secara pasti karena kedua senyawa ini sama-sama melepaskan ion bermuatan positif saat dilarutkan sehingga ikatan yang timbul bukan ikatan yang bersifat ionik seperti pada proses cross linking kitosan dengan STPP (Annisa, 2018).

Polimer pembawa berupa kitosan pada formula nanopartikel fenobarbital memiliki sifat sebagai bioadhesi dan terjadi pelebaran *tigh junctions* sel-sel epitel sehingga akan membantu penghantaran obat ke sawar darah otak. Kitosan dapat menyebabkan redistribusi protein *Claudin-4* dimana sebagian *Claudin-4* yang

berada dalam ruang interseluler antar sel epitel akan dipindahkan dari membran ke kompartemen seluler lainnya. Protein *Claudin-4* yang jumlahnya berkurang akan menyebabkan perubahan struktur *tigh junctions* dan terjadi pelebaran ruang antar sel sehingga dapat mempermudah proses masuknya partikel obat melewati membran (Yeh *et al*., 2011). Selain kitosan, digunakan pula tween 80 sebagai agen penstabil dengan cara menurunkan energi bebas permukaan. Kenaikan energi bebas permukaan merupakan akibat dari meningkatnya luas permukaan karena pengecilan ukuran partikel.

Berdasarkan penelitian Annisa (2018), perbandingan konsentrasi kitosan dan *crosslinker* yang digunakan telah menghasilkan formula optimum sediaan intranasal mikropartikel dengan persen terdifusi yang cukup baik yaitu sebesar 74, 9201% untuk *crosslinker* STPP dan 71,1910% untuk *crosslinker* $CaCl_2$ sehingga perbandingan konsentrasi kitosan dan *crosslinker* yang digunakan pada penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk pembuatan sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital. Sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital dibuat dengan harapan akan menghasilkan onset yang lebih cepat dibandingkan dengan bentuk sediaan lain seperti tablet dan kapsul dengan cara membantu penyerapan obat melalui mukosa olfaktori yang langsung menargetkan otak dengan melewati sawar darah otak.

Ukuran partikel yang dihasilkan pada penelitian Annisa (2018) sebesar 4559,8 nm dan 2144,6 nm untuk sediaan intranasal dengan crosslinker STPP dan $CaCl_2$. Sedangkan ukuran partikel yang diinginkan harus berkisar antara 200 sampai 400 nm sehingga nanopartikel dapat digunakan sebagai pembawa obat antiepilepsi dan mudah melewati jalur olfaktori menuju sawar darah otak serta

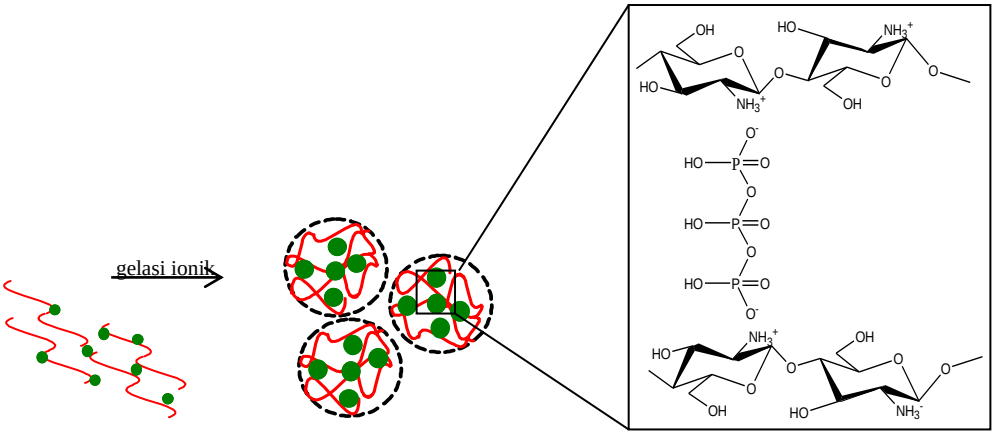
masuk ke sel-sel saraf (Musumeci, 2019). Oleh karena itu dilakukan variasi waktu sonikasi dan waktu pengadukan yang diharapkan akan menghasilkan ukuran partikel yang berkisar antara 200 sampai 400 nm pada formula optimum intranasal nanopartikel fenobarbital.

Variasi waktu pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dalam pembuatan nanopartikel berdasarkan penelitian Gupta *and* Karar (2010) yang menyatakan waktu pengadukan tidak berbanding lurus dengan persen EE yaitu pada pengadukan menit ke-45, 60, 90, 120, dan 180 menghasilkan persen EE secara berturut-turut sebesar 78; 82,67; 90,90; 82, dan 81,94%. Proses pengadukan bertujuan agar seluruh komponen dapat terdispersi sempurna sehingga menghasilkan sediaan yang homogen dan stabil. Menurut Taurina (2017), semakin lama waktu pengadukan maka ukuran partikel yang dihasilkan semakin kecil karena intensitas molekul untuk saling bersentuhan yang semakin besar.

Waktu sonikasi selama 5 dan 30 menit menggunakan *bath sonicator* ditentukan berdasarkan penelitian Mason *et al.* (1996) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu sonikasi, maka ukuran partikel akan semakin kecil dan homogen sehingga menghasilkan sediaan yang lebih stabil. Hal ini disebabkan karena adanya gelombang kejut pada saat sonikasi sehingga terjadi pemisahan partikel yang menggumpal.

Proses pembentukan nanopartikel kitosan dengan metode gelasi ionik didasarkan pada interaksi elektrostatik antara grup amina kitosan dan grup muatan negatif polianion seperti tripolifosfat (TPP). Akibat kompleksasi antara muatan yang berbeda, kitosan mengalami gelasi ionik dan presipitasi membentuk partikel

bulat seperti bola (Agnihotri *et al*., 2004). Kitosan dengan pKa 6,5 (polikationik), ketika dilarutkan pada larutan dengan pH asam seperti asam asetat 1%, amin bebas dari kitosan akan terprotonasi menghasilkan NH_3^+. Sedangkan natrium tripolifosfat dilarutkan dalam air hingga didapatkan ion hidroksil dan ion tripolifosfat. Kedua ion tersebut dapat bergabung dengan struktur kitosan (Wijaya, 2013). Menurut Agnihotri *et al*. (2004), nanopartikel dapat dibentuk secara spontan akibat pengadukan mekanis pada suhu kamar.



Keterangan:
: kitosan
: *crosslinker*

Gambar 7. Interaksi kitosan dan *crosslinker*

Secara tidak langsung pada proses *cross linking* pH memiliki peranan penting dalam ikatan yang terbentuk antara *crosslinker* dan kitosan. Proses taut silang dilakukan pada dua kondisi pH, yaitu pH 3 dan 9. Pada pH 3 hanya dihasilkan ion tripolofosfat yang akan berinteraksi dengan $–NH_3^+$ dari kitosan sehingga pada kondisi tersebut didapatkan kitosan-tripolofosfat yang didominasi oleh interaksi ionik. Pada pH 9, dihasilkan ion hidroksil dan tripolofosfat. Kedua ion tersebut berkompetisis untuk berinteraksi dengan $–NH_3^+$. Pada kondisi tersebut, taut silang kitosan didominasi oleh deprotonasi oleh ion hidroksil (Bhumkar & Pokharkar, 2006).

Kitosan memiliki gugus -COO^- yang dapat berikatan dengan gugus muatan positif penyambung silang seperti kalsium klorida ($CaCl_2$) membentuk kation divalent melalui proses gelasi ionik (Mourya *et al*., 2010). Tetapi tidak semua $CaCl_2$ berikatan dengan kitosan, karena gugus -COO^- dari kitosan dapat berikatan pula dengan air menyebabkan tidak semua ion Ca^{2+} bereaksi dengan gugus -COO^-. Ion Ca^{2+} bebas akan menarik air dari udara. Hal tersebut dapat diminimalisir dengan penambahan etanol *p.a* yang akan merusak ikatan antara kitosan dengan air, mengurangi rigiditas ikatan, dan meningkatkan kekuatan ikatan dari kitosan sehingga Ca^{2+} dapat berikatan sempurna dengan ion COO^- dan etanol akan berikatan dengan sisa air (Luo *et al*., 2013). Selain itu etanol *p.a* juga dapat meningkatkan kelarutan fenobarbital dalam sediaan nanopartikel.

Sediaan yang diperoleh pada proses pembuatan menunjukkan pH<4,5 hal ini tidak memenuhi syarat pH sediaan nasal yaitu 4,5-6,5. Hal ini dikarenakan pH dari larutan kitosan yang terlalu asam menyebabkan pH sediaan dibawah syarat sehingga pada formula ini dilakukan penambahan 10 tetes NaOH 10% untuk menyesuaikan pH sediaan. Pemilihan NaOH 10% dikarenakan kemampuan NaOH yang dapat menjaga kestabilan larutan tanpa menyebabkan iritasi dan dapat menjamin keamanan sediaan. Penggunaan NaOH 10% untuk menyesuaikan pH sediaan dalam penghantaran obat secara nasal ini dilakukan berdasarkan penelitian Morimoto *et al.* (1985).

Fenobarbital banyak digunakan sebagai obat antikonvulsan lini pertama namun memiliki kelemahan yaitu sediaan fenobarbital peroral memiliki masalah pada laju kelarutan obat dalam tubuh yang rendah dan termasuk klasifikasi *biopharmaceutical classification system* (BCS) kelas II. Kelarutan fenobarbital

dalam air yaitu sebesar 1 g/L dengan nilai log P sebesar 1,47 (Pubchem, 2017). Gangguan saraf kronik yang terjadi pada epilepsi membutuhkan sistem penghantaran obat yang cepat dan segera untuk mencapai sistem saraf pada otak. Hal ini dikarenakan kejang pada epilepsi memiliki keadaan darurat medis dan membutuhkan segera perawatan medis. Pasien yang mengalami kejang di tempat pra-rumah sakit akan sulit dilakukan pemberian secara intravena, pengobatan menggunakan rute intranasal merupakan salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit epilepsi.

Rute intranasal merupakan salah satu rute pengobatan yang berpotensi dan telah dipertimbangkan dalam membantu penghantaran obat untuk mencapai sistem saraf pusat (*Central Nervous System*/CNS). Sulitnya kemampuan obat dalam menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*/BBB) untuk masuk ke dalam CNS dapat diatasi dengan rute ini. BBB normalnya hanya permeabel dengan molekul lipofil yang memiliki berat molekul kurang dari 600 Da dan koefisien partisi 1,5 – 2,7. Selain itu, BBB juga dilengkapi dengan tingginya jumlah transporter obat seperti poliglikoprotein (PGP) yang dapat menghambat masuknya obat ke dalam CNS (Woensel *et al*., 2013). Faktor inilah yang menyebabkan BBB merupakan penghalang utama bagi obat dengan target otak.

Mekanisme penghantaran dan sifat fisikokimia molekul obat adalah faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam merancang sistem penghantaran obat dengan target otak. Absorbsi obat pada daerah olfaktori menjadi pilihan bagi obat-obatan dengan target otak karena luas permukaan absorbsinya besar dan merupakan kompartemen penghubung hidung dan otak (Vyas *et al*., 2005). Mukosa hidung menjadi salah satu daerah yang dituju dalam neuroterapi karena

mekanisme absorbsi obat terjadi di mukosa hidung (Patel *et al*., 2012). Pengobatan menggunakan rute intranasal dengan target otak salah satunya dapat dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit epilepsi.

4.2 Penentuan Formula Optimum

Pengujian yang dilakukan untuk menghasilkan formula optimum sediaan nanopartikel fenobarbital antara lain: penentuan organoleptis, penentuan pH, penentuan efisiensi penjerapan, penentuan kadar stabilitas, penentuan waktu dan volume sedimentasi, penentuan redispersi, dan penentuan viskositas.

4.2.1 Penentuan Organoleptis

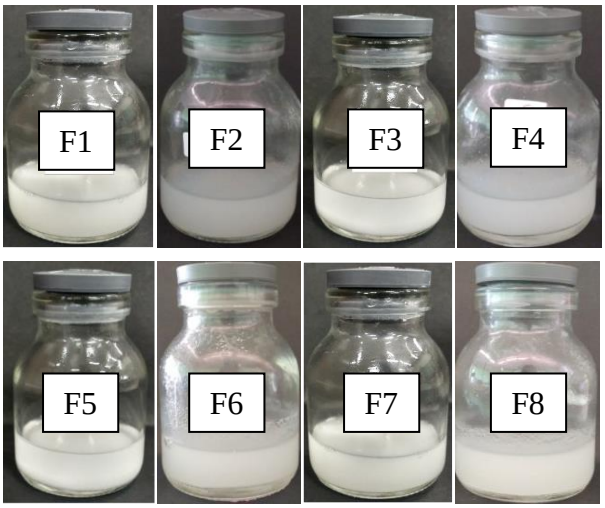
Penentuan organoleptis penting karena berkaitan dengan kualitas dan stabilitas obat. Penentuan hasil organoleptis sediaan nanopartikel fenobarbital didasarkan pada ada atau tidaknya endapan yang terbentuk dan kemampuan redispersi (kemampuan suatu sistem disperssi yang telah mengalami sedimentasi untuk kembali terdispersi secara sempurna dengan pemutaran 180^0) yang dikategorikan menjadi lima kelompok. Hasil yang diharapkan adalah kelompok 5 yang berarti tidak ada endapan pada sediaan nanopartikel fenobarbital.

Tabel 8. Hasil penentuan organoleptis sediaan nanopartikel fenobarbital

Formula	Organoleptis
F1	4
F2	5
F3	4
F4	5
F5	4
F6	5
F7	4
F8	5

Keterangan (Dewi dan Rusita, 2017):
1 = Terdapat gumpalan partikel yang menyatu, hanya terdapat satu gumpalan partikel, dan ukuran gumpalan besar
2 = Terdapat gumpalan partikel terpisah, banyak gumpalan, dan ukuran gumpalan lebih kecil;
3 = Terdapat endapan yang sulit terdispers
4 = Terdapat endapan yang mudah terdispersi
5 = Tidak terdapat endapan.

Hasil penentuan organoleptis menunjukkan bahwa empat formula termasuk kategori 5 (tidak terdapat endapan) dan empat formula termasuk kategori 4 (terdapat endapan yang mudah terdispersi) yang artinya seluruh formula memiliki nilai organoleptis yang baik. Seluruh formula yang menggunakan *crosslinker* $CaCl_2$ menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan formula yang menggunakan STPP. Hal ini disebabkan oleh perbedaan berat molekul dari kedua jenis *crosslinker*. Berat molekul STPP lebih besar dari $CaCl_2$ sehingga endapan yang dihasilkan lebih terlihat pada sediaan dengan *crosslinker* STPP.



Gambar 8. Hasil pengujian organoleptis formula sediaan intranasal fenobarbital

4.2.2 Penentuan pH

Penentuan pH sediaan nanopartikel fenobarbital dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH sediaan intranasal harus diperhatikan karena berkaitan dengan keamanan penggunaan sediaan. Syarat pH sediaan intranasal yang baik yaitu harus masuk rentang 4,5 – 6,5. pH sediaan yang berada di luar rentang akan menyebabkan iritasi pada rongga hidung. Hasil pengujian pH sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil penentuan pH sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Formula	Rata-rata ± SD	%CV
F1	4,8033 ± 0,0058	0,1202
F2	4,7066 ± 0,0058	0,1227
F3	4,7900 ± 0,0000	0,0000
F4	4,7700 ± 0,0000	0,0000
F5	4,8433 ± 0,0058	0,1192
F6	4,7700 ± 0,0000	0,0000
F7	4,8100 ± 0,0000	0,0000
F8	4,7933± 0,0058	0,1204

Tabel 10. Hasil uji ANOVA pH sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Faktor	*p-value*	Keterangan
Model	< 0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Jenis *crosslinker*	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu pengadukan	0,0010(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu sonikasi	<0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan

$$Y = 4{,}79 + 0{,}026*A - 3{,}333E\text{-}003*B + 5{,}000E\text{-}003*C + 0{,}018*AB - 0{,}017*AC + 2{,}500E\text{-}003*BC - 7{,}500E\text{-}003*ABC \quad (4)$$

Keterangan:
A = jenis *crosslinker*
B = waktu pengadukan
C = waktu sonikasi

Hasil penentuan pH sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital menunjukkan bahwa semua formula memenuhi syarat pH sediaan intranasal karena masuk ke dalam rentang persyaratan (4,5 – 6,5). Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa model faktor secara keseluruhan signifikan berpengaruh terhadap hasil pH karena nilai *p-value* yang dihasilkan <0,05. Jenis *crosslinker* dan waktu sonikasi meningkatkan pH masing-masing sebesar 0,026 dan 0,0050 sedangkan waktu pengadukan menurunkan pH sebesar 0,0033.

Faktor yang paling mempengaruhi nilai pH adalah jenis *crosslinker*. Sediaan dengan *crosslinker* $CaCl_2$ memiliki pH sediaan yang lebih kecil dibandingkan sediaan dengan *crosslinker* STPP. Hal ini disebabkan karena pH STPP lebih tinggi dibandingkan dengan pH $CaCl_2$. Selain itu, konsentrasi kitosan pada sediaan dengan *crosslinker* $CaCl_2$ lebih besar. Semakin besar konsentrasi kitosan maka pH yang dihasilkan semakin kecil (Wijaya, 2013).

4.2.3 Penentuan Persen Efisiensi Penjerapan (%EE)

Penentuan efisiensi penjerapan digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu polimer dalam melindungi zat aktif yang membentuk nanopartikel. Nilai %EE yang baik yaitu mendekati 100% akan menunjukkan kemampuan polimer untuk menjerap zat aktif obat yang baik (Taurina, 2017). Penentuan efisiensi penjerapan diawali dengan penentuan kurva kalibrasi fenobarbital.

Kurva kalibrasi dapat menunjukkan hubungan antara konsentrasi dan absorbansi yang dilihat dari nilai koefisien korelasi (r^2). Nilai koefisien korelasi dalam rentang 0,9 sampai 1 menunjukkan kekuatan hubungan yang sangat tinggi yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi semakin tinggi (*AOAC Official Methods of Analysis*, 2012). Kurva kalibrasi dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dari larutan induk 100 ppm. Persamaan regresi yang didapatkan dari hasil kurva kalibrasi adalah Y = 0,0363 + 0,0501X dengan nilai r^2 sebesar 0,9968 yang artinya kurva kalibrasi dapat digunakan untuk analisis yang valid dan memiliki korelasi yang baik.

Tabel 11. Hasil penentuan %EE sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Formula	Rata-rata (%) ± SD	%CV
F1	93,8313± 0,0623	0,0664
F2	94,6098± 0,0346	0,0366
F3	93,8214 ± 0,0458	0,0488
F4	93,9211 ± 0,0173	0,0184
F5	94,9092 ± 0,0623	0,0656
F6	94,1607 ± 0,0457	0,0486
F7	92,5040 ± 0,0346	0,0374
F8	96,8247 ± 0,0334	0,0345

Tabel 12. Hasil uji ANOVA %EE sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Faktor	*p-value*	Keterangan
Model	< 0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Jenis *crosslinker*	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu pengadukan	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu sonikasi	0,1192 (*p-value* > 0,05)	Tidak Signifikan

$$Y = 94{,}32 - 0{,}56*A - 0{,}34*B - 0{,}055*C + 0{,}32*AB - 0{,}51*AC - 0{,}68*BC + 0{,}16*ABC \ldots\ldots (5)$$

Keterangan:
A = jenis *crosslinker*
B = waktu pengadukan
C = waktu sonikasi

Penentuan persen efisiensi penjerapan terhadap delapan formula, formula 8 memiliki persen EE yang paling tinggi yaitu 96,5359% sedangkan formula 7 memiliki persen EE yang paling rendah yaitu 92,76355%. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa model faktor signifikan berpengaruh terhadap hasil persen EE karena nilai *p-value* yang dihasilkan <0,05. Jenis *crosslinker* dan waktu pengadukan mempengaruhi hasil persen EE yaitu dengan nilai *p-value*<0,05 sedangkan waktu sonikasi memiliki nilai yang tidak signifikan dengan *p-value*> 0,05 yang menunjukan bahwa faktor tersebut tidak berpengaruh terhadap persen EE yang dihasilkan. Berdasarkan persamaan, ketiga faktor tersebut dapat menurunkan persen EE masing-masing sebesar 0,56; 0,34; dan 0,055.

Waktu pengadukan yang tinggi akan menghasilkan partikel yang lebih kecil sehingga rantai panjang kitosan terputus menjadi lebih pendek sehingga kemampuan penjerapan matriks kitosan berkurang. Rantai kitosan yang lebih panjang memiliki lebih banyak sisi reaktif untuk menjerap dan berikatan dengan obat yang menyebabkan persen EE meningkat. Waktu sonikasi berpengaruh terhadap persen EE karena semakin lama waktu sonikasi maka ukuran partikel semakin kecil sehingga luas permukaan lebih besar dan semakin banyak jumlah partikel obat yang tenjerap dalam matriks polimer-*crosslinker* (Ningsi, 2013).

Berdasarkan hasil penelitian, sediaan dengan *crosslinker* $CaCl_2$ memiliki respon persen EE yang lebih besar dibandingkan sediaan dengan *crosslinker* STPP. Penelitian Gulati *et al*. (2013) menunjukkan bahwa konsentrasi polimer dan *crosslinker* tinggi dapat meningkatkan persen EE. Semakin tinggi konsentrasi

polimer akan menyebabkan meningkatnya kecepatan pengendapan polimer pada permukaan fase terdispersi sehingga dapat mencegah difusi obat yang telah terjerap ke dalam matriks keluar melintasi batas fase sehingga obat akan tetap terjerap di dalam matriks polimer. Sedangkan peningkatan konsentrasi *crosslinker* akan meningkatkan proses gelasi yang terjadi sehingga dapat meningkatkan persen EE partikel.

4.2.4 Penentuan Stabilitas Termodinamik

Uji stabilitas termodinamik nanopartikel fenobarbital dilakukan dengan metode *heating cooling cycle* yang bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan yang menunjukkan kualitas dari sediaan tersebut. Sediaan yang tidak stabil dapat mengakibatkan berkurangnya khasiat suatu obat bahkan kehilangan khasiat suatu obat. Sediaan nanopartikel fenobarbital disimpan pada kulkas (4°C) dan pada oven (45°C) masing-masing selama 24 jam. Pengujian ini dilakukan sebanyak 6 kali atau 6 siklus. Suhu kulkas mewakili sediaan yang disimpan pada kondisi normal, sedangkan suhu oven mewakili sediaan yang disimpan pada kondisi ekstrim. Stabilitas suatu sediaan dapat dilihat dari penurunan kadar setelah dilakukan pengujian *heating cooling cycle* selama 6 siklus. Tabel 12 menunjukkan persen penurunan kadar sediaan setelah pengujian.

Tabel 13. Persen penurunan kadar sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Formula	Rata-rata %Penurunan kadar ± SD	%CV
F1	0,7551 ± 0,0659	8,7304
F2	1,8776 ± 0,0485	2,5820
F3	0,5744 ± 0,0636	11,0702
F4	1,0201 ± 0,0317	3,1073
F5	0,4837 ± 0,0478	9.8890
F6	1,1447 ± 0,0634	5,5365
F7	0,2698 ± 0,0747	27,6976
F8	2,6586 ± 0,0797	2,9991

$$Y = 1{,}10 - 0{,}58*A - 0{,}19*B + 0{,}033*C + 0{,}041*AB - 0{,}13*AC - 0{,}30*BC + 0{,}29*ABC \quad (6)$$

Keterangan:
A = jenis *crosslinker*
B = waktu pengadukan
C = waktu sonikasi

Tabel 14. Hasil uji ANOVA stabilitas termodinamik sediaan intranasal fenobarbital

Faktor	*p-value*	Keterangan
Model	< 0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Jenis *crosslinker*	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu pengadukan	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu sonikasi	0,0187 (*p-value* > 0,05)	Signifikan

Berdasarkan hasil penurunan kadar setelah enam siklus pengujian stabilitas, formula 7 dengan *crosslinker* STPP mengalami penurunan kadar terkecil yaitu sebesar 0,2267, sedangkan formula 8 dengan *crosslinker* $CaCl_2$ mengalami penurunan kadar terbesar yaitu sebesar 2,6289. Hasil pengujian ANOVA terhadap persen penurunan kadar memperlihatkan bahwa model faktor secara keseluruhan memiliki nilai yang signifikan yang artinya model faktor ini memiliki pengaruh terhadap hasil persen penurunan kadar. Jenis *crosslinker* dan waktu pengadukan dapat menurunkan persen penurunan kadar masing-masing sebesar 0,58 dan 0,19, sedangkan waktu sonikasi dapat meningkatkan persen penurunan kadar sebesar 0,033. Penurunan kadar akibat semakin lama waktu sonikasi disebabkan oleh ukuran partikel yang semakin kecil sehingga memiliki resiko tinggi mengalami agregasi selama penyimpanan (Gayo, 2016).

Partikel pada suhu oven akan bergerak dengan cepat akibat suhu yang tinggi dan menyebabkan tumbukan antar partikel sehingga menyebabkan lepasnya ikatan polimer dan *crosslinker* serta semakin banyak zat aktif yang bebas. Berdasarkan hasil uji pada formula dengan *crosslinker* $CaCl_2$ mengalami penurunan kadar yang lebih besar dibandingkan formula dengan *crosslinker* STPP. Menurut LabCE (2018), ikatan yang terjadi pada setiap *crosslinker* dengan kitosan berbeda sehingga akan mempengaruhi matriks nanopartikel yang

terbentuk. Selain itu, energi yang ada pada sentrifugasi juga dapat mempengaruhi penjerapan partikel. Energi dalam sentrifugasi berputar menyebabkan suhu di dalam sentrifugasi meningkat. Stabilitas dari dispersi dapat dipengaruhi oleh peningkatan suhu sehingga hal ini juga dimungkinkan dapat mempengaruhi penjerapan partikel.

4.2.5 Penentuan Waktu Sedimentasi

Penentuan waktu sedimentasi dilakukan untuk melihat waktu yang dibutuhkan sediaan membentuk endapan. Kecepatan sedimentasi dipengaruhi oleh besar kecilnya ukuran partikel yaitu ukuran partikel yang lebih besar akan mempercepat sedimentasi. Semakin lama waktu yang dibutuhkan sediaan untuk membentuk endapan menunjukkan dispersi nanopartikel dalam keadaan stabil. Hasil uji waktu sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji waktu sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Formula	Rata-rata (detik) ± SD	%CV
F1	662,3333± 1,5275	0,2306
F2	909,6667± 1,1547	0,1269
F3	665,3333± 0,5774	0,0868
F4	904,3333± 0,5774	0,0638
F5	662,3333± 1,5275	0,2306
F6	908,6667± 0,5774	0,0635
F7	659,6667± 0,5774	0,0875
F8	907,3333± 0,5774	0,0636

Tabel 16. Hasil uji ANOVA waktu sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Faktor	*p-value*	Keterangan
Model	< 0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Jenis *crosslinker*	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu pengadukan	0,0002 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu sonikasi	0,0011 (*p-value* > 0,05)	Signifikan

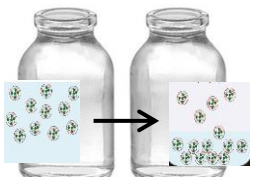
$$Y = 784{,}96 - 122{,}54*A - 0{,}96*B - 0{,}79*C - 0{,}46*AB + 0{,}88*AC - 1{,}21*BC - 0{,}21*ABC \quad (7)$$

Keterangan:
A = jenis *crosslinker*
B = waktu pengadukan
C = waktu sonikasi

Hasil uji waktu sedimentasi menunjukkan bahwa formula yang membutuhkan waktu paling lama untuk membentuk endapan adalah formula 2 dengan *crosslinker* $CaCl_2$, sedangkan formula yang membutuhkan waktu paling sebentar untuk membentuk endapan adalah formula 1 dan 5 dengan *crosslinker* STPP. Hasil pengujian ANOVA terhadap waktu sedimentasi memperlihatkan bahwa model faktor secara keseluruhan memiliki nilai yang signifikan yang artinya model faktor ini memiliki pengaruh terhadap hasil waktu sedimentasi.

Berdasarkan persamaan dapat dilihat bahwa jenis *crosslinker*, waktu pengadukan, dan waktu sonikasi dapat menurunkan waktu sedimentasi (mempercepat waktu sedimentasi) masing-masing sebesar 122,54; 0,96; dan 0,79. Menurut Gayo (2016), waktu pengadukan dan sonikasi yang semakin lama akan menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil. Ukuran partikel yang terlalu kecil dapat menyebabkan terjadinya aglomerasi karena luas area permukaannya semakin besar.

Konsentrasi kitosan dan *crosslinker* merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi waktu sedimentasi. Konsentrasi kitosan dan *crosslinker* yang lebih besar menyebabkan peningkatan viskositas yang berakibat pada peningkatan waktu sedimentasi. Hal ini terjadi karena pada saat viskositas meningkat maka partikel akan sulit berdifusi di dalam sistem dispersi sehingga waktu yang diperlukan partikel untuk berpindah dari larutan sampai ke dasar dan mengendap juga lebih lama (Annisa, 2018).



(a) **(b)**

Gambar 9. Proses sedimentasi pada sediaan nanopartikel fenobarbital (a) sediaan homogen, (b) sediaan telah mengalami sedimentasi

4.2.6 Penentuan Volume Sedimentasi

Penentuan volume sedimentasi dilakukan untuk menghitung volume endapan yang terbentuk dari sediaan yang sebelumnya didispersikan secara sempurna dan kemudian didiamkan selama 2 hari. Volume sedimentasi yang semakin besar menunjukkan stabilitas sediaan yang semakin buruk. Hasil uji volume sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Hasil uji volume sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

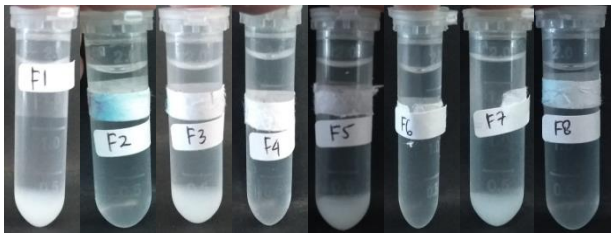
Formula	F (rasio volume sedimentasi)
F1	0,1930
F2	0,0219
F3	0,1579
F4	0,0351
F5	0,1535
F6	0,0175
F7	0,1272
F8	0,0395

Tabel 18. Hasil uji ANOVA volume sedimentasi sediaan intranasal fenobarbital

Faktor	*p-value*	Keterangan
Model	< 0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Jenis *crosslinker*	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu pengadukan	0,0009 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu sonikasi	0,1515 (*p-value* > 0,05)	Tidak Signifikan

$$Y = 9{,}31 + 6{,}48*A - 0{,}87*B - 0{,}32*C - 0{,}88*AB - 1{,}21*AC - 7{,}508E\text{-}003*BC + 0{,}23*ABC \quad (8)$$

Keterangan:
A = jenis *crosslinker*
B = waktu pengadukan
C = waktu sonikasi



Gambar 10. Hasil pengujian waktu dan volume sedimentasi formula sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Hasil uji volume sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital menunjukkan bahwa formula 1 memiliki rasio volume sedimentasi tertinggi dan formula 6 memiliki rasio volume sedimentasi terendah. Nilai rasio volume sedimentasi dapat diprediksi melalui persamaan 8. Jenis *crosslinker* dapat meningkatkan volume sedimentasi sebesar 6,48, sedangkan waktu pengadukan dan waktu sonikasi dapat menurunkan volume sedimentasi masing-masing sebesar 0,87 dan 0,32. Jenis *crosslinker* mempengaruhi respon volume sedimentasi. Kekuatan ikatan yang terbentuk antara ion klorida dan ion tripolifosfat dengan gugus amin pada kitosan mempengaruhi volume sedimentasi yang terbentuk (Petrilia, 2018). Waktu sonikasi yang lebih lama akan memperkecil ukuran partikel. Ukuran partikel yang semakin kecil akan memperlambat gerakan partikel untuk mengendap karena gaya berat kebawah akan semakin kecil dibandingkan dengan partikel berukuran lebih besar.

4.2.7 Penentuan Jumlah Redispersi

Penentuan jumlah redispersi bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu sistem dispersi yang telah mengalami sedimentasi untuk kembali terdispersi secara sempurna dengan pemutaran 180°. Pengujian jumlah redispersi akan menunjukkan keseragaman dosis sediaan. Semakin sedikit putaran yang diperlukan untuk sediaan terdispersi kembali maka semakin bagus hasilnya.

Tabel 19. Hasil uji redispersi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Formula	Rata-rata ± SD	%CV
F1	16,6667± 0,5774	3,4641
F2	5,6667± 0,5774	10,1885
F3	13,3333± 0,5774	4,3301
F4	5,6667± 0,5774	10,1885
F5	14,3333± 0,5774	4,0280
F6	5,3333± 0,5774	10,8253
F7	13,0000± 0,0000	0,0000
F8	3,3333± 0,5774	17,3205

Tabel 20. Hasil uji ANOVA redispersi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Faktor	*p-value*	Keterangan
Model	< 0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan
Jenis *crosslinker*	< 0,0001(*p-value* > 0,05)	Signifikan
Waktu pengadukan	0,7559(*p-value* > 0,05)	Tidak Signifikan
Waktu sonikasi	<0,0001 (*p-value* > 0,05)	Signifikan

$$Y = 9{,}67 + 4{,}67*A + 0{,}000*B - 0{,}83*C - 0{,}67*AB - 0{,}33*AC + 0{,}50*BC + 0{,}000*ABC \quad (9)$$

Keterangan:
A = jenis *crosslinker*
B = waktu pengadukan
C = waktu sonikasi

Formula 1 menunjukkan hasil jumlah redispersi terbanyak yaitu rata-rata sebanyak 16,6667 kali sedangkan formula 8 menunjukkan hasil jumlah redispersi terkecil yaitu rata-rata sebanyak 3,3333 kali. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa model faktor signifikan berpengaruh terhadap hasil persen EE karena nilai *p-value* yang dihasilkan <0,05. Jenis *crosslinker* dan waktu sonikasi mempengaruhi hasil jumlah redispersi yaitu dengan nilai *p-value<0,05* sedangkan waktu pengadukan memiliki nilai yang tidak signifikan dengan *p-value>0,05* yang menunjukan bahwa faktor tersebut tidak berpengaruh terhadap jumlah redispersi yang dihasilkan. Berdasarkan persamaan, jenis *crosslinker* dan waktu pengadukan dapat meningkatkan jumlah redispersi masing-masing sebesar 4,67 dan 0,000 sedangkan waktu sonikasi dapat menurunkan jumlah redispersi sebesar 0,83.

Faktor yang paling mempengaruhi nilai redispersi adalah jenis *crosslinker*. Tiap *crosslinker* menggunakan konsentrasi kitosan yang berbeda sehingga viskositasnya juga berbeda. Peningkatan konsentrasi kitosan dapat meningkatkan viskositas dari sediaan, kemampuan untuk berdifusi partikel akan semakin sulit terjadi sehingga akan membutuhkan putaran yang lebih banyak untuk menghomogenkan sediaan.

4.3 Analisis Formula Optimum

Setelah dilakukan analisis terhadap delapan formula, data hasil respon dimasukkan dalam program Desain Expert® 10 sehingga akan didapatkan formula optimum yang dilihat dari nilai desirabilitas tertinggi. Nilai desirabilitas yang mendekati 1 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna. Penentuan formula optimum berdasarkan pada target analisis respon formula optimum yang dapat dilihat pada Tabel 21. Setiap respon memiliki target dan nilai *importance* yang berbeda-beda. Nilai *importance* tergantung pada tingkat kepentingan respon terhadap sediaan nanopartikel. Semakin tinggi nilai *importance* maka semakin besar pengaruh respon terhadap sediaan nanopartikel.

Tabel 21. Target optimal respon

Respon	**Target**	***Importance***
EE(%)	Maksimal	+++++
Kadar setelah uji stabilitas	Maksimal	+++++
Redispersi	Target (1)	++++
pH	*In range* (4,5– 6,5)	++++
Organoleptis hari ke-1	Target (5)	++++
Waktu sedimentasi	Maksimal	+++
Volume sedimentasi	Minimal	+++

Berdasarkan hasil analisis program Desain Expert® 10 menggunakan desain faktorial, didapatkan formula paling optimum yaitu formula 8 yang memiliki nilai desirabilitas terbesar yaitu 0,822. Nilai desirabilitas menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir (Nurmiah dkk., 2013). Formula optimum yang telah didapat dari selanjutnya dilakukan preparasi dan pengujian respon sediaan nanopartikel, karakterisasi dan evaluasi nanopartikel, serta karakterisasi dan evaluasi sediaan intranasal.

4.4 Karakterisasi dan Evaluasi Formula Optimum

4.4.1 Analisis Respon Prediksi Design Expert

Analisis respon formula optimum yang akan dilakukan sama dengan analisis respon delapan formula yaitu penentuan organoleptis, penentuan pH, penentuan efisiensi penjerapan, penentuan kadar stabilitas, penentuan waktu dan volume sedimentasi, dan penentuan redispersi. Hasil analisis respon formula optimum kemudian dibandingkan dengan hasil prediksi pada program Desain Expert® 10 untuk memastikan bahwa formula optimum yang diusulkan oleh Desain Expert® 10 memenuhi karakteristik sediaan nanopartikel yang diinginkan. Persen RSE (*relative standard error*) menyatakan tingkat perbedaan antara nilai prediksi dan observasi. Semakin kecil persen RSE maka semakin kecil perbedaan nilai prediksi dengan nilai observasi yang artinya hasil prediksi semakin akurat.

Tabel 22. Hasil pengujian delapan respon formula optimum

Respon	Prediksi	Hasil uji	%RSE
EE (%)	96,825	95,865	0,991170
Penurunan kadar (%)	2,659	2,695	1,357653
Redispersi	3,333	3,000	9,990999
pH	4,793	4,723	1,460463
Organoleptis hari ke-1	5,0000	5,0000	0,000000
Waktu sedimentasi	907,333	911,333	0,440886
Volume sedimentasi	3,947	3,947	0,000000

Hasil perhitungan nilai %RSE menunjukkan perbedaan nilai prediksi dan nilai hasil uji yang cukup besar pada respon penurunan kadar setelah uji stabilitas, redispersi, dan pH. Perbedaan ini disebabkan program DX® hanya melakukan pendekatan melalui data yang dimasukkan ke dalam *template*, namun tidak memperhatikan pengaruh variasi kondisi pengujian seperti pengaruh lingkungan, peralatan, dan *human error* dalam memprediksi hasil respon (Ningsih, 2018).

4.4.2 Analisis Korelasi

Korelasi merupakan analisis yang digunakan untuk menyatakan derajat hubungan linear antara dua variabel atau lebih. Hasil analisis korelasi berupa koefisien korelasi (r) yaitu antara 1 dan -1. Jika nilai r positif artinya kenaikan nilai variabel 1 pada umumnya diikuti oleh kenaikan nilai variabel 2, sedangkan jika nilai r negatif berarti kenaikan nilai variabel 1 pada umumnya diikuti oleh penurunan nilai variabel 2. Uji pengaruh antar respon digunakan nilai probabilitas (*p-value).* Jika nilai *p-value*<0,05 maka pengaruh antar respon dikatakan signifikan, sedangkan jika nilai *p-value*>0,05 artinya pengaruh antar variabel tidak signifikan. Hubungan korelasi antar respon dapat dilihat pada Tabel 23.

Tabel 23. Analisis Korelasi Pearson

Hubungan	**Kolerasi Pearson**	***p-value***
Organoleptis – pH	-0,115	0,007
Organoleptis – redispersi	-1,000	0,000
Organoleptis – waktu sedimentasi	0,189	0,009
Organoleptis – volume sedimentasi	0,866	0,003
pH – redispersi	0,115	0,007
pH – waktu sedimentasi	-0,997	0,008
pH – volume sedimentasi	0,397	0,000
Redispersi – waktu sedimentasi	-0,189	0,009
Redispersi – volume sedimentasi	-0,866	0,003
Waktu sedimentasi – volume sedimentasi	-0,327	0,008
%EE – stabilitas	0,105	0,003

Berdasarkan hasil analisis korelasi antara organoleptis dengan pH dan redispersi memiliki hubungan linier negatif dengan nilai korelasi masing-masing -0,115 dan -1,000 serta *p-value*<0,05 yang artinya semakin meningkat nilai organoleptis maka pH dan redispersi akan menurun secara signifikan. Korelasi antara organoleptis dengan waktu dan volume sedimentasi menunjukkan nilai korelasi yang positif dengan nilai korelasi masing-masing 0,189 dan 0,866 serta *p-value*< 0,05 yang menunjukkan bahwa semakin besar nilai organoleptis maka semakin menaikkan waktu dan volume sedimentasi secara signifikan.

Korelasi antara pH dengan redispersi dan volume sedimentasi menunjukkan hubungan linier positif dengan nilai korelasi masing-masing 0,115 dan 0,397 serta *p-value*< 0,05 artinya semakin meningkat pH maka dapat meningkatkan redispersi dan volume sedimentasi secara signifikan. Nilai korelasi antara pH dan waktu sedimentasi menunjukkan hubungan linier negatif dengan nilai korelasi sebesar 0,997 dan *p-value*< 0,05 artinya semakin meningkat pH maka semakin menurunkan waktu sedimentasi secara signifikan. Analisis korelasi antara redispersi dengan waktu sedimentasi dan volume sedimentasi menunjukkan hubungan linier negatif dengan nilai korelasi masing-masing 0,189 dan 0,866 serta *p-value*< 0,05 artinya semakin meningkat redispersi maka dapat menurunkan waktu sedimentasi dan volume sedimentasi secara signifikan.

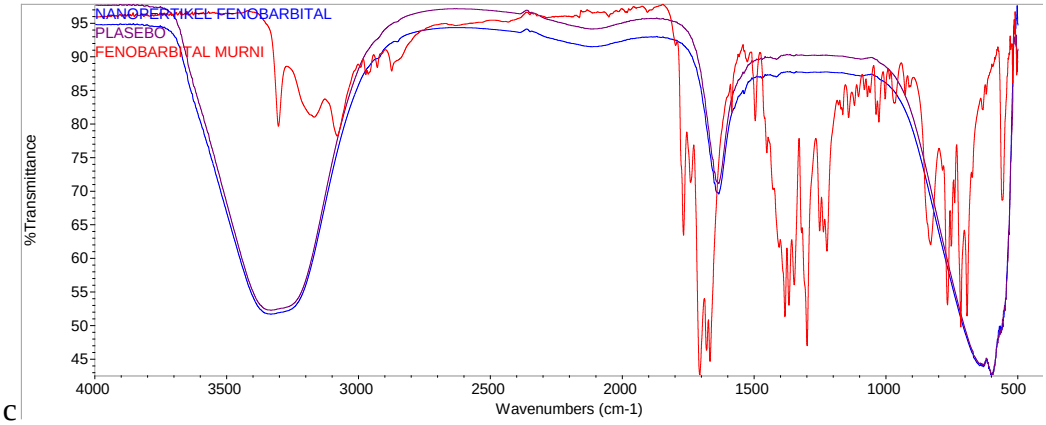
Analisis korelasi antara waktu sedimentasi dengan volume sedimentasi menunjukkan hubungan linier negatif dengan nilai korelasi -0,327 dan *p-avalue*< 0,05 artinya semakin meningkat waktu sedimentasi maka dapat menurunkan volume sedimentasi secara signifikan. Nilai korelasi antara %EE dan stabilitas menunjukkan hubungan linier positif dengan nilai korelasi sebesar 0,105 dan *p-value*< 0,05 artinya semakin meningkat %EE maka dapat meningkatkan stabilitas secara signifikan.

4.4.3 Karakterisasi dan Evaluasi Nanopartikel

4.4.3.1 Interaksi Matriks Nanopartikel Fenobarbital

Interaksi kimia antara fenobarbital dengan bahan pembuat nanopartikel dapat diamati dengan cara analisis FTIR. Interaksi kimia yang terjadi dapat memungkinkan terbentuknya ikatan kimia yang muncul sebagai puncak baru pada spektrum, oleh karena itu dilakukan perbandingan hasil analisis pada serbuk

murni fenobarbital, plasebo, dan sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital formula optimum. Perbandingan hasil analisis ketiga sampel dapat dilihat pada Gambar 11.



C

Gambar 11. Spektrum FTIR serbuk murni fenobarbital, plasebo intranasal, dan intranasal fenobarbital

Spektrum pada Gambar 11 tidak menunjukkan adanya puncak baru yang muncul. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya gugus fungsi baru yang terbentuk akibat interaksi matriks nanopartikel dengan fenobarbital. Ketiga spektrum muncul pada daerah yang sama, namun memiliki intensitas yang berbeda sebagai pengaruh dari konsentrasi sampel dalam medium dan dipol atau polaritas gugus fungsional. Semakin kuat dipol suatu gugus fungsional maka semakin kuat pula serapannya (Ningsih, 2018).

Tabel 24. Interpretasi spektra IR fenobarbital, plasebo intranasal, dan intranasal fenobarbital

Bilangan gelombang (cm^{-1})			Bentuk puncak			Intensitas			Dugaan gugus fungsi
F	PI	IF	**F**	**PI**	**IF**	**F**	**PI**	**IF**	
3393,03	-	-	S	-	-	K	-	-	N-H
1705,88	1633,65	1633,54	S	S	S	M	K	K	C=O
-	3331,47	3331,29	-	L	L	-	K	K	O-H
1666,58	-	-	S	-	-	M	-	-	C=C
1250,66	-	-	S	-	-	K		-	C-O
1367,16	-	-	S	-	-	K	-	-	CH_2
1298,45	-	-	S	-	-	M		-	C-N
738,80	-	-	S	-	-	M	-	-	C-H aromatic

Keterangan: F = fenobarbital; PI = plasebo intranasal; IF = intranasal fenobarbital; S = sempit; L = lebar; M = medium; K = kuat; l = lemah

Berdasarkan hasil analisis gugus fungsi pada spektra IR menunjukkan bilang gelombang yang diperoleh sesuai dengan gugus fungsi dugaan yang terdapat dalam serbuk murni fenobarbital, plasebo intranasal, dan intranasal fenobarbital. Hal ini ditunjukkan dari hasil spektrum dari masing-masing sampel yang dapat dilihat pada Lampiran 17. Puncak yang muncul pada panjang gelombang 3300 –3200 cm^{-1} menunjukkan gugus OH kitosan. Puncak yang muncul pada daerah 3500 – 3300 cm^{-1} merupakan gugus N-H dan pada panjang gelombang 1666,58 cm^{-1} merupakan gugus C=C. Gugus fungsi C-N pada fenobarbital ditunjukkan pada panjang gelombang 1298,45 cm^{-1} .

4.4.3.2 Penentuan Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas (*Polydispersity Index*), dan Zeta Potensial Nanopartikel

Penentuan ukuran partikel, PDI, dan zeta potensial nanopartikel dilakukan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk menghasilkan karakteristik partikel yang diharapkan. Karakteristik partikel sangat berpengaruh terhadap efektifitas obat, stabilitas obat, keamanan obat, sifat kelarutan, dan penetrasi obat (Ningsih, 2018). Ukuran dan PDI dihasilkan karena sinar laser yang ditembakkan dengan sudut 90° dan tepat mengenai pusat partikel kemudian akan dibelokkan. Zeta potensial didapatkan dari sinar yang ditembakkan ke permukaan partikel dengan sudut 173° yang kemudian akan dihamburkan (Yosua, 2016).

Ukuran partikel yang diinginkan pada sediaan nanopartikel yaitu berkisar antara 200 sampai 400 nm. Berdasarkan hasil analisis didapatkan ukuran partikel sebesar 1245,0 nm. Metode pembuatan nanopartikel yang digunakan adalah gelasi ionik dengan proses *bottom up*. Proses *bottom up* adalah pembentukan nanostruktur atom demi atom atau molekul demi molekul

(Patravale, 2004). Hasil analisis ukuran partikel yang besar disebabkan karena proses *bottom up* yang terjadi antara polimer, *crosslinker*, dan zat aktif. Penggabungan polimer, *crosslinker*, dan zat aktif menyebabkan ukuran menjadi lebih besar. Selain itu konsentrasi kitosan juga dapat mempengaruhi ukuran partikel. Semakin besar konsentrasi kitosan maka dibutuhkan energi ultrasonikasi yang lebih besar pula.

Nilai PDI (poly dispersity index) adalah nilai yang menyatakan homogenitas dispersi nanopartikel. Rentang nilai PDI berkisar antara 0 hingga 1 (Rajaram and Natham, 2013). Hasil perhitungan PDI dari PSA sebesar 0,352 atau 64,8% partikel seragam dari keseluruhan partikel. Pada PSA jumlah partikel yang diamati jauh lebih banyak tidak hanya berdasarkan satu penampang saja. Formula optimum menunjukkan dispersi ukuran yang relatif homogen.

Zeta potensial partikel yang dihasilkan sebesar 2,3 mV dan bermuatan positif. Menurut Mannuela (2016) zeta potensial mencerminkan potensi muatan dari partikel dan dipengaruhi oleh komposisi dari partikel dan medium tempat nanopartikel terdispersi. Zeta potensial menunjukkan gaya tolak menolak antara partikel-partikel. Nilai zeta potensial (+/-) 30 mV menunjukkan suspensi yang stabil. Sistem larutan koloid distabilkan oleh adanya gaya tolak menolak elektrostatik, dimana semakin besar gaya tolak menolak antar partikel akan menyebabkan partikel akan sulit berdekatan untuk membentuk agregat (Kurniawan, 2012).

Hasil zeta potensial sediaan menunjukkan bahwa sediaan kurang stabil atau cenderung membentuk agregat. Zeta potensial dipengaruhi oleh viskositas medium pendispersi dan mobilitas partikel di dalam medium pendispersi yang

dipengaruhi oleh muatan permukaan partikel. Rendahnya nilai zeta potensial menandakan viskositas rendah sehingga menyebabkan mobilitas partikel menjadi lebih tinggi. Mobilitas partikel yang tinggi menyebabkan stabilitas sediaan menurun (Annisa, 2018). Hasil muatan positif diperoleh dari residual gugus amin dari kitosan yang bermuatan positif (Kurniawan, 2012). Muatan permukaan partikel yang positif dapat berinteraksi dengan muatan negatif dari gugus sialat yang merupakan glikoprotein yang terdapat pada mucus nasal sehingga dapat meningkatkan sifat mukoadhesif sediaan. Sifat mukoadhesif yang tinggi akan memperpanjang waktu kontak sediaan di lokasi aplikasi atau memperpanjang waktu absorpsi sehingga dapat meningkatkan kinerja terapi obat.

4.4.3.3 Stabilitas

Pengujian stabilitas formula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenitoin dilakukan dengan cara yang sama dengan pengujian stabilitas delapan formula yang telah dilakukan sebelumnya yaitu menggunakan metode *heating cooling cycle*. Hanya saja pada formula optimum ini pengujian stabilitas dibandingkan dengan fenobarbital murni dan sediaan dengan zat aktif fenobarbital yang ada di pasar untuk melihat stabilitas sediaan dispersi nanopartikel terhadap perlakuan suhu yang ekstrim dilihat dengan ada tidaknya kristalisasi atau pengendapan maupun proses oksidasi.

Tabel 25. Organoleptis uji stabilitas formula optimum

Siklus	Organoleptis		
	Warna	Aroma	Konsistensi
0	Putih	Bau khas obat	Tidak terdapat pemisahan fase
1	Putih	Bau khas obat	Terdapat pemisahan fase
2	Putih	Bau khas obat	Terdapat pemisahan fase
3	Putih	Bau khas obat	Terdapat pemisahan fase
4	Putih	Bau khas obat	Terdapat pemisahan fase
5	Putih	Bau khas obat	Terdapat pemisahan fase
6	Putih	Bau khas obat	Terdapat pemisahan fase

Tabel 26. Kadar stabilitas formula optimum

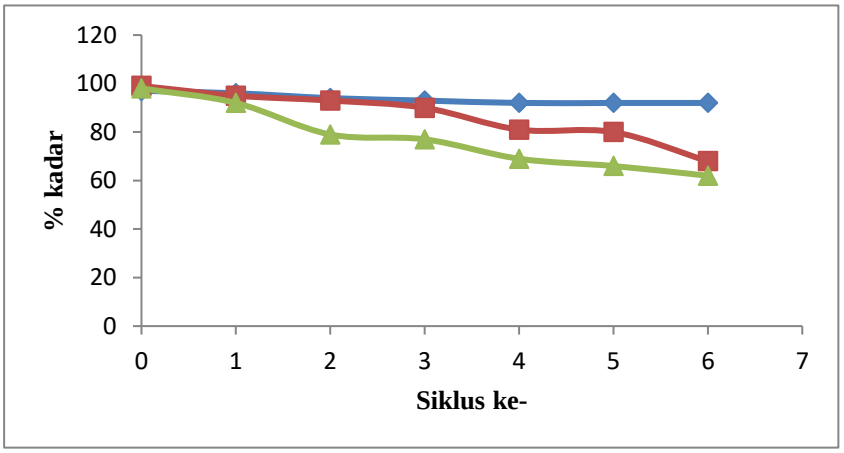
Siklus	Kadar (%)		Penurunan kadar (mg)
	Rata-rata %EE ± SD	%CV	
0	97,4741± 0,0173	0,0177	
1	96,8353± 0,0299	0,0309	0,6553
2	94,5499± 0,0173	0,0183	2,3601
3	93,1128± 0,0173	0,0186	1,5200
4	92,9032± 0,0173	0,0186	0,2251
5	92,4541± 0,0173	0,0187	0,4834
6	92,2146± 0,0173	0,0187	0,2591

Tabel 27. Kadar stabilitas fenobarbital murni

Siklus	Kadar (%)		Penurunan kadar (mg)
	Rata-rata %EE ± SD	%CV	
0	99,4844± 0,2881	0,2896	
1	95,4923± 0,2881	0,3017	4,0127
2	93,6627± 0,4990	0,5328	1,9160
3	90,5023± 0,2881	0,3183	3,3742
4	81,3540± 0,2881	0,3541	10,1084
5	80,5223± 0,2881	0,3578	1,0223
6	68,7126± 0,4990	0,7262	14,6664

Tabel 28. Kadar stabilitas sediaan di pasaran

Siklus	Kadar (%)		Penurunan kadar (mg)
	Rata-rata %EE ± SD	%CV	
0	98,8939± 0,1440	0,1457	
1	92,5732± 0,1440	0,1556	6,3914
2	79,3496± 0,1440	0,1815	14,2844
3	77,3536± 0,1440	0,1862	2,5155
4	69,3696± 0,1440	0,2077	10,3215
5	66,3756± 0,1440	0,2170	4,3160
6	62,9657± 0,1440	0,2288	5,1372



Keterangan:
= Formula optimum
= Fenobarbital murni
= Sediaan di pasaran

Gambar 12. Grafik % kadar formula optimum, fenobarbital murni, dan sediaan fenobarbital di pasaran

Pengujian stabilitas dilakukan dengan mengamati perubahan warna, aroma, dan penurunan kadar dari ketiga sampel. Berdasarkan hasil pengujian stabilitas, dari segi organoleptis sediaan nanopartikel fenobarbital formula optimum terlihat stabil dengan tidak adanya perubahan warna dan aroma dari siklus 0 sampai dengan 6 tetapi terjadi pemisahan fase mulai dari fase 1 sampai 6. Pemisahan fase yang terjadi sejak siklus pertama dikarenakan sediaan dispersi partikel berupa larutan suspensi. Kedua fase akan bercampur kembali apabila dikocok beberapa kali.

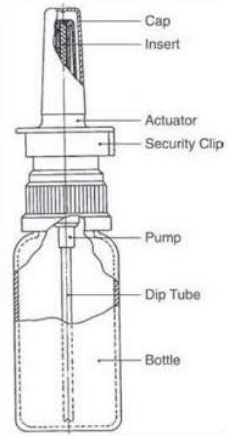
Hasil pengujian penurunan kadar menunjukkan bahwa suhu mempengaruhi stabilitas sediaan. Secara umum, laju reaksi bertambah cepat jika suhu dinaikkan. Hal ini disebabkan makin tinggi suhunya kecepatan gerak partikel-partikel pereaksi dan energi kinetik partikel akan ikut meningkat sehingga makin banyak partikel yang memiliki energi kinetik diatas energi pengaktifan. Oleh karena itu, pengaruh perubahan suhu yang ekstrem seperti suhu oven dapat menyebabkan ketidak stabilannya komponen vesikel dan pecahnya vesikel sehingga kadar zat aktif yang terjerap semakin kecil.

4.4.4 Karakterisasi dan Evaluasi Sediaan Intranasal

4.4.4.1 *Pump Delivery*

Pengujian *pump delivery* dilakukan untuk melihat keseragaman bobot semprot yang dihasilkan dari wadah nasal *spray* yang dipilih berdasarkan kemampuan pompa nasal *spray* karena dapat mempengaruhi dosis obat (CDER, 2002). Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan sediaan ke udara sebanyak 10 kali. Tiap semprotan tidak boleh menyimpang lebih dari 6% dari bobot sebelumnya dan 10% dari bobot rata-rata semprotan. Berdasarkan hasil uji

pump delivery (Tabel 29), formula optimum memenuhi syarat *pump delivery* karena tidak ada hasil yang menyimpang dari batas yang diperbolehkan.



Gambar 13. Botol nasal *spray*

Tabel 29. Hasil uji *pump delivery* formula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

No.	Bobot(mg)	Syarat 6%		Syarat 10%		SD	%CV
		Batas atas	Batas bawah	Batas atas	Batas bawah		
1	131,967	-	-	145,163	118,770	0,002804	0,010904
2	139,167	147,517	130,817	153,083	125,250	0,004614	0,018036
3	132,700	140,662	124,738	145,970	119,430	0,002381	0,009358
4	136,833	145,043	128,623	150,517	123,150	0,000964	0,003810
5	131,433	139,319	123,547	144,577	118,290	0,002065	0,008201
6	137,167	145,397	128,937	150,883	123,450	0,001595	0,006368
7	134,467	142,535	126,399	147,913	121,020	0,001193	0,004790
8	137,200	145,432	128,968	150,920	123,480	0,000608	0,002455
9	138,100	146,280	129,720	151,800	124,200	0,001819	0,007385
10	131,100	138,966	123,234	144,210	117,990	0,001249	0,005098

4.4.4.2 Keseragaman Bobot Semprot

Pengujian keseragaman bobot semprot dilakukan untuk mengetahui reproduksibilitas wadah nasal *spray* dari awal sampai akhir semprotan. Hasil setiap aktuasi yang dikeluarkan harus seragam untuk menjaga keseragaman dosis yang dihantarkan setiap penghantaran. Berdasarkan pengujian yang dilakukan, reproduksibilitas wadah nasal *spray* menunjukkan hasil keseragaman bobot semprot yang memenuhi persyaratan. Hasil uji keseragaman bobot semprot dapat dilihat pada Tabel 30.

Tabel 30. Hasil uji keseragaman bobot semprotformula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

No.	Bobot(mg)	Syarat 6%		Syarat 10%		SD	%CV
		Batas atas	Batas bawah	Batas atas	Batas bawah		
6	137,167	-	-	150,883	123,450	0,002804	0,010568
7	134,233	142,287	126,179	147,657	120,810	0,000985	0,003731
8	138,433	146,739	130,127	152,277	124,590	0,001266	0,004821
82	239,700	254,082	225,318	263,670	215,730	0,002779	0,010637
164	249,633	264,611	234,655	274,597	224,670	0,001656	0,006398
165	128,567	136,281	120,853	141,423	115,710	0,001400	0,005461
166	134,600	142,676	126,524	148,060	121,140	0,001002	0,003927

4.4.4.3 Pola dan Geometri Semprot

Uji pola dan geometri semprot dilakukan dengan cara menyemprotkan sediaan diudara menggunakan layar belakang berwarna hitam dan mengambil gambar secara *slow-motion*. Hasil tangkapan gambar tadi diolah dengan *software* ImageJ® yang kemudian didapatkan hasil analisis berupa pola penyemprotan, diameter semprotan dan sudut semprotan.

Gambar 14. Sudut geometri formula optimum

Pola penyemprotan yang dihasilkan adalah terbentuk semprotan yang menyebar dan membentuk lingkaran. Sedangkan sudut dan diameter semprotan yang terbentuk adalah sebesar 24,99° dan 4,6 cm. Sudut geometri semprotan akan semakin besar jika viskositas dari suatu sediaan kecil, namun viskositas yang tinggi akan memperkecil sudut geometri semprotan yang dihasilkan

(Trows *et al*., 2014). Berdasarkan hasil sudut semprotan yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa kinerja pompa dari alat cukup baik.

4.4.4.4 Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan menggunakan viskometer Ostwald dengan membandingkan bobot jenis dan waktu alir antara sediaan formula optium dan air. Waktu alir merupakan waktu yang diperlukan sampel untuk mengalir dari batas atas *bulb* hingga mencapai batas bawahnya. Waktu alir yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan waktu alir akuades yang telah diketahui bobot jenis dan viskositasnya dalam satuan cPs (Nahumury, 2009). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemudahan sediaan untuk mengalir melalui pompa alat. Semakin tinggi viskositas, tenaga yang diperlukan untuk mengeluarkan sediaan melalui pompa akan semakin besar. Hasil pengujian viskositas dapat dilihat pada Tabel 31.

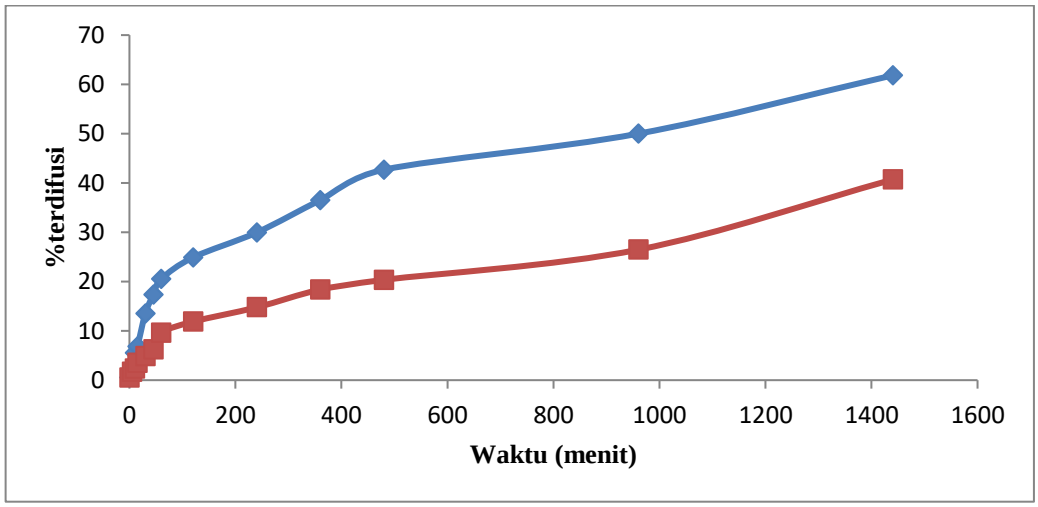
Tabel 31. Hasil uji viskositas formula optimum

Sampel	Waktu alir (detik)	Viskositas (cPs)
Air	1,02	0,89
Formula Optimum *Crosslinker* $CaCl_2$	1,20	1,055209

Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa formula optimum memiliki viskositas yang lebih tinggi daripada akuades yang dijadikan standar. Hasil ini disebabkan karena perbedaan komponen yang ada di dalam cairan terutama polimer. Konsentrasi polimer mempengaruhi viskositas yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi polimer maka semakin tinggi viskositas yang dihasilkan. Formula optimum dengan *crosslinker* $CaCl_2$ memiliki konsentrasi kitosan yang lebih tinggi yaitu 0,161% dibandingkan dengan formula *crosslinker* STPP sehingga nilai viskositasnya juga akan lebih tinggi.

4.5 Studi Pelepasan Nanopartikel Fenobarbital secara *Ex Vivo*

Pengujian difusi sediaan nanopartikel fenobarbital dan larutan fenobarbital murni dilakukan secara *ex-vivo* yang diawali dengan pembuatan kurva baku menggunakan dapar fosfat pH 6,4. pH tersebut digunakan karena berada pada rentang pH rongga hidung yaitu 4,5 – 6,5 (kurva baku dapat dilihat pada Lampiran 16). Analisis difusi sediaan nanopartikel fenobarbital dan larutan fenobarbital murni dilakukan dengan melakukan s*ampling* dengan interval waktu tertentu yang kemudian diukur kadarnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.



Keterangan:
= Larutan fenobarbital murni
= Sediaan nanopartikel fenobarbital

Gambar 15. Grafik rata-rata %terdifusi larutan fenobarbital murni dan sediaan nanopartikel fenobarbital

Berdasarkan hasil analisis difusi yang telah dilakukan selama 24 jam, nilai persen terdifusi sediaan nanopartikel fenobarbital lebih besar dibandingkan larutan fenobarbital murni yaitu masing-masing sebesar 61,8333% dan 40,6988%. Hal ini disebabkan sediaan nanopartikel memiliki matriks kitosan yang membantu membuka *tigh junction* sehingga sediaan nanopartikel akan melewati membran sel

dan berdifusi secara transeluler (Yeh *et al*., 2011). Peningkatan persen terdifusi terjadi secara bertahap atau tidak adanya pelepasan kejut pada sediaan yang dapat dilihat pada Gambar 11. Nilai persen terdifusi sediaan berbanding lurus terhadap waktu karena kemampuan matriks kitosan membuka *tigh junction* meningkat seiring bertambahnya waktu kontak sediaan dengan mukosa hidung.

4.5.1 Analisis Kompartemen Difusi

Analisis kompartemen dilakukan dengan menggunakan *software* WinSAAM™ untuk melihat apakah ada pengaruh *lag time* terhadap laju penetrasi molekul fenobarbital menembus membran mukosa hidung. Model analisis kompartemen dibagi menjadi model kompartemen 2 (*non lag time*) dan kompartemen 3 (*lag time*). *Lag time* merupakan jeda waktu saat pemberian obat dan kadar obat dalam sirkulasi sistemik ada. *Lag time* terjadi akibat adanya proses absorpsi pada obat saat mencapai sirkulasi sistemik.

Hasil analisis kompartemen menunjukkan fenobarbital dan sediaan nanopartikel fenobarbital mengikuti kompartemen 2 yang dilihat dari nilai koefisien korelasi kompartemen 2 lebih besar dibandingkan nilai koefisien korelasi kompartemen 3. Analisis korelasi dilakukan dengan metode Pearson menggunakan SPSS®16 karena data Qo atau data observasi terdistribusi normal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang optimasi formula sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital dengan variasi jenis *crosslinker*, waktu sonikasi, dan waktu pengadukan menggunakan desain faktorial, dapat disimpulkan bahwa:

1. Jenis *crosslinker* mempengaruhi semua hasil respon secara signifikan. Waktu pengadukan mempengaruhi respon persen EE, stabilitas termodinamika, waktu sedimentasi, volume sedimentasi dan pH secara signifikan tetapi tidak mempengaruhi respon redispersi. Waktu sonikasi mempengaruhi respon stabilitas termodinamika, waktu sedimentasi, pH, dan redispersi tetapi tidak mempengaruhi respon volume sedimentasi dan persen EE.
2. Formula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital yang didapatkan adalah formula 8 yaitu dengan *crosslinker* $CaCl_2$ 0,5%, waktu pengadukan 60 menit, dan sonikasi 30 menit.
3. Formula optimum sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital menghasilkan ukuran partikel sebesar 1245,0 nm dan distribusi ukuran partikel sebesar 0,352. Zeta potensial yang dihasilkan tidak memenuhi syarat yaitu sebesar 2,3 mV.
4. Formula optimum memenuhi syarat *pump delivery* dan keseragaman bobot. Hasil pola penyemprotan dan geometri semprot didapatkan sudut semprotan sebesar 24,99°.

5.2 Saran

Saran dari hasil penelitian tentang optimasi formula sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital dengan variasi jenis *crosslinker*, waktu sonikasi, dan waktu pengadukan menggunakan desain faktorial, yang telah dilakukan untuk penelitian lebih lanjut adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan variasi jenis dan konsentrasi dari bahan penyusun partikel lainnya serta waktu sonikasi sehingga mendapatkan sediaan intranasal yang lebih stabil.
2. Perlu dilakukan pengukuran penurunan persen transmitansi untuk mengetahui bahwa telah terjadi proses *crosslinking* antara polimer dan *crossliker*.
3. Perlu dilakukan pengujian histopatologis terhadap membran mukosa hidung untuk memastikan keamanan sediaan.
4. Optimasi atau validasi alat nasal *spray* dan pengukuran kadar tiap bobot semprot perlu dilakukan untuk menghasilkan bobot aktuasi yang seragam dan memastikan bahwa obat yang diterima pada setiap aktuasi seragam.
5. Pengujian nilai koefisien partisi (logP) perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan menembus membran otak.

DAFTAR PUSTAKA

Agnihotri, S.A., Mallikarjuna, N.N. & Aminabhavi, T.M. 2004, Recent advances in chitosan-based micro and nanoparticles in drug delivery, *J. Control Rel*, **100**: 5 – 28.

Ali, A.K., Prajapati S., Devendra, S., Brajesh, K. & Kausar, S. 2012, Enhanced bioavailability of drug via intranasal drug delivery system, *Int Reasearch Journal of Pharmacy*, **3(7)**: 68 – 74.

Amar, V.S., Pasala, X.M., Puszynski, J.A. & Shende, R.V. 2015, Sonication derived powdered mixtures of ferrite and ceramic nanoparticles for H2 generation, *American Journal of Energy Research*, **3(2)**: 25 – 31.

Amdira, M. 2017, 'Optimasi waktu sonikasi, kadar *poly*(*lactic co glycolic acid*), dan *poly*(*vinyl alcohol*)pada fomulasi mikropartrikel fikosianin dengan desain *box-bhenken*', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia.

Anggrimulja, V. 1988, 'Pengamatan kadar fenitoin dalam serum pada beberapa penderita epilepsi tipe grand mal dengan terapi kombinasi fenitoin-fenobarbital', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.

Annisa, N.M. 2018, 'Optimasi formula sediaan intranasal mikro partikel ekstrak air gambir dengan variasi konsentrasi kitosan, crosslinker, dan kecepatan pengadukan menggunakan desain box-behnken', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia.

AOAC Official Method of Analysis. 2012, Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, *Appendix*, 1 – 32.

Aremu, O.I. & Oduyela, O.O. 2015, Evaluation of metronidazole suspensions, *Afr J Biochem Res*, **9(12)**: 439 – 450.

Avadi, M.R., Sadeghi, A.M.M., Mohammadpour, N., Abedin, S., Atyabi, F., Dinarvand, R., *et al*. 2009, Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chiosan and arabic gum with ionic gelation method, *Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **6(1)**: 58 – 63.

Bankar, P.V., Kalkotwar, R.S., Ankita, P., Swati, T. & Jadahv, V.B. 2012, Evaluation of quality control of nasal spray, *JDDT*, **2(4)**: 1 – 4.

Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Fekt, O. *et al*. 2004, Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hidrogel for biomedical applications, *Eur J of PharmPand Biopharmaceutics*, **57**: 19 – 34.

Bhumkar, D.R. & Pokharkar, V.B. 2006, Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note, *AAPS PharmSciTech*, **7(2)**: E1 – E6.

Bolton, S. 1997, Pharmaceutical statistical: practical and clinical aplication, dalam Mariani, V. 2010, 'Optimasi formula tablet ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (lour.) merr.) dengan kombinasi bahan pengikat amilum manihot dan bahan penghancur starch1500 dengan metode *factorial design*', *Skripsi*, S.Farm., Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia.

BPOM RI. 2015, *Fenobarbital*, diakses pada tanggal 25 Januari 2019, <http://pionas.pom.go.id/monografi/fenobarbital>.

Brodie, M.J. & French, J.A. 2000, Management of epilepsy in adolescents and adults, dalam J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., & Posey, L.M., (Ed.), *Handbook of pharmacotherapy: Apathophysiology approach*, 7thEdition, McGraw-Hill, USA.

Buzea, C., Blandino, I.I.P., & Robbie, K. 2007, Nanomaterial and nanoparticles: Sources and toxicity, *Biointerphases*, **2**: 170 – 172.

CDER. 2002, *Nasal spray and inhalation solution, suspension, and spray drug products – chemistry*, Office of Training and Communications Division of Drug Information, Manufacturing, and Controls Documentations, Rockville, U.S.

Deliana, M. 2002, Tatalaksana kejang demam pada anak, *Sari Pediatri*, **4(2)**: 59 – 62.

Dewi, I.K. & Rusita, Y.D. 2017, Uji stabilitas fisik dan hedonik sirup herbal kunyit asam, *Jurnal Kebidanan dan Kesehatan Tradisional*, **2(2)**: 79 – 84.

Dompeipen, E.J. 2017, Isolasi dan identifikasi kitin dan kitosan dari kulit udang windu (*Penaeusmonodon*) dengan spektroskopi inframerah, *Balai Riset Dan Standarisasi Industri Ambon*, **13(1)**: 31 – 41.

Dow. 2003, *Calcium chloride handbook*, Dow Chemical Company, Michigan, USA.

DrugBank. 2017, Calcium chloride DB01164, diakses pada tanggal 25 Januari 2019, <http://www.drugbank.Ca /drugs/ DB01164>.

DrugBank. 2017, Phenobarbital DB01174, diakses pada tanggal 25 Januari 2019, <http://www.drugbank.ca /drugs/DB01174>.

Estanqueiro, M., Conceicao, J., Amaral, M.H., Santos, D., Silva, J.B. & Lobo, J.M.S. 2014, Characterization and stability studies of emulsion systems containing pumice, *Bra J Pharm Sci*, **50(2)**: 361 – 367.

Ganguly, S. & Chakraborty, S. 2011, Sedimentation of nanoparticles in nanoscale colloidal suspensions, *Physics Letter A*, **375**: 2394 – 2399.

Gaskell, E.E., Hobbs, G., Rostron, C. & Hutcheon, G.A. 2008, Encapsulation and release of α-chrymotypsin from poly(glycerol adipate-co-ω-pentadecalactone) microparticles, *J Microencapsul*, **25(3)**: 187 – 195.

Gayo, C.D. 2016, 'Pengaruh variasi konsentrasi natrium alginate terhadap efisiensi penjerapan mikrokapsul minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* L.)', *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Gebresamuel, N. & Gebemariam, T.G. 2013, Evaluation of the suspending properties of two local *Opuntia* spp. Mucilages on paracetamol suspension, *Pak J Pharm Sci*, **26(1)**: 23 – 29.

Ghori, M.U., Mahdi , M.H., Smith, A.M. & Conway, B.R. 2015, Nasal drug delivery systems: An overview, *American Journal of Pharmacological Sciences*, **3(5)**: 110 – 119.

Gidal, B.E. & Garnett, W.R. 2005, Epilepsy, dalam, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G. & Posey, L.M., (Ed.), *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 6thedition, McGraw-Hill, USA.

Gudipati, M., Chittem, P.B. & Nadendla, R.R. 2015, Enhancement of solubility and dissolution properties of oxcarbazepine by solid disepersion, *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4(2)**: 697 – 714.

Gulati, N., Naigaich, U. & Saraf, S.A. 2013, Intranasal delivery of chitosan nanoparticles for migraine therapy, *Scientia Pharmaceutica*, **81(1)**: 843 – 854 .

Gupta, V.K. & Karar, P.K. 2010, Optimization of process variables for the preparatiom of chitosan-alginate nanoparticles, *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3(2)**: 78 – 80.

Guo, C. & Doub, W.H. 2006, The influence of actuation parameters on in vitro testing of nasal spray products, *J Pharm Sci*, **95(9)**: 2029 – 2039.

Harsono. 2001, *Strategi terapi epilepsi*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Harsono. 2007, *Epilepsi*, 2nd edition, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Hart, H., Craine, L.. David, K. & Hart, J. 2003, *Kimia organik-suatu kuliah singkat-edisi keempat*, Erlangga, Jakarta.

Holler, F.J., Skoog, D.A. & Crouch, S.R. 2007, Principles of Intrumental Analysis, 6thedition, Brooks-Cole, USA.

Hasriani. 2014, 'Formulasi dan karakterisasi nanokapsul asiklovir tersalut kitosan-alginat yang dipaut silang dengan natrium tripolifosfat', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, UIN Alauddin, Makassar, Indonesia.

Illum, L., Gill, I.J., Hinchcliffe, M., Fisher, A.N Chitosan. & Davis, S.S. 2001. Chitosan as a novel nasal delivery system for vaccines, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **51**: 81 – 96.

Isnaini, U. 2015, 'Pengaruh variasi komposisi plasticizer dan kitosan terhadap elastisitas bioplastik dari pati umbi keladi (*Colocasiaesculenta*)', A.Md.T., Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya, Palembang, Indonesia.

Irianto, H. 1987, 'Studi perbandingan penetapan kadar teofilina dan fenobarbital dalam campuran dengan metode spektrofotometri berdasarkan cara kurva diferensial perbedaan pelarut dan cara perbandingan serapan', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.

Iswandana, R. 2012, 'Preparasi nanogel verapamil hidroklorida menggunakan metode gelasi ionik antara kitosan-natrium tripolifosfat sebagai sediaan antihipertensi', *Tesis*, M.Farm, Program Studi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

Jahanshahi, M. & Zahra, B. 2008, Protein nanoparticle: A unique system as drug delivery vehicles, *African Journal of Biotechnology*, **7(25)**: 4926 – 4934.

Katare, Y.K., Piazza, J.E., Bhandari, J., Daya, R.P., Akilan, K.,Simpson, M.J., Hoare, T. & Mishra, R.K. 2016, Intranasal delivery of antipsychotic drugs, *Schizophrenia Research*, 1 – 12.

Kawabata, Y., Wada, K., Nakatani, M., Yamada, S. & Onoue, S. 2011, Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications, *Int J Pharm*, **420(1)**: 1 **–**10.

Kawashima, Y., Yamamoto, H., Takeuchi, H.& Kuno, Y. 2000, Mucoadhesive DLlactide/glycolide copolymer nanospheres coated with chitosan to improve oral delivery of elcatonin, *PharmaceuticalDevelopment and Technology*, **5(1)**: 77 – 85.

Keum, C.G., Noh, Y.W., Baek, J.S., Lim, J. H., Hwang, C. J., Na, Y. G., Shin, S. C. & Cho, C. W. 2011, Practical preparation procedures for docetaxel-loaded nanoparticles using polylactic acid-co-glycolic acid, *Int JNanomedicine*, **6**: 2225 – 2234.

Kumar, T.P., Sirisha, B., Raju, N. & Reddy, G.N. 2013, Nasal drug delivery: A potential route for brain targeting, The Pharma Innovation Journal, 2(1): 77 - 83.

Khanam, N., Sachan, A.K., Alam, M.I., Gangwar, S.S.& Anand, C. 2011, Design and characterization of mucoadhesive microspheres of novel NSAID drug using algino-eudragit RS100 system, *Der Pharmacia Sinica*, **2(5)**: 182 – 191.

Kurniawan, E. 2012, 'Preparasi dan karakterisasi nanopartikel sambung silang kitosan-natrium polifosfat dalam gel verapamil hidroklorida', *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Ekstensi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengatahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

Kuruvila, F.S., Mathew, F. & Kuppuswamy, S. 2017, Solid self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) development, applications and future perspective: A review, *IAJPS*, **4(3)**: 651 – 669.

Kushwaha, S.K.S., Keshari, R.K. & Rai, A.K. 2011, Advances in nasal transmucosal drug delivery, *J Appl Pharm Sci*, **1(7)**: 21 – 28.

LabCE. 2018, *Centrifugation temperature*, diakses pada tanggal 12 Januari 2018, <http://www.labce.com/spg803262_centrifugation_temperature.aspx.>

Lissanta, M.N. 2008, 'Optimasi pemisahan dan penetapan kadar campuran parasetamol dan natrium fenobarbital dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia.

Luo, Y., Teng Zi., Wang Xiangan. & Wang Qin. 2013, Development of carboxymethyl chitosan hydrogel beads in alcohol-aqueous binary solvent for nutrient delivery applications, **3(1)**: 332 – 339.

Maitra, J. & Shukla, V.K. 2014, Cross-linking in hydrogels: A review, *American Journal of Polymer Science*, **31**: 25 – 31.

Malvern. 2012, *Zetasizer Range*, diakses pada tanggal 14 Juli 2019, <http://www.malvern.com/labeng/products/zetasizer.htm>.

Mannuela, N. 2016, 'Preparasi dan evaluasi nanopartikel azitromisin-kitosan dan uji aktivitas bakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*', *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Martien, R., Adhyatmika, Irianto, I.D.K., Farida, V. & Sari, D.P. 2012, Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat, *Majalah Farmaseutik*, **8(1)**: 133 – 144.

Mason, T.J., Paniwnyk, L. & Lorimer, J.P. 1996, The uses of ultrasound in food technology, *Ultrasonics Sonochemistry*, **3**: 253 – 260.

Masotti, A. & Ortaggi, G. 2009, Chitosan micro- and nanospheres: Fabrication and applications for drug and DNA delivery, *Medicinal Chemistry*, **9**: 463 **–** 469.

Miranda, A. 2016, 'Formulasi dan karakterisasi nanopartikel *ribosome inactivating protein from Mirabilis jalapa* l.-C (RIP MJ-C) dengan kitosan-natrium tripolifosfatter enkapsulasi alginate - kalsium klorida', *Skripsi*, S.Farm., Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.

Mohanraj, V.J. & Chen, Y. 2006, Nanoparticles-a review, *Trop J Pharm Res*, **5(1)**: 561 – 573.

Morimoto, K., Morisaka, K., &Kamada, A. 1985, Enhancement of nasal absorption of insulin and calcitonin using polyacrylic acid gel, *J. Pharm. Pharmacol*, **37**: 134 – 136.

Mourya, V.K., Inamdar, N.N. & Tiwari, A. 2010, Carboxymethyl chitosan and its applications, *Advance Material Letter*, **1**: 11-33.

Musumeci, T., Bonaccorso, A. & Puglisi, G. 2019, Epilepsy Disease and Nose-to-Brain Delivery of Polymeric Nanoparticles: An Overview, *American Journal of Pharmaceutics* **4(2)**: 25 - 31.

Muzarelli, R.A.A. 1977, *Chitin*, Pergamon Press, Oxford, Inggris.

Nahumury, F.E. 2009, 'Rekayasa nanofluida berbasis TiO_2 sebagai media pendingin pada system penukar kalor', *Skripsi*, S.T, Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

Naveed, S., Qamar, F., Abbas, S.S., Safdar, S., Ameer, S. & Idrees, U. 2015, Estimation and analysis of mefenamic acid suspension: a proportional investigation, *SOJ Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, **3(2)**: 1 – 3.

Ningsi, S. 2013, 'Formulasi dan karakterisasi nanokapsul dari ekstrak daun parang romang (*Boehmeria virgate* (Forst) Guill) berdasarkan variasi konsentrasi inti dan penyalut', *Skripsi*, S.Farm., Fakultas Ilmu Kesehatan, UIN Alauddin, Makassar, Indonesia.

Ningsih, R.S. 2018, 'Preparasi dan evaluasi sediaan self nano emulsifying drug delivery system (SNEDDS) azitromisin menggunakan metode simplex lattice design', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.

Nurmiah, S., Syarief, R., Sukarno, Peranginangin, R. & Nurtama, B. 2012, Aplikasi response methodology pada optimalisasi kondisi proses pengolahan alkali treated cottonii (ATC), *JPB Kelautan dan Perikanan*, **8(1)**: 9 – 22.

Oxychem. 2016, *Right to know hazardous substance fact sheet*, Department of Health, New Jersey, USA.

Parvathi, M. 2012, Intranasal drug delivery to brain: An overview, *Int J Res Pharm Chem*, **2(3)**: 889 – 894.

Patravale, V.B., Date, A.A. & Kulkarni, R.M. 2004, Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy, *J Pharm Pharmacol*, **56(7)**: 827 – 840.

Patel, Z., Patel, B., Patel, S. & Pardeshi, C. 2012, Nose to brain targeted drug delivery bypassing the blood-brain barrier: An overview, *Drug Invention Today*, **4(12)**: 610 – 615.

Pawar, N. & Chaudhary, H. 2015, Non-pressurized topical spray of diclofenac diethylamine, *Int J Adv Pharm*, **4(4)**: 40 – 48.

Petrilia, L. 2018, 'Optimasi formula sediaan intranasal mikro partikel ekstrak etanol polong petai dengan variasi konsentrasi kitosan, crosslinker, dan kecepatan pengadukan menggunakan desain box-behnken', *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia.

Poupaert, J.H., Vandervorst, D., Guiot, P., Moustafa, M.M.M. & Dumont, P. 1984, Structure-activity relationships of phenobarbital-like anticonvulsant drugs, *J. Med. Chem.*, **27**; 76 − 78.

Puvvada, Y.S., Saikishore, V., Srikanth, K. & Satyanarayana, J. 2012, Drug delivery system using chitosan nanoparticles, *American J Pharmtech Res*, **2(2)**: 2 – 12.

Prayogo, D.S. 2014, 'Formulasi suspense kombinasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan kulit batang mimba (*Azadirachtaindica*A. Juss) dengan natrium alginate sebagai bahan pensuspensi', *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

Pubchem. 2017, Phenobarbital, diakses pada tanggal 25 januari 2019, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/phenobarbital#section=top>.

Rachmawati, H., Reker-Smit, C., Hooge, M.N.L., Loenen-Weemaes, A.M.V., Poelstra, K. & Beljaars, L. 2007, Chemical modification of interleukin10 with mannose 6-phosphate groups yield a liver-selective cytokine, *DMD*, **35**: 814 – 821.

Rawat, M.D., Singh, S. &Saraf. 2006, Nanocarriers: Promising vehicle for bioactive drugs, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **29(1)**.

Richens, A. 1979, Clinical pharmacokinetics of phenobarbital, *Clinical pharmacokinetics*, **4**: 153 − 169.

Rohaeti, E., Heryant, R., Rafi, M., Wahyuningrum, A. & Darusman, L.K. 2011, Prediksi kadar flavonoid total tempuyung *(Sonchus arvenis L.)* menggunakan kombinasi spektroskopi IR dengan regresi kuadrat terkecil parsial, *Jurnal Kimia*, **5(2).**

Sachan, A.K. & Singh, S. 2014, Nanoparticles: Nasal delivery of drugs, *LIPRS*, **3**: 33 – 44.

Sainah. 2013, 'Optimasi formula suspensi siprofloksasin dengan kombinasi *Pulvis Gummi Arabici* (PGA) dan carbopol 934 menggunakan metode desain faktorial', *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia.

Savjani, K.T., Gajjar, A.K. & Savjani, J.K. 2012, Drug solubility: importance and enhancement techniques, *ISRN Pharm*, <http://dx.doi.org/10.5402/2012/195727>.

Schnurch, A.B., Heinrich, A. & Greimel, A. 2006, Development of a novel method for the preparation of submicron particles based on thiolated chitosan, *European J Pharm Biopharm*, **63**: 166 – 172.

Setiaji, A. 2014, 'Pengaruh penyuluhan tentang penyakit epilepsi anak terhadap pengetahuan masyarakat umum (studi di posyandu ngudi lestari), *Skripsi*, S.Ked., Program Studi Kedokteran Umum, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.

Shih, T. 2007, Epilepsy and seizures, dalam Brust, John C., (Ed.), *Lange medical book: Current diagnosis and treatment in neurology*, 35 – 62, McGrawHill Companies, Inc., USA.

Sunena, Mishra, D., Singh, S.K. & Kumar, A. 2016, Development and characterization of zolmitriptan loaded thiolated chitosan nanoparticles for intranasal drug delivery, *The Pharma Innovation Journal*, **5(7)**: 19 – 23.

Suyudi, S.D. 2014, 'Formulasi gel semprot menggunakan kombinasi karbopol 940 dan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebagai pembentuk gel', *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia.

Swarbrick, J. 2007, Encyclopedia of pharmaceutical technology, 3rd edition, *Informa Healthcare USA Inc*, USA.

Taurina, W., Sari, R., Hafinur, U., Wahdaningsih, S. & Isnindar. 2017, Optimasi kecepatan dan lama pengadukan terhadap ukuran nanopartikel kitosan-ekstrak etanol 70% kulit jeruk siam (*Citrus nobilis L. Var Microcarpa*) optimization of stirring speed and stirring time toward, *Traditional Medicine Journal*, **22(1)**: 16 – 20.

Tetra. 2016, *Safety data sheet*, Tetra Technologies Inc, Texas, USA.

Thariq, M.R.A., Fadli, A., Rahmat, A. & Handayani, R. 2016, Pengembangan kitosan terkini pada berbagai aplikasi kehidupan, *Review*, Jurusan Tenik kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, Riau, Indonesia.

Thermo, N. 2001, *Introduction to FTIR Spectrometry*, diakses pada tanggal 14 Juli 2019, <http://www.thermonicolet.com>.

Themo-Scientific. 2012, *Easy molecular bonding crosslinking technology*, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA.

Tiyaboonchai, W. 2003, Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery, *Naresuan University Journal*, **11(3)**: 51 – 66.

Trows, S., Wuchner, K., Spycher, R. & Steckel, H. 2014, Analytical challenges and regulatory requirements for nasal drug products in Europe and the U.S., *Pharmaceutics*, **6(2)**: 195 – 219.

UNEP. 2002, *OECD screening information dataset*, United Nations Environment Programme, Boston, USA.

USP (United State Pharmacopoiea) Convention. 2007, *United state pharmacopoiea 30-National formulary 25*, USA.

Vyas, T.K., Shahiqala, A., Marathe, S. & Misra, A. 2005, Intranasal drug delivery for brain targeting, *Current drug Delivery*, **2**: 165 – 175.

Wang, X., Chi, N. & Tang, X. 2008, Preparation of estradiol chitosan nanoparticles for improving nasal absorption and brain targeting, *European J Pharm Biopharm*, **70**: 735 – 740.

Wibowo, S dan Gofir, A. 2006, Obat antiepilepsi, dalam Hadi, G.P. 2015, 'Evaluasi efek terapi obat anti epilepsi politerapi pada pasien epilepsi pediatrik rawat jalan di instalasi kesehatan anak SRUO dr. Sardjito Yogyakarta', *Skripsi*, S.Farm., Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.

Wijaya, D.P. 2013, 'Preparasi nanopartikel sambung silang kitosan-tripolifosfat yang mengandung ginsenosida', *Skripsi*, S.Farm., Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia.

Woensel, M.V., Wauthoz, N., Rosiere, R., Amighi, K., Mathieu, V., Lefranc, F., *et al*. 2013, Formulations for intranasal delivery of pharmacological agents to combat brain disease: A new opportunity to tackle GBM, *Cancers Journal*, **5**: 1020 – 1048.

Yu, H.C., Huang, X.Y., Lei, F.H., Tan, X.C. & Li, H. 2014, Moleculary imprinted electrochemical sensor based on nickel nanoparticle-modifed electrodes for phenobarbital determination, *Electrochemical Journal*, **3**: 21-22

Yeh, T.H., Hsu, L.W., Tseng, M.T., Lee, P.L., Sonjae, K., Ho, Y.C. *et* al. 2011, Mechanism and consequence of chitosan-mediated reversible ephitelial tigh junction opening, *Biomaterials*, **32(26)**: 6164–6173.

Yosua, J. 2016, 'Preparasi dan karakterisasi submikro partikel poly(lactic-co-glycolic acid) pembawa azitromisin dengan stabilizer poly(vinyl alcohol)', *Skripsi*, S.Farm., Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Larutan Stok

1. Kitosan 0,1 %

$$= \frac{0{,}1\ g}{100\ mL} = \frac{x}{15\ mL}$$

= x = 0,015 g = 15 mg

Larutak stok 100 mL

$$\frac{15\ mg}{7\ mL} = \frac{x}{100\ mL}$$

= x = 214,29 mg

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan menimbang 214,29 mg kitosan dan dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 1%. Larutan stok kitosan 0,1% diambil 7 mL untuk pembuatan sediaan nanopartikel.

2. Kitosan 0,161 %

$$= \frac{0{,}161\ g}{100\ mL} = \frac{x}{15\ mL}$$

= x = 0,02415 g = 24,15 mg

Larutak stok 100 mL

$$\frac{24{,}15\ mg}{7\ mL} = \frac{x}{100\ mL}$$

= x = 345 mg

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan menimbang 345 mg kitosan dan dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 1%. Larutan stok kitosan 0,161% diambil 7 mL untuk pembuatan sediaan nanopartikel

3. STPP 0,1 %

$= \frac{0{,}1\ g}{100\ mL} = \frac{x}{15\ mL}$ = x = 0,015 g = 15 mg

Lampiran 1. (Lanjutan)

Larutak stok 100 mL

$$\frac{15\ mg}{7\ mL} = \frac{x}{100\ mL}$$

= x = 214,29 mg

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan menimbang 214,29 mg STPP dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Larutan stok STPP 0,1% diambil 7 mL untuk pembuatan sediaan nanopartikel.

4. $CaCl_2$ 0,5%

$$= \frac{0{,}5\ g}{100\ mL} = \frac{x}{15\ mL}$$

= x = 0,075 g = 75 mg

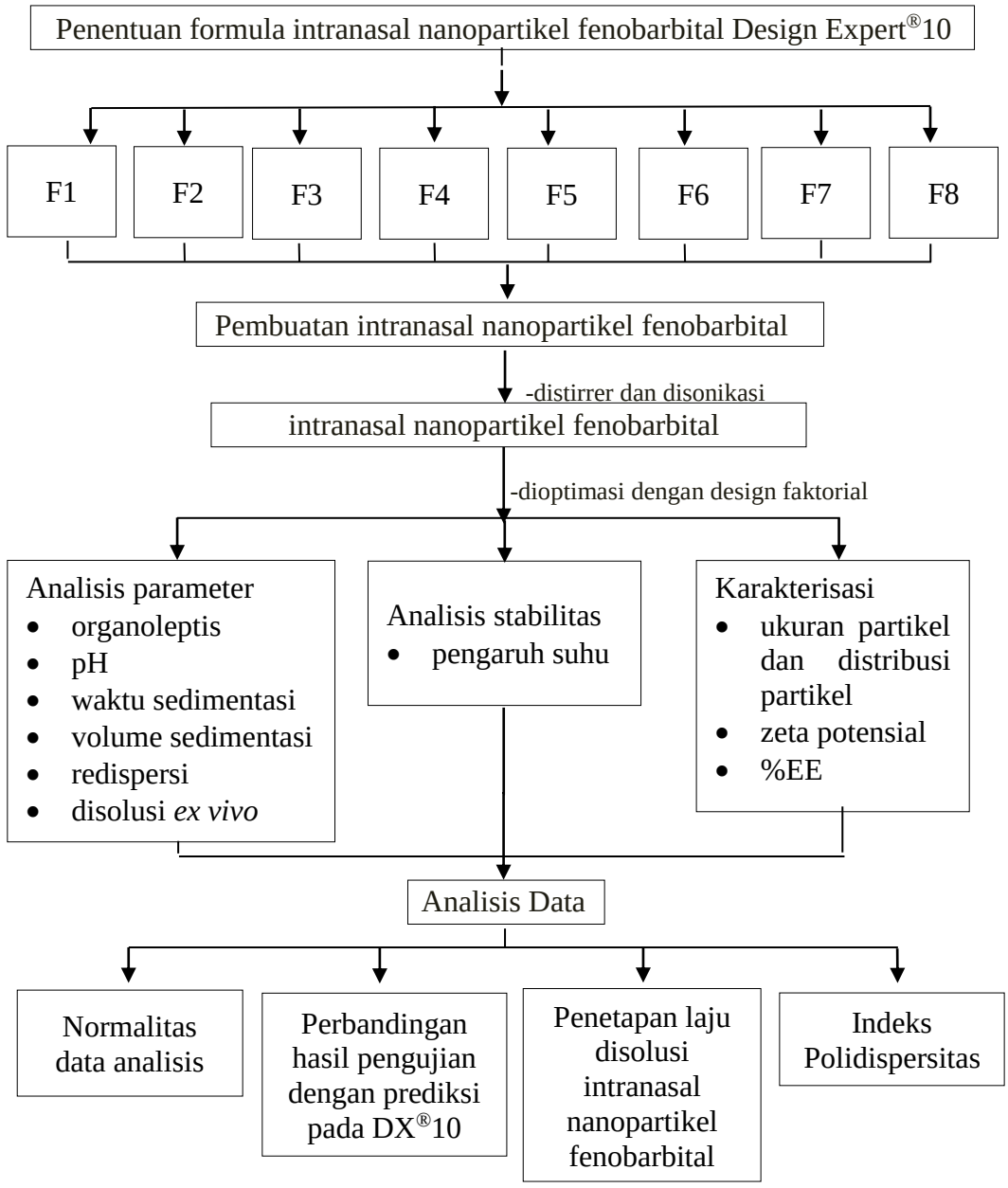
Larutak stok 100 mL

$$\frac{75\ mg}{7\ mL} = \frac{x}{100\ mL}$$

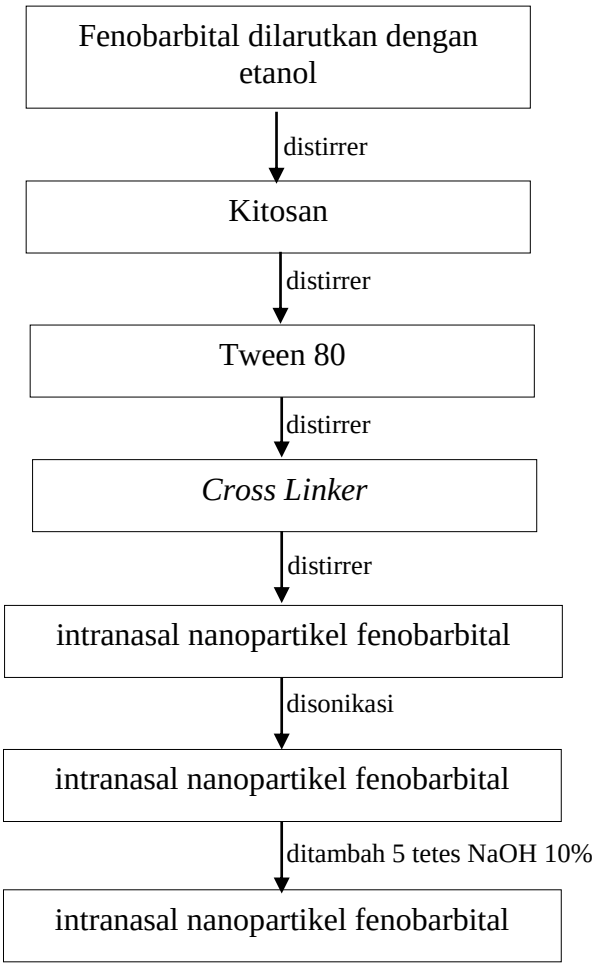
= x = 1071,43 mg

Pembuatan larutan stok dilakukan dengan menimbang 1071,43 mg $CaCl_2$ dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Larutan stok $CaCl_2$ 0,5% diambil 7 mL untuk pembuatan sediaan nanopartikel.

Lampiran 2. Skema Kerja Umum



Lampiran 3. Preparasi Sediaan Intranasal Nanopartikel



Lampiran 4. ***Certificate of Analysis Phenobarbital***

精华制药集团南通有限公司检验报告

NANTONG JINGHUA PHARMACEUTICAL CO. LTD.
CERTIFICATE OF ANALYSIS

No.20, 3 Haibin Road,Yanhai Economic Development Zone,Rudong,
Nantong Jiangsu China,226407
Tel:86-513-85609405/85609406

苯 巴 比 妥

PHENOBARBITAL

Batch No.	BBT2018044	Manufacture Date	Jun. 8, 2018
Total Quantity	503. 000KG	Report Date	Jul. 18, 2018
Commercial Quanti	500. 000KG	Re-test Date	Jun. 7, 2021
Inspection No.	180100163		

TEST	SPECIFICATIONS (Ph.Eur.)	RESULTS
Characteristics	A white, crystalline Powder or colourless crystals	Complies
Identification	B. IR C. TLC D. chemical test	Complies
Melting Point	≈176℃ (≤2℃)	175. 5～176. 5℃ (0. 5℃)
Appearance of solution	Clear、≤Y6	< Y6
Acidity	Complies	Complies
Related substances	≤0.5%	< 0. 5%
Loss on drying	≤0.5%	0. 25%
Sulphated ash	≤0.1%	0. 07%
Assay(Calculated on the dried basis)	99.0~101.0%	100. 01%

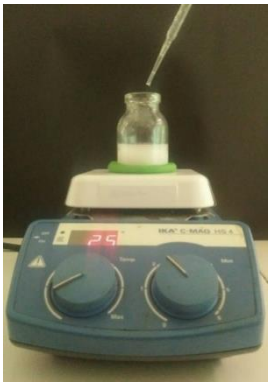
Conclusion The product meets the requirements of Ph.Eur.7.0

Analyst Jul.18,2018 Supervisor Jul.18,2018 Chief of Laboratory QA Release Date Jul.18,2018

检验专用章

Lampiran 5. Proses Pembuatan Sediaan Nanopartikel Fenobarbital

Larutan stok kitosan, dan fenobarbital diaduk dengan kecepatan pada formula

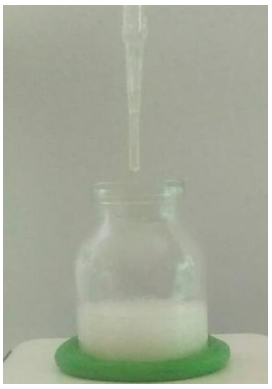


Penambahan tween 80

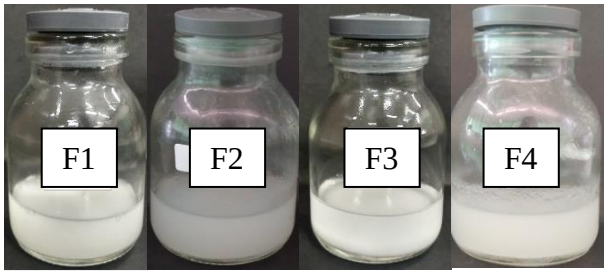
Penambahan larutan stok *crosslinker*

Pengadukan dilanjutkan sampai dengan waktu yang ditentukan pada formula

Pengecilan ukura partikel dengan *bath sonicator*, waktu disesuaikan pada formula

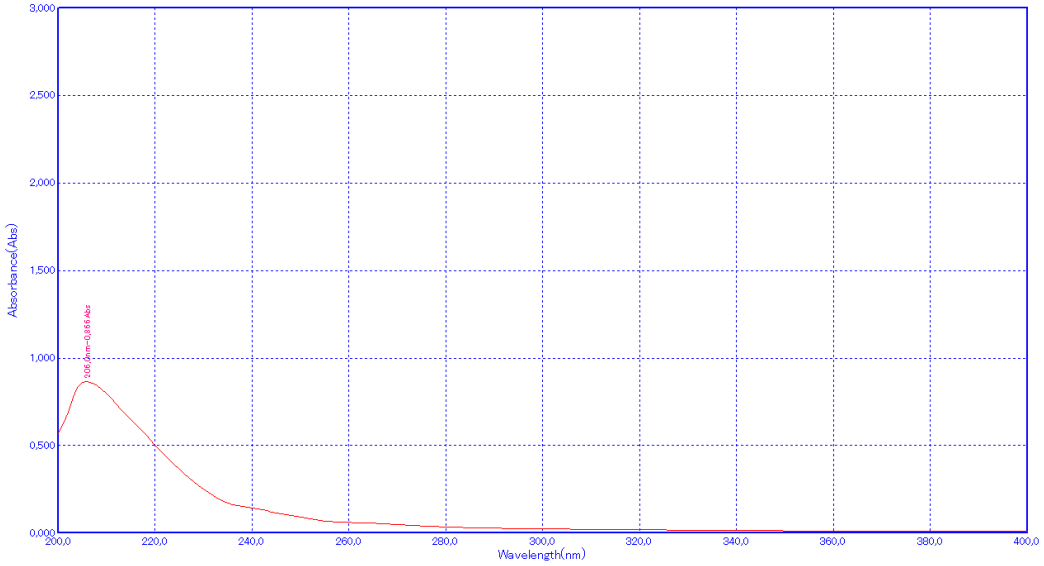


Penambahan NaOH 10% 5 tetes

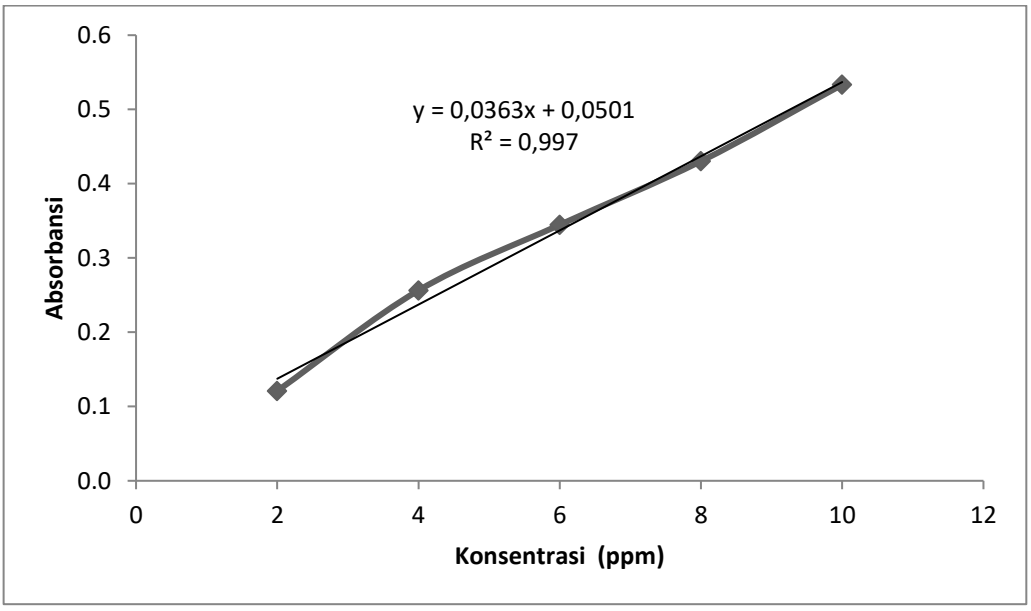


Sediaan nanopartikel fenobarbital menggunakan *crosslinker* $CaCl_2$ dan *crosslinker* STPP

Lampiran 6. Kurva Baku Fenobarbital



Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	R2	R3			
2	0,121	0,122	0,120	0,12100	0,001000	0,826446
4	0,255	0,258	0,256	0,25633	0,001528	0,595914
6	0,343	0,347	0,344	0,34467	0,002082	0,603965
8	0,430	0,431	0,430	0,43033	0,000577	0,134164
10	0,534	0,5350	0,536	0,53333	0,003055	0,572822



Lampiran 7. Analisis pH Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital

Formula	Nilai pH			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
1	4,81	4,80	4,80	4,8033	0,0058	0,1202
2	4,71	4,71	4,70	4,7067	0,0058	0,1227
3	4,79	4,79	4,79	4,7900	0,0000	0,0000
4	4,77	4,77	4,77	4,7700	0,0000	0,0000
5	4,84	4,84	4,85	4,8433	0,0058	0,1192
6	4,77	4,77	4,77	4,7700	0,0000	0,0000
7	4,81	4,81	4,81	4,8100	0,0000	0,0000
8	4,79	4,79	4,80	4,7933	0,0058	0,1204

Lampiran 8. Analisis %EE Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital

Formula	Absorbansi			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
1	0,244	0,240	0,243	0,2423	0,00021	0,0086
2	0,215	0,217	0,217	0,2163	0,00012	0,0053
3	0,243	0,241	0,244	0,2427	0,00015	0,0063
4	0,239	0,240	0,239	0,2393	0,00006	0,0024
5	0,207	0,204	0,208	0,2063	0,00021	0,0101
6	0,230	0,231	0,233	0,2313	0,00015	0,0066
7	0,286	0,288	0,286	0,2867	0,00012	0,0040
8	0,141	0,143	0,143	0,1423	0,00012	0,0081

Formula	Replikasi	Absorbansi	FP	Kadar tidak terjerap (ppm)	Kadar terjerap (ppm)	%EE
1	1	0,244	10	41,4571	625,2096	93,7814
	2	0,240	10	40,6587	626,0080	93,9012
	3	0,243	10	41,2575	625,4092	93,8114
2	1	0,215	10	35,6687	630,9980	94,6497
	2	0,217	10	36,0679	630,5988	94,5898
	3	0,217	10	36,0679	630,5988	94,5898
3	1	0,243	10	41,2575	625,4092	93,8114
	2	0,241	10	40,8583	625,8084	93,8713
	3	0,244	10	41,4571	625,2096	93,7814
4	1	0,239	10	40,4591	626,2076	93,9311
	2	0,240	10	40,6587	626,0080	93,9012
	3	0,239	10	40,4591	626,2076	93,9311
5	1	0,207	10	34,0719	632,5948	94,8892
	2	0,204	10	33,4731	633,1936	94,9790
	3	0,208	10	34,2715	632,3952	94,8593
6	1	0,230	10	38,6627	628,0040	94,2006
	2	0,231	10	38,8623	627,8044	94,1707
	3	0,233	10	39,2615	627,4052	94,1108
7	1	0,286	10	49,8403	616,8264	92,5240
	2	0,288	10	50,2395	616,4272	92,4641
	3	0,286	10	49,8403	616,8264	92,5240
8	1	0,141	10	20,8982	645,7685	96,8653
	2	0,143	10	21,2974	645,3693	96,8054
	3	0,143	10	21,2974	645,3693	96,8054

Lampiran 8. (Lanjutan)

Formula	%EE			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
1	93,7814	93,9012	93,8114	93,8313	0,0623	0,0664
2	94,6497	94,5898	94,5898	94,6098	0,0346	0,0366
3	93,8114	93,8713	93,7814	93,8214	0,0458	0,0488
4	93,9311	93,9012	93,9311	93,9211	0,0173	0,0184
5	94,8892	94,9790	94,8593	94,9092	0,0623	0,0656
6	94,2006	94,1707	94,1108	94,1607	0,0457	0,0486
7	92,5240	92,4641	92,5240	92,5040	0,0346	0,0374
8	96,8633	96,8054	96,8054	96,8247	0,0334	0,0345

Contoh perhitungan %EE sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Sampel: Formula 1 replikasi 1

Kadar fenobarbital $= \frac{10000\ \mu g}{15\ mL}$

$= 666{,}6667$ ppm

x $= \frac{y-a}{b} \times$ fp

$= \frac{0{,}244-0{,}0363}{0{,}0501} \times 10$

$= 41{,}4571$ ppm (kadar tidak terjerap)

x $= (666{,}6667 - 41{,}4571)$ ppm

$= 625{,}2096$ ppm (kadar terjerap)

%EE $= \frac{666{,}6667-41{,}4571}{666{,}6667} \times 100\%$

$= 93{,}7814\%$

Lampiran 9. Analisis Waktu Sedimentasi, Volume Sedimentasi, dan Redispersi Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital

1. Analisis waktu sedimentasi

Formula	Waktu sedimentasi (Detik)			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
1	662	664	661	662,3333	1,5275	0,2306
2	909	911	909	909,6667	1,1547	0,1269
3	665	666	665	665,3333	0,5774	0,0868
4	904	904	905	904,3333	0,5774	0,0638
5	662	664	661	662,3333	1,5275	0,2306
6	909	908	909	908,6667	0,5774	0,0635
7	660	659	660	659,6667	0,5774	0,0875
8	908	907	907	907,3333	0,5774	0,0636

2. Analisis volume sedimentasi

Formula	Jumlah kotak endapan			Rata-rata	Jumlah kotak 2 mL	F	Volume (%)
	R1	**R2**	**R3**				
1	7	7,5	7,5	7,3333	38	0,1930	19,2982
2	1	0,5	1	0,8333	38	0,0219	2,1930
3	6,5	5	6,5	6,0000	38	0,1579	15,7895
4	1,5	1,5	1	1,3333	38	0,0351	3,5088
5	6	6	5,5	5,8333	38	0,1535	15,3509
6	0,5	1	0,5	0,6667	38	0,0175	1,7544
7	4,5	5	5	4,8333	38	0,1272	12,7193
8	1,5	1,5	1,5	1,5000	38	0,0395	3,9474

Contoh perhitungan volume sedimentasi sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Sampel: Formula 1 Replikasi 1

Rasio F $= \frac{volume\ endapan}{volume\ awal} = \frac{jumlah\ kotak\ endapan}{jumlah\ kotak\ total}$

$= \frac{7}{38} = 0{,}1930$

%Volume = Rasio F × 100%

$= 0{,}1930 \times 100\% = 19{,}30\%$

Lampiran 9. (Lanjutan)

3. Analisis redispersi

Formula	Redispersi			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
1	17	16	17	16,6667	0,5774	3,4641
2	5	6	6	5,6667	0,5774	10,1885
3	14	13	13	13,3333	0,5774	4,3301
4	6	5	6	5,6667	0,5774	10,1885
5	15	14	14	14,3333	0,5774	4,0280
6	5	5	6	5,3333	0,5774	10,8253
7	13	13	13	13,0000	0,0000	0,0000
8	4	3	3	3,3333	0,5774	17,3205

Lampiran 10. Analisis Viskositas Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital

Bobot piknometer kosong : 14,1496 g

Bobot piknometer + air : 19,1596 g

Waktu alir air : 1,02 detik

Sampel	Waktu viskositas (detik)		
	R1	**R2**	**R3**
Air	1,02	1,02	1,03
***Crosslinker* $CaCl_2$**	1,18	1,21	1,20

Bobot piknometer	Bobot jenis (g/cm^3)	Viskositas (cp)			Rata-rata	SD	CV (%)
		R1	**R2**	**R3**			
19,1986 g	1,007784	1,037622	1,064002	1,055209	1,052278	0,013432	1,276476

Contoh perhitungan viskositas sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Sampel: Formula *Crosslinker* $CaCl_2$ replikasi 1

1. **Perhitungan berat jenis**

$$\rho_t = \frac{bobotpiknometersampel - bobotpiknometerkosong}{bobotpiknometerair - bobotpiknometerkosong} x \text{BJ air}$$

$$\rho_t = \frac{\mathbf{19,1986}g - 14,1496\ g}{19,1596g - 14,1496\ g} x1\ \frac{g}{cm^3} = 1,007784\ \frac{g}{cm^3}$$

2. **Perhitungan viskositas**

$$\eta_t = \frac{\eta o \text{ x } \rho t \text{ x } t}{\rho o \text{ x } t_0} = \frac{0,89\ cP \times 1,007784 \frac{g}{cm^3} \times 1,18 detik}{1 \frac{g}{cm^3} \times 1,02 detik} = 1,037622 \text{ cP}$$

Lampiran 11. Analisis Stabilitas Termodinamika Sediaan Intranasal Nanopartikel Fenobarbital

Formula	Absorbansi			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
1	0,267	0,266	0,265	0,2660	0,00100	0,3759
2	0,274	0,278	0,275	0,2757	0,00208	0,7551
3	0,261	0,261	0,260	0,2607	0,00058	0,2215
4	0,271	0,271	0,272	0,2713	0,00058	0,2128
5	0,222	0,221	0,222	0,2217	0,00058	0,2605
6	0,268	0,265	0,269	0,2673	0,00208	0,7787
7	0,293	0,295	0,297	0,2950	0,00200	0,6780
8	0,230	0,228	0,227	0,2283	0,00153	0,6690

Formula	Absorbansi			FP	%EE		
	R1	**R2**	**R3**		**R1**	**R2**	**R3**
1	0,267	0,266	0,265	10	93,7814	93,9012	93,8114
2	0,274	0,278	0,275	10	94,6497	94,5898	94,5898
3	0,261	0,261	0,260	10	93,8114	93,8713	93,7814
4	0,271	0,271	0,272	10	93,9311	93,9012	93,9311
5	0,222	0,221	0,222	10	94,8892	94,9790	94,8593
6	0,268	0,265	0,269	10	94,2006	94,1707	94,1108
7	0,293	0,295	0,297	10	92,5240	92,4641	92,5240
8	0,230	0,228	0,227	10	96,8633	96,8054	96,8054

Formula	%EE setelah uji stabilitas			Rata-rata	SD	CV	Rata-rata %EE awal	Penurunan kadar (%)
	R1	**R2**	R3					
1	93,0928	93,1228	93,1527	93,1228	0,02995	0,0322	93,8313	0,7551
2	92,8832	92,7635	92,8533	92,8333	0,06233	0,0671	94,6098	1,8776
3	93,2725	93,2725	93,3024	93,2824	0,01729	0,0185	93,8214	0,5744
4	92,9731	92,9731	92,9431	92,9631	0,01729	0,0186	93,9211	1,0201
5	94,4401	94,4701	94,4401	94,4501	0,01729	0,0183	94,9092	0,4837
6	93,0629	93,1527	93,0329	93,0828	0,06233	0,0670	94,1607	1,1447
7	92,3144	92,2545	92,1946	92,2545	0,05990	0,0649	92,5040	0,2698
8	94,2006	94,2605	94,2904	94,2505	0,04573	0,0485	96,8247	2,6586

Contoh perhitungan %EE sediaan intranasal nanopartikel fenobarbital

Sampel: Formula 1 replikasi 1

Kadar fenobarbital = 10000 µg/ 15 mL

= 666,6667 ppm

Lampiran 11. (Lanjutan)

x $= \frac{y-a}{b} \times$ fp

$= \frac{0,267-0,0363}{0,0496} \times 50$

= 46,0479 ppm (kadar tidak terjerap)

%EE setelah uji stabilitas $= \frac{666,6667-46,0479}{666,6667} \times 100\%$

= 93,0928

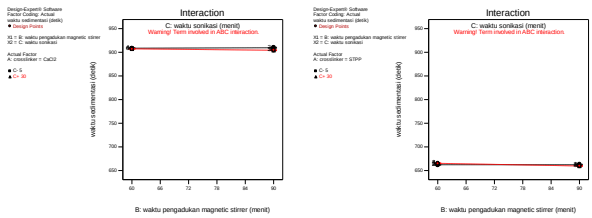
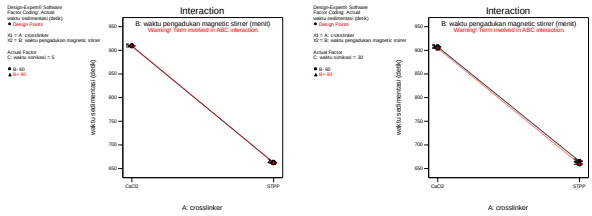
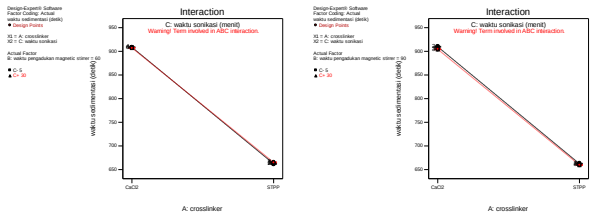
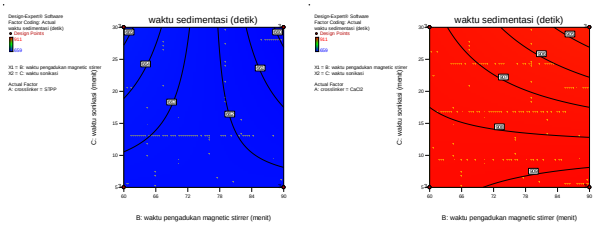
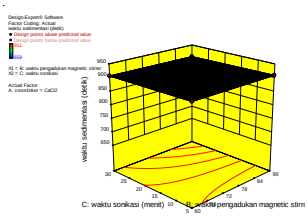
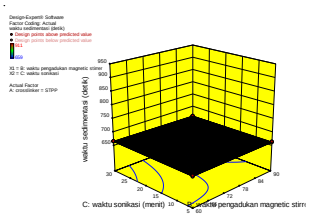
%Penurunan kadar $= \frac{\%EE\ awal - \%EE\ setelah\ uji\ stabilitas}{\%EE\ awal} \times 100\%$

$= \frac{93,7814-93,0928}{93,7814} \times 100\%$

= 0,7343%

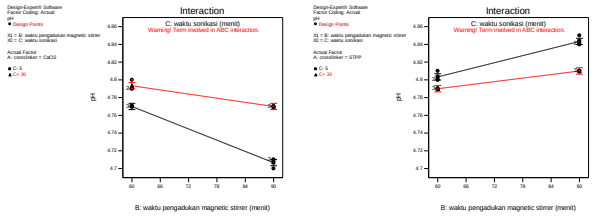
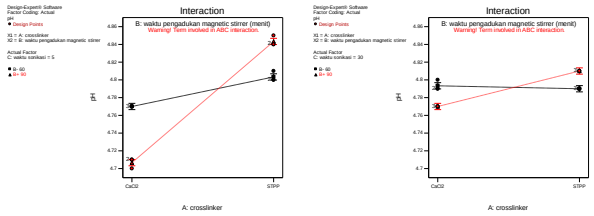
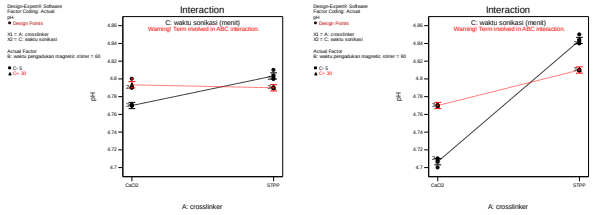
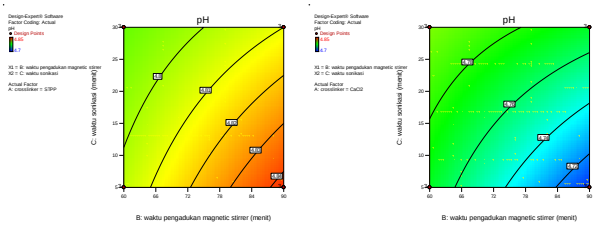
Lampiran 12. Hasil Analisis Desain Faktorial 2^3

Respon Waktu Sedimentasi

Model grafik	Penjelasan
	Grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda. Grafik ini menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam level minimum dan level maksimum.
 	Interaksi antara kedua faktor yaitu jenis crosslinker (A) dan waktu sedimentasi (B) dapat meningkatkan nilai waktu sedimentasi. Interaksi crosslinker (A) dan waktu sonikasi (C), dan waktu sedimentasi (B) dan waktu sonikasi (C) diketahui dapat menurunkan nilai waktu sedimentasi.
	Grafik *contour plot* menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon waktu sedimentasi. Warna biru menunjukkan nilai respon terendah, sedangkan merah menunjukkan nilai respon tertinggi. Respon waktu sedimentasi dengan jenis *crosslinker* STTP, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna biru untuk nilai waktu sedimentasi 665, 665, 663, 662, 661dan 660 detik.
 	3D surface merupakan grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil contour plot dengan penambahan bentuk dan warna yang dalam model tiga dimensi. Warna kuning pada grafik menunjukkan area std error, sedangkan warna hitam std error $\geq$ 1,5. Warna pada grafik menunjukkan nilai respon waktu sedimentasi. Warna biru (nilai respon terendah), warna merah (nilai respon tertinggi).

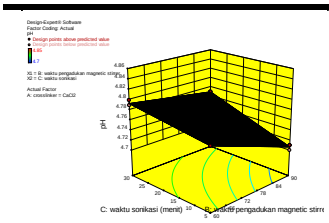
Lampiran 12. (Lanjutan)

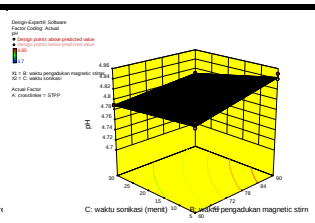
Respon pH

Model grafik	Penjelasan
	Grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda. Grafik ini menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam level minimum dan level maksimum.
	Interaksi antara kedua faktor yaitu jenis crosslinker (A) dan waktu pengadukan (B) dapat menurunkan nilai pH. Interaksi jenis crosslinker (A) dan waktu sonikasi (C), dan waktu pengadukan (B) dan waktu sonikasi (C) diketahui dapat meningkatkan nilai pH.
	
	Grafik *contour plot* menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon pH. Warna biru menunjukkan nilai respon terendah, sedangkan merah menunjukkan nilai respon tertinggi. Respon pH dengan jenis *crosslinker* STTP, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna oren untuk nilai pH 4,84 dan 4,83; warna kuning keorenan untuk nilai pH 4,82 dan 4,81; dan warna kuning kehijauan untuk nilai pH 4,80. Respon pH dengan jenis *crosslinker* $CaCl_2$, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna hijau untuk nilai pH 4,78; warna biru kehijauan untuk nilai pH 4,76; warna biru muda untuk nilai pH 4,74; dan warna biru tua untuk nilai pH 4,72.

Lampiran 12. (Lanjutan)

Lanjutan respon pH

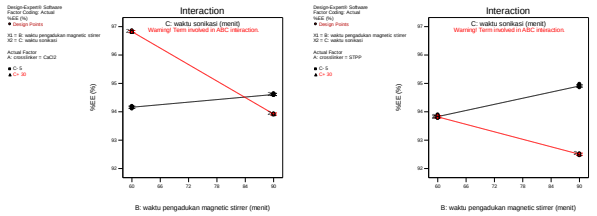
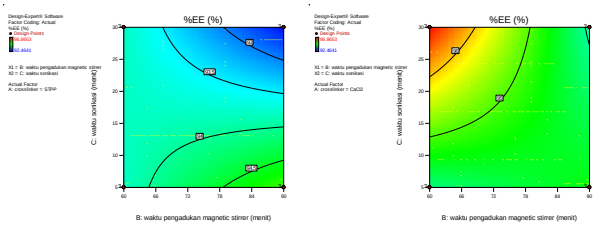
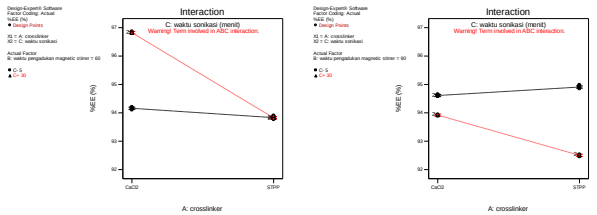




3D surface merupakan grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil contour plot dengan penambahan bentuk dan warna yang disajikan dalam model tiga dimensi. Warna kuning pada grafik menunjukkan area std error, sedangkan warna hitam std error ≥ 1,5. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon pH. Warna biru yaitu nilai respon terendah, sedangkan merah yaitu nilai respon tertinggi.

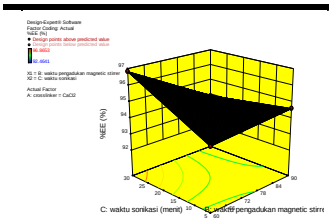
Lampiran 12. (Lanjutan)

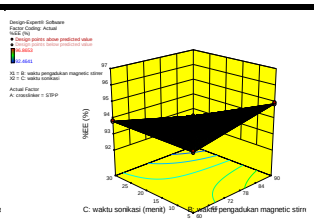
Respon %EE

Model grafik	Penjelasan
	Grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda. Grafik ini menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam level minimum dan level maksimum. Interaksi antara kedua faktor yaitu jenis crosslinker (A) dan waktu pengadukan (B), dan waktu pengadukan (B) dan waktu sonikasi (C) dapat meningkatkan nilai %EE. Interaksi jenis crosslinker (A) dan waktu sonikasi (C) diketahui dapat menurunkan nilai %EE.
	
	
	Grafik *contour plot* menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon %EE. Warna biru menunjukkan nilai respon terendah, sedangkan merah menunjukkan nilai respon tertinggi. Nilai observasi %EE berada pada rentang 96,9 – 92,5. Respon %EE dengan jenis *crosslinker* STTP, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna hijau untuk nilai %EE 94,5; warna biru kehijauan untuk nilai %EE 93,5 dan 93; dan warna biru untuk untuk nilai %EE 93. Respon %EE dengan jenis *crosslinker* $CaCl_2$, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna oren untuk nilai %EE 96; dan warna hijau muda untuk nilai %EE 95.

Lampiran 12. (Lanjutan)

Lanjutan respon %EE

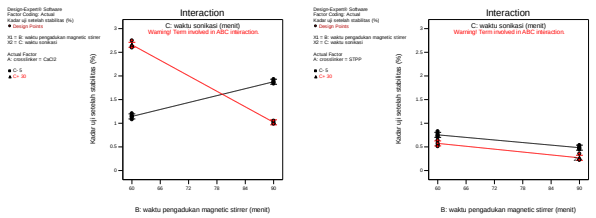
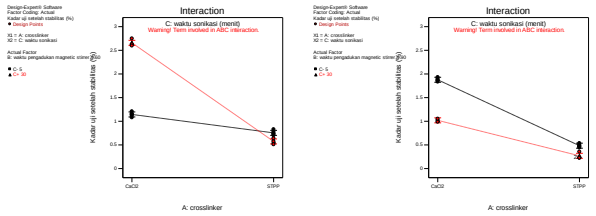
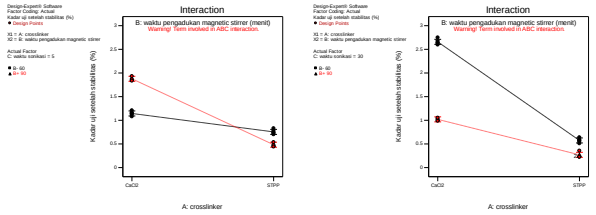
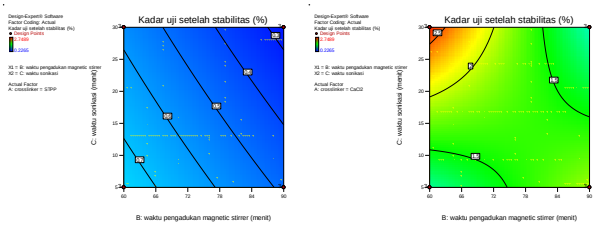




3D surface merupakan grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil contour plot dengan penambahan bentuk dan warna yang disajikan dalam model tiga dimensi. Warna kuning pada grafik menunjukkan area std error, sedangkan warna hitam std error ≥ 1,5. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon %EE. Warna biru yaitu nilai respon terendah, sedangkan merah yaitu nilai respon tertinggi.

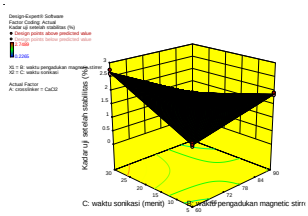
Lampiran 12. (Lanjutan)

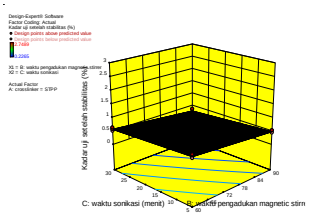
Respon penurunan kadar stabilitas termodinamika

Model grafik	Penjelasan
	Grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda. Grafik ini menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam level minimum dan level maksimum. Interaksi antara kedua faktor yaitu jenis crosslinker (A) dan waktu pengadukan (B) diketahui dapat meningkatkan nilai penurunan kadar stabilitas termodinamika. Interaksi jenis crosslinker (A) dan waktu sonikasi (C), dan waktu pengadukan (B) dan waktu sonikasi (C) diketahui dapat menurunkan nilai penurunan kadar stabilitas termodinamika.
	
	
	Grafik *contour plot* menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon kadar stabilitas termodinamika. Warna biru menunjukkan nilai respon terendah, sedangkan merah menunjukkan nilai respon tertinggi. Respon kadar stabilitas termodinamika dengan jenis *crosslinker* STTP, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna biru tua untuk nilai respon penurunan kadar stabilitas termodinamika 0,3; 0,4; dan 0,5; dan warna biru muda untuk nilai respon penurunan kadar stabilitas termodinamika 0,6 dan 0,7.

Lampiran 12. (Lanjutan)

Lanjutan respon kadar stabilitas termodinamika



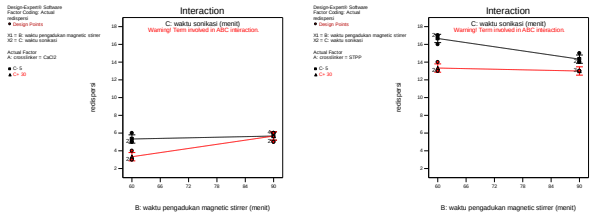
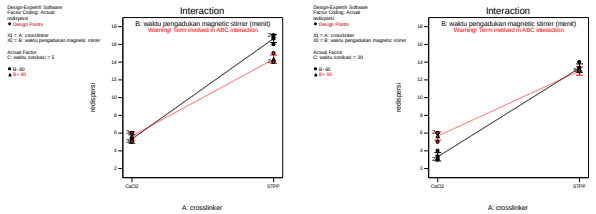
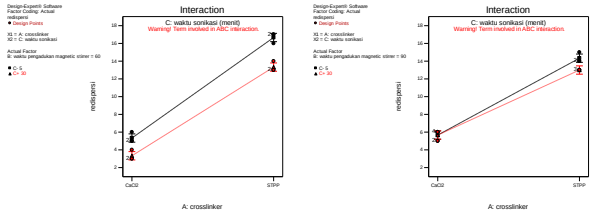
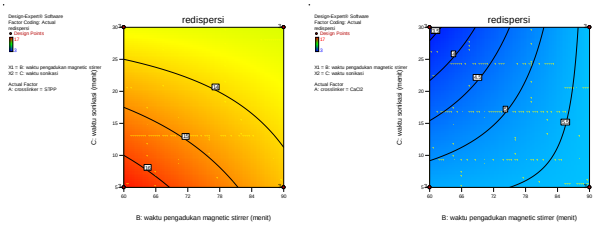


Respon kadar stabilitas termodinamika dengan jenis crosslinker CaCl2, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna hijau untuk nilai respon penurunan kadar stabilitas termodinamika 1,5; warna hijau kekuningan untuk nilai respon penurunan kadar stabilitas termodinamika 2; dan warna merah untuk nilai respon penurunan kadar stabilitas termodinamika 2,5.

3D surface merupakan grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil contour plot dengan penambahan bentuk dan warna yang disajikan dalam model tiga dimensi. Warna kuning pada grafik menunjukkan area std error, sedangkan warna hitam std error ≥ 1,5. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon penurunan kadar stabilitas termodinamika. Warna biru yaitu nilai respon terendah, sedangkan merah yaitu nilai respon tertinggi.

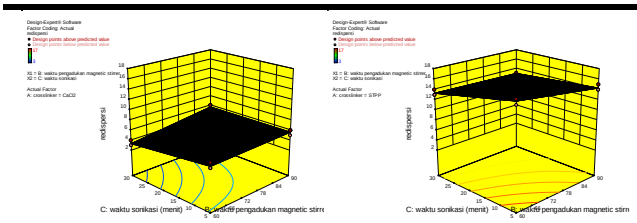
Lampiran 12. (Lanjutan)

Respon redispersi

Model grafik	Penjelasan
	Grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda. Grafik ini menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam level minimum dan level maksimum. Interaksi antara kedua faktor yaitu jenis crosslinker (A) dan waktu pengadukan (B), jenis crosslinker (A) dan waktu sonikasi (C), dan waktu pengadukan (B) dan waktu sonikasi (C) diketahui dapat meningkatkan nilai respon redispersi.
	
	
	Grafik *contour plot* menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon redispersi. Warna biru menunjukkan nilai respon terendah, sedangkan merah menunjukkan nilai respon tertinggi. Respon redispersi dengan jenis *crosslinker* $CaCl_2$, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna biru tua untuk nilai redispersi 3,5; 4; dan 4,5; dan warna biru muda untuk nilai redispersi 5, dan 5,5. Respon redispersi dengan jenis *crosslinker* STPP, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna merah untuk nilai redispersi 16; warna oren untuk nilai redispersi 15; dan warna kuning untuk nilai redispersi 14.

Lampiran 12. (Lanjutan)

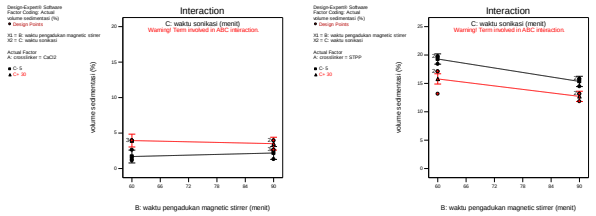
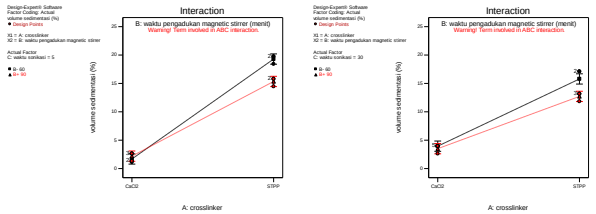
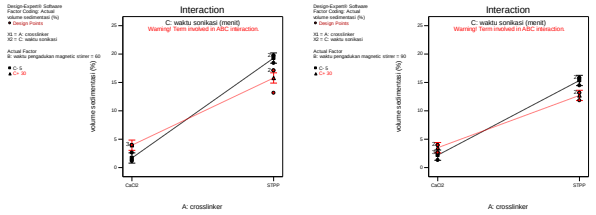
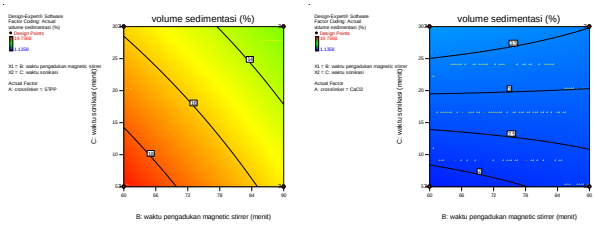
Lanjutan respon redispersi



3D surface merupakan grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil contour plot dengan penambahan bentuk dan warna yang disajikan dalam model tiga dimensi. Warna kuning pada grafik menunjukkan area std error, sedangkan warna hitam std error ≥ 1,5. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon redispersi. Warna biru yaitu nilai respon terendah, sedangkan merah yaitu nilai respon tertinggi.

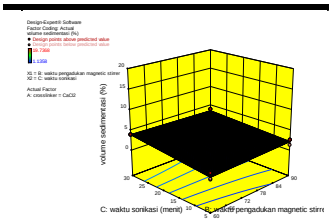
Lampiran 12. (Lanjutan)

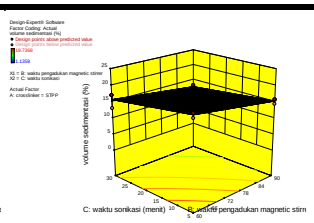
Respon volume sedimentasi

Model grafik	Penjelasan
	Grafik interaksi merupakan grafik yang menunjukkan adanya interaksi antar faktor dalam menghasilkan respon berbeda. Grafik ini menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam level minimum dan level maksimum.
	Interaksi antara kedua faktor yaitu jenis crosslinker (A) dan waktu pengadukan (B) dan waktu pengadukan (B) dan waktu sonikasi (C) dapat meningkatkan nilai respon volume sedimentasi. Interaksi jenis crosslinker (A) dan waktu sonikasi (C) diketahui dapat menurunkan nilai respon volume sedimentasi.
	
	Grafik *contour plot* menunjukkan nilai penyimpangan antara dua faktor dalam bentuk dua dimensi. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon redispersi. Warna biru menunjukkan nilai respon terendah, sedangkan merah menunjukkan nilai respon tertinggi. Respon volume sedimentasi dengan jenis *crosslinker* $CaCl_2$, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna biru muda untuk nilai volume sedimentasi 3,5; 3; dan 2,5; serta warna biru tua untuk nilai volume sedimentasu 2. Respon volume sedimentasi dengan jenis *crosslinker* STPP, dengan waktu pengadukan dan waktu sonikasi menunjukkan warna oren untuk nilai volume sedimentasi 18; warna kuning keorenan untuk nilai volume sedimentasi 16; serta warna hijau kekuningan untuk nilai volume sedimentasi 14.

Lampiran 12. (Lanjutan)

Lanjutan respon volume sedimentasi





3D surface merupakan grafik yang digunakan untuk memproyeksikan hasil contour plot dengan penambahan bentuk dan warna yang disajikan dalam model tiga dimensi. Warna kuning pada grafik menunjukkan area std error, sedangkan warna hitam std error ≥ 1,5. Warna pada grafik ini menunjukkan nilai respon volume sedimentasi. Warna biru yaitu nilai respon terendah, sedangkan merah yaitu nilai respon tertinggi.

Lampiran 13. Tabel Solusi dan Prediksi Desain Faktorial 2^3

No	Jenis *Crosslinker*	Waktu Pengadukan	Waktu Sonikasi	Organoleptis	%EE	pH	Stabilitas	Waktu Sedimentasi	Volume Sedimentasi	Redispersi	Desirability	
1	CaCl2	60.000	30.000	5.000	96.825	4.793	2.659	907.333	3.947	3.333	0.822	Selected
2	CaCl2	60.000	29.485	5.000	96.770	4.793	2.627	907.361	3.901	3.375	0.821	
3	CaCl2	60.652	30.000	5.000	96.762	4.793	2.623	907.268	3.938	3.384	0.820	
4	CaCl2	90.000	5.000	5.000	94.610	4.707	1.878	909.667	2.193	5.667	0.759	
5	STPP	90.000	6.429	4.000	94.772	4.841	0.471	662.181	15.200	14.257	0.002	
6	STPP	90.000	6.328	4.000	94.781	4.842	0.472	662.192	15.211	14.263	0.002	
7	STPP	90.000	6.420	4.000	94.773	4.841	0.472	662.182	15.201	14.258	0.002	
8	STPP	90.000	6.528	4.000	94.762	4.841	0.471	662.170	15.190	14.252	0.002	
9	STPP	90.000	6.655	4.000	94.750	4.841	0.470	662.157	15.177	14.245	0.002	
10	STPP	90.000	6.146	4.000	94.799	4.842	0.474	662.211	15.230	14.272	0.002	

Lampiran 13. (Lanjutan)

Factor	Nama	Level	Low Level	High Level	Std. Dev.	Coding
A	Jenis Cross Linker	$CaCl_2$	$CaCl_2$	STPP	N/A	Actual
B	Waktu Pengadukkan	60,00	60,00	90,00	0,000	Actual
C	Waktu Sonikasi	30,00	5,00	30,00	0,000	Actual

	Prediksi				*CI forMean*		99% of *population*	
Response	**Mean**	**Median**	**Observed**	**SD**	**SE Mean**	**95% CI low**	**95% CI high**	**95% TI low**	**95% TI high**
Organoleptis	5	5	-	1,9581E-0,15	0	5	5	5	5
%EE	96,8253	96,8253	-	0,044492	0,02257	96,771	96,880	96,618	97,033
pH	4,79333	4,79333	-	0,004083	0,00236	4,788	4,798	4,774	4,812
Stabilitas termodinamik	2,6586	2,6586	-	0,061220	0,03535	2,584	2,734	2,373	2,944
Waktu sedimentasi	907,333	907,333	-	0,978945	0,56519	906,135	908,531	902,772	911,895
Volume sedimentasi	3,9474	3,9474	-	1,0456	0,60368	2,668	5,227	-0,925	8,819
Redispersi	3,33333	3,33333	-	0,540062	0,31181	2,672	3,994	0,817	5,850

Lampiran 14. Hasil Ukuran, Distribusi, dan Zeta Potensial

LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 896444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor: 118/LPOMK/VI/2019
Number
Halaman 1 dari 2
Page

Dibuat untuk : Marcelin Anggraini Wistin
Certified to

Alamat : Palembang
Address

Jenis/Nama Sampel : Terlampir
Type/Name of sample

Asal Sampel : Pelanggan
Origin of sample

Jumlah Sampel : 2 (Dua) buah
Amount of sample

Kode Sampel : Terlampir
Sample code

Parameter: Nano Partikel dan Zeta Potensial
Parameters

Tanggal Pengambilan Sampel : -
Sample taken on

Tanggal Penerimaan Sampel : 13 Mei 2019
Sample received on

Tanggal Penguiian Sampel : 19 Mei 2019
Sample tested on

Lampiran 14. (Lanjutan)

LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor: 118/LPOMK/VI/2019
Number
Halaman 2 dari 2
Page

HASIL PENGUJIAN
TEST RESULT

No	Nama Sampel	Kode	Label	Parameter	Satuan	Hasil Uji*	Metode Uji
1	Suspensi nanopartikel Kitosan + STPP F1	015/C/PSA/V/19	L1	Nano partikel Zeta Potenisal	nm mV	1032,9 -4,0	*Dynamic light scattering* menggunakan alat PSA
2	Suspensi nanopartikel Feno Barbital	015/C/PSA/V/19	L2			1245,0 2,3	

Keterangan *

Yogyakarta, 19 Mei 2019
Manajer Teknis

Ari Wibowo, M.Sc., Apt
NIP. 086130404

Catatan : 1. Hasil pengujian ini hanya berlaku untuk sampel yang diuji
Notes *These test result are only valid for the tested samples*
2. Sertifikat ini tidak boleh diperbanyak/digandakan tanpa ijin dari Manajer Teknis Laboratorium
The certificate shall not be reproduced (copied) without the written permission of the laboratory Technical Manager

Lampiran 14. (Lanjutan)

HORIBA Scientific

HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

SZ-100

016.C.PSA.V.2019.nsz

Measurement Results

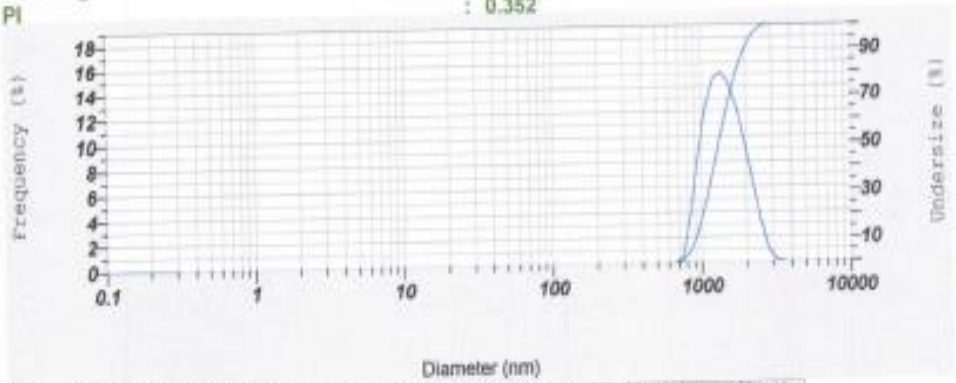
Date	: Sunday, May 19, 2019 11:57:57 AM
Measurement Type	: Particle Size
Sample Name	: Suspensi nanopartikel Feno barbital
Scattering Angle	: 90
Temperature of the Holder	: 25.0 °C
Dispersion Medium Viscosity	: 0.896 mPa·s
Transmission Intensity before Meas.	: 27092
Distribution Form	: Standard
Distribution Form(Dispersity)	: Monodisperse
Representation of Result	: Scattering Light Intensity
Count Rate	: 1828 kCPS

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	1388.7 nm	409.3 nm	1281.0 nm
2	—	— nm	— nm	— nm
3	—	— nm	— nm	— nm
Total	1.00	1388.7 nm	409.3 nm	1281.0 nm

Cumulant Operations

Z-Average	: 1245.0 nm
PI	: 0.352



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	23	4.40	0.000	0.000	43	57.09	0.000	0.000	64	740.89	0.287	0.287
2	0.38	0.000	0.000	23	4.97	0.000	0.000	44	64.50	0.000	0.000	65	837.07	3.479	3.666
3	0.43	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.87	0.000	0.000	66	945.14	8.432	12.098
4	0.49	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.33	0.000	0.000	67	1068.02	12.338	24.736
5	0.56	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	93.03	0.000	0.000	68	1207.24	14.580	39.314
6	0.63	0.000	0.000	27	8.10	0.000	0.000	48	105.10	0.000	0.000	69	1363.97	15.123	54.436
7	0.72	0.000	0.000	28	9.15	0.000	0.000	49	118.74	0.000	0.000	70	1541.04	14.145	68.584
8	0.82	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.16	0.000	0.000	71	1741.10	12.077	80.662
9	0.92	0.000	0.000	30	11.68	0.000	0.000	51	151.57	0.000	0.000	72	1967.14	9.380	90.042
10	1.03	0.000	0.000	31	13.20	0.000	0.000	52	171.28	0.000	0.000	73	2222.51	6.114	96.156
11	1.16	0.000	0.000	32	14.91	0.000	0.000	53	193.48	0.000	0.000	74	2511.56	3.063	99.219
12	1.30	0.000	0.000	33	16.84	0.000	0.000	54	218.60	0.000	0.000	75	2837.04	0.829	99.923
13	1.47	0.000	0.000	34	19.03	0.000	0.000	55	246.96	0.000	0.000	76	3206.35	0.077	100.000
14	1.66	0.000	0.000	35	21.50	0.000	0.000	56	279.04	0.000	0.000	77	3621.48	0.000	100.000
15	1.87	0.000	0.000	36	24.29	0.000	0.000	57	315.27	0.000	0.000	78	4091.93	0.000	100.000
16	2.11	0.000	0.000	37	27.45	0.000	0.000	58	356.30	0.000	0.000	79	4623.81	0.000	100.000
17	2.38	0.000	0.000	38	31.01	0.000	0.000	59	402.44	0.000	0.000	80	5225.98	0.000	100.000
18	2.70	0.000	0.000	39	35.03	0.000	0.000	60	454.99	0.000	0.000	81	5901.02	0.000	100.000
19	3.05	0.000	0.000	40	39.58	0.000	0.000	61	514.21	0.000	0.000	82	6667.12	0.000	100.000
20	3.45	0.000	0.000	41	44.72	0.000	0.000	62	580.41	0.000	0.000	83	7532.66	0.000	100.000
21	3.89	0.000	0.000	42	50.53	0.000	0.000	63	655.76	0.000	0.000	84	8512.56	0.000	100.000

Lampiran 14. (Lanjutan)

2019.05.20 13:31:52

HORIBA Scientific

HORIBA SZ-100 for Windows (Z Type) Ver2.00

SZ-100

Measurement Results

Zeta 016.C.PSA.V.2019.nzt

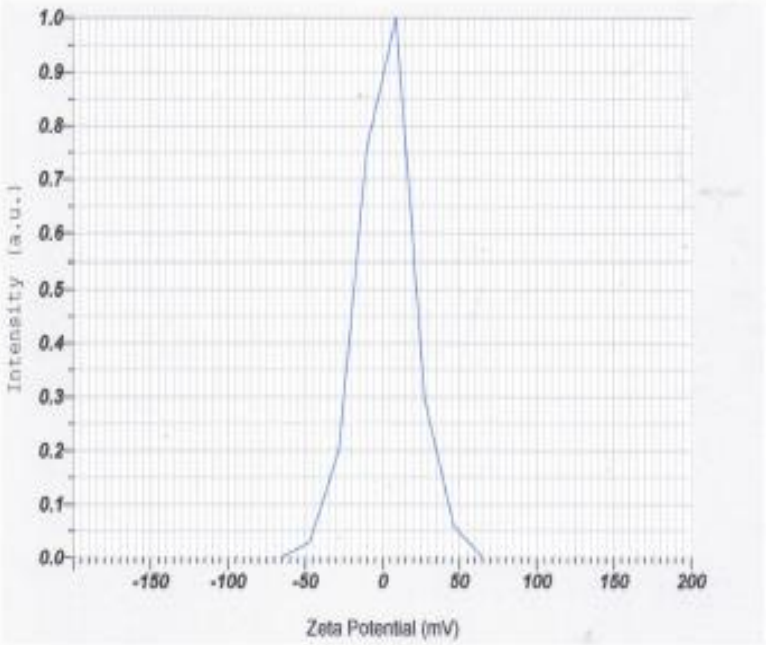
Measurement Results

Date	:	Saturday, May 18, 2019 9:41:56 AM
Measurement Type	:	Zeta Potential
Sample Name	:	Suspensi nanopartikel feno barbital
Temperature of the Holder	:	24.8 °C
Dispersion Medium Viscosity	:	0.899 mPa-s
Conductivity	:	10.624 mS/cm
Electrode Voltage	:	1.3 V

Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	2.3 mV	0.000017 cm2/Vs
2	— mV	— cm2/Vs
3	— mV	— cm2/Vs

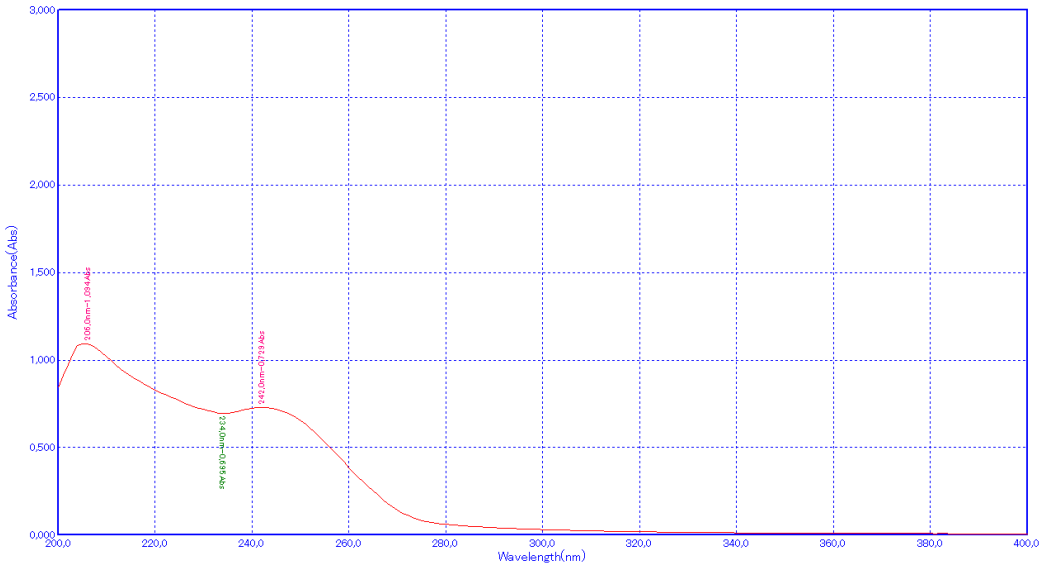
Zeta Potential (Mean)	:	2.3 mV
Electrophoretic Mobility Mean	:	0.000017 cm²/Vs



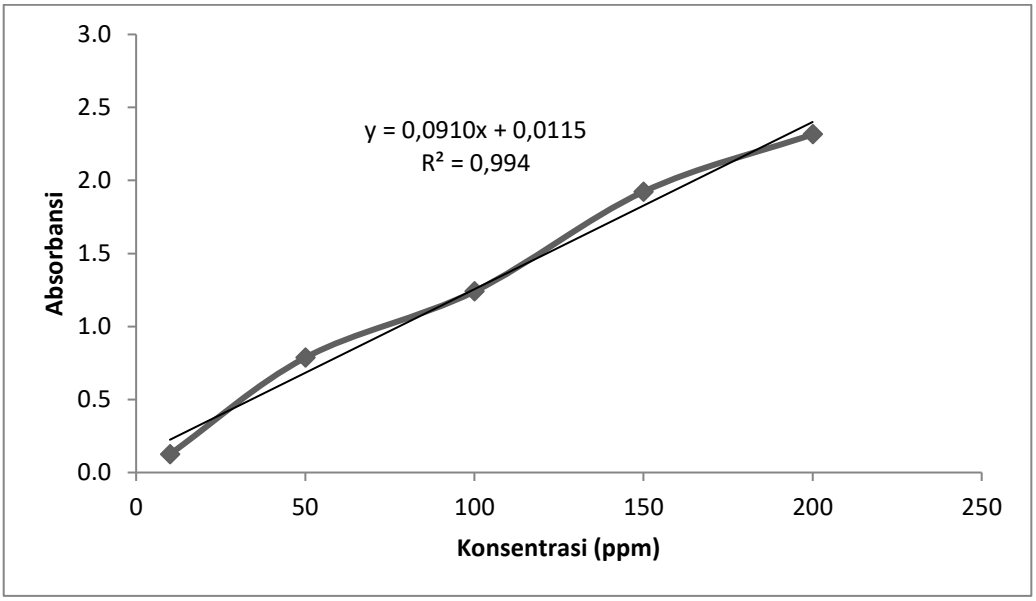
HORIBA

1/1

Lampiran 15. Kurva Kalibrasi Difusi Sediaan Intranasal Fenobarbital



Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
10	0,127	0,124	0,126	0,1257	0,001528	1,215537
50	0,787	0,785	0,787	0,7863	0,001155	0,146846
100	1,143	1,144	1,145	1,2397	0,164834	1,329666
150	1,927	1,924	1,917	1,9227	0,005132	0,266900
200	2,315	2,315	2,317	2,3157	0,001155	0,049865



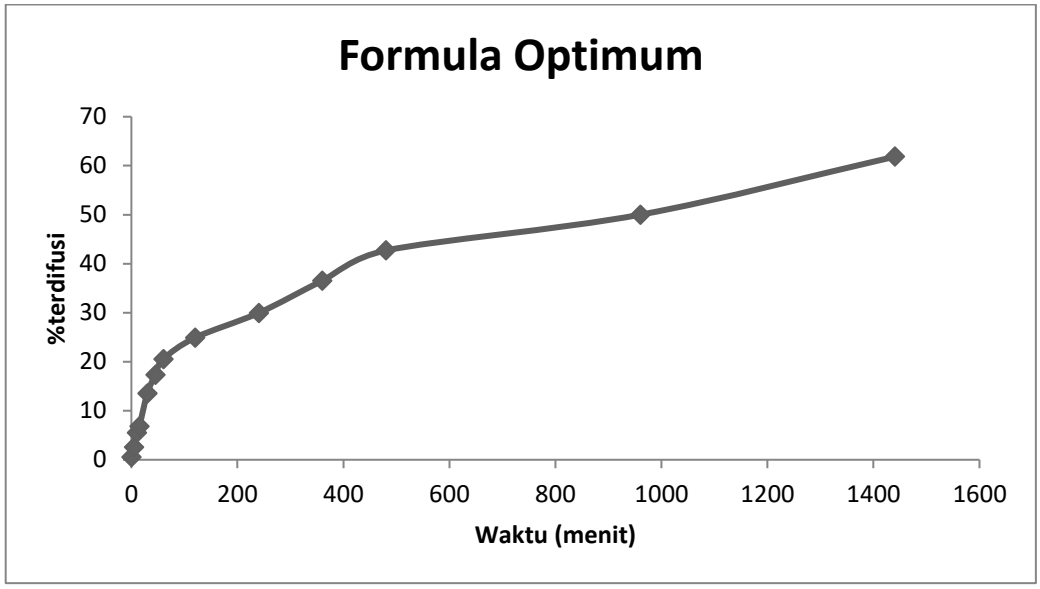
Lampiran 16. Analisis Laju Difusi dan WinSAAM™

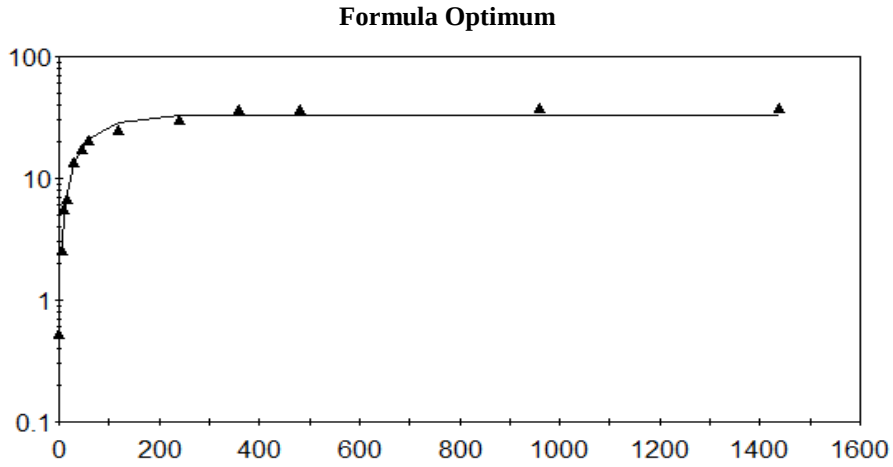
1. Formula optimum

Waktu (menit)	Kadar (ppm)			%terdifusi			Rata-rata %terdifusi
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	
0	3,4783	3,6522	3,5652	0,5217	0,5478	0,5348	0,5348
5	13,1304	13,3913	13,6522	2,4948	2,5443	2,5939	2,5443
10	25,7391	26,3478	26,6957	5,4157	5,5417	5,6183	5,5252
15	27,9130	27,3043	27,0435	6,8583	6,7774	6,7522	6,7959
30	56,8696	57,1304	57,3043	13,4765	13,5365	13,5835	13,5322
45	64,8696	65,0435	65,1304	17,2713	17,3252	17,3626	17,3197
60	68,0000	68,3478	68,0000	20,4609	20,5548	20,5130	20,5096
120	76,7826	76,8696	77,0435	24,8496	24,9078	24,9513	24,9029
240	87,1304	87,3043	87,3913	29,8870	29,9652	29,9991	29,9504
360	103,5652	103,6522	103,3043	36,4948	36,5635	36,5183	36,5255
480	114,2609	114,3478	114,0000	42,6696	42,7417	42,6826	42,6980
960	128,5217	128,5217	128,7826	49,9496	50,0087	50,0513	50,0032
1440	163,9130	163,7391	163,7391	61,8148	61,8409	61,8443	61,8333

Rata-rata %terdifusi	SD	%CV
0,5348	0,0130	2,4390
2,5443	0,0496	1,9481
5,5252	0,1023	1,8517
6,7959	0,0554	0,8155
13,5322	0,0536	0,3962
17,3197	0,0459	0,2650
20,5096	0,0471	0,2294
24,9029	0,0510	0,2050
29,9504	0,0575	0,1921
36,5255	0,0349	0,0956
42,6980	0,0385	0,0901
50,0032	0,0511	0,1022
61,8333	0,0162	0,0261

Lampiran 16. (Lanjutan)





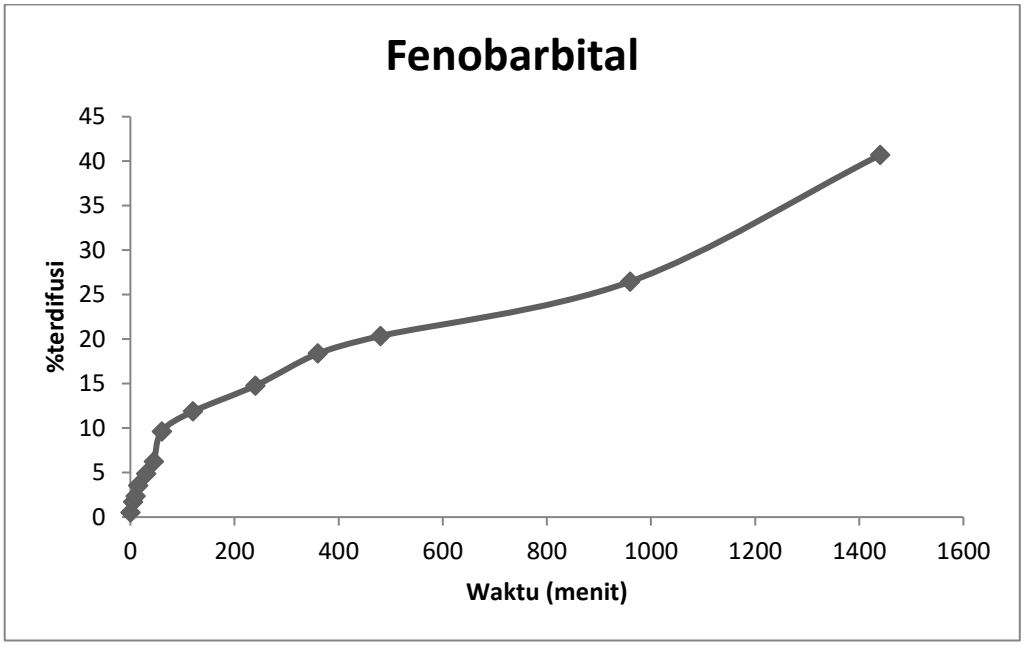
Lampiran 16. (Lanjutan)

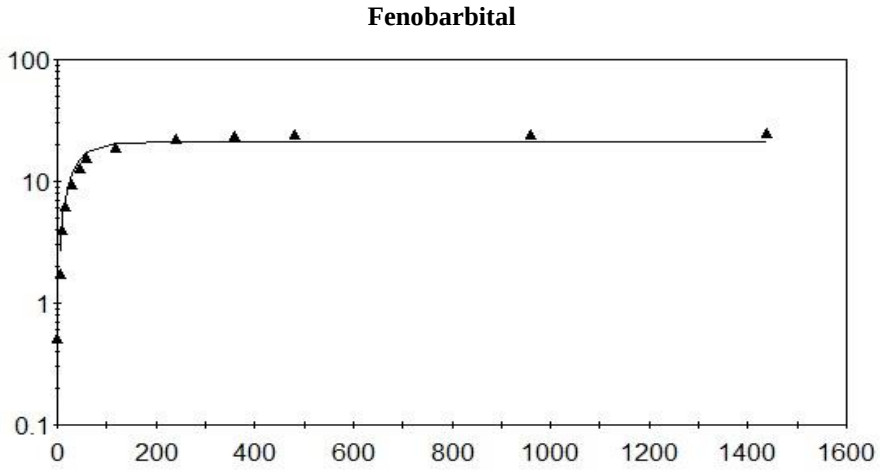
2. Fenobarbital

Waktu (menit)	Kadar (ppm)			%terdifusi			Rata-rata %terdifusi
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	
0	3,3913	3,4783	3,4783	0,5087	0,5217	0,5217	0,5174
5	9,2174	9,1304	8,7826	1,7513	1,7348	1,6687	1,7183
10	10,5217	10,6087	10,3478	2,3678	2,3809	2,3174	2,3554
15	14,6087	14,2609	14,5217	3,5652	3,4991	3,5243	3,5296
30	18,6087	18,3478	18,2609	4,9096	4,8461	4,8157	4,8571
45	21,7391	21,6522	21,9130	6,2487	6,2078	6,2400	6,2322
60	35,0435	34,7826	35,1304	9,6461	9,5687	9,6278	9,6142
120	39,5652	39,7391	39,1304	11,9070	11,9017	11,7930	11,8672
240	46,0000	46,6087	46,7826	14,7122	14,7965	14,8122	14,7736
360	49,7391	50,0870	67,1304	17,2626	17,3217	20,5496	18,3780
480	54,2609	54,1739	54,5217	20,1113	20,1017	20,8391	20,3507
960	75,1304	75,2174	74,8696	26,2470	26,2670	26,8861	26,4667
1440	134,0870	134,1739	134,2609	40,4539	40,4774	41,1652	40,6988

Rata-rata %terdifusi	SD	%CV
0,5174	0,0075	1,4555
1,7183	0,0437	2,5440
2,3554	0,0335	1,4233
3,5296	0,0334	0,9449
4,8571	0,0479	0,9865
6,2322	0,0215	0,3455
9,6142	0,0405	0,4208
11,8672	0,0643	0,5419
14,7736	0,0538	0,3641
18,3780	1,8809	1,0234
20,3507	0,4230	2,0785
26,4667	0,3634	1,3729
40,6988	0,4041	0,9928

Lampiran 16. (Lanjutan)





Lampiran 16. (Lanjutan)

Contoh perhitungan laju difusi:

Sampel: Formula optimum menit ke-5

1. Perhitungan kadar fenobarbital

x $= \frac{y-a}{b} \times$

$= \frac{0,242-0,0901}{0,0115} \times 50$

= 13,1304 ppm (kadar tidak terjerap)

2. Perhitungan kadar terdifusi

Kadar terdifusi = kadar × volume media

= 13,1304 ×15 mL

= 196,9565 ppm

3. Perhitungan faktor koreksi

Faktor koreksi $= \left(\frac{volume\ sampling}{volume\ media} \times kadar\ terdifusi\right)$+ faktor sebelumnya

$= \left(\frac{4\ mL}{15\ mL} \times\ 196,9695\ \text{ppm}\right) + 0$

= 52,5217

4. Perhitungan total kadar terdifusi

Total kadar terdifusi = kadar terdifusi + faktor koreksi

= 196,9565 + 52,5217

= 249,4783 ppm

5. Perhitungan %terdifusi

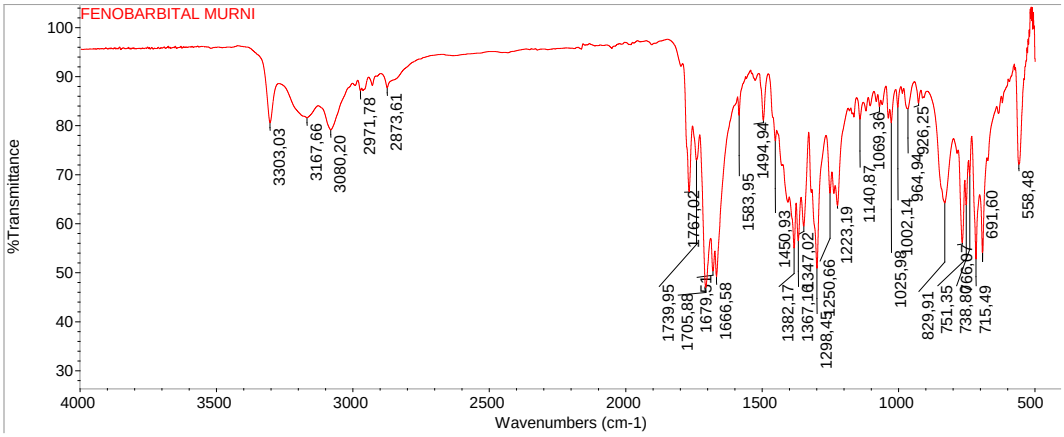
%terdifusi $= \frac{total\ kadar\ terdifusi}{kadar\ sebenarnya} \times 100\%$

$= \frac{249,4783\ \text{ppm}}{10000\ ppm} \times 100\%$

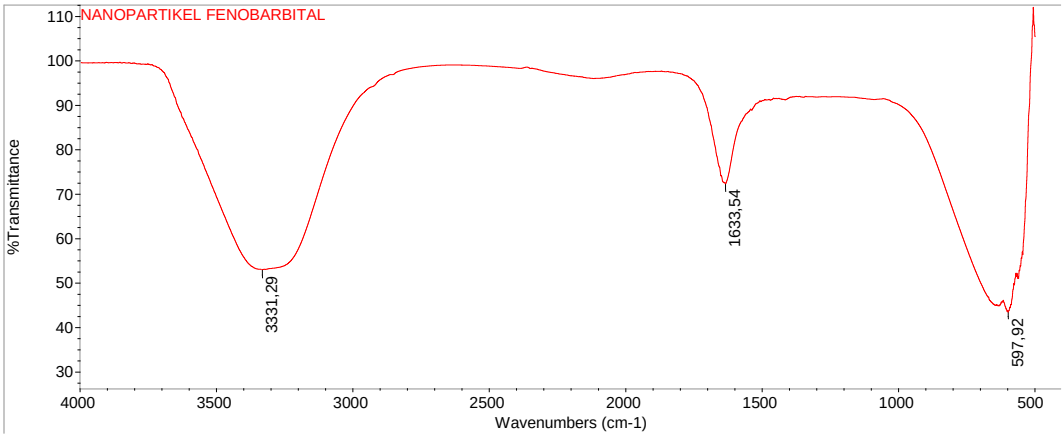
= 2,4948%

Lampiran 17. Analisis FTIR

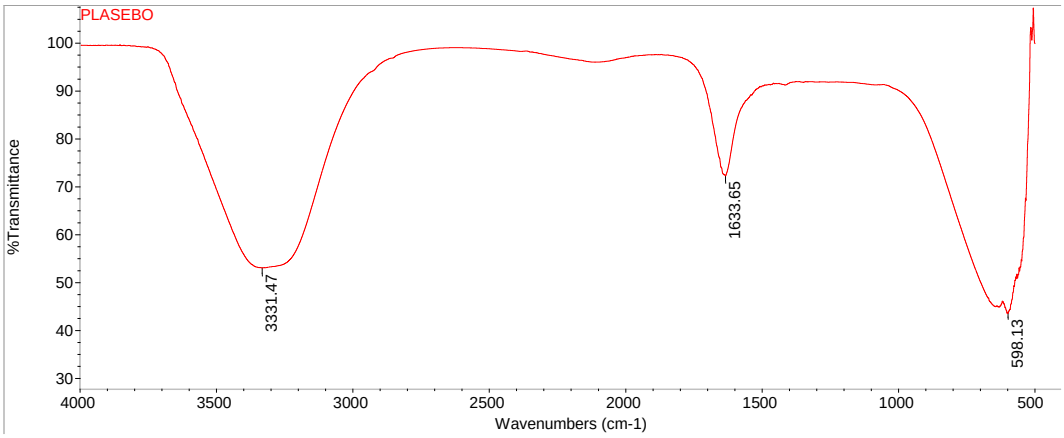
1. Fenobarbital



2. Formula optimum



3. Plasebo

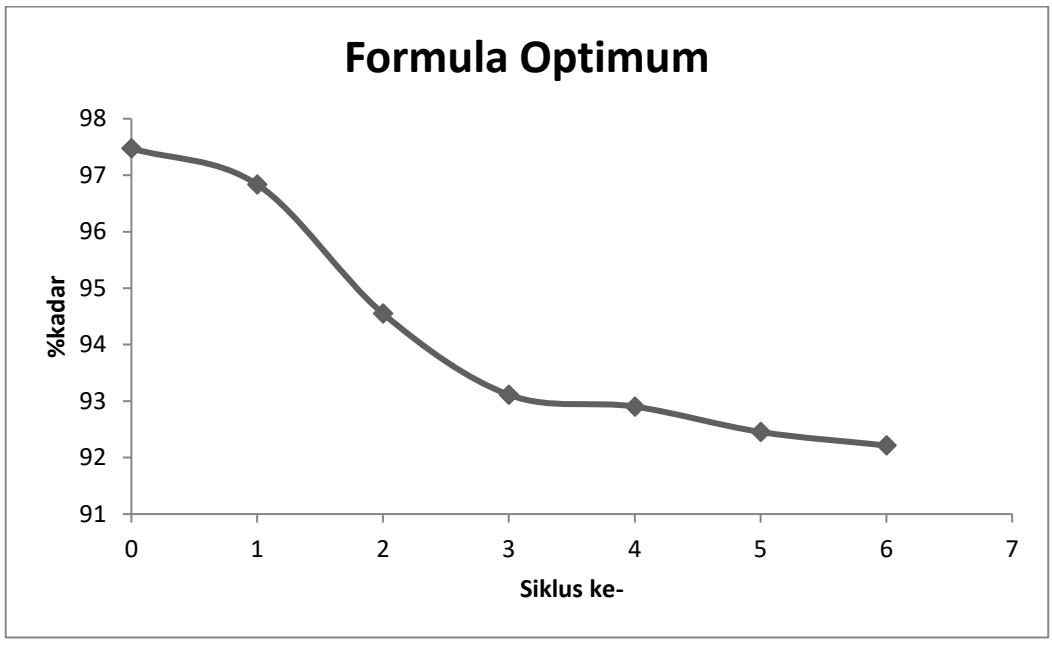


Lampiran 18. Analisis Uji Stabilitas Formula Optimum, Fenobarbital, dan Sediaan di Pasaran

1. Formula Optimum

Siklus	Kadar (ppm)			%EE			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**			
0	16,7066	16,9062	16,9062	97,4940	97,4641	97,4641	97,4741	0,01729	0,0177
1	20,8982	21,0978	21,2974	96,8653	96,8353	96,8054	96,8353	0,02994	0,0309
2	36,2675	36,2675	36,4671	94,5599	94,5599	94,5299	94,5499	0,01729	0,0183
3	46,0479	45,8483	45,8483	93,0928	93,1228	93,1228	93,1128	0,01729	0,0186
4	47,4451	47,2455	47,2455	92,8832	92,9132	92,9132	92,9032	0,01729	0,0186
5	50,4391	50,2395	50,2395	92,4341	92,4641	92,4641	92,4541	0,01729	0,0187
6	52,0359	51,8363	51,8363	92,1946	92,2246	92,2246	92,2146	0,01729	0,0187

Siklus	Kadar (ppm)		Penurunan kadar (mg)
	Rata-rata %EE ± SD	**%CV**	
0	97,5827± 0,01729	0,0177	
1	96,1223± 0,02994	0,0309	0,6553
2	94,7897± 0,01729	0,0183	2,3601
3	93,6183± 0,01729	0,0186	1,5200
4	92,2285± 0,01729	0,0186	0,2251
5	92,5565± 0,01729	0,0187	0,4834
6	92,9516± 0,01729	0,0187	0,2591

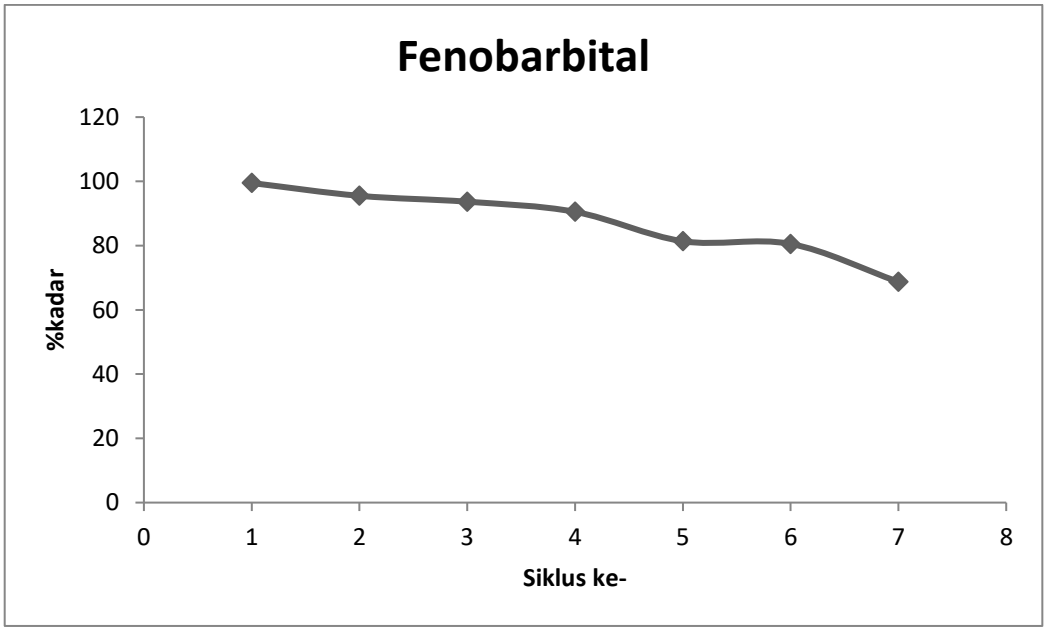


Lampiran 18. (Lanjutan)

2. Fenobarbital

Siklus	Kadar (ppm)			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
0	99,1517	99,6507	99,6507	99,4844	0,2881	0,2895922
1	95,6587	95,1597	95,6587	95,4923	0,2881	0,3016985
2	93,1637	93,6627	94,1617	93,6627	0,4990	0,5327651
3	90,6687	90,1697	90,6686	90,5023	0,2881	0,3183332
4	81,1876	81,1876	81,6866	81,3540	0,2881	0,3541302
5	80,6886	80,1896	80,6886	80,5223	0,2881	0,3577878
6	69,2116	68,7126	68,2136	68,7126	0,4990	0,7262164

Siklus	Kadar (ppm)		Penurunan kadar (mg)
	Rata-rata %EE ± SD	**%CV**	
0	99,4844± 0,2881	0,2895922	
1	95,4923± 0,2881	0,3016985	4,012707
2	93,6627± 0,4990	0,5327651	1,916043
3	90,5023± 0,2881	0,3183332	3,374179
4	81,3540± 0,2881	0,3541302	10,108436
5	80,5223± 0,2881	0,3577878	1,022286
6	68,7126± 0,4990	0,7262164	14,666391

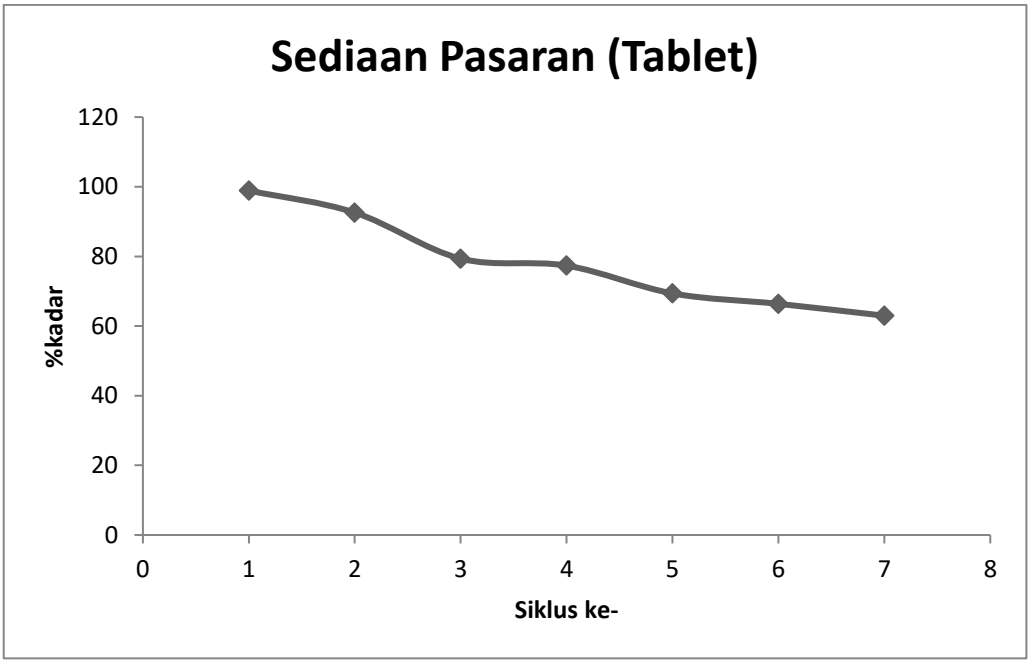


Lampiran 18. (Lanjutan)

3. Sediaan di pasaran (tablet)

Siklus	Kadar (ppm)			Rata-rata	SD	CV (%)
	R1	**R2**	**R3**			
0	98,7275	98,9770	98,9770	98,8939	0,1440	0,1457
1	92,7395	92,4900	92,4900	92,5732	0,1440	0,1556
2	79,2665	79,6647	79,5160	79,3496	0,1440	0,1815
3	77,2705	77,5200	77,2705	77,3536	0,1440	0,1862
4	69,2864	69,2864	69,5359	69,3696	0,1440	0,2077
5	66,2924	66,5419	66,2924	66,3756	0,1440	0,2170
6	62,7994	63,0489	63,0489	62,9657	0,1440	0,2288

Siklus	Kadar (ppm)		Penurunan kadar (mg)
	Rata-rata %EE ± SD	**%CV**	
0	98,8939± 0,1440	0,1457	
1	92,5732± 0,1440	0,1556	6,3914
2	79,3496± 0,1440	0,1815	14,2844
3	77,3536± 0,1440	0,1862	2,5155
4	69,3696± 0,1440	0,2077	10,3215
5	66,3756± 0,1440	0,2170	4,3160
6	62,9657± 0,1440	0,2288	5,1372



Lampiran 19. Analisis *Pump Delivery* Formula Optimum

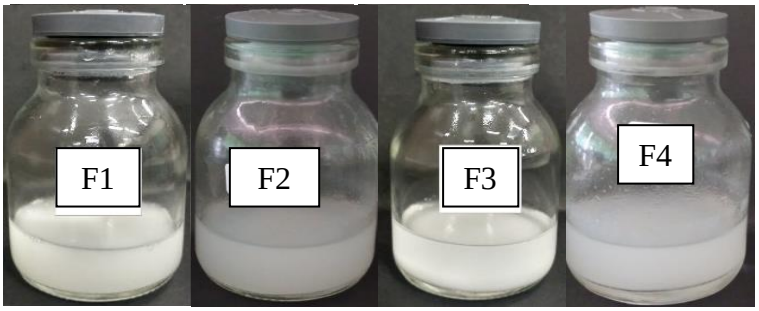
No.	Bobot (mg)	Syarat 6%		Syarat 10%		SD	%CV
		Batas atas	Batas bawah	Batas atas	Batas bawah		
1	131,967	-	-	145,163	118,770	0,002804	0,010904
2	139,167	147,517	130,817	153,083	125,250	0,004614	0,018036
3	132,700	140,662	124,738	145,970	119,430	0,002381	0,009358
4	136,833	145,043	128,623	150,517	123,150	0,000964	0,003810
5	131,433	139,319	123,547	144,577	118,290	0,002065	0,008201
6	137,167	145,397	128,937	150,883	123,450	0,001595	0,006368
7	134,467	142,535	126,399	147,913	121,020	0,001193	0,004790
8	137,200	145,432	128,968	150,920	123,480	0,000608	0,002455
9	138,100	146,280	129,720	151,800	124,200	0,001819	0,007385
10	131,100	138,966	123,234	144,210	117,990	0,001249	0,005098

Lampiran 20. Analisis Keseragaman Bobot Semprot Formula Optimum

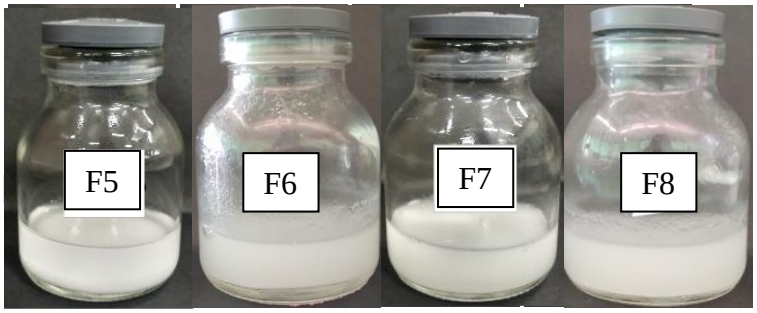
No.	Rata-rata Bobot (mg)	Syarat 6%		Syarat 10%		SD	%CV
		Batas atas	Batas bawah	Batas atas	Batas bawah		
6	137,167	-	-	150,883	123,450	0,002804	0,010568
7	134,233	142,287	126,179	147,657	120,810	0,000985	0,003731
8	138,433	146,739	130,127	152,277	124,590	0,001266	0,004821
82	239,700	254,082	225,318	263,670	215,730	0,002779	0,010637
164	249,633	264,611	234,655	274,597	224,670	0,001656	0,006398
165	128,567	136,281	120,853	141,423	115,710	0,001400	0,005461
166	134,600	142,676	126,524	148,060	121,140	0,001002	0,003927

Lampiran 21. Dokumentasi Analisis Sediaan Intranasal Fenobarbital

1. Uji Organoleptis



Formula 1 Formula 2 Formula 3 Formula 4

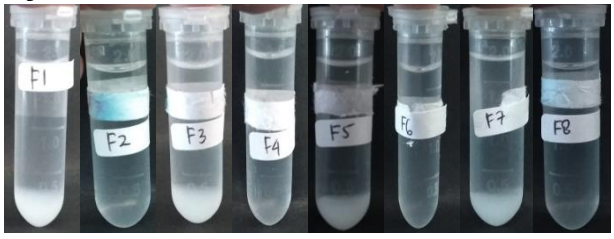


Formula 5 Formula 6 Formula 7 Formula 8

2. Uji pH

F1 F2 F3 F4 F5 F6 F7 F8

3. Uji waktu dan volume sedimentasi



F1 F2 F3 F4 F5 F6 F7 F8

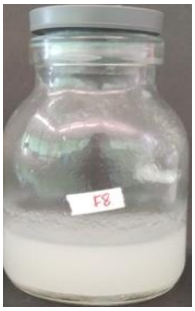
Lampiran 21. (Lanjutan)

4. Uji stabilitas

F1 F2 F3 F4 F5 F6 F7 F8

Lampiran 22. Dokumentasi Analisis Formula Optimum Sediaan Intranasal Fenobarbital

1. Uji organoleptis



Tidak ada endapan

2. Uji pH

Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3

3. Uji viskositas

Penimbangan pikno kosong

Penimbangan pikno + akuades

Penimbangan pikno + sediaan replikasi 1

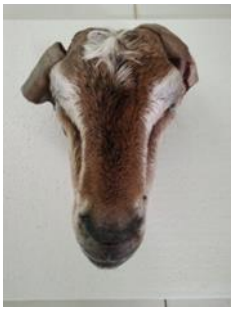
Lampiran 22. (Lanjutan)

Penimbangan pikno + sediaan replikasi 2

Penimbangan pikno + sediaan replikasi 3

4. Uji waktu dan volume sedimentasi

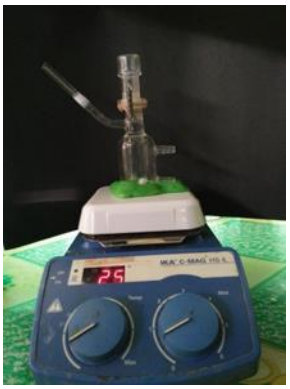
5. Uji difusi



Kepala kambing segar

Proses pengambilan mukosa hidung

Mukosa kambing yang direndam dalam NaCl fisiologis



Proses difusi menggunakan Franz *diffusion cell* dan *magnetic stirer*

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Novita Dwilistiana

NIM : 08061181520083

Tempat/Tanggal Lahir : Tangerang/03 November 1997

Universitas/Fakultas/Jurusan :Sriwijaya/Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Bidang Ilmu Skripsi : Teknologi Farmasi

Alamat Rumah : Jln. Pasar Inpres No. 508 Lk.1 Rt. 003 Rw. 001 Kelurahan Balai Agung, Kecamatan Sekayu, Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan

No. HP : 081271673657

Email : ndwilistiana03@gmail.com

Riwayat Pendidikan :

SD Negeri 8 Sekayu	2003 s.d. 2009
SMP Negeri 6 Sekayu	2009 s.d. 2012
SMA Negeri 2 Sekayu	2012 s.d. 2015
Universitas Sriwijaya	2015 s.d. 2019

Pengalaman Organisasi :

- Anggota PMR SMA Negeri 2 Sekayu (2013 s.d. 2014)
- Anggota Staf Ahli Pendidikan dan Profesi HKMF (2017 s.d. 2018)

Judul Skripsi : Optimasi Formula Intranasal Nanopartikel Kitosan Pembawa Fenobarbital dengan Variasi Jenis *Crosslinker*, Waktu Sonikasi, dan Waktu Pengadukan