

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI SURFAKTAN NON IONIK  
TERHADAP KARAKTERISTIK NIOSOM PTEROSTILBEN**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



**Oleh:**

**Kartika Zulfa**

**NIM 155070501111030**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2019**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI SURFAKTAN NON IONIK  
TERHADAP KARAKTERISTIK NIOSOM PTEROSTILBEN**

Oleh :

**Kartika Zulfa**

**155070501111030**

Telah diuji pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 09 Juli 2019

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 2011068502181001

Pembimbing I

Pembimbing II

Ferri Widodo, S.si., M.Biomed., Apt.

NIP. 2009127503151001

Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP. 2011068510252001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi

Alvan Febrian Shalas., M.Farm., Apt

NIP. 2011068502181001

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kartika Zulfa

NIM : 155070501111030

Program Studi: Program Studi Sarjana Farmasi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 09 Juli 2019

Yang membuat pernyataan,

(Kartika Zulfa)  
NIM. 155070501111030

## ABSTRAK

Zulfa, Kartika. 2019. *Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Surfaktan Non Ionik terhadap Karakteristik Niosom Pterostilben*. Tugas Akhir; Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Ferri Widodo, S.Si., M.Biomed., Apt. (2) Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Radiasi sinar UV yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan kulit hingga melanoma, khususnya sinar UVB. Efek kronis dari paparan sinar UVB yang berlebih dapat menginduksi mutasi gen, karena langsung menyebabkan kerusakan pada DNA seluler dengan memproduksi ROS di epidermis, dermis dan sel epitelium kulit. Penggunaan tabir surya sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya hal tersebut. Tabir surya yang mengandung antioksidan sangat direkomendasikan untuk menangkal radikal bebas dari sinar UVB. Pterostilben merupakan salah satu senyawa fenolik, yang memiliki aktivitas farmakologi antioksidan dan UV filter menjadi salah satu senyawa yang direkomendasikan untuk komponen tabir surya. Untuk meningkatkan efek farmakologi pterostilben pada penggunaan topikal, pterostilben perlu diformulasikan sistem penghantaran. Niosom merupakan vesikel surfaktan non ionik menjadi salah satu sistem pembawa amfifilik yang dapat membawa bahan aktif bersifat hidrofobik seperti pterostilben, diharapkan mampu meningkatkan efek farmakologi dengan meningkatkan penetrasi pterostilben ke kulit. Pembuatan niosom pterostilben menggunakan surfaktan non ionik (span 80 dan span 60) dengan metode hidrasi lapis tipis. Tujuan dari pengembangan formulasi niosom pterostilben adalah untuk melihat pengaruh variasi surfaktan (span 80 dan span 60) dan konsentrasi, yaitu 2, 4, dan 6 g terhadap ukuran partikel yang dihasilkan dan menentukan formulasi optimum. Hasil uji karakteristik ukuran partikel niosom pterostilben dianalisis statistik menggunakan *One-Way ANOVA* dengan  $p < 0,05$ . Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran niosom pterostilben semakin kecil dengan peningkatan konsentrasi span 60. Berdasarkan hasil tersebut, didapatkan formulasi optimum niosom pterostilben yaitu pada penggunaan span 60 dengan konsentrasi 6 g.

**Kata kunci:** Evaluasi, span 60, span 80, ukuran partikel

## ABSTRACT

Zulfa, Kartika. 2019. *Effect of Surfactant Non Ionic Concentrations on Pterostilbene Niosome Characteristics*. Final Assignment; Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Ferri Widodo, S.Si., M.Biomed., Apt. (2) Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Excessive radiation from UV light can cause skin damage to melanoma, especially UVB rays. Chronic effects of exposure to excessive UVB rays can induce gene mutations, because it directly causes damage to cellular DNA by producing ROS in the epidermis, dermis and skin epithelium cells. The use of sunscreen is very necessary to prevent this from happening. Sunscreen containing antioxidants is highly recommended to counteract free radicals from UVB rays. Pterostilben is one of the phenolic compounds, which has the pharmacological activity of antioxidants and UV filters to be one of the recommended compounds for sunscreen components. To improve the pharmacological effects of pterostilben on topical use, pterostilben needs to be formulated a delivery system. Niosomes are non ionic surfactant vesicles which are one of the amphiphilic carrier systems which can carry hydrophobic active ingredients such as pterostilben, which are expected to increase the pharmacological effect by increasing the penetration of pterostilben into the skin. Pterostilbene niosome using non ionic surfactants (span 80 and span 60) by thin layer hydration method. The aim of the research was to examine the effect of surfactant variations (span 80 and span 60) and concentrations of surfactant 2, 4, and 6 g toward the characterization of niosome pterostilben and determine the optimum formulation by particle size. The results of the study showed that the particle size was smaller with an increase in span concentration. Based on these results, the optimum formulation of pterostilben niosomes is obtained using span 60 with a concentration of 6 g.

**Keywords:** evaluation, span 60, span 80, particle size

## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Surfaktan Non Ionik Terhadap Karakteristik Niosom Pterostilben”.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

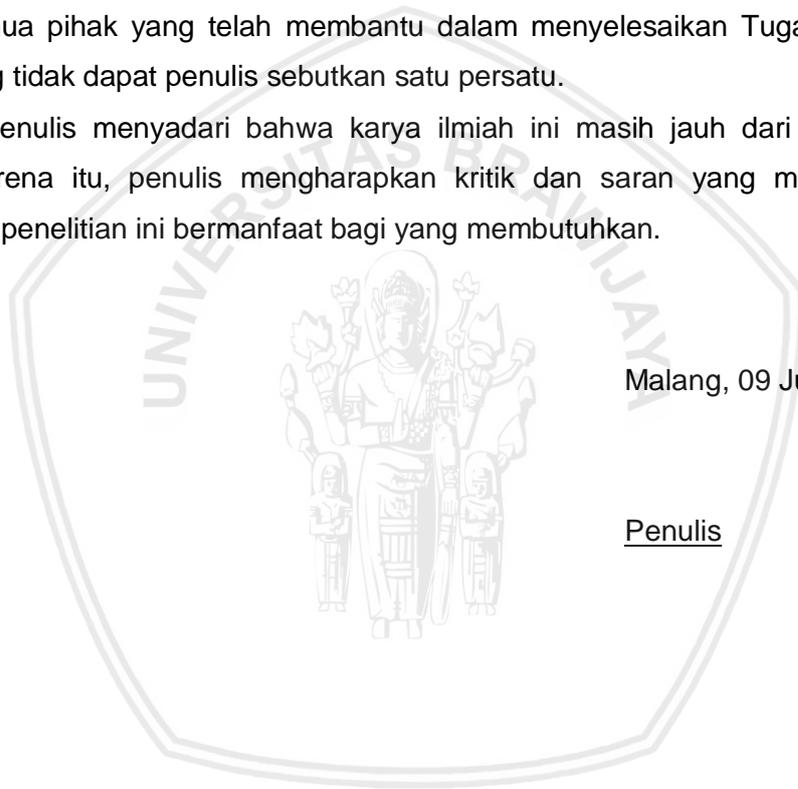
1. Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan penguji yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir ini.
2. Ferri Widodo, S.Si., M.Biomed., Apt., selaku pembimbing pertama yang dengan sabar telah memberikan arahan, bimbingan, saran-saran yang membangun, dan senantiasa memberikan semangat selama proses penyusunan Tugas Akhir ini.
3. Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku pembimbing kedua yang dengan sabar telah memberikan arahan, bimbingan, saran-saran yang membangun, dan senantiasa memberikan semangat selama proses penyusunan Tugas Akhir ini serta telah memberikan bantuan bahan dan bantuan lain dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
4. Uswatun Khasanah, S.Farm., Apt., M.Farm., yang telah memberikan bantuan bahan dan bantuan lain dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
5. Hananditia Rachma Pramestutie, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt., selaku Koordinator Tugas Akhir Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
7. Analis dan Petugas Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
8. Keluarga tercinta, khususnya Ibu Sri Safitri dan Kakak Rizla yang selalu memberikan semangat, doa, dan dukungan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

9. Teman-teman penelitian tersayang, Fadhyla dan Haifa yang telah saling membantu, mengingatkan, memberikan semangat, dukungan dan doa satu sama lain, berbagi suka, duka, dan cerita dalam menyelesaikan Tugas Akhir.
10. Teman-teman ISTRI BAEGOPA, Dhyla, Tante, Alma, Savvy, Ocha, Omi, Laras, dan Rere yang telah menemani masa perkuliahan, memberikan semangat, doa, dan dukungan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
11. Teman-teman Farmasi Phyrethrin dan FKUB Angkatan 2015 yang telah berbagi ilmu dan pengalaman.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 09 Juli 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat akademis .....	5
1.4.2 Manfaat Praktis .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Kulit dan Sinar UV .....	6
2.1.1 Kulit.....	6
2.1.2 Sinar UV.....	6
2.1.3 Respon Kulit Terhadap Sinar UV.....	7
2.2 Pterostilbene .....	8
2.2.1 Karakteristik Pterostilben .....	8
2.2.2 Aktivitas farmakologi pterostilben .....	9
2.3 Niosom.....	10
2.5.3 Struktur Niosom.....	12



2.3.2	Mekanisme Niosom sebagai sistem penghantaran obat topikal....	13
2.4	Komponen Pembentuk Niosom .....	14
2.5.3	Surfaktan Non ionik .....	14
2.4.2	Kolesterol .....	17
2.4.3	Soya Lecithin .....	17
2.5	Monografi Eksipien .....	18
2.5.3	Span 60 (Rowe, dkk., 2009, Halaman 675) .....	18
2.5.2	Span 80 (Rowe, <i>et al.</i> , 2009, Halaman 675) .....	19
2.5.3	Kolesterol (Rowe, dkk., 2009, Halaman 178).....	20
2.5.4	Soya Lecithin (NCBI, 2018c) .....	21
2.5.5	Kloroform (NCBI, 2018a) .....	22
2.4	Metode Pembuatan Niosom .....	23
2.5.4	Metode Injeksi Eter.....	23
2.6.2	Teknik hidrasi lapis tipis.....	23
2.6.3	Metode Sonikasi.....	23
2.6.4	Metode Micro fluidization .....	23
2.6.5	Metode ekstrasi membran ganda .....	24
2.6.6	Trans membran pH gradient.....	24
2.5	Karakterisasi niosom .....	25
2.5.4	Ukuran dan Indeks Polidispersitas.....	25
2.7.2	Potensial zeta.....	26
2.7.3	Difusi In Vitro .....	26
<b>BAB 3</b>	<b>KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
3.1	Penjabaran Kerangka Konsep .....	28
3.2	Hipotesis Penelitian .....	30
<b>BAB 4</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>31</b>
4.1	Design Penelitian.....	31
4.2	Variabel Penelitian.....	31
4.2.1	Variabel Terikat .....	31
4.2.2	Variabel Bebas .....	31
4.3	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	31
4.4	Alat dan Bahan .....	32
4.4.1	Alat.....	32



4.4.2	Bahan.....	31
4.5	Definisi Operasional .....	32
4.6	Prosedur Penelitian .....	33
4.6.1	Pembuatan Larutan Buffer Fosfat (pH 7,4) .....	33
4.6.2	Pengembangan Formulasi Niosom Pterostilben .....	33
4.6.3	Karakterisasi Niosom Pterostilben .....	34
4.7	Skema kerja .....	35
4.7.1	Pembuatan Larutan Buffer Fosfat (pH 7,4) .....	35
4.7.2	Pengembangan Formulasi Niosom Pterostilben .....	35
4.7.3	Karakterisasi Niosom Pterostilben .....	36
4.8	Rancangan Formula .....	36
4.9	Karakterisasi Niosom Pterostilben .....	37
4.9.1	Organoleptis .....	37
4.9.2	Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas .....	37
4.9.3	Potensial Zeta .....	38
4.10	Uji Difusi .....	38
4.11	Analisis Data .....	39
4.11.1	Analisis deskriptif .....	39
4.11.2	Analisis Statistika .....	39
<b>BAB 5</b>	<b>HASIL DAN ANALISI DATA .....</b>	<b>41</b>
5.1	Niosom Pterostilben .....	41
5.2	Hasil Evaluasi Niosom Pterostilben .....	42
5.2.1	Organoleptis .....	42
5.2.2	pH Niosom Pterostilben .....	42
5.2.3	Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas .....	43
5.2.4	Potensial Zeta .....	44
5.3	Uji Difusi <i>In Vitro</i> .....	45
5.3.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Pterostilben .....	45
5.3.2	Pembuatan Kurva Baku .....	45
5.3.3	Franz Difussion Cell Type .....	46
5.4	Analisis Data .....	46
5.4.1	One-Way ANOVA .....	46
<b>BAB 6</b>	<b>PEMBAHASAN .....</b>	<b>50</b>

6.1	Pembahasan Hasil Penelitian .....	50
6.2	Keterbatasan Penelitian .....	59
<b>BAB 7 PENUTUP.....</b>		<b>60</b>
7.1	Kesimpulan.....	60
7.2	Saran.....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>61</b>
<b>Lampiran .....</b>		<b>66</b>



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rancangan formulasi niosom pterostilben ..... 34

Tabel 5.1 Hasil evaluasi organoleptis niosom pterostilben ..... 40

Tabel 5.2 Hasil Pengukuran pH Niosom Pterostilben ..... 40

Tabel 5.3 Hasil Ukuran Partikel Niosom Pterostilben ..... 41

Tabel 5.4 Hasil Indeks Polidispersitas Niosom Pterostilben ..... 42

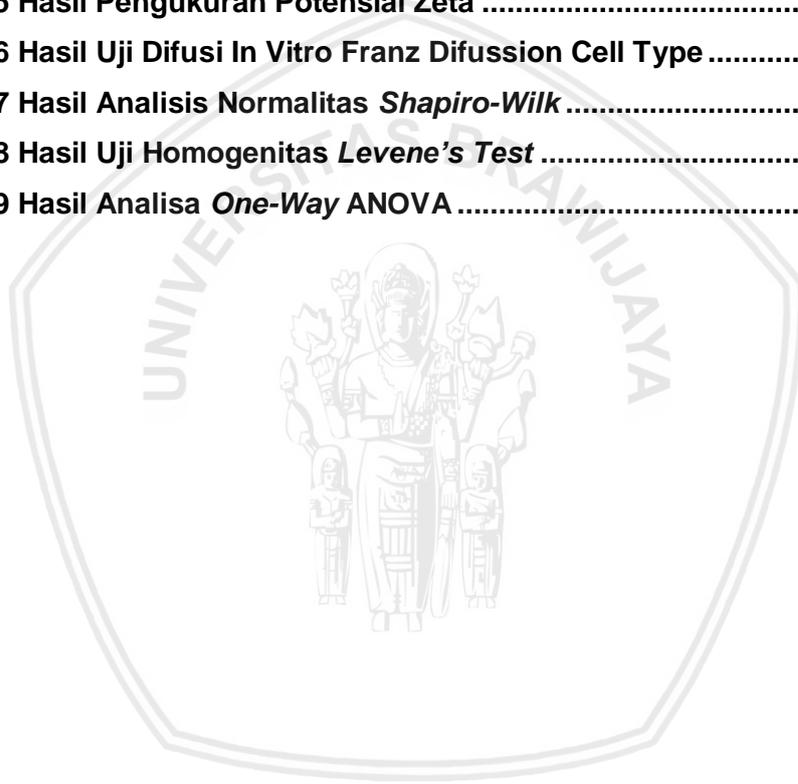
Tabel 5.5 Hasil Pengukuran Potensial Zeta ..... 42

Tabel 5.6 Hasil Uji Difusi In Vitro Franz Difussion Cell Type ..... 44

Tabel 5.7 Hasil Analisis Normalitas *Shapiro-Wilk* ..... 45

Tabel 5.8 Hasil Uji Homogenitas *Levene's Test* ..... 46

Tabel 5.9 Hasil Analisa *One-Way ANOVA* ..... 46

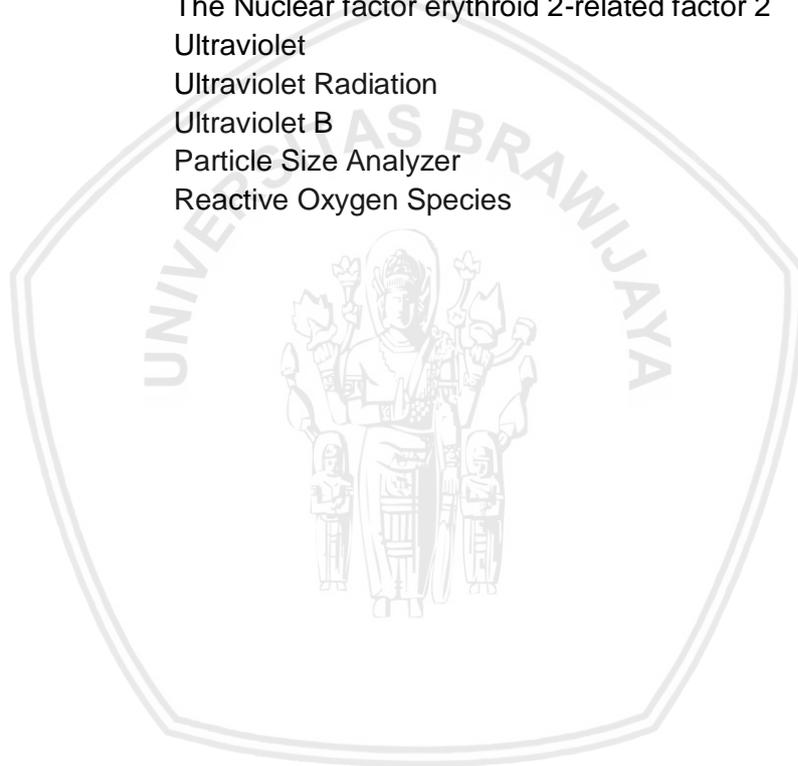


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1: Macam sinar UV dan kemampuan penetrasi ke kulit. ....	7
Gambar 2.2: Struktur Pterostilbene.....	9
Gambar 2.3: Efek pterostilben sebagai antioksidan (Li, Li, & Lin, 2018) .....	10
Gambar 2.4: Skema struktur niosom (Homaei, 2016).....	11
Gambar 2.5: Struktur niosom berdasarkan jumlah membran bilayer. (a) multilamellar (MLV) dan (b) <i>unilamellar vesicle</i> (ULV). ....	12
Gambar 2.6 Mekanisme niosom sebagai sistem penghantaran obat secara topikal.....	14
Gambar 2.7: Tipe surfaktan non ionik yang paling sering digunakan dalam preparasi niosom dan daftar nilai HLBnya (Homaei, 2016). ....	15
Gambar 2.8: CCP untuk molekul ampifilik. (a) CCP untuk molekul ampifilik dan menghasilkan <i>critical packing shape</i> dan (b) Struktur kristal cair yang dihasilkan (Homaei, 2016). ....	16
Gambar 2.9: Contoh penambahan kolesterol pada niosom bilayer. ....	17
Gambar 4.1 Prosedur Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 7,4 .....	32
Gambar 4.2 Skema pengembangan formulasi niosom pterostilben .....	33
Gambar 4.3 Skema karakterisasi niosom pterostilben .....	34
Gambar 5.1 Perubahan Warna Sampel .....	39
Gambar 5.2 Hasil Niosom Pterostilben .....	40

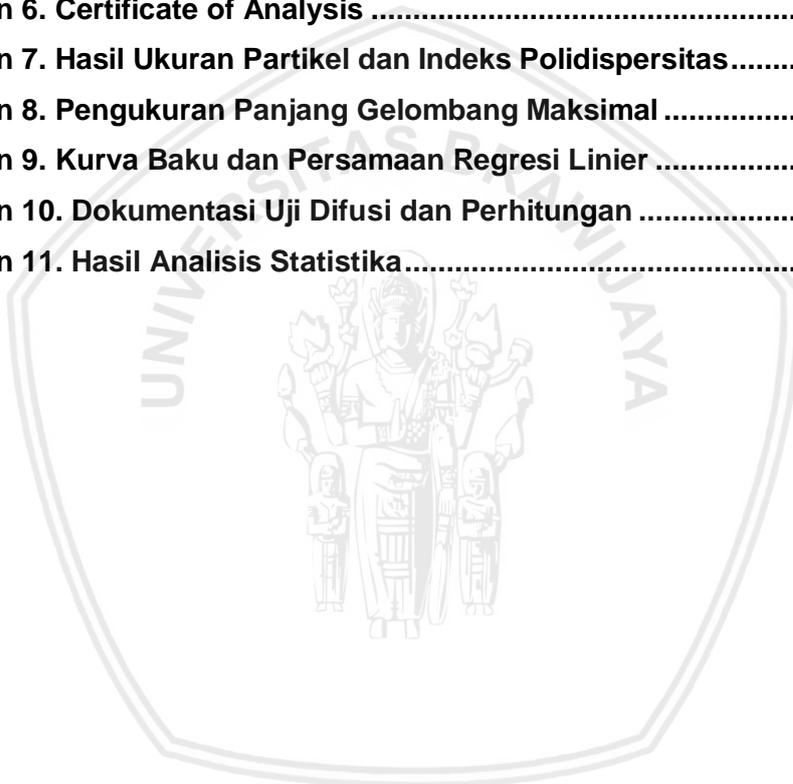
**DAFTAR SINGKATAN**

ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance
LUV	Large Unilamellar Vesicle
MLV	Multilamellar vesicle
NFκB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B
NRF2	The Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
UV	Ultraviolet
UVR	Ultraviolet Radiation
UVB	Ultraviolet B
PSA	Particle Size Analyzer
ROS	Reactive Oxygen Species



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 7,4 .....	67
Lampiran 2. Penimbangan Bahan Komposisi Niosom Pterostilben .....	69
Lampiran 3. Proses Pembuatan Niosom Pterostilben .....	71
Lampiran 4. Pengamatan dengan Mikroskop .....	73
Lampiran 5. Dokumentasi Pengukuran pH .....	74
Lampiran 6. Certificate of Analysis .....	76
Lampiran 7. Hasil Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas.....	83
Lampiran 8. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal .....	117
Lampiran 9. Kurva Baku dan Persamaan Regresi Linier .....	118
Lampiran 10. Dokumentasi Uji Difusi dan Perhitungan .....	119
Lampiran 11. Hasil Analisis Statistika.....	120



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI SURFAKTAN NON IONIK  
TERHADAP KARAKTERISTIK NIOSOM PTEROSTILBEN

Oleh :

Kartika Zulfa

155070501111030

Telah diuji pada:

Hari : Selasa  
Tanggal : 09 Juli 2019  
Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 2011068502181001

Pembimbing I

Feri Widodo, S.si., M.Biomed., Apt.

NIP. 2009127503151001

Pembimbing II

Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP. 2011068510252001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi

Alvan Febrian Shalas, M.Farm., Apt

NIP. 2011068502181001



## ABSTRAK

Zulfa, Kartika. 2019. *Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Surfaktan Non Ionik terhadap Karakteristik Niosom Pterostilben*. Tugas Akhir; Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Ferri Widodo, S.Si., M.Biomed., Apt. (2) Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Radiasi sinar UV yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan kulit hingga melanoma, khususnya sinar UVB. Efek kronis dari paparan sinar UVB yang berlebih dapat menginduksi mutasi gen, karena langsung menyebabkan kerusakan pada DNA seluler dengan memproduksi ROS di epidermis, dermis dan sel epitelium kulit. Penggunaan tabir surya sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya hal tersebut. Tabir surya yang mengandung antioksidan sangat direkomendasikan untuk menangkal radikal bebas dari sinar UVB. Pterostilben merupakan salah satu senyawa fenolik, yang memiliki aktivitas farmakologi antioksidan dan UV filter menjadi salah satu senyawa yang direkomendasikan untuk komponen tabir surya. Untuk meningkatkan efek farmakologi pterostilben pada penggunaan topikal, pterostilben perlu diformulasikan sistem penghantaran. Niosom merupakan vesikel surfaktan non ionik menjadi salah satu sistem pembawa amfifilik yang dapat membawa bahan aktif bersifat hidrofobik seperti pterostilben, diharapkan mampu meningkatkan efek farmakologi dengan meningkatkan penetrasi pterostilben ke kulit. Pembuatan niosom pterostilben menggunakan surfaktan non ionik (span 80 dan span 60) dengan metode hidrasi lapis tipis. Tujuan dari pengembangan formulasi niosom pterostilben adalah untuk melihat pengaruh konsentrasi surfaktan non ionik (span 80 dan span 60), yaitu 2, 4, dan 6 g terhadap ukuran partikel yang dihasilkan dan menentukan formulasi optimum. Hasil uji karakteristik ukuran partikel niosom pterostilben dianalisis statistik menggunakan *One-Way ANOVA* dengan  $p < 0,05$ . Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran niosom pterostilben semakin kecil dengan peningkatan konsentrasi span 60. Berdasarkan hasil tersebut, didapatkan formulasi optimum niosom pterostilben yaitu pada penggunaan span 60 dengan konsentrasi 6 g.

**Kata kunci:** Evaluasi, span 60, span 80, ukuran partikel

## ABSTRACT

Zulfa, Kartika. 2019. *Effect of Surfactant Non Ionic Concentrations on Pterostilbene Niosome Characteristic*. Final Assignment; Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Ferri Widodo, S.Si., M.Biomed., Apt. (2) Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.

Excessive radiation from UV light can cause skin damage to melanoma, especially UVB rays. Chronic effects of exposure to excessive UVB rays can induce gene mutations, because it directly causes damage to cellular DNA by producing ROS in the epidermis, dermis and skin epithelium cells. The use of sunscreen is very necessary to prevent this from happening. Sunscreen containing antioxidants is highly recommended to counteract free radicals from UVB rays. Pterostilben is one of the phenolic compounds, which has the pharmacological activity of antioxidants and UV filters to be one of the recommended compounds for sunscreen components. To improve the pharmacological effects of pterostilben on topical use, pterostilben needs to be formulated a delivery system. Niosomes are non ionic surfactant vesicles which are one of the amphiphilic carrier systems which can carry hydrophobic active ingredients such as pterostilben, which are expected to increase the pharmacological effect by increasing the penetration of pterostilben into the skin. Pterostilbene niosome using non ionic surfaces (span 80 and span 60) by thin layer hydration method. The aim of the reseacrh was to examine the effect of surfactant concentration (span 80 and span 60) 2, 4, and 6 g toward the characterization of niosome pterostilben and determine the optimum formulation by particle size. The results of the study showed that the particle size was smaller with an increase in span concentration. Based on these results, the optimum formulation of pterostilben niosomes is obtained using span 60 with a concentration of 6 g.

**Keywords:** evaluation, span 60, span 80, particle size

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Kulit adalah organ terbesar pada tubuh dan bertugas sebagai penghalang pertama untuk melawan sinar radiasi UV (UVR), patogen, tekanan mekanik, dan racun kimiawi. Hal ini memungkinkan kulit dapat mengalami kerusakan yang berujung pada penyakit kulit sampai melanoma (kanker kulit). Sinar UVB diketahui penyebab paling poten dari kerusakan kulit secara akut maupun kronis. Kerusakan kulit akut seperti kerutan dan lipatan pada kulit, penebalan epidermis pada kulit, kemerahan, serta hyperplasia. Sedangkan efek kronis dari paparan sinar UVB adalah dapat menginduksi terjadinya mutasi gen, karena langsung menyebabkan kerusakan pada DNA selular dengan cara memproduksi ROS di epidermis, dermis, dan sel epitelium. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya inflamasi, stress oksidatif, disregulasi jalur pensinyalan, dan imunosupresi, yang itu semua merupakan faktor terjadinya kanker kulit (Chen dkk., 2017).

Negara Indonesia adalah negara yang terletak di sepanjang garis khatulistiwa, hal ini berarti paparan sinar UV cukup tinggi disepanjang tahun. Berdasarkan Riskesdas 2007, kanker kulit menempati urutan ketiga dari keseluruhan jenis kanker di Indonesia. Mengingat bahaya dari radiasi sinar UV, maka kulit perlu dilindungi agar mencegah terjadinya kerusakan kulit akibat radiasi sinar UV, khususnya sinar UVB. Terdapat beberapa cara untuk melindungi kulit dari bahaya radiasi sinar UV serta mengurangi risiko kerusakan kulit sampai kanker kulit, antara lain membatasi waktu terkena sinar UV secara langsung, menggunakan tabir surya atau *sunblock* saat melakukan aktivitas di

repository.ub.ac.id

luar ruangan, dan menggunakan pakaian tertutup tidak berwarna gelap saat berada di luar ruangan. Tabir surya adalah suatu zat atau material yang dapat melindungi kulit terhadap radiasi sinar UV (Isfardiyana & Safitri, 2014). Pada saat ini tabir surya yang mengandung antioksidan menjadi salah satu solusi untuk menangkal radikal bebas dari sinar UVB. Pterostilben merupakan salah satu senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dari sinar UVB (Sirerol dkk, 2015).

Pterostilben ditemukan pertama kali pada blueberies dan batang *Pterocarpus marsupium*, merupakan kelas senyawa polifenol. Pterostilben memiliki aktivitas antara lain, aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antikarsinogen. Aktivitas pterostilben sebagai antioksidan adalah dengan menangkap radikal bebas, seperti hidroksil superoksida, hidrogen peroksida, dan lain-lain, menekan produksi *reactive oxygen species (ROS)*, menstimulasi biosintesis antioksidan endogen, seperti glutathione. Pterostilben juga dapat sebagai UV filter karena memiliki struktur polifenol yang dapat mengabsorpsi radiasi, khususnya radiasi sinar UVB yang dapat menyebabkan berbagai penyakit kulit. Hal ini dikarenakan pterostilbene memiliki spektrum absorpsi yang maksimal pada panjang gelombang sinar UVB, yaitu 290-320 nm. Aktivitas pterostilben sebagai antikarsinogen berhubungan dengan kemampuannya dalam sistem pertahanan antioksidan pada kulit dan menghambat kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh sinar UVB (Ariquel dan Miguel, 2013).

Pemberian rute topikal menjadi pilihan untuk pterostilben yang mempunyai aktivitas menangkap radiasi sinar UVB. Sediaan yang ditujukan untuk pemberian secara topikal diharapkan memiliki kemampuan adhesi yang baik pada permukaan kulit, penetrasi ke kulit, dan efek yang terlokalisasi pada

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

lapisan kulit tertentu. Salah satu hal yang mempengaruhi adalah ukuran partikel sediaan itu sendiri. Menurut pendapat Danaei dkk (2018), semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas permukaan, sehingga dapat meningkatkan kemampuan penetrasi ke kulit dan meningkatkan efek obat dengan membuat obat bereaksi pada lokasi administrasi, maka diperlukan sistem penghantaran yang dapat membantu pterostilben dalam melindungi dan mengobati kulit dari kerusakan akibat paparan radiasi sinar UV-B.

Konsep sistem penghantaran terkontrol dan tertarget adalah merancang suatu senyawa aktif untuk dapat terpusat pada jaringan dengan mengurangi konsentrasi obat yang tersisa di jaringan. Sehingga diharapkan obat tertarget di lokasi pemberian. Niosom merupakan salah satu sistem pembawa berbentuk vesikel yang terdiri dari surfaktan non ionik. Niosom (*Non ionic surfactant vesicles*) diperoleh dari hidrasi memiliki struktur mikroskopik lamellar dengan kombinasi surfaktan non ionik, kolesterol, dan bahan tambahan lain. Niosom memiliki struktur bilayer yang bersifat ampifilik, sehingga dapat sebagai sistem pembawa untuk obat yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Sistem penghantaran menggunakan niosom merupakan salah satu pendekatan untuk mencapai aktivitas obat yang poten dapat tertarget di lapisan kulit tertentu seperti epidermis dan dermis (Karim, dkk., 2016).

Stabilitas niosom dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jenis surfaktan non ionik yang digunakan dan konsentrasinya. Surfaktan non ionik pada niosom berperan penting dalam pembentukan nosom, ini akan membentuk vesikel bilayer rapat di dalam media air, hal ini yang membuat niosom memiliki sifat ampifilik. Gugus hidrofobik akan tetap terjaga dari pelarut air, sedangkan gugus kepala hidrofilik yang akan kontak langsung dengan

pelarut air. Surfaktan non ionik yang digunakan dalam pembuatan niosom harus bersifat biodegradable, biokompatibel dan tidak mengakibatkan aktivitas imunogenik. Rangkaian surfaktan span mempunyai nilai HLB antara 4 – 8 yang bisa membentuk vesikel (Karim, dkk., 2016)

Dalam penelitian ini surfaktan non ionik yang digunakan, dipilih berdasarkan nilai HLB yang sesuai untuk pembuatan niosom. Contoh surfaktan yang memiliki nilai HLB dalam rentang tersebut adalah span 60 dan span 80, berturut-turut yaitu, 4,7 dan 4,3. Surfaktan yang digunakan untuk pembuatan niosom dalam penelitian ini akan dilakukan variasi konsentrasi untuk melihat pengaruhnya terhadap karakteristik niosom pterostilben yang meliputi organoleptis, pH, ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan potensial zeta. Variasi jenis dan konsentrasi dari surfaktan non ionik dapat mempengaruhi karakteristik niosom yang dihasilkan, salah satunya adalah ukuran vesikel niosom. Ukuran vesikel niosom yang lebih kecil ditunjukkan pada penggunaan surfaktan dengan nilai HLB lebih kecil karena terjadi peningkatan hidrofobisitas dan konsentrasi span yang lebih tinggi, hal ini kemungkinan dikarenakan surfaktan lebih memudahkan pembentukan struktur dari vesikel (Shatalebi, Mostafavi, & Moghaddas, 2010).

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi surfaktan non ionik terhadap karakteristik niosom pterostilben?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi surfaktan non ionik terhadap karakteristik niosom pterostilben.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

#### 1.4.1 Manfaat akademis

Mahasiswa dapat menerapkan disiplin ilmu dalam bidang farmasetika khususnya pembuatan niosom pterostilben, pengembangan pengetahuan terkait formulasi niosom sehingga dapat mengoptimalkan penggunaan surfaktan non ionik Span 60 dan span 80 dalam karakteristik niosom pterostilben yang dihasilkan.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Mahasiswa dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan bidang farmasetika sehingga mendapatkan rancangan formula niosom pterostilben yang optimum menggunakan Span 60 dan span 80.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kulit dan Sinar UV

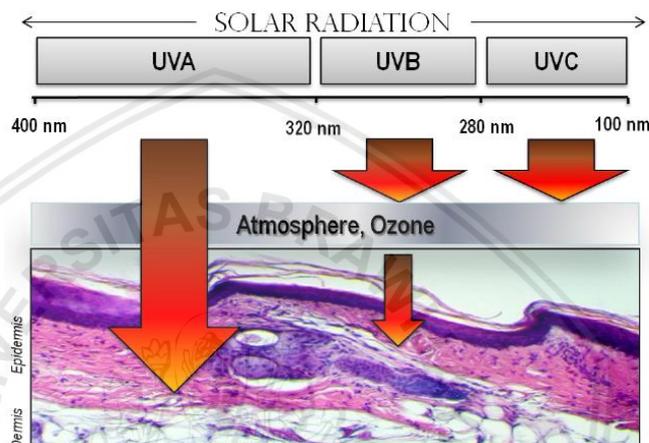
#### 2.1.1 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dari tubuh, yaitu hampir 16% dari total massa tubuh. Kulit terdiri dari dua lapisan primer, yaitu epidermis dan dermis, yang keduanya tersusun dari sel epitelial, mesenchymal, glandular, dan neurovascular. Epidermis merupakan lapisan terluar dan berfungsi sebagai pertahanan tubuh pertama dari kontak lingkungan, seperti infeksi pathogen, senyawa kimia dan sinar UV. Dermis terbentuk dari mesoderm, berada dibawah lapisan epidermis dan terdapat folikel rambut, saraf, kelenjar sebaceous, serta kelenjar keringat. Pada lapisan dermis juga terdapat sel imun dan fibroblast, yang terlibat dalam beberapa respon fisiologi di kulit (D'Orazio, Jarrett, Amaro-Ortiz, dan Scott., 2013).

#### 2.1.2 Sinar UV

Sinar UV berkontribusi terhadap berbagai macam penyakit kulit, seperti inflamasi, penuaan dini (*skin aging*) sampai melanoma (kanker kulit). Paparan sinar UV biasanya meningkat ketika seseorang lebih banyak menghabiskan waktu di luar ruangan, seperti bekerja atau kegiatan lainnya. Sinar UV dapat dibedakan menjadi UV-A, UV-B, dan UV-C berdasarkan karakteristik elektrofisikal. UV-C memiliki panjang gelombang paling pendek, yaitu 100-280 nm dan memiliki energi paling tinggi. UV-A memiliki panjang gelombang 315-400 nm, dan UV-B memiliki

panjang gelombang 290-320 nm. Sinar UV dengan panjang gelombang yang lebih panjang, UV-A akan berpenetrasi lebih dalam sampai menyentuh lapisan dermis, sedangkan UV-B dengan panjang gelombang lebih pendek, akan terabsorpsi oleh epidermis (D'Orazio, Jarrett, Amaro-Ortiz, dan Scott., 2013).



**Gambar 2.1** Macam sinar UV dan kemampuan penetrasi ke kulit.

### 2.1.3 Respon Kulit Terhadap Sinar UV

Sinar UV dapat mengganggu fungsi fisiologi kulit tergantung berapa lama kulit terpapar sinar UV, akut ataupun kronis. Salah satu efek akut dari paparan sinar UV terhadap kulit adalah inflamasi. UV-B menginduksi mediator cascade sitokin, vasoaktif, dan neuroaktif di kulit secara bersamaan, sehingga menghasilkan respon inflamasi dan penyebab kulit terbakar (*sunburn*). Paparan sinar UV juga dapat menyebabkan penebalan epidermis, dan hiperkeratosis. Sinar UV juga dapat menginduksi kerusakan kulit melalui jalur pensinyalan DNA. Jika jalur pensinyalan ini terganggu akan menyebabkan mutasi DNA yang menginduksi kanker kulit (D'Orazio, Jarrett, Amaro-Ortiz, dan Scott., 2013).

## 2.2 Pterostilbene

Pterostilben adalah senyawa kimia yang diklasifikasikan sebagai stilben yang diproduksi secara alami oleh bebrbagai macam tanaman, lebih dominan ditemukan pada bluberi, beberapa tipe anggur, dan batang pohon. Tanaman ini mensekresi stilben sebagai respon terhadap perubahan lingkungan seperti infeksi mikroba atau paparan sinar UV yang berlebih. Salah satu karakteristik senyawa golongan stilben, seperti resveratrol, diketahui memiliki efek antioksidan, senyawa antiaging, dan agen anti inflamasi (Chen dkk., 2017).

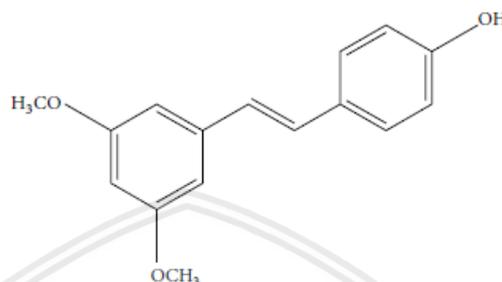
### 2.2.1 Karakteristik Pterostilben

Pterostilbene (3,5-dimethoxy-4'-hydroxy-trans-stilbene) adalah struktur analog dari resveratrol, secara *in vivo* memiliki stabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan resveratrol karena adanya gugus metoksi. Adanya gugus metoksi, membuat Pterostilbene lebih lipofilik sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitasnya. Pertama kali diisolasi dari empulur batang tanaman *Pterocarpus santalinus* dan kemudian diidentifikasi termasuk ke dalam senyawa fenolik. Pterostilben memiliki berat molekul sebesar 256,301 g/mol (Majeed, dkk., 2010).

Pemerian	: Kristal solid
Rumus molekul	: C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>
Stabilitas	: Stabil ≥ 2 tahun pada suhu -20°C

Pterostilben larut dalam pelarut organik seperti etanol, dimetil sulfoksida (DMSO), dimetil fomamida (DMF). Kelarutan pterostilben dalam etanol sekitar 50 mg/mL, 30mg/mL dalam DMSO dan DMF. Pterostilben sedikit larut dalam larutan buffers. Untuk kelarutan maksimal

dalam larutan buffers, pterostilben sebaiknya dilarutkan terlebih dahulu ke dalam etanol. Kelarutan pterostilben sekitar 0,15 mg/mL dalam 1:5 larutan etanol:buffer fosfat saline (pH 7,2) (Cayman Chemical, 2015).



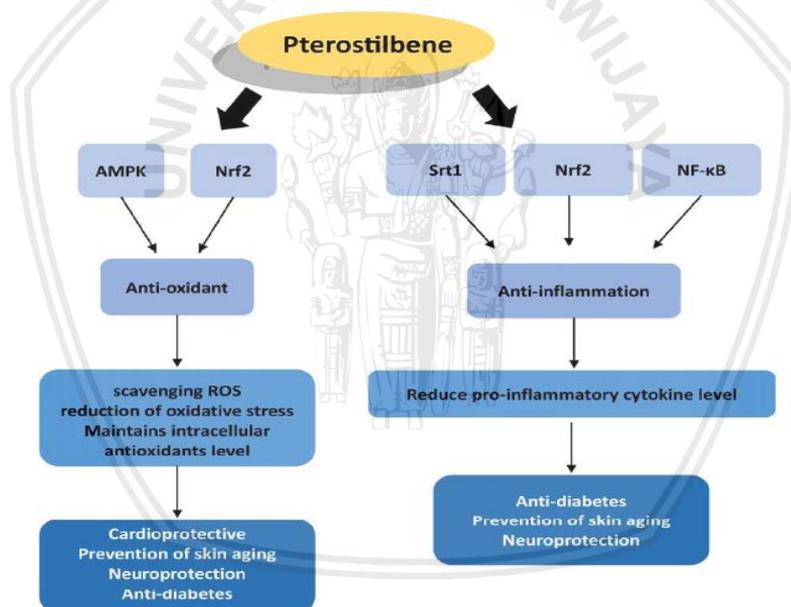
**Gambar 2.2 Struktur Pterostilbene**

#### 2.2.2 Aktivitas farmakologi pterostilben

Pterostilbene memiliki banyak aktivitas farmakologi yang bermanfaat untuk pengobatan dan pencegahan penyakit pada manusia, antara lain adalah sebagai antioksidan dengan cara menangkal radikal bebas (ROS), anti inflamasi, dan anti karsinogenik, serta sebagai UV filter karena memiliki struktur polifenol yang dapat mengabsorpsi radiasi, khususnya radiasi sinar UV-B yang dapat menyebabkan berbagai penyakit kulit. Hal ini dikarenakan spektrum Pterostilbene berada pada panjang gelombang maksimum sinar UV-B, yaitu 290-320 nm (Ariquel dan Miguel, 2013).

Terdapat banyak aktivitas pterostilben yang sangat bermanfaat dalam terapi dan pencegahan penyakit pada manusia, khususnya pada kulit. Perlindungan kulit oleh pterostilben dari sinar UV (fotoprotektif) berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan. Aktivitas pterostilben sebagai antioksidan adalah dengan menstimulasi Nrf2 pada

kulit. Nrf2 adalah faktor transkripsi yang meregulasi produksi enzim antioksidan, Nrf2 memiliki efek protektif pada beberapa organ seperti liver, otak, jantung, kulit, dan sel saraf melalui mekanisme penurunan ROS. Selain itu, Nrf2 berperan penting sebagai regulator utama dari mekanisme protektif epidermis kulit dari sinar UV. Mekanisme pterostilben pada jalur pensinyalan Nrf2 adalah dengan meningkatkan aktivitas Nrf2 dalam menghasilkan enzim antioksidan alami dan menurunkan aktivasi NFkB dengan cara menghambat fosforilasi dari protein kinase C- $\beta$ 2 dalam menginduksi kanker (Chen dkk., 2017).



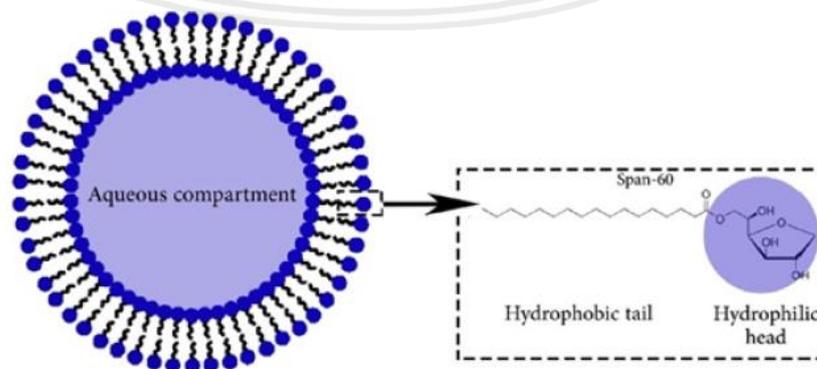
**Gambar 2.3 Efek pterostilben sebagai antioksidan (Li, Li, & Lin, 2017)**

### 2.3 Niosom

Niosom atau vesikel surfaktan non ionik adalah sistem pembawa yang memiliki struktur lamellar mikroskopik terbentuk dari campuran surfaktan non ionik seperti golongan alkil atau eter poligliserol dialkil dan kolesterol dengan dihidrasi dalam media air. Niosom merupakan sistem pembawa yang mirip dengan liposom yang dapat digunakan sebagai pembawa obat ampifilik. Niosom

secara struktur mirip dengan liposom karena memiliki membran bilayer yang dapat membawa obat bersifat hidrofilik maupun lipofilik, namun terdapat perbedaan pada komponen penyusunnya. Pada niosom konsentrasi surfaktan non ionik yang digunakan lebih tinggi, sedangkan pada liposom, komponen dengan konsentrasi yang lebih tinggi adalah fosfolipid, sehingga pada niosom diasumsikan memiliki stabilitas kimia lebih tinggi daripada liposom, dimana fosfolipid akan lebih mudah terhidrolisis (Tangri & Khurana, 2011).

Niosom dapat digunakan sebagai sistem pembawa yang menjanjikan untuk penghantaran obat, toksisitas lebih kecil, dan meningkatkan indeks terapeutik obat dengan cara menghantarkan obat tertarget ke satu jaringan atau organ. Terdapat beberapa kelebihan menggunakan niosom sebagai sistem pembawa untuk penghantaran obat, antara lain dispersi niosom dalam fase air dapat menjadi teremulsi di dalam fase non air untuk mengontrol laju pelepasan obat, suspensi vesikel berbasis air sehingga lebih bisa diterima oleh pasien, meningkatkan penyerapan obat, tidak ada kondisi khusus penyimpanan maupun penanganan surfaktan, meningkatkan penetrasi obat ke kulit (Tangri & Khurana, 2011).

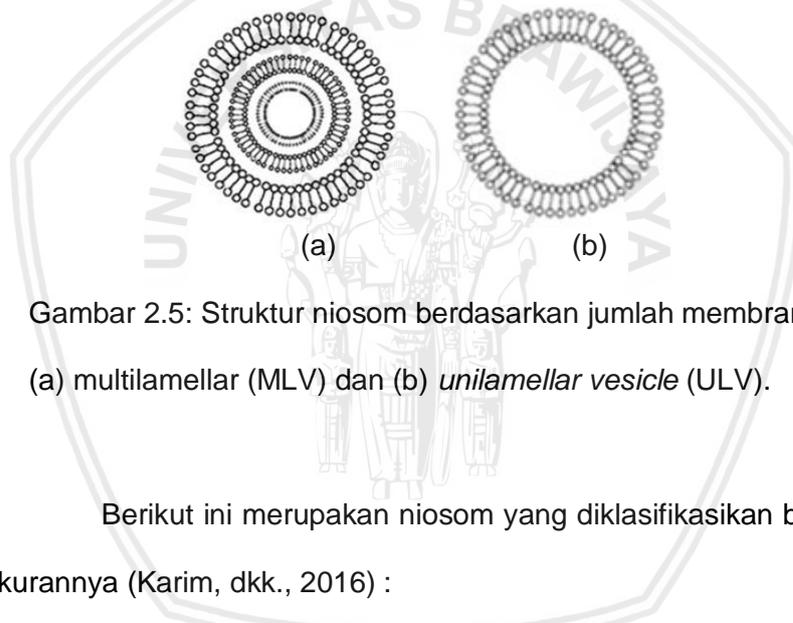


Gambar 2.4: Skema struktur niosom (Homaei, 2016)

### 2.5.3 Struktur Niosom

Niosome dapat dibedakan menjadi beberapa kategori berdasarkan ukurannya (kecil dan besar) dan jumlah membran bilayer yang terbentuk (unilamellar dan multilamellar). Berikut ini merupakan klasifikasi niosom berdasarkan jumlah membran bilayer yang terbentuk (Karim, dkk., 2016):

- Vesikel *small unilamellar* atau SUV (diameter 20-50 nm),
- Vesikel *large unilamellar* atau LUV (diameter 50 - 100 nm),
- Vesikel multilamellar atau MLV (diameter > 50 nm).



Gambar 2.5: Struktur niosom berdasarkan jumlah membran bilayer. (a) multilamellar (MLV) dan (b) *unilamellar vesicle* (ULV).

Berikut ini merupakan niosom yang diklasifikasikan berdasarkan ukurannya (Karim, dkk., 2016) :

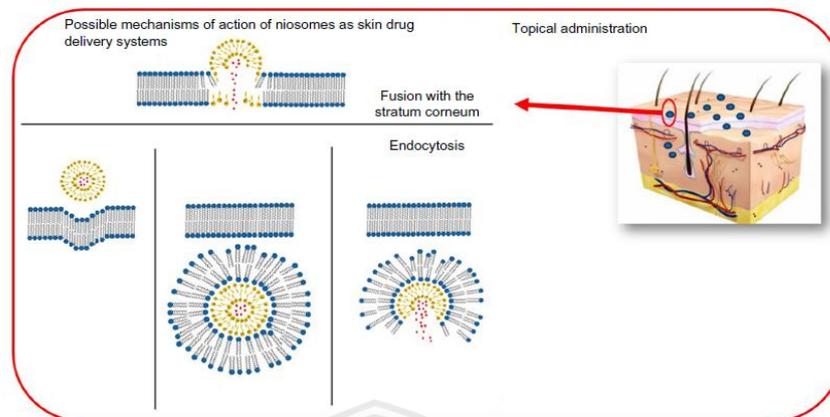
- Vesikel kecil (*small vesicles*) atau SV (diameter 25-50 nm)
- *Large vesicles* atau LV (diameter 100-3000 nm)
- *Giant vesicles* atau GV (diameter 1-20  $\mu\text{m}$ ).

Metode preparasi/pembuatan niosom mempengaruhi ukuran dan jumlah membran bilayer yang dihasilkan. MLV sangat stabil sebagai pembawa untuk senyawa lipofilik, sedangkan LUV sesuai sebagai pembawa untuk senyawa hidrofilik (Homaei, 2016).

### 2.3.2 Mekanisme Niosom sebagai sistem penghantaran obat topikal

Beberapa mekanisme telah dijelaskan terkait dengan kemampuan niosom sebagai sistem penghantaran obat secara topikal. Berikut ini adalah beberapa mekanisme niosom dalam meningkatkan penetrasi obat secara topikal (Muzzalupo dan Tavano, 2015):

1. Niosom mempengaruhi permeabilitas stratum korneum dengan cara mengganggu fungsi barier lipid interseluler sehingga stratum korneum menjadi lebih permeable.
2. Menurunkan hilangnya air di transepidermal, yaitu dengan meningkatkan hidrasi stratum korneum sehingga menurunkan struktur seluler yang sangat padat.
3. Niosom berinteraksi dengan stratum korneum dengan agregrasi, fusi, dan adesi ke permukaan sel yang menyebabkan gradien aktivitas termodinamik obat pada permukaan vesikel-stratum korneum, dimana hal ini dapat mendorong penetrasi obat lipofili melewati stratum korneum.
4. Surfaktan non ionik yang merupakan salah satu komponen penyusun surfaktan juga dapat berfungsi sebagai peningkat penetrasi (*penetration enhancer*) dan mungkin secara tidak langsung berperan dalam meningkatkan permeasi obat dari niosom.

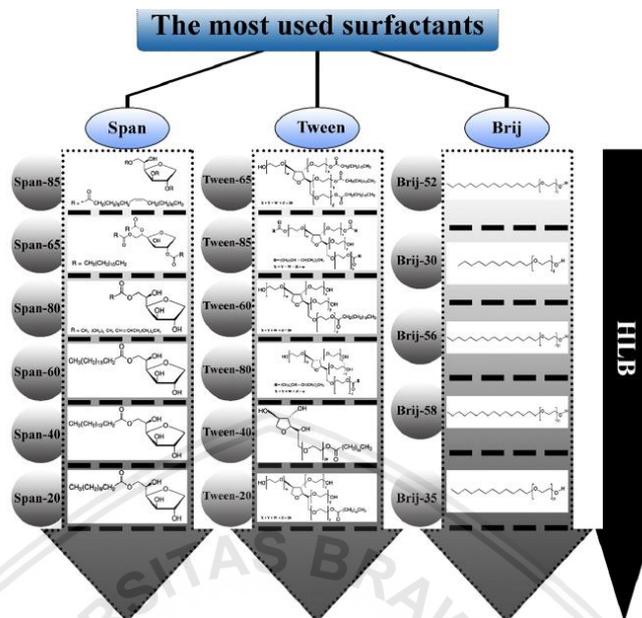


**Gambar 2.6 Mekanisme niosom sebagai sistem penghantaran obat secara topikal.**

## 2.4 Komponen Pembentuk Niosom

### 2.5.3 Surfaktan Non ionik

Surfaktan non ionik merupakan salah satu kelas surfaktan yang tidak mempunyai muatan pada gugus kepala hidrofilik. Surfaktan non ionik yang paling sering digunakan untuk pembuatan niosom adalah Span, Tween, dan Brij. Kemampuan surfaktan membentuk vesikel bergantung pada nilai HLB (*hydrophilic-lipophilic balance*), nilai CPP (*critical packing parameter*), dan suhu transisi gel-liquid (Homaei, 2016).



**Gambar 2.7 Tipe surfaktan non ionik yang paling sering digunakan dalam preparasi niosom dan daftar nilai HLBnya (Homaei, 2016).**

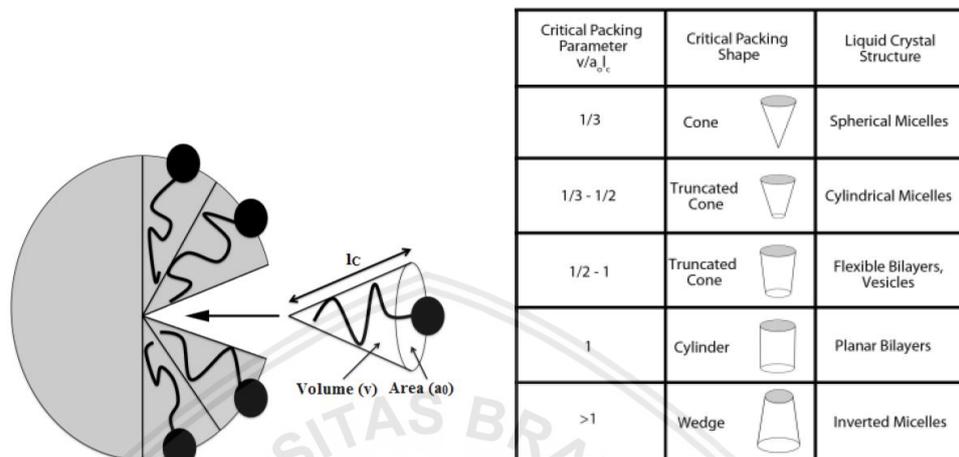
Rata-rata ukuran vesikel niosom meningkat secara proposional dengan peningkatan nilai HLB surfaktan, seperti Span 85 dengan nilai HLB 1,8 sampai Span 20 yang memiliki nilai HLB 8,6. Hal ini dikarenakan terjadi penurunan energi bebas permukaan dengan peningkatan hidrofobitas surfaktan (Tangri & Khurana, 2011)

Nilai CPP adalah skala dimensi dari surfaktan, digunakan untuk memprediksi bentuk dari agregasi ampifilik. Molekul geometri dari ampifilik mempengaruhi dirinya untuk bersatu dan membentuk stuktur vesikel yang berbeda. Tipe vesikel dapat diprediksi dengan mengestimasi nilai CPP dari surfaktan tertentu. Nilai CCP dapat ditentukan dengan rumus berikut (Kumar & Rajeshwarrao, 2011):

$$CPP = \frac{v}{a0lc}$$

Dimana  $v$  adalah volume gugus hidrofobik,  $lc$  adalah panjang ekor hidrofobik, dan  $a0$  adalah area gugus hidrofilik. Berikut ini menunjukkan

rentang nilai CPP yang berhubungan dengan perbedaan tipe agregasi ampifilik.



**Gambar 2.8 CCP untuk molekul ampifilik. (a) CCP untuk molekul ampifilik dan menghasilkan *critical packing shape* dan (b) Struktur kristal cair yang dihasilkan (Homaei, 2016).**

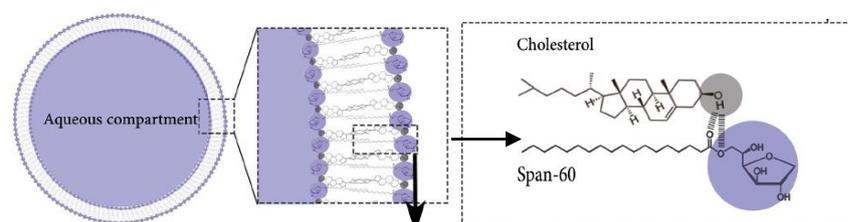
Suhu transisi fase gel-likuid merupakan parameter yang secara langsung mempengaruhi efisiensi penyerapan dari vesikel. Vesikel bilayer juga disebut sebagai fase likuid atau gel, tergantung pada suhu, tipe surfaktan dan bahan tambahan lain yang digunakan. Pada fase likuid, rantai alkil dari struktur bilayer lebih tidak beraturan, sedangkan pada fase gel, struktur bilayer memiliki struktur yang baik dan beraturan (Homaei, 2016).

Suhu transisi terendah dimiliki oleh Span 20 dan Span 80, yaitu sekitar  $16^{\circ}\text{C}$  dan  $-12^{\circ}\text{C}$ , sedangkan suhu transisi dari Span 40 adalah  $42^{\circ}\text{C}$  dan Span 60 adalah  $53^{\circ}\text{C}$ . Suhu transisi fase gel-likuid yang rendah akan menghasilkan vesikel fase likuid pada suhu ruang dan tidak dapat membentuk fase gel jika menggunakan kolesterol dengan konsentrasi rendah. Suhu transisi fase gel-likuid yang tinggi akan menghasilkan vesikel solid pada suhu ruang (Khoee dan Yaghoobian, 2017).

### 2.4.2 Kolesterol

Kolesterol terdiri dari sterol (kombinasi steroid dan alkohol) dan lipid yang ditemukan pada membran sel semu organ tubuh. Kolesterol berasal dari bahasa Yunani yaitu chloe-(bile) dan stereos (solid), dan -ol untuk alkohol. Terdapat kolesterol dengan bentuk bebas ataupun dalam bentuk ester dengan asam lemak tunggal (panjang karbon 10-20) yang membentuk ikatan kovalen dengan gugus hidroksil pada cincin kolesterol (NCBI, 2018b).

Adanya kolesterol dalam komponen penyusun niosom berada pada bilayer vesikel dan akan membentuk ikatan hidrogen dengan gugus kepala hidrofilik dari surfaktan non ionik. Kolesterol mempengaruhi beberapa karakteristik vesikel niosom seperti efisiensi penjerapan, waktu penyimpanan, permeabilitas membran bilayer vesikel dan stabilitas. Penambahan kolesterol pada surfaktan dengan nilai HLB kurang dari 6 akan meningkatkan stabilitas vesikel niosom. Kolesterol akan meningkatkan stabilitas dan rigiditas (kekakuan) surfaktan bilayer dengan cara meningkatkan suhu transisi gel-liquid (Homaei, 2016).



**Gambar 2.9** Contoh penambahan kolesterol pada niosom bilayer.

### 2.4.3 Soya Lecithin

Komponen utama dari lecithin adalah fosfatidilkolin. Fosfatidilkolin memiliki kelarutan yang rendah di dalam air. Fosfolipid akan membentuk

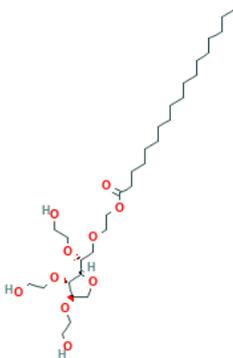
liposom, lapisan bilayer, struktur misel ataupun lamellar pada larutan aqueous tergantung pada suhu dan proses hidrasi. Lecithin pada niosom ataupun proniosom dapat berperan sebagai peningkat permeasi, meningkatkan efisiensi penyerapan dan dapat menghasilkan ukuran partikel lebih kecil karena peningkatan hidrofobisitas. Selain itu, lecithin dapat meningkatkan kerapatan struktur dinding bilayer, sehingga dapat mencegah terjadinya kebocoran pada vesikel. Sumber lecithin yang biasa digunakan untuk penelitian adalah berasal dari kuning telur dan kedelai (Yadav dkk, 2010).

## 2.5 Monografi Eksipien

### 2.5.3 Span 60 (Rowe, dkk., 2009, Halaman 675)

Pemerian : krim padat atau serbuk berwarna krem hingga kecoklatan atau cairan warna krem dengan rasa pahit.

Nama lain : Sorbitan monostearat, anhydrosorbitol monostearat, alblunol S-60, 1,4-Anhydro-D-Glucitol, Sorgen 50, sorbitan stearat.



Struktur kimia:

Rumus molekul :  $C_{24}H_{46}O_6$

Bobot molekul : 430,626 g/mol

Kelarutan : larut dan terdispersi dalam minyak, pelarut organik, tidak larut dalam air, umumnya terdispersi dalam air hangat.

pH : 5-10

Titik beku : -

Titik leleh : 53-57°C

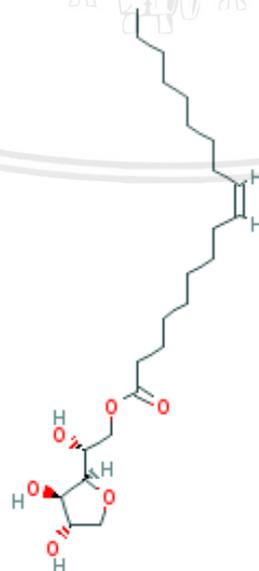
Stabilitas : Bertahap membentuk sabun dengan penambahan asam atau basa kuat, stabil di dalam asam atau basa lemah, simpan dalam wadah tertutup rapat, dingin dan kering.

Inkompatibilitas : -

#### 2.5.2 Span 80 (Rowe, *et al.*, 2009, Halaman 675)

Pemerian : Cairan kental berwarna kulit.

Nama lain : Sorbitan mono-9-octadecenoate, Sorbitan monooleat, Alblunol S-80, Sorbitani oleas, Sorgen 40, Lamesorb SMO.



Struktur kimia :

Rumus molekul :  $C_{24}H_{44}O_6$

Bobot molekul : 429 g/mol

Kelarutan : larut dan terdispersi dalam minyak, pelarut organik, tidak larut dalam air, umumnya terdispersi dalam air hangat.

pH :  $\leq 8.0$

Titik beku : -

Titik leleh : -

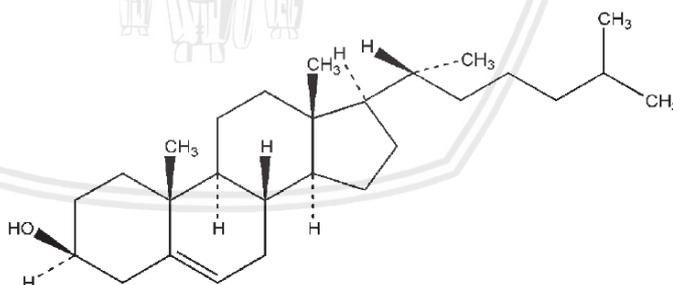
Stabilitas : Bertahap membentuk sabun dengan penambahan asam atau basa kuat, stabil di dalam asam atau basa lemah, simpan dalam wadah tertutup rapat, dingin dan kering.

Inkompatibilitas : -

### 2.5.3 Kolesterol (Rowe, dkk., 2009, Halaman 178)

Pemerian : berwarna putih sampai kekuningan, hampir tidak berbau, berbentuk lembaran, jarum, bubuk atau granul.

Nama lain : Cholesterin, cholesterolum



Struktur kimia :

Rumus molekul :  $C_{27}H_{46}O$

Bobot molekul : 386,67 g/mol

Kelarutan : Larut dalam aseton dan minyak sayur, praktis tidak larut dalam air.

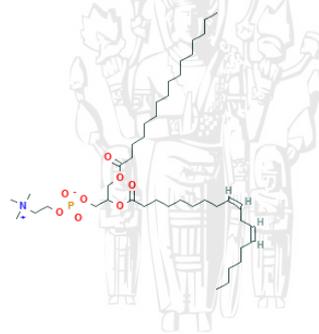
pH : -

Titik beku : -

- Titik leleh : 147 – 150 °C
- Stabilitas : Stabil dan harus disimpan dalam wadah tertutup rapat, serta terhindar dari cahaya.
- Inkompatibilitas : Mengendap dengan digitonin

#### 2.5.4 Soya Lecithin (NCBI, 2018c)

- Pemerian : lemak kuning-kecoklatan; rasa seperti minyak kedelai; tidak berbau.
- Nama lain : 1-palmitoyl-2-linoleoylphosphatidylcholine, PLPC, soybean lecithin



Struktur kimia :

Rumus molekul:  $C_{42}H_{80}NO_8P$

Bobot molekul : 758,075 g/mol

Kelarutan : larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatic, minyak mineral, dan asam lemak. Tidak larut dalam minyak nabati dan hewani dingin, pelarut polar, dan air. Ketika dicampurkan dengan air akan terhidrasi dan membentuk emulsi.

- pH :
- Titik beku :
- Titik leleh : - 5°C

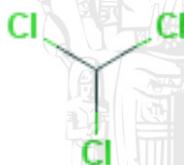
Stabilitas : terdekomposisi pada pH ekstrem. Higroskopis dan subjek degradasi mikroba. Ketika dipanaskan akan teroksidasi menjadi lebih gelap dan terdekomposisi. Suhu 160-180°C akan menyebabkan degradasi dalam 24 jam.

Inkompatibilitas: mengalami hidrolisis dengan adanya esterase.

#### 2.5.5 Kloroform (NCBI, 2018a)

Pemerian : Cairan tidak berwarna, mudah menguap, berbau seperti eter.

Nama lain : Trichloromethane, formyl trichloride, trichloroform, trichloromethane.



Struktur kimia :

Rumus molekul : CHCl<sub>3</sub>

Bobot molekul : 119,369 g/mol

Kelarutan : Larut dalam disulfida karbon, tidak larut dalam alkohol, eter, benzena, karbon tetraklorida, mudah larut dalam air.

pH : -

Titik beku : -

Titik didih : 61,2 °C

Stabilitas : terdekomposisi jika terkena sinar matahari

Inkompatibilitas : -

## 2.4 Metode Pembuatan Niosom

### 2.5.4 Metode Injeksi Eter

Pembuatan niosom dengan metode ini adalah melarutkan larutan surfaktan dalam dietil eter ke dalam air hangat pada suhu 60 °C. Surfaktan dicampurkan ke dalam eter dengan cara diinjeksikan melalui jarum 14 G. Vaporasi eter akan menghasilkan vesikel lapis tunggal. Diameter vesikel yang dihasilkan berkisar antara 50 – 1000 nm (Usman, Prasanna, dan Bharat., 2017).

### 2.6.2 Teknik hidrasi lapis tipis

Campuran surfaktan non ionik dan kolesterol dilarutkan dalam pelarut organik seperti dietil eter, kloroform, atau metanol di dalam labu alas bulat yang berputar. Pelarut organik dihilangkan menggunakan alat rotari evaporator pada suhu 60 °C yang menghasilkan lapisan tipis di dinding labu. Lapisan surfaktan tersebut dihidrasi menggunakan fase air yang mengandung bahan aktif pada suhu 60 °C dengan sedikit agitasi. Metode ini akan membentuk tipe niosom multilamellar (Usman, Prasanna, dan Bharat., 2017).

### 2.6.3 Metode Sonikasi

Pada metode ini, larutan disonikasi sehingga menghasilkan vesikel. Larutan obat dalam sistem buffer ditambahkan ke dalam campuran surfaktan dan kolesterol di dalam vial kaca 10 mL. Campuran ini kemudian disonikasi pada suhu 60 °C selama 3 menit menggunakan sonikator (Usman, Prasanna, dan Bharat., 2017).

### 2.6.4 Metode Micro fluidization

Metode ini merupakan teknik terbaru yang digunakan untuk menghasilkan vesikel tipe unilamellar. Prinsip dari metode ini adalah *submerged jet*, dimana terdapat interaksi dua aliran fluidized pada kecepatan sangat tinggi. Metode ini menghasilkan keseragaman bentuk vesikel yang lebih baik dibandingkan dengan metode lain, ukuran lebih kecil dan kemampuan reproduksi pembentukan niosom yang lebih baik (Usman, Prasanna, dan Bharat., 2017).

#### 2.6.5 Metode ekstrasi membran ganda

Campuran surfaktan, kolesterol, dan dicetil fosfat dalam kloroform membentuk lapisan film tipis dengan cara evaporasi. Lapisan film dihidrasi dengan larutan air yang mengandung obat (Usman, Prasanna, dan Bharat., 2017).

#### 2.6.6 Trans membran pH gradient

Surfaktan dan kolesterol dilarutkan dalam kloroform. Kemudian, pelarut dievaporasi dengan tekanan rendah yang akan membentuk lapisan film tipis pada dinding bawah labu alas bulat. Lapisan film tipis ini dihidrasi dengan 300 mM asam sitrat (pH 4) menggunakan vortex. Vesikel multilamellar yang terbentuk dibekukan dan diulang 3 kali lalu disonikasi dan menghasilkan suspensi niosom. Pada suspensi niosom tersebut ditambahkan larutan yang mengandung 10 mg/mL obat dan divortex. Kemudian pH dari campuran ditingkatkan sampai 7,0 – 7,2 menggunakan 1M disodium fosfat. Campuran ini kemudian dipanaskan pada suhu 60 °C selama 10 menit hingga terbentuk niosom (Usman, Prasanna, dan Bharat., 2017).

## 2.5 Karakterisasi niosom

### 2.5.4 Ukuran dan Indeks Polidispersitas

Bentuk yang diharapkan dari niosom adalah sferik, dan ukuran rata-rata-rata diameter dari niosom dapat diukur menggunakan metode *laser light scattering* dengan mikroskop elektron, *molecular sieve chromatography*, ultrasentrifugasi, *photon correlation microscopy*, *dynamic light scattering* (DLS), *freeze fracture electron microscopy* dan mikroskopi optikal (Karim, dkk., 2016)

Ukuran partikel mempengaruhi berbagai karakteristik dari material partikulat dan merupakan indikator penting dari kualitas serta penampilan partikel. Bentuk dan ukuran partikel dapat mempengaruhi laju alir, karakteristik kepadatan, dan stabilitas suspensi maupun emulsi. Ukuran partikel yang lebih besar dan sferik dapat mengalir lebih mudah daripada ukuran partikel yang lebih kecil. Ukuran partikel yang lebih kecil lebih mudah larut dan menghasilkan suspensi dengan viskositas tinggi. Partikel dengan ukuran droplet yang lebih kecil dan memiliki nilai potensial zeta yang tinggi dapat meningkatkan stabilitas suspensi maupun emulsi. Semua instrument yang digunakan untuk menganalisa ukuran partikel mampu mengukur dan menghasilkan distribusi ukuran partikel dari sampel (HORIBA, 2017). Distribusi ukuran partikel adalah pengukuran yang dilakukan untuk menentukan dan memberikan informasi tentang ukuran dan rentang ukuran satu set partikel dari suatu material.

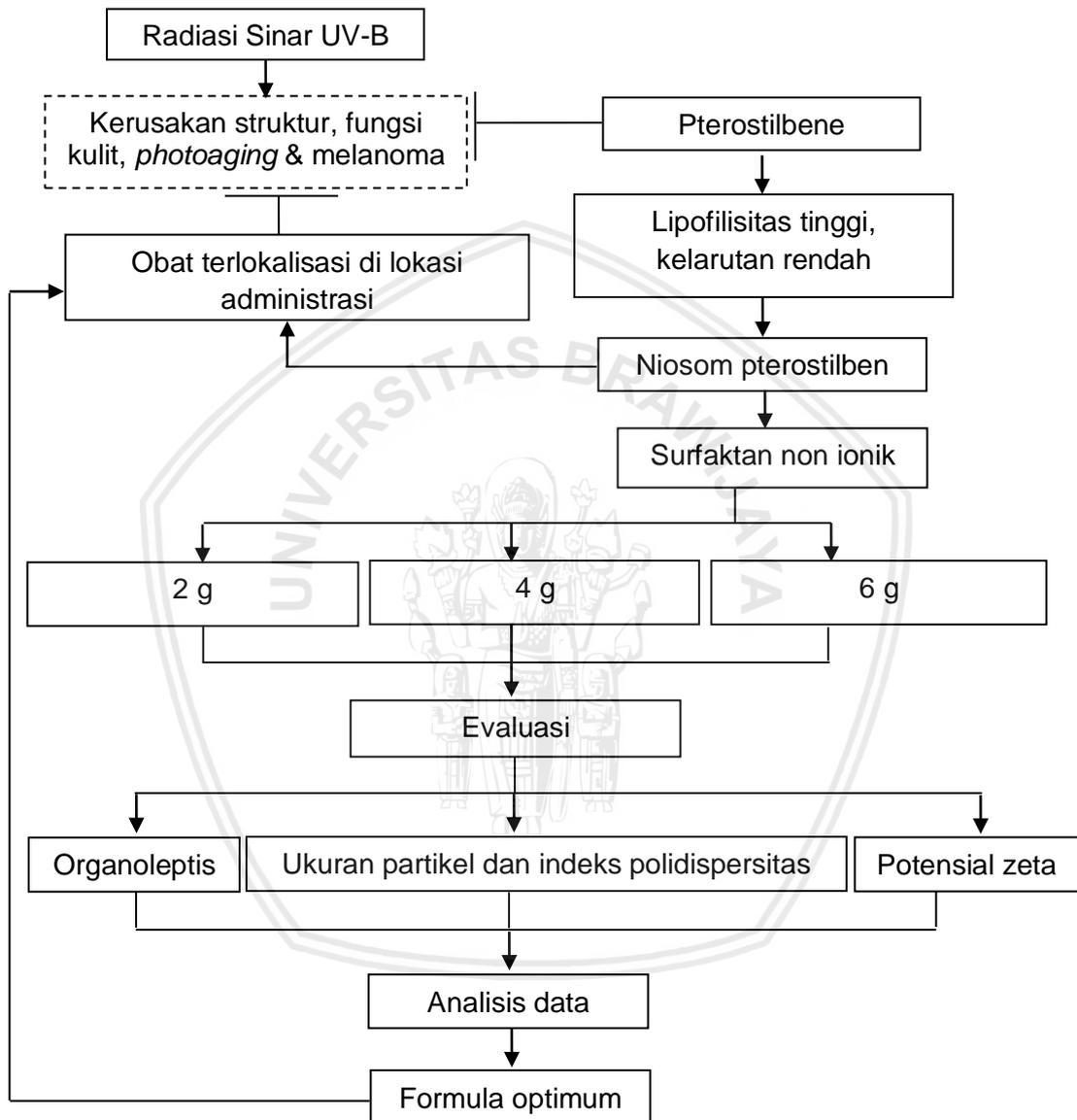
### 2.7.2 Potensial zeta

Potensial zeta adalah ukuran besarnya tolakan atau daya tarik antar partikel. Pengukuran ini akan memberikan informasi tentang mekanisme penyebaran dan merupakan kunci untuk mengontrol dispersi elektrostatik. Besarnya nilai potensial zeta mengindikasikan potensi stabilitas dari sistem koloidal. Jika partikel memiliki nilai potensial zeta positif atau negatif yang besar, partikel-partikel ini akan saling bertolakan dan menghasilkan dispersi yang stabil. Rentang normal yang dapat dipertimbangkan bahwa dispersi stabil adalah +20 sampai +30mV atau – 20 sampai -30mV (Khoshnevisan, K. & Barkhi, 2015).

### 2.7.3 Difusi In Vitro

Uji difusi dilakukan untuk mempelajari pelepasan obat dari suatu sistem penghantaran. Metode *in vitro* untuk melihat karakteristik permeasi obat secara perkutan paling sering digunakan. Pemilihan membran difusi merupakan salah satu kunci parameter dalam melakukan uji difusi secara *in vitro*. Metode *in vitro* sudah banyak ditemukan dan divalidasi antara lain oleh Franz dan Maibach pada tahun 1975; Bronaugh dan Maibach pada tahun 1985. Beberapa peneliti menggunakan beberapa jenis membran difusi, seperti kulit manusia yang diperoleh dari amputasi dan operasi, serta beberapa kulit hewan seperti babi, tikus, monyet, dan ular yang direkomendasikan dapat menggantikan penggunaan kulit manusia pada uji difusi secara *in vitro* (Moss, Gullick, dan Wilkinson., 2015). Uji difusi menggunakan metode sel difusi (Tipe Frans) pada suhu ruang konstan 25°C (Harada, Murakami, Yata, dan Yamamoto., 1992).

**BAB 3**  
**KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**



**Keterangan :**

- : Variabel yang diteliti
- : Variabel yang tidak diteliti
- |———| : Menghambat

Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

### 1.1 Penjabaran Kerangka Konsep

Radiasi sinar UV-B dapat mengakibatkan kerusakan struktur, fungsi kulit serta menginduksi terjadinya penyakit kulit seperti penuaan dini atau sampai kanker kulit (melanoma) melalui mekanisme peningkatan ROS. Untuk mencegah terjadinya peningkatan ROS di epidermis, dermis, dan sel epitelium kulit, pterostilbene dapat bekerja sebagai UV filter dan antioksidan untuk mencegah terjadinya kerusakan kulit. Aktivitas antioksidan pterostilben adalah melalui jalur aktivasi *NF-E2-related factor 2* (Nrf2) dan beberapa proses autofagi (Chen dkk, 2017). Berdasarkan aktivitas tersebut, pterostilben memiliki potensi untuk menjadi bahan aktif dalam bidang farmasi, namun pterostilben memiliki solubilitas rendah dan lipofilisitas tinggi. Selain itu, pterostilben juga memiliki karakteristik tidak stabil terhadap cahaya dan udara, karena gugus hidroksil fenolik pada pterostilben akan mudah teroksidasi, sehingga memungkinkan terjadinya penurunan aktivitas farmakologi secara signifikan (Zhang dkk, 2014). Oleh karena itu, diperlukan modifikasi sistem penghantaran yang sesuai untuk dapat meningkatkan kelarutan dan stabilitas dari pterostilben, sehingga dapat meningkatkan efek farmakologi dari pterostilben. Niosom merupakan pilihan pembawa obat yang potensial untuk zat aktif yang tidak larut dalam air, karena memiliki struktur membran bilayer yang bersifat amfifilik. Niosom dapat mengakomodasi konsentrasi obat lebih baik pada lokasi administrasi secara topikal (Karim dkk, 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nina (2015), dalam pembuatan gel niosom vitamin C yang dibandingkan dengan gel biasa vitamin C, didapatkan bahwa sediaan gel yang dibuat dengan sistem niosom mampu melindungi zat aktif dari proses oksidasi sehingga dapat menjaga

kestabilan zat aktif tersebut yang dapat dilihat dari evaluasi penetapan kadar setelah 28 hari.

Sediaan yang ditujukan untuk penggunaan secara topikal diformulasikan untuk dapat berinteraksi dengan kulit dan memiliki efek lokal maupun sampai ke sirkulasi sistemik. Mekanisme sistem penghantaran obat secara topikal atau transdermal dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti ukuran partikel, komposisi, dan jumlah lamellar. Ukuran partikel suatu vesikel menunjukkan adanya pengaruh signifikan terhadap mekanisme penetrasi obat di kulit. Ukuran vesikel yang lebih kecil dapat meningkatkan penetrasi pterostilben ke lapisan kulit tertentu seperti dermis dan epidermis. Sedangkan ukuran partikel dengan diameter lebih dari 600 nm tidak dapat menghantarkan obat yang terjerap ke lapisan kulit yang lebih dalam, bahkan dapat menetap pada stratum korneum dan membentuk lapisan lipid di kulit setelah mengering (Danaei dkk, 2018).

Ukuran partikel niosom dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, prosedur pembuatan, jenis dan konsentrasi surfaktan yang digunakan. Pada penelitian ini dilakukan optimasi penggunaan variasi surfaktan dan konsentrasinya yang merupakan komponen utama dalam niosom. Span 80 dan Span 60 dipilih berdasarkan nilai HLB nya, 4,3 dan 4,7. Dimana, surfaktan non ionik golongan span yang dapat digunakan dalam proses pembuatan niosom adalah span dengan nilai HLB dalam rentang 4-8 (Vishal dkk, 2018). Nilai HLB yang semakin kecil akan menghasilkan ukuran partikel yang semakin kecil dikarenakan terjadi penurunan hidrofobisitas. Selain itu, konsentrasi span yang digunakan dalam pembuatan niosom juga dapat berpengaruh pada ukuran niosom yang dihasilkan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Shatalebi (2010), penggunaan konsentrasi span yang relatif lebih tinggi dalam pembuatan

niosom dapat menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil, hal ini dapat dikarenakan span mengakomodasi terjadinya pembentukan vesikel yang lebih mudah. Pada formulasi niosom pterostilben, digunakan 3 konsentrasi berbeda dari surfaktan non ionik, yaitu 2 g, 4 g, dan 6 g, yang nantinya akan dilihat formulasi mana yang paling optimum berdasarkan ukuran partikel yang dihasilkan. Evaluasi pada niosom ini adalah organoleptis, ukuran niosom, indeks polidispersitas dan potensial zeta.

### **3.2 Hipotesis Penelitian.**

Jenis dan konsentrasi surfaktan non ionik yang digunakan dalam pembuatan niosom dapat mempengaruhi ukuran niosom yang dihasilkan. Diperkirakan formulasi niosom pterostilben yang optimum berdasarkan karakteristik ukuran partikel adalah formulasi niosom dengan konsentrasi surfaktan non ionik paling tinggi, yaitu sebanyak 6 g.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Design Penelitian

Design penelitian ini menggunakan design penelitian eksperimental murni (*True Experimental Design*).

### 4.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini terbagi atas 2, antara lain :

#### 4.2.1 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah ukuran niosom yang dihasilkan sebagai sistem penghantaran pterostilben dengan menggunakan tiga konsentrasi surfaktan non ionik yang berbeda.

#### 4.2.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi surfaktan non ionik, yaitu 2 g, 4 g, dan 6 g.

### 4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran untuk proses pembuatan niosom pterostilben, evaluasi morfologi dan uji stabilitas. Evaluasi potensial zeta dilakukan di Institut Teknologi Sepuluh November (ITS). Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Mei 2019.

#### 4.4 Alat dan Bahan

##### 4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital (OHAUS PIONEER®), kuas, gelas arloji, beaker glass, rotari evaporator (IKA® RV 10 basic), ultra turrax (IKA® T25 digital), batang pengaduk, zetasizer (Malvern Zetasizer Nano Series®), *Particle Size Analyzer* (Malvern Zetasizer Nano Series®), sonikator (Sonica®), mikroskop (Shimadzu UV-1800®), dan kaca preparat.

##### 4.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, Span 60, Span 80, kolesterol, soya lecithin, pterostilbene, larutan buffet fosfat pH 7,4, pelarut kloroform, dan membran kulit ular.

#### 4.5 Definisi Operasional

1. Niosom pterostilben adalah suatu sistem penghantaran senyawa pterostilben yang terdiri dari surfaktan non ionik, kolesterol, dan pelarut serta bahan tambahan lain seperti, lesitin.
2. Optimasi adalah proses pencarian nilai yang dianggap sesuai dengan hasil yang diinginkan.
3. Optimasi meliputi perbedaan berbagai konsentrasi surfaktan non ionik yang digunakan, yaitu 2 g, 4 g, dan 6 g.
4. Karakteristik niosom pterostilben yang dihasilkan dalam penelitian ini meliputi organoleptis, pH, ukuran partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta.

5. Optimum adalah kondisi dimana didapatkan formulasi niosom pterostilben yang sesuai dengan karakteristik yang diinginkan, yaitu niosom pterostilben dengan ukuran partikel dalam rentang 51-599 nm.

#### 4.6 Prosedur Penelitian

##### 4.6.1 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat (pH 7,4)

Pada penelitian ini digunakan larutan buffer fosfat pH 7,4 sebagai media hidrasi. Larutan buffer fosfat pH 7,4 disiapkan dengan cara menimbang  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sebanyak 27,22 gram lalu dilarutkan dengan 1000 mL aquadest, menghasilkan larutan stok  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M. Setelah itu membuat larutan stok NaOH 0,2 M dengan cara menimbang NaOH sebanyak 0,4 gram lalu dilarutkan ke dalam 50 mL aquadest. Larutan stok  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  diambil sebanyak 50 mL ke dalam beaker glass 250 mL, kemudian ditambahkan larutan stok NaOH 0,2 M sebanyak 39,1 mL. Setelah itu dilakukan pengukuran pH pada larutan sampai mencapai pH 7,4, lalu ditambahkan aquadest sampai volume 200 mL.

##### 4.6.2 Pengembangan Formulasi Niosom Pterostilben

Pembuatan niosom pterostilben menggunakan surfaktan non ionik dengan konsentrasi F1= 2 g; F2= 4 g; dan F3= 6 g. Metode yang digunakan dalam pembuatan niosom pterostilben ini adalah hidrasi lapis tipis. Dalam penelitian ini, pembuatan niosom dijelaskan dalam tahap-tahap berikut ini. surfaktan non ionik, kolesterol, soya lecithin, dan pterostilben ditimbang sesuai dengan tabel 4.1, kemudian masing-masing formula dilarutkan dengan kloroform dalam labu alas bulat 1000 mL. Setelah itu, pelarut

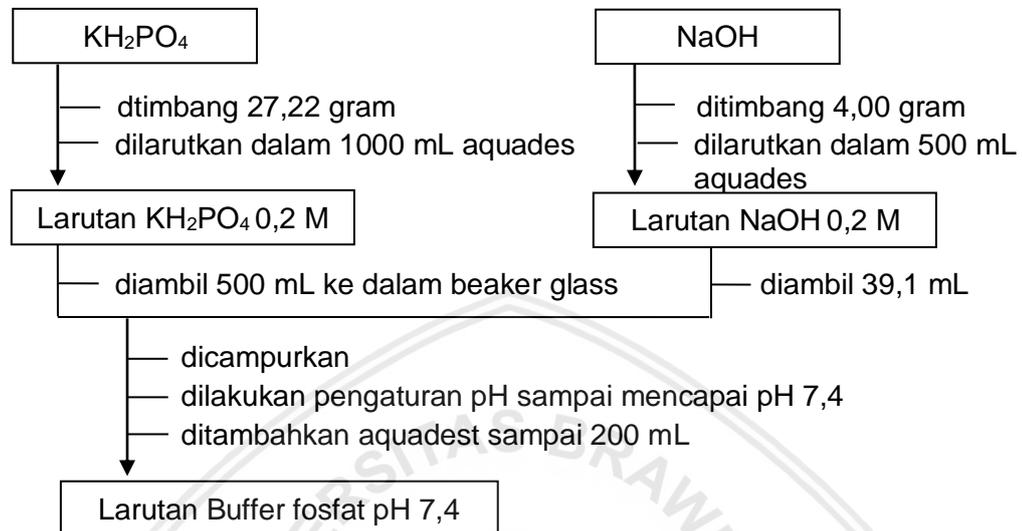
organik dievaporasi pada kecepatan 150 rpm dan suhu  $60\pm 4$  °C menggunakan rotari evaporator sampai terbentuk lapis tipis di dinding labu alas bulat. Lapis tipis pada dinding labu alas bulat dihidrasi menggunakan larutan buffer fosfat pH 7,4 menggunakan rotari evaporator pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm selama 1 jam, keadaan tanpa vakum hingga terbentuk niosom dan dibiarkan mendingin. F1, F2 dan F3 masing-masing direplikasi sebanyak 3 kali. Pada penelitian ini juga digunakan formula kontrol.

#### 4.6.3 Karakterisasi Niosom Pterostilben

Niosom pterostilben yang dihasilkan dari pengembangan formulasi F1, F2, dan F3 dievaluasi karakteristiknya. Karakterisasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah organoleptis, ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan potensial zeta. Data yang diperoleh dari hasil karakterisasi niosom pterostilben dianalisis. Analisis dilakukan secara deskriptif dan statistika. Setelah itu, akan diperoleh formulasi optimum berdasarkan hasil ukuran partikel. Formulasi optimum niosom pterostilben selanjutnya dilakukan uji difusi.

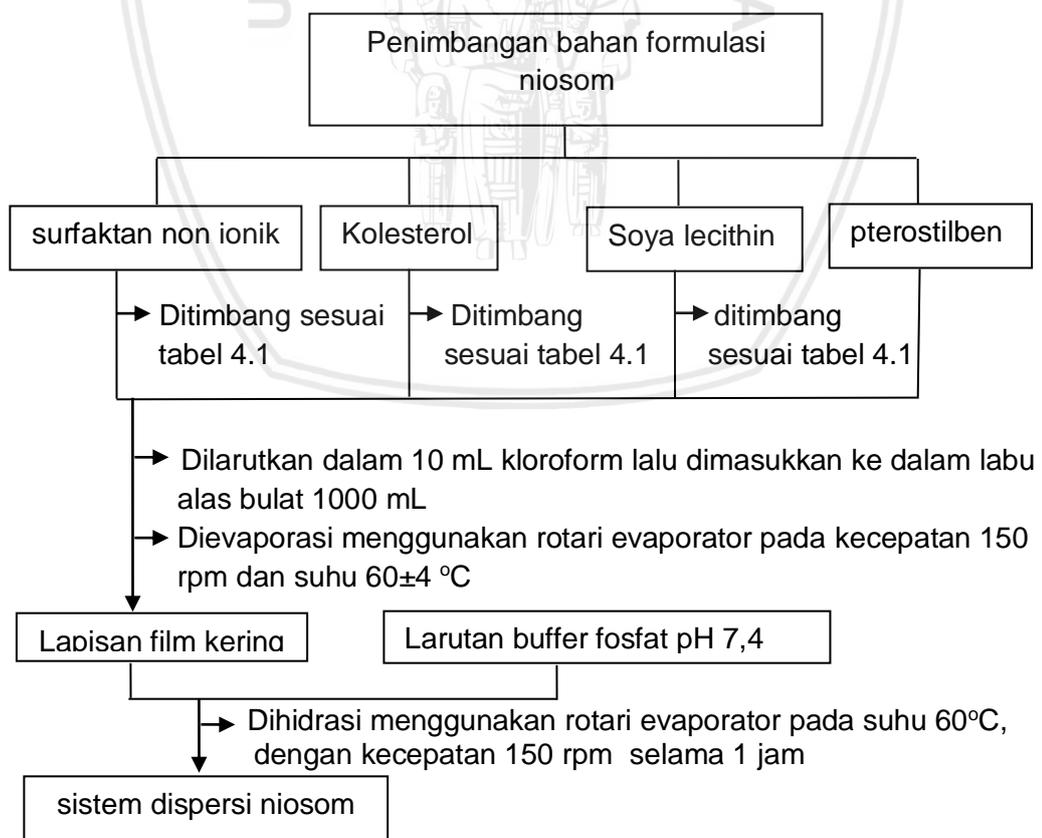
## 4.7 Skema kerja

### 4.7.1 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat (pH 7,4)



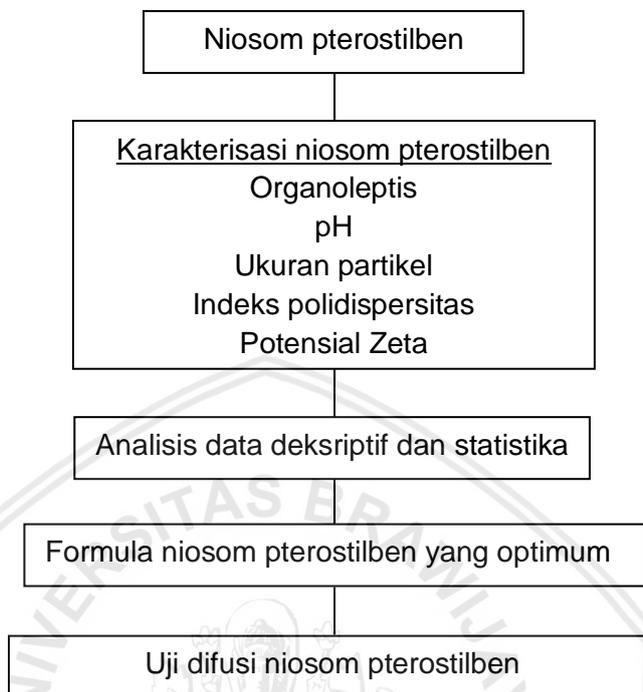
**Gambar 4.1** Prosedur Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 7,4

### 4.7.2 Pengembangan Formulasi Niosom Pterostilben



**Gambar 4.2** Skema pengembangan formulasi niosom pterostilbe

#### 4.7.3 Karakterisasi Niosom Pterostilben



**Gambar 4.3 Skema karakterisasi niosom pterostilben**

#### 4.8 Rancangan Formula

Pada pembuatan niosom pterostilben, digunakan tiga kelompok formula dengan perbedaan konsentrasi surfaktan non ionik dan tiga kelompok kontrol tanpa kadungan pterostilben. Berikut ini adalah rancangan formula untuk pembuatan niosom pterostilben :

**Tabel 4.1 Rancangan formulasi niosom pterostilben**

Kelompok	Pterostilben (g)	Surfaktan non ionik (g)	Kolesterol (g)	Soya lecithin (g)
1	0,14	2	0,5	2
2	0,14	4	0,5	2
3	0,14	6	0,5	2
K1	-	2	0,5	2
K2	-	4	0,5	2
K3	-	6	0,5	2

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi surfaktan non ionik 2 g, F2= konsentrasi surfaktan non ionik 60 4 g, F3= konsentrasi surfaktan non ionik 6 g

## 4.9 Karakterisasi Niosom Pterostilben

### 4.9.1 Organoleptis

#### Tujuan

Uji organoleptis dari niosom pterostilben dilakukan untuk mengetahui kondisi fisik dari niosom yang dihasilkan secara visual.

#### Metode

Pengamatan organoleptis dari niosom pterostilben dilakukan secara visual, yaitu meliputi warna dan bau.

#### Interpretasi Hasil

Niosom pterostilben tidak berbau, berwarna putih sampai kekuningan.

### 4.9.2 Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

#### Tujuan

Analisis ukuran partikel bertujuan untuk mengetahui ukuran dan rentang distribusi ukuran partikel niosom pterostilben.

#### Metode

Metode dilakukan dengan cara 100  $\mu$ L sampel niosom diencerkan menggunakan 4 mL larutan buffer fosfat pH 7,4 untuk menghasilkan intensitas hamburan yang tepat dan divorteks selama kurang lebih 30 detik, kemudian sampel dianalisis menggunakan metode *dynamic light scattering* (DLS) atau penghamburan sinar menggunakan *particle size analyzer* (PSA). Pengukuran dilakukan pada suhu 25°C sebanyak 3 set replikasi (Alvi dkk, 2010)

### Interpretasi Hasil

Ukuran niosom pterostilben berada pada rentang 50 nm-600 nm dan Indeks polidispersitas < 0,7 (homogen); > 0,7 (heterogen).

#### 4.9.3 Potensial Zeta

##### Tujuan

Analisis potensial zeta bertujuan untuk mengukur kemungkinan stabilitas penyimpanan dispersi niosom.

##### Metode

Analisis potensial zeta dapat dilakukan dengan menggunakan *zeta potential analyzer* atau zeta meter. 100  $\mu$ L sampel niosom diencerkan menggunakan 4 mL larutan buffer fosfat pH 7, dan divorteks selama kurang lebih 30 detik, lalu diukur menggunakan instrumen sebanyak 3 set replikasi. Analisis dilakukan pada suhu 25°C (Alvi dkk, 2010).

##### Interpretasi Hasil

Nilai potensial zeta yang dihasilkan adalah  $\pm 20 - 30$  mV.

#### 4.10 Uji Difusi

##### Tujuan

Uji *in vitro* difusi ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan difusi niosom dalam penetrasi ke kulit sebagai pembawa pterostilben dan untuk mengetahui pelepasan pterostilben dari niosom.

##### Metode

*In vitro* difusi ini dilakukan menggunakan *Franz diffusion cell*. Sampel niosom diletakkan pada membran kulit ular antara kompartemen donor dan reseptor yang mengandung larutan buffer fosfat pH 7,4 pada suhu  $37\text{C}\pm 5\text{C}$  dengan kecepatan 200 rpm. Setelah itu, pada kompartemen reseptor diambil menggunakan *syringe* dalam interval waktu 15, 30, 45, 60, 90, dan 120 menit sebagai sampel. Media digantikan dengan larutan buffer fosfat pH 7,4 sesuai dengan volume yang diambil. Sampel dianalisis menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan (Desnita, Lestiawati, dan Apridamayanti., 2015).

#### Interpretasi Hasil

Niosom pterostilben berdifusi melewati membran dan pterostilben dapat terlepas dari jerapan niosom.

### 4.11 Analisis Data

#### 4.11.1 Analisis deskriptif

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dibandingkan dengan persyaratan-persyaratan yang sudah terdapat dalam literatur atau didasarkan pada kemampuan peneliti dalam mengekspresikan persepsi produk yang dihasilkan.

#### 4.11.2 Analisis Statistika

##### a. Uji Distribusi Normal

Metode yang digunakan untuk mengetahui data hasil evaluasi dalam penelitian ini memiliki distribusi normal atau tidak adalah *Shapiro-Wilk*. Data termasuk ke dalam kriteria berdistribusi normal jika nilai

kemaknaannya ( $p > 0,05$ ). Metode *Shapiro-Wilk* ini digunakan untuk data dengan sampel kecil ( $\leq 50$ ) (Dahlan, 2009).

#### **b. Uji Homogenitas Varians**

Metode yang digunakan untuk mengetahui data hasil evaluasi dalam penelitian mempunyai varians sama atau tidak adalah *Levene's test* (uji varians). Uji varians digunakan untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data punya varians yang sama atau tidak. Jika nilai hasil uji varians menghasilkan nilai  $p > 0,05$ , maka varian dari data yang diuji adalah sama (Dahlan, 2009).

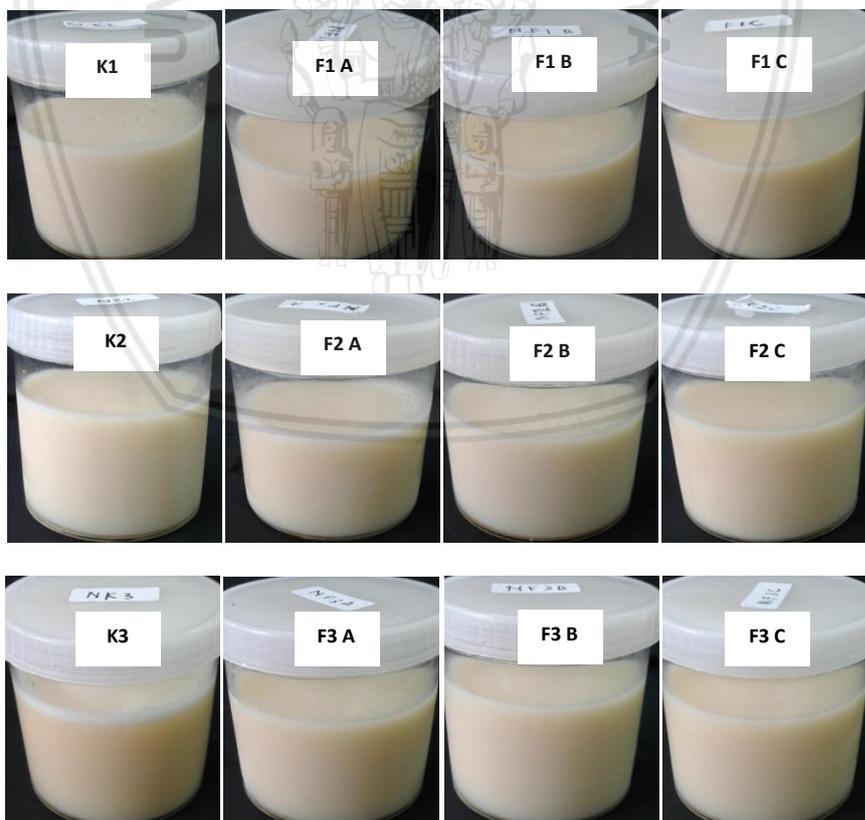
#### **c. Uji One-Way Anova**

Data hasil evaluasi dianalisis menggunakan aplikasi SPSS. Metode yang digunakan adalah *One-Way ANOVA* dengan syarat data homogen dan sebaran data mengikuti distribusi normal. Uji *One-Way ANOVA* adalah uji statistik yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dari data yang lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Pengujian ini dilakukan untuk menguji adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok dari data hasil penelitian. Data dikatakan memiliki perbedaan yang bermakna apabila nilai  $p < 0,05$  dan tidak bermakna apabila nilai  $p > 0,05$  (Dahlan, 2009).

## BAB 5 HASIL DAN ANALISI DATA

### 5.1 Niosom Pterostilben

Pembuatan niosom pterostilben menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Niosom pterostilben dibuat dengan komposisi Span 60, kolesterol, soya lecithin, pelarut kloroform dan media hidrasi larutan buffer fosfat pH 7,4. Hasil penimbangan masing-masing bahan tiap formula dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Proses pembuatan niosom pterostilben dengan metode hidrasi lapis tipis dapat dilihat pada **Lampiran 3**. Hasil akhir suspensi niosom pterostilben ditunjukkan pada **Gambar 5.2**.



Gambar 5.1 Hasil Niosom Pterostilben

## 5.2 Hasil Evaluasi Niosom Pterostilben

### 5.2.1 Organoleptis

Evaluasi organoleptis niosom pterostilben dilakukan dengan pengamatan secara visual, meliputi bentuk, warna, dan bau. Deskripsi hasil evaluasi organoleptis niosom pterostilben ditunjukkan pada **Tabel 5.1**.

**Tabel 5.1 Hasil evaluasi organoleptis niosom pterostilben**

Kelompok	Organoleptis		
	Bentuk	Warna	Bau
K1	Cair	Kuning pucat	Khas soya lecithin
K2	Cair	Kuning pucat	Khas soya lecithin
K3	Cair	Kuning pucat	Khas soya lecithin
F1	Cair	Kuning pucat	Khas soya lecithin
F2	Cair	Kuning pucat	Khas soya lecithin
F3	Cair	Kuning pucat	Khas soya lecithin

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

### 5.2.2 pH Niosom Pterostilben

Pengukuran pH dari sediaan niosom pterostilben diukur menggunakan pH meter SCHOTT. Indikator pH dinetralkan menggunakan aquadest, kemudian dicelupkan ke dalam larutan buffer standar pH 7 terlebih dahulu untuk memastikan alat berfungsi dengan baik. Setelah itu, indikator pH di celupkan ke dalam niosom pterostilben. Hasil pengukuran pH terdapat pada **Tabel 5.2**.

**Tabel 5.2 Hasil Pengukuran pH Niosom Pterostilben**

Kelompok	Spesifikasi	pH (rata-rata $\pm$ SD)
K1		9
K2		9.204
K3	5 – 8	9.405
F1		9.0633 $\pm$ 0.2117
F2		9.1957 $\pm$ 0.1296
F3		9.4610 $\pm$ 0.0367

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

Berdasarkan tabel tersebut, hasil pengukuran pH sediaan niosom pterostilben tidak memenuhi spesifikasi pH yang diinginkan, pH niosom pterostilben berada pada rentang pH  $\pm$  9. Pada F3 dan K3 yang menggunakan konsentrasi Span 60 paling tinggi memiliki nilai pH lebih tinggi. Pengukuran pH niosom pterostilben dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

### 5.2.3 Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi Span 60 sebagai komponen niosom pterostilben untuk melihat pengaruhnya terhadap ukuran partikel dan indeks polidispersitas yang dihasilkan. Ukuran partikel dan indeks polidispersitas dari niosom pterostilben diukur menggunakan *Particle size analyzer* Malvern Zetasizer Nano Series dengan metode *dynamic light scattering*. Niosom pterostilben diambil sebanyak 100  $\mu$ L menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam 4 mL larutan buffer fosfat pH 7,4 dalam valcon, lalu divortex selama  $\pm$  30 detik. Ukuran partikel niosom pterostilben ditunjukkan pada **Tabel 5.3** dan indeks polidispersitas ditunjukkan pada **Tabel 5.4**.

**Tabel 5.3 Hasil Ukuran Partikel Niosom Pterostilben**

Kelompok	Spesifikasi (nm)	Ukuran Partikel (nm)			Rata-rata $\pm$ SD
		A	B	C	
K1	51 – 599	306.7	303.2	303.3	304.4 $\pm$ 1.99
K2		264.1	265.2	264.8	264.7 $\pm$ 0.56
K3		274.5	275.6	280.8	276.97 $\pm$ 3.37
F1		324.77	315.90	311.87	317.51 $\pm$ 6.59
F2		279.00	262.63	301.87	281.17 $\pm$ 19.71
F3		236.33	227.90	241.53	235.25 $\pm$ 6.88

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

**Tabel 5.4 Hasil Indeks Polidispersitas Niosom Pterostilben**

Kelompok	Spesifikasi	PDI			Rata-rata $\pm$ SD
		A	B	C	
K1	0,05 - 0,700	0.465	0.448	0.446	0.453 $\pm$ 0.010
K2		0.430	0.397	0.444	0.424 $\pm$ 0.024
K3		0.386	0.384	0.378	0.383 $\pm$ 0.004
F1		0.479	0.448	0.351	0.426 $\pm$ 0.067
F2		0.218	0.437	0.428	0.361 $\pm$ 0.124
F3		0.248	0.266	0.267	0.260 $\pm$ 0.011

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

Berdasarkan data tabel di atas, hasil ukuran partikel dan indeks polidispersitas berada dalam spesifikasi yang diinginkan. Hasil ukuran partikel berada pada rentang 337 – 223 nm. Ukuran partikel dari yang terkecil berturut adalah F3, F2, dan F1, dimana ditunjukkan penurunan ukuran partikel dengan bertambahnya konsentrasi Span 60 yang digunakan. Hasil indeks polidispersitas berada pada rentang 0,250 - 0,500. Hasil pengukuran ukuran partikel dan indeks polidispersitas dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

#### 5.2.4 Potensial Zeta

Pengukuran potensial zeta dilakukan menggunakan alat *Particle size analyzer* Malvern Zetasizer Nano Series dengan teknik gabungan antara *electrophoresis* dan *laser Doppler electrophoresis*. Sampel yang digunakan untuk pengukuran potensial zeta adalah sampel yang digunakan untuk pengukuran ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Hasil pengukuran potensial zeta niosom pterostilben ditunjukkan pada **Tabel 5. 5**.

**Tabel 5.5 Hasil Pengukuran Potensial Zeta**

Kelompok	Spesifikasi	Potensial Zeta ( - mV)			Rata-rata $\pm$ SD
		A	B	C	
K1	> + 20	21.6	24.2	22.7	22.8 $\pm$ 1.3

<b>K2</b>	sampai	18.8	22.4	21.7	21.0 ± 1.9
<b>K3</b>	dengan 30	13.6	15.4	16.1	15.0 ± 1.3
<b>F1</b>	mV dan > -	24	22.8	22.5	20.9 ± 2.3
<b>F2</b>	20 sampai	19.8	22.6	22.4	21.6 ± 1.6
<b>F3</b>	30 mV	17.2	18.7	18.1	18.0 ± 0.76

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

Berdasarkan tabel tersebut, ditunjukkan bahwa nilai potensial zeta yang dihasilkan oleh sediaan niosom pterostilben beberapa tidak berada pada rentang spesifikasi yang diinginkan. Potensial zeta niosom pterostilben berada pada rentang ± 15.0 – 22.0 mV. Nilai potensial zeta yang lebih rendah ditemukan pada F3 dan K3, dimana konsentrasi Span 60 yang digunakan lebih tinggi daripada formula lain.

### 5.3 Uji Difusi *In Vitro*

#### 5.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Pterostilben

Penentuan panjang gelombang maksimal pterostilben dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis Shimadzu pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Didapatkan panjang gelombang maksimum pterostilben berada pada 345 nm. Proses penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

#### 5.3.2 Pembuatan Kurva Baku

Larutan induk yang digunakan untuk penentuan panjang gelombang maksimum, dibuat variasi konsentrasi 5 – 25 mcg/mL kemudian larutan di absorbansi menggunakan panjang gelombang maksimum yang di dapat. Nilai absorbansi yang didapat, dibuat persamaan regresi linier dengan rumus  $y = bx + a$ , dan ditentukan koefisien korelasi ( $r$ ). Didapatkan nilai  $a = -$

0,2615, b (slope)= 0,15098, r (koefisien korelasi)= 0,9987, dan  $r^2 = 0,997$ . Nilai koefisien korelasi yang diperoleh memenuhi syarat linieritas. Hasil absorbansi dan perhitungan regresi linier dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

### 5.3.3 Franz Difussion Cell Type

Pada penelitian ini, metode yang digunakan untuk uji difusi *In vitro* adalah tipe *Franz Difussion Cell*. Berdasarkan uji yang dilakukan, diperoleh konsentrasi pterostilben yang berpenetrasi melewati membran pada menit ke 15, 30, 45, 60, 90, dan 120 berturut-turut adalah 89,8; 103,68; 138,31; 159,31; 175,44; dan 193,65 ppm. Hasil menunjukkan bahwa setelah 2 jam, terdapat 175,44 ppm atau 1,74 mg pterostilben yang terpenetrasi. Proses pengujian *in vitro* difusi dan perhitungan dapat dilihat pada **Lampiran 10**. Terjadi peningkatan konsentrasi pterostilben yang terpenetrasi melewati membran seiring dengan bertambahnya waktu. Hasil uji difusi *in vitro* ditunjukkan pada **Tabel 5.6**.

**Tabel 5.6 Hasil Uji Difusi In Vitro Franz Difussion Cell Type**

Waktu (menit)	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	FP	Konsentrasi sebenarnya (ppm)	Faktor koreksi	Konsentrasi Terkoreksi (ppm)	Ptero (mg)
15	1,617	8,98	10	89,8	-	89,8	0,81
30	1,676	9,37	10	93,7	9,98	103,68	0,93
45	2,192	12,79	10	127,9	10,41	138,31	1,24
60	2,452	14,51	10	145,1	14,21	159,31	1,43
90	2,646	15,79	10	157,9	17,54	175,44	1,58
120	2,921	17,61	10	176,1	17,55	193,65	1,74

## 5.4 Analisis Data

### 5.4.1 One-Way ANOVA

Data hasil evaluasi niosom pterostilben, yaitu ukuran partikel, indeks polidispersitas dan potensial zeta dianalisa menggunakan software

SPSS 20. Metode analisis statistika yang digunakan dalam penelitian ini adalah *One-Way* ANOVA, dengan syarat data mengikuti distribusi normal dan data homogen. Oleh, karena itu, data hasil evaluasi diuji normalitas dan homogenitas varian terlebih dahulu. Uji *One-Way* ANOVA adalah uji statistik parametrik yang digunakan untuk membandingkan rata-rata data yang lebih dari dua kelompok tidak berpasangan. Data dikatakan memiliki perbedaan yang bermakna apabila nilai  $p < 0,05$ .

#### 5.5.1.1 Uji Normalitas

Metode yang digunakan untuk mengetahui normalitas data hasil evaluasi pada penelitian ini adalah *Shapiro-Wilk*. Hasil analisa normalitas data ditunjukkan pada **Tabel 5.7**.

**Tabel 5.7 Hasil Analisis Normalitas *Shapiro-Wilk***

Evaluasi	Kelompok	<i>p</i>	Keterangan
Ukuran partikel	K1	0,922	Distribusi normal
	K2	0,702	Distribusi normal
	K3	0,314	Distribusi normal
	F1	0,593	Distribusi normal
	F2	0,818	Distribusi normal
	F3	0,740	Distribusi normal

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk*, didapatkan nilai signifikansi pada semua kelompok formula dan kontrol adalah lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Nilai tersebut menunjukkan bahwa data hasil evaluasi berdistribusi normal dan dapat dilanjutkan untuk analisa homogenitas varian data.

### 5.5.1.2 Uji Homogenitas

Metode yang digunakan untuk mengetahui homogenitas varians data hasil evaluasi adalah *Lavene's Test*. Hasil uji homogenitas ditunjukkan pada **Tabel 5.8**.

**Tabel 5.8 Hasil Uji Homogenitas *Levene's Test***

Evaluasi	Kelompok	<i>P</i>	Keterangan
Ukuran partikel	Kontrol	0,169	Varian data homogen
	Formula	0,145	Varian data homogen

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben

Berdasarkan data tersebut, pada uji homogenitas *Levene's Test*, didapatkan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) pada semua kelompok kontrol maupun formula. Nilai  $p > 0,05$  menunjukkan bahwa varian data hasil evaluasi adalah homogen dan data memenuhi syarat untuk dianalisa menggunakan metode parametrik *One-Way ANOVA*.

### 5.5.1.3 *One-Way ANOVA*

Pada penelitian ini, data hasil evaluasi yang memiliki varians homogen dan berdistribusi normal akan dianalisa menggunakan metode *One-Way ANOVA* untuk melihat hubungan antara dua kelompok yang dibandingkan. Hasil analisa *One-Way ANOVA* ditunjukkan pada **Tabel 5.9**.

**Tabel 5.9 Hasil Analisa *One-Way ANOVA***

Evaluasi	Kelompok	<i>P</i>	Keterangan
Ukuran partikel	Kontrol	0,000	Signifikan
	Formula	0,001	Signifikan

Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben

Evaluasi ukuran partikel pada kelompok kontrol dan formula memiliki nilai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ), nilai tersebut menunjukkan bahwa paling tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada hasil ukuran partikel terhadap

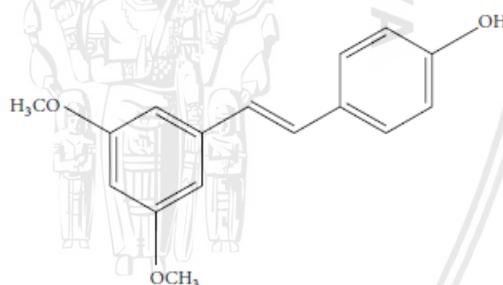
konsentrasi penggunaan Span. Lampiran hasil analisis statistika dapat dilihat pada **Lampiran 11**.



## BAB 6 PEMBAHASAN

### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Pterostilben merupakan analog dari senyawa resveratrol yang memiliki aktivitas kemopreventif pada kanker. Pterostilben berasal dari berbagai spesies tanaman (blueberies dan batang *Pterocarpus marsupium*). Secara struktur yang ditunjukkan pada **Gambar 6.1**, pterostilben memiliki dua gugus metoksi dan satu gugus hidroksil, sehingga mengurangi terjadinya metabolisme konjugasi, hal ini yang menyebabkan pterostilben diperkirakan memiliki waktu paruh lebih panjang daripada resveratrol (Sirerol dkk, 2015).



**Gambar 6.1 Struktur Pterostilben**

Senyawa kimia yang memiliki struktur polifenol seperti beberapa senyawa yang diisolasi dari daun teh hijau, pomegranat dan biji anggur menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dan berpotensi memiliki keuntungan dalam mengatasi berbagai penyakit pada manusia, termasuk kanker. Hal ini yang menyebabkan, senyawa-senyawa tersebut diteliti menjadi bahan tambahan atau bahan aktif utama pada produk *sunscreens* yang dapat menurunkan

imunospuresi dan efek prokarsinogen dari radiasi sinar UV pada kulit (Sirerol dkk, 2015).

Pterostilben dalam penelitian ini diformulasikan untuk menghasilkan niosom pterostilben. Sistem penghantaran niosom diharapkan dapat meningkatkan efek pterostilben dengan mengakomodasi konsentrasi obat lebih baik pada lokasi administrasi, kemampuan adhesi dan penetrasi pterostilben ke kulit. Niosom dapat meningkatkan penetrasi pterostilben melewati kulit dengan cara mengurangi *transepidermal water loss* sehingga dapat mempengaruhi struktur stratum korneum yang kaku dan padat. Penggunaan nanovesikel menunjukkan permeabilitas dan retensi obat ke kulit lebih baik daripada sediaan yang tidak menggunakan nanovesikel (Hamishehkar, Yahya, dan Maryam, 2013). Menurut Lakshmi dkk (2011), dalam penelitiannya yang memformulasikan sediaan topikal gel niosom untuk terapi psoriasis menunjukkan bahwa obat mampu berdifusi melewati kulit dan terdeposisi dikulit lebih baik dibandingkan dengan gel biasa, sehingga dapat meningkatkan efek terapi. Niosom juga dapat melindungi bahan aktif yang kurang stabil secara kimia, seperti fotodegradasi (Manconi dkk, 2003). Pada penelitian ini, pterostilben dapat dengan mudah teroksidasi jika terpapar cahaya. Sehingga formulasi niosom pterostilben dapat diharapkan dapat melindungi pterostilben dari oksidasi karena cahaya dan dapat meningkatkan efek terapi dari pterostilben (Zhang dkk, 2014).

Pada penelitian ini, Span 60 dipilih dan digunakan sebagai surfaktan non ionik yang merupakan komponen utama dalam pembuatan niosom. Maka, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi Span 60 sebagai surfaktan non ionik terhadap karakteristik ukuran partikel niosom pterostilben. Dalam penelitian ini, selain menggunakan span 60, digunakan juga

kolesterol dan soya lecithin sebagai penyusun dinding bilayer vesikel niosom. Pengembangan formulasi niosom dibedakan menjadi 3 variasi konsentrasi Span 60, yaitu formula 1, formula 2, dan formula 3 berturut-turut 2 g, 4 g, dan 6 g dengan konsentrasi lipid yang tetap, yaitu 0,5 g kolesterol : 2 g soya lecithin = 2 : 8. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Shatalebi (2010), Span 60 menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan Span 40 dan lebih besar dibandingkan dengan Span 80. Selain itu Span 60 memiliki efektivitas penyerapan lebih baik daripada Span 80, dimana pada niosom menggunakan Span 80 mudah terjadi kebocoran pada vesikel dikarenakan ukurannya yang terlalu kecil. Ukuran vesikel yang lebih kecil juga ditunjukkan oleh penggunaan konsentrasi Span yang relatif lebih tinggi, hal ini mungkin dapat digambarkan karena pembentukan vesikel yang lebih mudah dan/atau kemampuan surfaktan pada kondisi tertentu yang mengakomodasi pembentukan struktur vesikel lebih baik.

Sebelumnya, penulis menggunakan span 80 sebagai surfaktan non ionik dalam pembuatan niosom pterostilben, namun penelitian tidak dilanjutkan karena dalam proses pembuatan niosom menggunakan span 80 tidak terbentuk lapis tipis yang menempel pada dinding labu alas bulat dan tidak terjadi pembentukan vesikel saat proses hidrasi. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor dari karakteristik surfaktan, yaitu nilai HLB dan suhu transisi fase gel-likuid. Tidak terbentuknya lapis tipis pada dinding labu alas bulat, dapat disebabkan dari suhu transisi fase gel-likuid span 80 yang sangat rendah, yaitu -12 °C. Berdasarkan literatur, suhu transisi fase gel-likuid surfaktan non ionik dapat mempengaruhi proses pembentukan niosom. Suhu transisi fase gel-likuid yang rendah tidak dapat membentuk fase gel pada suhu ruang tanpa kolesterol

dengan konsentrasi tinggi (Khoee dan Morteza, 2017). Pada proses hidrasi, didapatkan bahwa campuran lipid yang terdiri dari span 80 dan kolesterol memisah dengan media hidrasi dan tidak membentuk vesikel. Tidak terbentuknya vesikel niosom pada penggunaan span 80 mungkin disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu tidak terbentuknya struktur lipid bilayer karena kurangnya bahan pembentuk dinding bilayer niosom dan nilai HLB span 80 yang lebih kecil. Oleh karena itu, pada pembuatan niosom menggunakan span 60 ditambahkan lesitin yang diharapkan dapat meningkatkan stabilitas fisik niosom pterostilben. Lesitin dalam komponen niosom dapat meningkatkan kerapatan struktur dinding bilayer, sehingga dapat mencegah terjadinya kebocoran pada vesikel (Yadav dkk, 2010). Nilai HLB span 80 yang lebih kecil dapat menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil, namun dapat meningkatkan kebocoran atau rusaknya vesikel (Shatalebi dkk, 2010).

Komponen soya lecithin dalam niosom juga dapat mempengaruhi ukuran partikel. Terjadi penurunan diameter vesikel dengan peningkatan konsentrasi soya lecithin. Hal ini kemungkinan dikarenakan adanya peningkatan hidrofobisitas (Chowadry dkk, 2013). Ukuran partikel merupakan karakteristik penting dari sebuah nanovesikel, dimana dapat mempengaruhi stabilitas, efektivitas penyerapan, profil pelepasan obat, distribusi adesi di kulit. Hal ini yang menjadikan ukuran partikel sebagai penentu formula optimum dalam penelitian.

Niosom pterostilben diformulasikan dengan metode hidrasi lapis tipis. Metode hidrasi lapis tipis merupakan metode yang paling sering digunakan dalam pembuatan nanovesikel, dikarenakan metode ini simple dan praktis serta mampu menghasilkan partikel kecil yang seragam. Pada metode hidrasi lapis tipis terjadi pembentukan lapis tipis dan proses hidrasi sehingga terbentuk

vesikel. Pterostilben, span, kolesterol, dan soya lecithin dilarutkan dalam pelarut organik yang kemudian dievaporasi untuk menghilangkan pelarut organik sampai membentuk lapis tipis di dinding alas bulat. Pemilihan penggunaan kloroform sebagai pelarut organik dalam penelitian ini berdasarkan kelarutan bahan-bahan yang digunakan, yaitu span 60, kolesterol, pterostilben, dan soya lecithin. Luas lapis tipis yang terbentuk pada dinding labu alas bulat mungkin akan memengaruhi efektivitas penyerapan vesikel. Proses hidrasi merupakan salah satu titik kritis pembentukan vesikel pada metode ini. Penambahan fase aqueous pada proses hidrasi ke dalam lapis tipis menyebabkan pengembangan bilayer dari campuran lipid dan secara bersamaan akan membentuk vesikel karena adanya interaksi fase air dengan gugus polar molekul surfaktan. Interaksi antara air dan bilayer, akan menghasilkan struktur vesikel yang akan memisah dengan sendirinya (Singh dkk, 2012). Pada penelitian ini digunakan larutan buffer fosfat pH 7,4 sebagai media hidrasi lapis tipis. Media hidrasi yang dapat digunakan dalam pembuatan niosom adalah larutan buffer dan gliserin 0,1%. Pemilihan larutan buffer fosfat pH 7,4 sebagai media hidrasi dikarenakan media hidrasi dengan fase air akan mempercepat proses hidrasi. Selain itu, larutan buffer fosfat dengan pH 7,4 mensimulasikan kondisi cairan fisiologis tubuh yang mendekati netral (Moss, Gullick, dan Wilkinson., 2015). Suhu saat proses hidrasi pada penelitian ini adalah  $\pm 65^{\circ}$  C, dimana suhu ini lebih tinggi dari suhu transisi gel likuid Span 60. Suhu hidrasi memengaruhi bentuk dan ukuran partikel niosom. Dalam pembuatan niosom, suhu yang digunakan biasanya harus di atas suhu transisi fase gel likuid dari surfaktan yang digunakan (Debnath dan Anup, 2015). Setelah hidrasi, dilanjutkan dengan pengecilan ukuran menggunakan *ultra turrax* dan sonikator, Vesikel yang terbentuk setelah di *ultra turrax* dan disonikasi

menunjukkan ukuran yang lebih kecil dan distribusi ukuran partikel yang lebih homogen (Yeo dkk, 2019).

Niosom pterostilben yang dihasilkan kemudian di uji karakteristik organoleptisnya. Tidak terdapat perbedaan secara visual pada formula (F) dan kontrol (K) niosom pterostilben. Analisis secara visual, didapatkan bahwa niosom pterostilben berbentuk cair dengan warna kuning pucat dan memiliki bau khas soya lecithin. Hal ini kemungkinan dikarenakan komponen niosom yang digunakan pada penelitian ini tidak memiliki warna yang kuat. Warna kuning pucat dan bau khas soya lecithin yang dihasilkan berasal dari penggunaan bahan soya lecithin.

Pengukuran pH dilakukan pada sediaan niosom pterostilben. Spesifikasi pH niosom pterostilben yang diinginkan adalah 5 – 8. Menurut Standar Nasional Indonesia (1996), kulit dengan pH 4,5 – 6,5 dapat mentoleransi dengan baik saat berinteraksi dengan sediaan yang memiliki pH dengan rentang 4,5 – 8. Berdasarkan hasil penelitian, nilai pH niosom pterostilben adalah  $\pm 9$ . Namun nilai pH 9 masih dalam rentang pH internal tubuh yang hampir mendekati normal, yaitu 7-9 (Ali dan Gil, 2013). Peningkatan pH terjadi kemungkinan dikarenakan penggunaan soya lecithin dengan konsentrasi yang cukup tinggi. Berdasarkan penelitian Budai dkk (2013), soya lecithin akan terionisasi dan menghasilkan nilai pH yang dipengaruhi oleh muatan energi permukaan. Nilai pH dapat mempengaruhi nilai potensial zeta sediaan. Nilai pH yang basa cenderung akan menghasilkan muatan lebih negatif dan muatan lebih positif apabila nilai pH lebih asam (Doymus, 2007). pH medium dalam proses preparasi niosom dapat mempengaruhi ukuran partikel yang dihasilkan. Pada medium dengan pH asam (1,2) dan basa (9,0), ukuran partikel akan mengalami

perubahan secara signifikan, dimana pada 2 jam awal akan meningkat, hal ini mungkin dikarenakan terjadinya fusi/penggabungan. Pada medium dengan pH netral (7,4), ukuran partikel cenderung lebih stabil (Ramana dkk, 2010).

Pada pengujian karakteristik ukuran partikel, didapatkan rata-rata ukuran partikel niosom dari terbesar sampai terkecil berturut-turut, yaitu  $F1 > F2 > F3$  untuk formulasi dengan pterostilben dan  $K1 > K2 > K3$  untuk formulasi kontrol tanpa pterostilben. Ukuran partikel yang dihasilkan memenuhi rentang spesifikasi yang diinginkan, yaitu 50 – 600 nm. Ukuran niosom yang mungkin dihasilkan menggunakan metode hidrasi lapis tipis adalah  $> 50$  nm (Yeo dkk, 2016). Pada umumnya ukuran vesikel  $\geq 600$  nm tidak dapat menghantarkan bahan aktif ke lapisan kulit yang lebih dalam, bahkan dapat menetap pada stratum korneum dan membentuk lapisan lipid pada kulit setelah kering. Nanovesikel dengan diameter  $\leq 300$  nm dapat menghantarkan bahan aktif sampai batas tertentu ke kulit yang lebih dalam (Danaei dkk, 2018). Stabilitas ukuran partikel juga dapat dipengaruhi oleh pemilihan pH medium. Ukuran partikel akan lebih stabil pada medium dengan pH netral (7,4) dan kurang stabil pada medium dengan pH asam (1,2) serta basa (9,0) (Ramana dkk, 2010).

Ukuran partikel dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain proses pengecilan ukuran dan komponen bahan penyusun nanovesikel. Komponen utama niosom adalah surfaktan non ionik. Pemilihan penggunaan surfaktan dalam pembuatan niosom dapat mempengaruhi ukuran partikel yang dihasilkan. Surfakatan dengan nilai HLB yang lebih rendah akan menghasilkan ukuran partikel lebih kecil, hal ini disebabkan karena terjadi penurunan energi bebas permukaan dengan peningkatan hidrofobisitas surfaktan (Tangri dan Khurana, 2011). Pada penelitian ini digunakan surfaktan golongan sorbitan

monoesters, yaitu sorbitan monostearat atau Span 60. Span 60 memiliki nilai HLB 4,7. Pada penelitian yang dilakukan Shatalebi (2010), niosom dengan surfaktan span 60 menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil daripada span 40, dimana nilai HLB Span 40 adalah 6,7. Selain itu, penggunaan span 60 juga menunjukkan efisiensi penyerapan yang lebih baik daripada span 20 dan span 40.

Hasil ukuran partikel kemudian dianalisis statistik *One-Way ANOVA*. Didapatkan hasil analisis statistik nilai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Nilai tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok yang dibandingkan, yaitu konsentrasi span 60 terhadap ukuran partikel. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Shatalebi (2010), vesikel dengan ukuran lebih kecil ditunjukkan pada penggunaan Span dengan konsentrasi relatif lebih tinggi. Hal ini dijelaskan bahwa pembentukan vesikel yang lebih mudah karena dapat mencapai titik misel kritis dengan cepat dan/atau kemampuan surfaktan pada kondisi tertentu yang mengakomodasi pembentukan struktur vesikel lebih baik.

Karakteristik indeks polidispersitas niosom pada penelitian ini, didapatkan nilai yang berada pada rentang spesifikasi yang diinginkan. Nilai indeks polidispersitas niosom dari terbesar hingga terkecil berturut-turut yaitu  $F1 > F2 > F3$ . Indeks polidispersitas (PDI) digunakan untuk menentukan derajat keseragaman distribusi ukuran partikel. Partikel dengan ukuran yang homogen (monodispersi) dapat meningkatkan fungsi nanovesikel untuk menghantarkan obat. Nilai  $PDI \leq 0,05$  menunjukkan standar monodispersi yang tinggi, dan nilai  $PDI \geq 0,7$  mengindikasikan sampel memiliki distribusi ukuran partikel yang sangat luas (Danaei dkk, 2018). Hasil uji karakteristik indeks polidispersitas pada

penelitian ini dapat dipengaruhi oleh adanya proses pengecilan ukuran partikel, seperti penggunaan *ultra turrax* dan sonikator. Hal ini sesuai dengan pendapat yang disampaikan oleh Homaei (2016), metode hidrasi lapis tipis yang menghasilkan multilameral vesikel dapat dikombinasikan dengan metode pengecilan ukuran. Sonikasi salah satu metode yang paling sering digunakan. Selain itu, sonikasi juga dapat menurunkan nilai PDI yang tinggi pada distribusi ukuran partikel.

Pada hasil uji karakteristik potensial zeta, diperoleh nilai potensial zeta dengan rentang  $-15,0$  sampai dengan  $-22,0$  mV. Nilai tersebut berada lebih rendah dari spesifikasi rentang yang diinginkan, yaitu  $\pm 20 - 30$  mV. Pada umumnya, potensial zeta akan bernilai negatif atau lebih rendah pada pH tinggi. pH merupakan salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi nilai potensial zeta (Key, 2012). Nilai potensial zeta yang lebih rendah dari spesifikasi yang diinginkan, kemungkinan dikarenakan pada penelitian tidak menggunakan bahan tambahan yang berfungsi untuk memodifikasi muatan energi suatu vesikel. Terdapat 2 tipe penginduksi muatan, yaitu penginduksi muatan negatif dan positif. Penambahan bahan penginduksi muatan dapat meningkatkan stabilitas vesikel, dengan cara mencegah penggabungan vesikel dan memungkinkan untuk meningkatkan nilai potensial zeta. Sterylamine dan cetylpyridinium chloride merupakan contoh bahan penginduksi muatan positif yang sering digunakan, sedangkan penginduksi muatan negatif yang sering digunakan adalah dicetylphosphate, dihexadecyl phosphate dan lipoamine acid (Sankhyan dan Pravin, 2012).

Niosom pterostilben yang dihasilkan kemudian di uji difusi *in vitro* dengan metode *Franz Diffusion Cell*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui

konsentrasi pterostilben yang berpenetrasi melewati membran, maka dilakukan pengambilan sampel sebanyak 1 mL di kompartemen reseptor pada menit ke 15, 30, 45, 60, 90, dan 120. Didapatkan konsentrasi pterostilben berturut-turut adalah 89,8; 103,68; 138,31; 159,31; 175,44; dan 193,65 ppm. Setelah 2 jam, konsentrasi pterostilben yang terpenetrasi kurang dari konsentrasi yang seharusnya. Hal ini terjadi kemungkinan karena pterostilben belum sepenuhnya terpenetrasi setelah 2 jam, selain itu pterostilben yang berdifusi mungkin sebagian tertinggal dalam jaringan yang digunakan sebagai membran (Anggraeni, 2013).

## **6.2 Keterbatasan Penelitian**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan pembahasan di atas, terdapat beberapa keterbatasan terhadap penelitian ini. Pada formulasi niosom pterostilben, hanya digunakan surfaktan non ionik dari golongan span dan hanya digunakan secara tunggal. Selain itu pada penelitian ini tidak diketahui stabilitas dan efisiensi penyerapan dari niosom pterostilben. Uji stabilitas dilakukan untuk mengetahui kondisi penyimpanan yang direkomendasikan dan masa penggunaan dari niosom pterostilben. Adanya pengujian efisiensi penyerapan dapat mengetahui kadar bahan aktif pterostilben dalam niosom.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa surfaktan non ionik yang dapat digunakan dalam penelitian adalah span 60 dan formulasi optimum niosom pterostilben yang diperoleh adalah niosom dengan span 60 sebagai surfaktan non ionik dengan konsentrasi 6 g.

#### 7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini, antara lain:

1. Dapat dilakukan pengembangan formulasi niosom pterostilben menggunakan variasi jenis-jenis surfaktan non ionik dari golongan Span maupun golongan lain seperti *ether linked surfactant* dan polysorbates secara tunggal ataupun campuran.
2. Dapat dilakukan pengembangan karakterisasi uji stabilitas niosom pterostilben.
3. Dapat dilakukan uji penetapan kadar bahan aktif pterostilben.
4. Dapat dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas farmakologis lain dari pterostilben.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, Saba M. dan Gil Yosipovitch. Skin pH: Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Derm Venereol.* 2013. 93: 261.
- Almeida, Isabel F dan Bahia, Fernanda M. Evaluation of the Physical stability of two oleogels. *Science Direct International Journal of Pharmaceutics.* 327(2006): 73-77.
- Alvi, Iqrar Ali., Jitender Madan, Dinesh Kaushik, dkk. Comparative study of transfersomes, liposomes, and niosomes for topical delivery of 5-fluorouracil to skin cancer cells: preparation, characterization, in-vitro release, and cytotoxicity analysis. *Anti Cancer Drugs.* 2010. 22(8): 774-772.
- Anggraeni, Y. 2013. *Profil Difusi Natrium Diklofenak dari Sediaan Patch ke Gingiva Sapi.* Lembaga Penelitian dan Pengembangan kepada Masyarakat UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ariquel, Jose Maria Estrela dan Miguel A. Asensi Miralles. 2013. *Pterostilbene (Pter) For Use in The Prevention and/or Treatment of Skin Disease, Damages or Injuries.* Patent Application Publication. United States.
- Budai, Livia., Nora Kaszas, Pal Grof, dkk. Liposomes for Topical Use: A Physico-Chemical Comparison of Vesicles Prepared from Egg or Soy Lecithin. *Scientia Pharmaceutica.* 2013. 81: 1155.
- Cayman Chemical. 2015. *Product Information Pterostilbene.* Cayman Chemical Company. Ann Arbor.
- Chen, Rong-Jane., Yu-Hsuan Lee, Ya-Ling Yeh, Wun-Syuan Wu, Chi-Tang Ho, Chia-Yi LI, Bour-Jr Wang, dan Ying-Jan Wang. Autophagy-inducing effect of pterostilbene: A prospective therapeutic/preventive option for skin disease. *Journal of Food and Drug Analysis.* 2017. 25: 125-133.
- Chowadry, Thulasi G., Harini Chowadry V., Vandana KR., Jayasari V dan Prasanna Raju Y. *In Vitro Dynamics of Ibuprofen Incorporated Proniosomal Gel.* *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research (IJPER).* 47(4): 60-62.
- Dahlan, M Sopiudin. 2009. *Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan.* Salemba Media. Jakarta.
- Danaei, M., M. Dehghankhold, S. Ataei, dkk. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier System. *Journal Pharmaceutics.* 10 (57): 6-7.
- Debnath, Arunima dan Anup Kumar. Structural and Functional significance of Niosome and Proniosome in Drug Delivery System. *International Journal of Pharmacy and Engineering (IJPE).* 2015. 03 (03): 621 – 637.
- Desnita, Rise., Lestiawati, Veni., dan Apridamayanti, Pratiwi. 2015. *Penggunaan Span-40 sebagai Penyusun Niosom Natrium Askorbil Fosfat dalam*



*Sediaan Gel terhadap Penetrasinya secara in vitro*. Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak.

- Doymus, Kemal. The Effect of Ionic Electrolytes and pH on the Zeta Potensial of Fine Coal Particle. *Turk J Chem*. 2007. 31: 592.
- D’Orazio, John., Stuart Jarrett., Alexandra Amaro-Ortiz dan Timothy Scott. UV Radiation and the Skin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013. 14 : 12222-122235.
- Hamishehker, Hamed., Yahya Rahimpour, dan Maryam Kouhsoltani. Niosomes as a propitious carrier for topical drug delivery. *Expert Opinio Drug Delivery*. 2013. 10 (2): 262.
- Harada, Kayo., Murakami, Teruo., Yata Noboru., dan Yamamoto, Shoso. Role of Intercellular Lipids in Stratum Corneum in the Percutaneous Permeation of Drugs. *The Society for Investigative Dermatology, Inc*. 99: 278-282.
- Homaei, Maryam. 2016. *Preparation and Characterization of Giant Niosomes*. Master’s Thesis in Nanotechnology. Departement of Microtehnology and Nanoscience Chalmers University of Technology, Gothenburg.
- HORIBA. 2017. *A Guidebook to Particle Size Analysis*. Horiba Instruments, INC. Irvine.
- Karim, Kazi Masud., Asim Sattwa Mandal, Nikhil Biswas, Arjiit Guha, Sugata Chatterjee, Mamata Behera, Ketousetuo Koutsu. Niosome: A future of targeted drug delivery systems. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2016. 01 (04): 374-380.
- Key, Francis S. 2012. The Influence of pH on Zeta Potential. (Online). (<http://www.silver-colloids.com/Tutorials/Intro/pcs18A.html>). diakses pada 17 Juni 2019).
- Khoee, Sepideh., dan Yaghoobian, Morteza. Niosomes : a novel approach in modern drug delivery systems. *Science Direct*. 2017.
- Khoshnevisan, Kamyar dan Mohammad Barkhi. 2015. *Information about Zeta Potential*. Institute of Agricultural Biotechnology, Nano Departement. Tehran.
- Kumar, Gannu P., dan Rajeshwarno, Pogaku. Nonionic Surfactant Vesicular Systems for Effective Drug Delivery-an overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2011. Vol 1(4): 208-219.
- Lakshmi PK, Devi GS, Bhaskaran S, dkk. Niosomal methotrexate gel in the treatment of localized psoriasis: phase I and phase II studies. *Indian Journal Dermatol Venereol Leprol*. 2007. 3(3): 157.
- Leonardi, Antonio., Bucolo, Claudio., Romanto, Giovanni Luca., Platania, Chiara Bianca Maria., Drago, Filippo., Puglisi, Giovanni., dan Pignatellp, Rosario. Influence of different surfactants on the technological properties and in

vivo ocular tolerability of lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*.

- Li, Yi-Rong., Li, Ahiming., dan Lin, Chi-Chien. Review Article: Effect of resveratrol and pterostilbene on aging and longevity. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. 2017. 00 (00): 6-8.
- Isfardiyana, Siti Hapsah dan Sita Ririn Safitri. Pentingnya Melindungi Kulit dari Sinar Ultraviolet dan Cara Melindungi Kulit dengan Sunblock Buatan Sendiri. *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*. 2014. 03 (02): 126-133.
- Majeed, Muhammed., Beena Bhat, Geetha Kanhangad-Gangadharan, dan Susmithaanand. 2010. *Melanogenesis Inhibition by 3,5-dimethoxy-4'-Hydroxystilbenes and Cosmeceutical Compositions Thereof*. Patent Application Publication. United State.
- Manconi M., Valenti D, Sinico C, dkk. Niosomes as carriers for tretinoin: II. Influence of vesicular incorporation on tretinoin photostability. *International Journal Pharm*. 2003. 260 (2): 261.
- McCormack, Denise., dan David McFadden. A Review of Pterostilbene Antioxidant Activity and Disease Modification. *Hindawi Publishing Corporation*. 2013. 2013: 1-15.
- Moss, Gary Patrick., Gullick, Darren R., dan Wilkinson, Simon C. 2015. *Predictive Methods in Percutaneous Absorption*. Springer. Berlin.
- Muzzalupo, Rita dan Lorena Tavano. Niosomal drug delivery for transdermal targeting: recent advances. *Dove Press Journal*. 2015. 4: 23-33.
- NCBI. 2018a. Chloroform. PubChem Compound Database. (Online). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/chloroform> diakses pada 15 November 2018).
- NCBI. 2018b. Cholesterol. PubChem Compound Database. (Online). (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cholesterol> diakses pada 15 November 2018).
- NCBI, 2018c. Soybean Lecithin. Pubchem Compound Database. (Online). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Soybean-lecithin>. diakses pada 10 Maret 2018).
- Listiyana, Nina. 2015. *Formulasi Vitamin C Menggunakan Sistem Niosom Span 80 dalam Sediaan Gel Untuk Meningkatkan Stabilitas dan Penetrasinya secara In Vitro*. Tugas Akhir. Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Ramana, Lakshmi N., Swaminathan Sethuraman, Udaykumar Ranga, dan Uma M Krishnan. Development of a liposomal nanodelivery system for nevirapine. *Journal of Biomedical Science*. 2010. 17(57): 3-4.

- Ravalika, Veldurthi dan Sailaja, Abbaraju Krishna. Formulation and Evaluation of Etoricoxib Niosomes by Thin Film Hydration Technique and Ether Injection Method. *Nano Biomed Eng.* 2017. Vol 9(3): 242-248.
- Reddy, B. Venkateswara., Sravani. K, Vaishnavi. STP, Srilatha. U, M. Poornima, dan K. Navaneetha. Factors Affecting in Formation of Niosomes. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research.* 2014. 04 (04): 2087-2091.
- RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar). 2007. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia.
- Rowe, Raymond C., Paul J Sheskey, dan Marian E Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition.* Pharmaceutical Press (PhP). Washington.
- Sankhyan, Anehal dan Pravin Pawar. Recent Trends in Niosome as Vesicular Drug Delivery System. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2012. 02(06): 21.
- Shatalebi, M.A., S.A Mostafavi., dan A. Moghaddas. Niosomes as a Drug Carrier for Topical Delivery N-acetyl Glucosamine. *Research in Pharmaceutical Sciences.* 2010. 5 (2).
- Singh, S., S. Tivedi, dan S. Jain. Design And Development of Proniosome Based Transdermal Delivery of Ondansentron Hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Reseach (IJBPR).* 2012. 3(5): 191-195.
- Sirerol, J Antoni., Fatima Feddi., Salvador Mena. dkk. Topical treatment with pterostilbene, a natural phytoalexin, effectively protects hairless mice against UVB radiation-induced skin damage and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine.* 2015. 85 : 1 - 11.
- SNI 16-4399-1996.(1996). Sediaan Tabir Surya. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Tangri, Pranshu dan Khurana, Saffi. Niosomes: Formulation and Evaluation. *International Journal of Biopharmaceutics (IJB).* 2011. 02 (01): 47-53.
- Teselkin, Yu. O., I.V. Babenkova, V.K. Kolhir, A.I, dkk. Dihydroquercetin as a means of antioxidative defence in rats with tetrachloromethane hepatitis. *Phytotherapy Research.* 2000. 14 (3): 160-162.
- Usman, Md. Rageeb Md., Prasanna R. Ghuge, dan Bharat V. Jain. Niosomes: A Novel Trend of Drug Delivery. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences.* 2017. 04 (07): 436-442.
- Wardhani, Lilies Kusuma dan Nanik Sulistyani. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Androdera scandens* (L.) Moq.) Terhadap *SHigella felxneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian.* 2 (1): 4 – 12.

- WHO (World Health Organization). 2018. *WHO Technical Report Series, No. 1010 : Stability Guideline*.
- Khaxhiu, Kledi dan Vojtech Adam. 2015. *Conference Paper: Particle size distribution analyses*. Metallomic Scientific Network. Brno.
- Yadav, Kiran., Deepak Yadav., Kamal Saroha., dkk. Proniosomal Gel: A provesicular approach for transdermal drug delivery. *Scholars Research Library*. 2010. 2(4). 189-198.
- Yeo, Li Key., Cheng Shu Chaw dan Amal Ali Elkorday. The effects of Hydration Parameters and Co-Surfactants on Methylene Blue-Loaded Niosomes Prepared by the Thin Film Hydration Method. *Pharmaceuticals*. 2019. 12(46): 4.
- Yeo, Pei Ling., Soi Moi Chye, Anna Pick Kiong Ling, dan Rhuan Yian Koh. Niosome: A Mini Review on Its Stucture, Properties, Methods of Preparation and Medical Applications. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2016. 8(10): 232.
- Zhang, Yue., Zhenhua Shang, Chunhui Gao, dkk. Nanoemulsion for Solubilization, Stabilization, and *In Vitro* Release of Pterostilben for Oral Delivery. *American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS PharmSciTech)*. 2014. Vol 15(4): 1000-1001.

## Lampiran

## Lampiran 1. Proses Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 7,4

- a. Perhitungan penimbangan bahan

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 = \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\mu \text{ mL}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{136,09} \times \frac{1000}{1000 \text{ mL}}$$

$$\text{massa} = 27,22 \text{ gram}$$

$$\text{NaOH} = \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\mu \text{ mL}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{40} \times \frac{1000}{50 \text{ mL}}$$

$$\text{massa} = 0,4 \text{ gram}$$

- b. Berdasarkan FI V () halaman 1749 – 1750

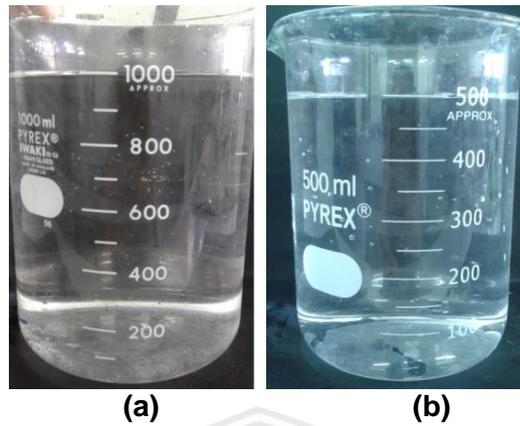
50 mL larutan stok  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M ditambahkan 39,1 mL larutan stok NaOH 0,2 M lalu pH diadjust sampai mencapai pH 7,4 menggunakan larutan stok NaOH atau HCl.

- c. Dokumentasi

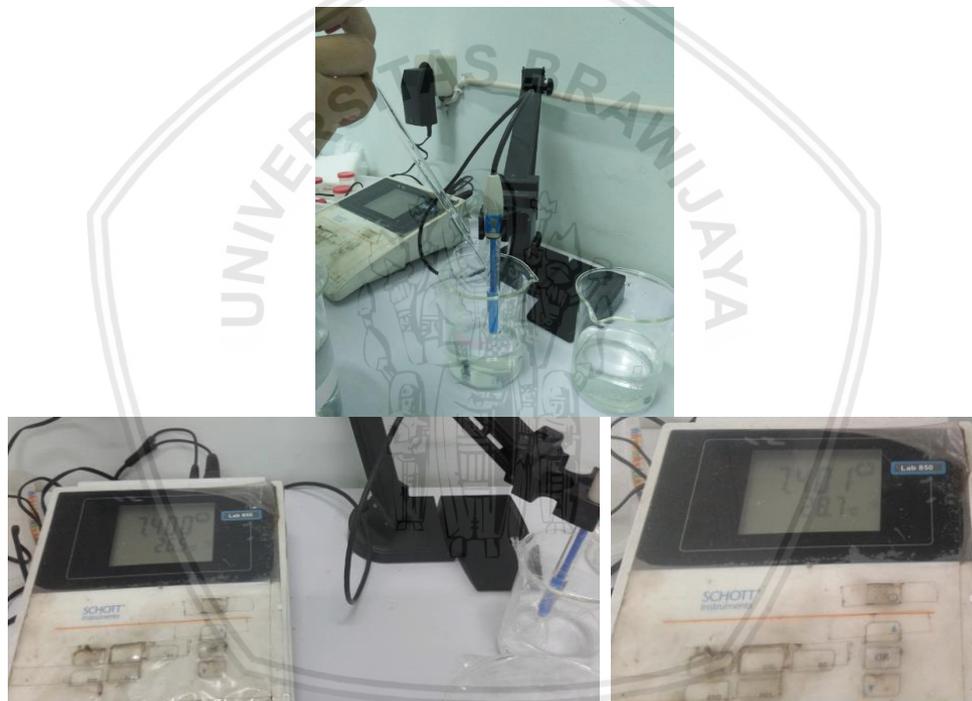


(a)

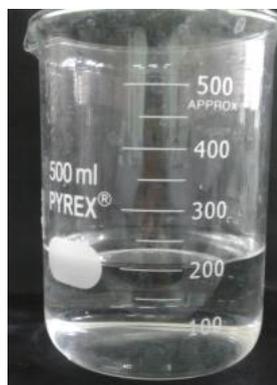
Gambar 1. Penimbangan bahan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (a); dan NaOH (b)



Gambar 2. Larutan stok kalium fosfat 0,2 M (a); dan NaOH 0,2 M (b)



Gambar 3. Pengukuran pH larutan buffer fosfat pH 7,4



Gambar 4. Larutan buffer fosfat pH 7,4.

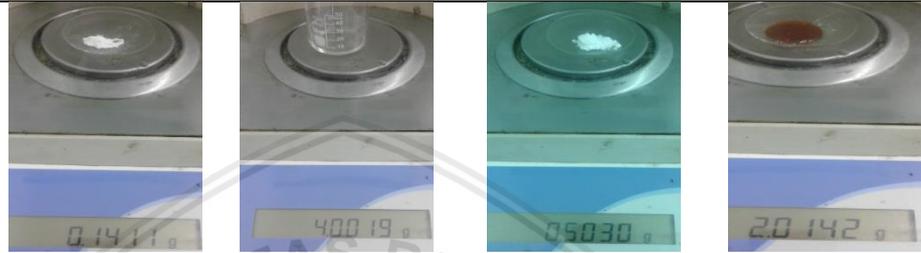
## Lampiran 2. Penimbangan Bahan Komposisi Niosom Pterostilben

Formula	Pterostilben (g)	Span 60 (g)	Kolesterol (g)	Soya Lecithin (g)
F1 A				
F1 B				
F1 C				
K2	-			
F2 A				

F2 B



F2 C



K3



F3 A



F3 B



**F3 C**

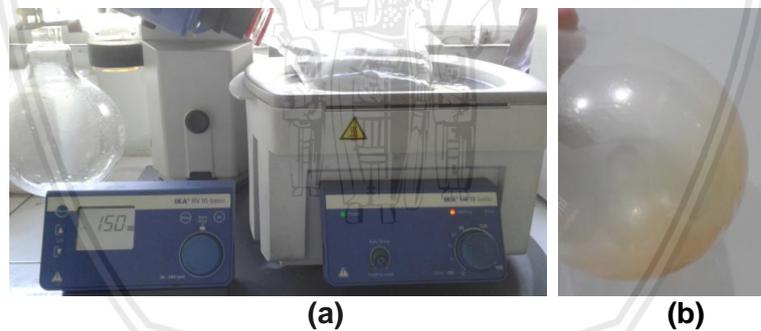


Keterangan: K = tanpa pterostilben, F = dengan pterostilben, F1= konsentrasi Span 60 2 g, F2= konsentrasi Span 60 4 g, F3= konsentrasi Span 60 6 g

### Lampiran 3. Proses Pembuatan Niosom Pterostilben



**Gambar 1.** Campuran lipid yang berisi Span 60, kolesterol, dan pterostilben dalam 13 mL kloroform.



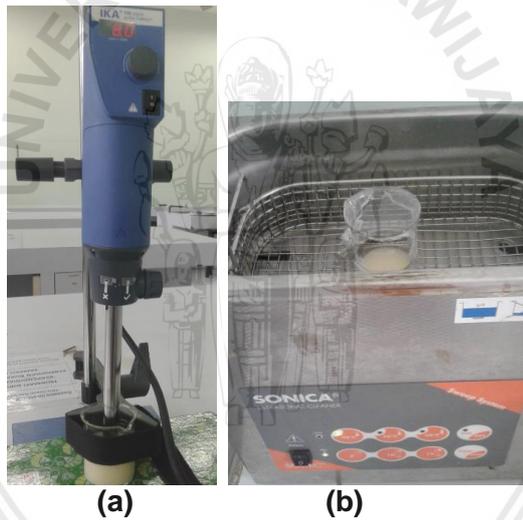
**Gambar 2.** Campuran lipid di evaporasi menggunakan rotari evaporator pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm dan keadaan vakum (a); sampai terbentuk lapis tipis di dinding labu alas bulat (b).



**Gambar 3. Proses hidrasi lapis tipis dengan 50 mL larutan buffer fosfat pH 7,4 menggunakan rotari evaporator tanpa vakum.**



**Gambar 4. Suspensi niosom pterostilben sebelum dilakukan pengecilan ukuran**

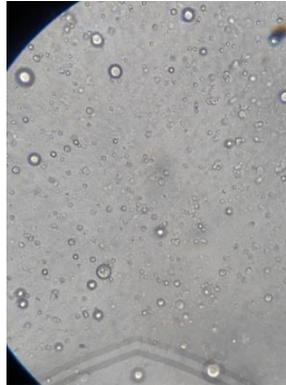


**Gambar 5. Proses pengecilan ukuran menggunakan *ultra turrax* dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit (a); dan menggunakan sonikator pada suhu ruang selama 5 menit (b).**



**Gambar 6. Sediaan niosom pterostilben setelah dilakukan pengecilan ukuran.**

#### Lampiran 4. Pengamatan dengan Mikroskop



**Gambar 1. Pengamatan formula 1 niosom pterostilben di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X.**



**Gambar 2. Pengamatan formula 2 niosom pterostilben di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X.**



**Gambar 3. Pengamatan formula 3 niosom pterostilben di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X.**

Lampiran 5. Dokumentasi Pengukuran pH

Tabel 1. Pengukuran pH

Formulasi	Dokumentasi
F1	
F2	
F3	

<p><b>K1</b></p>	 <p>A digital display from a Schott Instruments Lab 650. The screen shows a large number '920.4' with a degree symbol, and below it, '22.7' with a degree symbol and 'C'. The brand name 'SCHOTT Instruments' is visible below the screen. The device is partially covered with clear plastic tape.</p>
<p><b>K2</b></p>	 <p>A digital display from a Schott Instruments Lab 650. The screen shows the number '19' with a degree symbol, and below it, '23.8' with a degree symbol and 'C'. The brand name 'SCHOTT Instruments' is visible below the screen. The device is partially covered with clear plastic tape.</p>
<p><b>K3</b></p>	 <p>A digital display from a Schott Instruments Lab 650. The screen shows the number '405' with a degree symbol, and below it, '23.8' with a degree symbol and 'C'. The brand name 'SCHOTT Instruments' is visible below the screen. The device is partially covered with clear plastic tape.</p>



## Lampiran 6. Certificate of Analysis

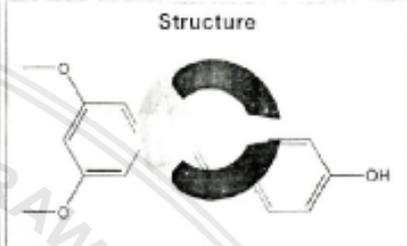
## a. Pterostilben








**Certificate of Analysis**

<b>PRODUCT NAME</b>	Pterostilbene	
<b>PART NUMBER</b>	00016996	
<b>STANDARD TYPE</b>	Food Grade Bulk Material	
<b>LOT NUMBER</b>	ADPEPVSP10030515	
<b>REPORT NUMBER</b>	CDXA-RSS-4651-00	
<b>DATE OF SAMPLE</b>	06/01/2015	
<b>DATE OF REPORT</b>	06/17/2015	
<b>CHEMICAL NAMES</b>	4-[2-(3,5-Dimethoxyphenyl)ethenyl]phenol; 3,5-Dimethoxy-4'-hydroxy-trans-stilbene; 3',5'-Dimethoxy-4-stilbenal	
<b>CHEMICAL FORMULA</b>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	
<b>MOLECULAR WEIGHT (MW)</b>	256.30	
<b>PUBLISHED MELTING POINT</b>	NA	
<b>CHEMICAL FAMILY</b>	Stilbenoids	
<b>CAS NUMBER</b>	[537-42-8]	

**ASSAY RESULTS**

TEST	METHOD	ANALYTE	SPECIFICATION	RESULT
Identity	HPLC (retention time)	Pterostilbene	Conforms	Conforms
Purity	HPLC (area%)	Pterostilbene	NLT 98%	99.2%
Residual Solvents	GC/FID-Headspace	THF	NMT 720 ppm*	ND
		Methanol	NMT 3000 ppm*	ND
		Toluene	NMT 670 ppm*	ND
		Ethyl acetate	NMT 5000 ppm*	ND
		Acetone	NMT 5000 ppm*	ND
		Dichloromethane	NMT 600 ppm*	ND
Heavy Metals	ICP-MS	Hexane	NMT 290 ppm*	ND
		Lead	NMT 0.5 ppm	ND
		Arsenic	NMT 1 ppm	ND
		Cadmium	NMT 1 ppm	ND
Microbial	USP <2021> USP <2021> USP <2022>	Mercury	NMT 1 ppm	ND
		Total Plate Count	NMT 1000 CFU/g	< 10 CFU/g
		Yeast and Mold	NMT 100 CFU/g	< 10 CFU/g
Appearance	NA	E. coli	Absent/10g	Absent/10g
		Color, Form	Off-white to light brown powder	Off-White Powder

ICP Harmonized Analyte Guideline: Impurities, Guideline for Residual Solvents, (310.95), version 4, 01 February 2011. Option 1 limit. Option 2 limit would need to be calculated if Option 3 limit are normal.

\*Result not as precise as specification in instances where ICP-OES data from qualified supplier is used. pTeropure® pterostilbene is synthetic and no heavy metals have historically been detected by ICP-MS.

10005 Mulholland Blvd., Suite G, Irvine, CA 92618 | Tel: 949.419.0288 | Fax: 949.419.0294

ingredients@chromadex.com | www.chromadex.com



**Certificate of Analysis**

**STORAGE CONDITIONS**

**STORAGE** Room Temperature in a dry place.  
**RE-TEST DATE** 04/2018 under the above conditions.

**Matthew  
Moreno**

Copyrighted by Matthew Moreno  
 704-419-4194 | Matthew@chromadex.com  
 704-419-4194 | www.chromadex.com  
 Email: matthew@chromadex.com | Cell:  
 949-201-0781 | 949-419-4194

**REVISION HISTORY**

<u>Revision History</u>	<u>Date of Revision</u>	<u>Document/Changes</u>
00	06/17/2015	New report



## b. Soya Lecithin

		
<b>SOYA LECITHIN LIQUID - STANDARD</b>		
Parameter Code & Description	Specification	Method Of Analysis
<b>ANALYTICAL DATA</b>		
ACID VALUE	Max. 30 KOH / gm	IS : 648(part-1) 1984
PEROXIDE VALUE	Max. 6 meq.	IS: 648(PART-1) 1984
ACETONE INS.	82% Min	USP.NF-18:P2268
TOLUENE INSOLUBLE	0.3% Max	usp.nf-18method:(821)
HEXANE INS.	0.3% Max	USP,NF-18METHOD:1(821)
<b>CONTAMINANTS</b>		
PESTICIDES RESIDUES (*)	10 ppb Max.	
DIOXINS (PCDD/F-TEQ) ppt	0.6 Max. ( In the Fat ) ppt unit	
TOTAL PCB,ppb	40 Max. ( In the Fat )	
HEXANE RESIDUES,ppb	10 Max.	
Pb,ppb	100 Max.	
Cd,ppb	25 Max.	
Hg,ppb	10 Max.	
Cr,ppb	25 Max.	
As,ppb	10 Max.	
Cu,ppm	20 Max.	
Zn,ppm	40 Max.	
(Cu,Zn),ppm	60 Max.	
AROMATIC HYDROCARBONS,ppb	25 Max.	
ORGANOCHLORINATED HYDROCARBONS,ppb	10 Max.	
<b>GMO CONTENT</b>		
GMO CONTENT	Negative	BY PORTEST
<b>MICROBIOLOGICALS</b>		
TOTAL PLATE COUNT	6000 cfu / g Max.	SP:18(PART-1) 1980
COLIFORM	Absent /g	SP:18(PART-4)-1980
E.COLI	ABSENT/G	SP:18(PART-4)-1980
YEAST & MOULDS	100 MAX	SP:18(PART-4)-1980
SALMONELLA	Absent	SP:18(PART-4)-1980

For office use only F103S11 (P)

**Sonic Biochem Extraction Ltd.**  
**A Mittal Group Company**

Corp. Off: 38, Patel Nagar, Indore M.P. PIN-452001 India  
 Phone: 0731-3011400 Fax: 0091-731-2482584

Email: info@sonicbiochem.co.in Website: www.sonicbiochem.co.in  
 Certified by : ISO 22000, HALAL, CERT ID STAR-K-KOSHER



## d. Etanol 96%

Certificate of Analysis		
ETHANOL (96 PER CENT)		
Ethanolium (96 per centum)		
Product number:	25617	Batch number: 13C12-C02
Analysis according to:	Ph. Eur. 01/2008:1317	Expiry date: 03/2016
TESTS AND TEST RESULTS		
Parameter	Specification	Result
<b>CHARACTERS</b>		
Appearance	Colourless, clear, volatile, flammable liquid, hygroscopic	Complies
Character	It burns with a blue, smokeless flame	Complies
Boiling point	About 78 °C	77,7 °C
<b>IDENTIFICATION</b>		
Identification A	It complies with the test for relative density	Complies
Identification B (IR)	The spectrum is identical to the reference spectrum	Complies
Identification C (colour reaction)	After a few minutes, an intense blue colour appears on the paper and becomes paler after 10-13 min.	Complies
Identification D (precipitation reaction)	A yellow precipitate is formed within 30 min.	Complies
<b>TESTS</b>		
Appearance	It is clear and colourless when compared with water R	Complies
Appearance	Dilute 1 ml to 20 ml with water. After 5 minutes the dilution remains clear when compared with water R.	Complies
Acidity or alkalinity	The solution is colourless	Complies
Acidity or alkalinity	The solution is pink	Complies
Relative density	0,805 – 0,812	0,809
Absorbance (UV)	Max. 0,40 at 240 nm	0,245
Absorbance (UV)	Max. 0,30 between 250-260 nm	0,100
Absorbance (UV)	Max. 0,10 between 270-340 nm	0,020
Absorbance (UV)	Examine between 235-340 nm in a 5 cm cell using water as compensation liquid. The curve is smooth.	Smooth
Volatile impurities (CC) - methanol	Max. 200 ppm (v/v)	Not detected
FSBE BVBA – Industrieweg 7 – 2050 Boom – Belgium – Tel +32 (0)3 444 07 20 – Fax +32 (0)3 444 07 29		
Page 1 of 2		

## Certificate of Analysis

## ETHANOL (96 PER CENT)

Batch 12G24-C01

Volatile impurities (GC) - acetaldehyde + acetal	Max. 10 ppm (w/v), expressed as acetaldehyde	Not detected
Volatile impurities (GC) - benzene	Max. 2 ppm (v/v)	Not detected
Volatile impurities (GC) - total of other impurities	Max. 300 ppm (w/v)	Not detected
Residue on evaporation	Max. 25 ppm (w/v) (max. 2,5 mg)	10 ppm (1 mg)
Content	95,1 - 96,9 % (w/v) at 20 °C, calculated from relative density using alcoholometric tables	95,9 % v/v

All tests are executed by the authorized laboratory *Quercus labo BVBA*.

**CONCLUSION:** Product meets the specifications. Batch released.

**RELEASE DATE:** March 19, 2013

for *B. VAN DEN BOSSCH*

*K. Vanneessen*, Industrial Pharmacist / QP  
Quality Assurance Manager

e. **Span 60**



## Specification

---

8.40121.0100 Span® 60 for synthesis

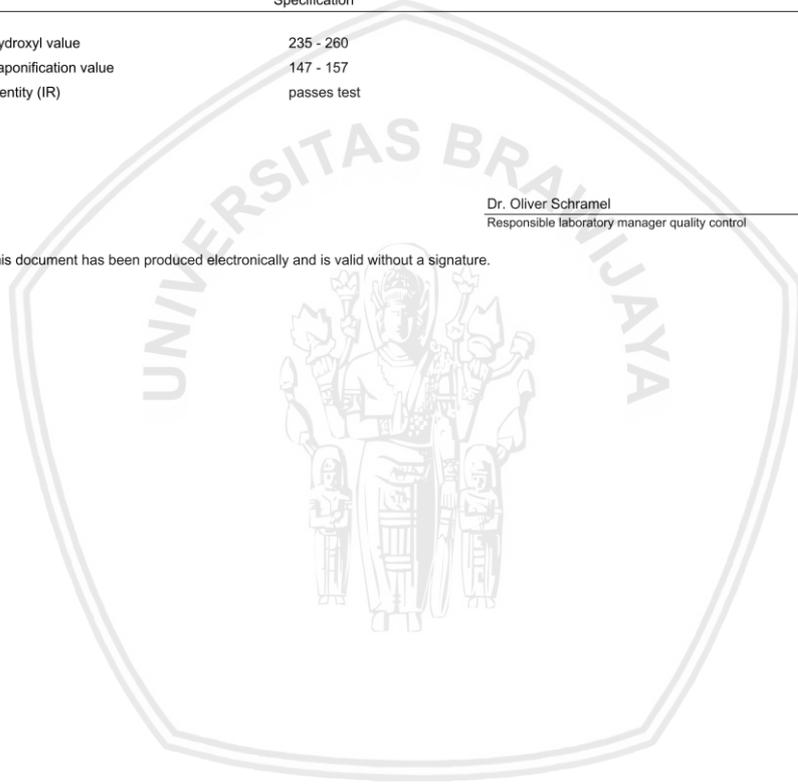
---

Specification	
Hydroxyl value	235 - 260
Saponification value	147 - 157
Identity (IR)	passes test

Dr. Oliver Schramel  
Responsible laboratory manager quality control

---

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Lampiran 7. Hasil Karakterisasi Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

1. F1

a. F1A

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: N F1A 2  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zuffa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 2      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Tuesday, April 2, 2019 2:18:25...

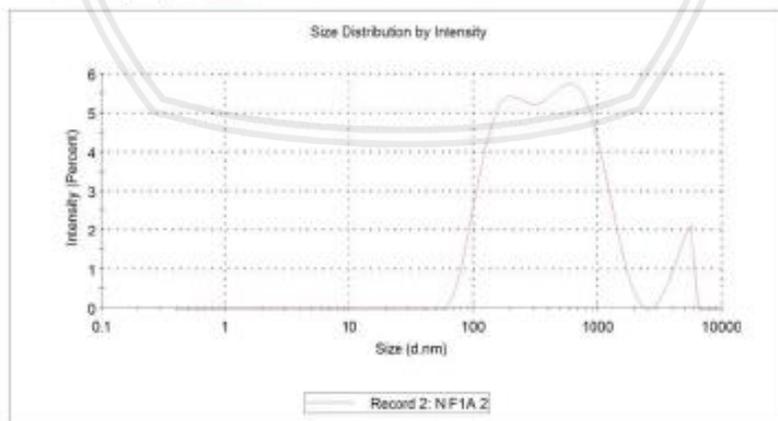
System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 469.7      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 323.0	Peak 1: 687.8	54.8	348.8
Pdl: 0.450	Peak 2: 185.4	39.8	64.80
Intercept: 0.892	Peak 3: 4777	5.5	737.7

Result quality : **Good**



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F1A 3  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

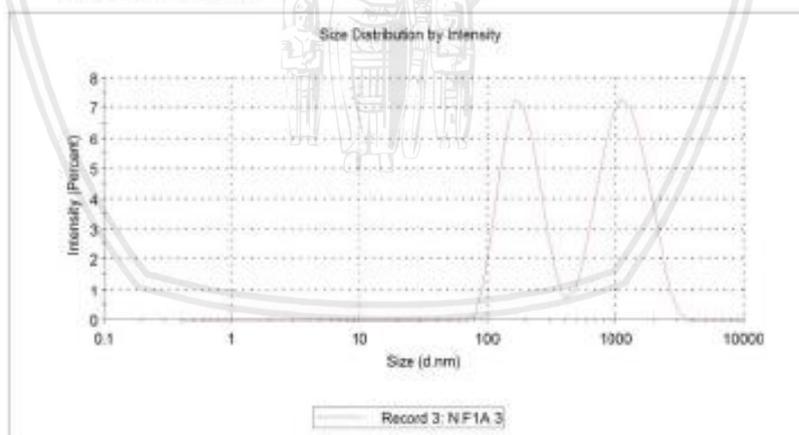
File Name: Zulfe UB 2019.cts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 3      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Tuesday, April 2, 2019 2:20:28...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 464.9      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
<b>Z-Average (d.nm):</b> 324.5	Peak 1: 1221	55.3	513.5
<b>PdI:</b> 0.524	Peak 2: 168.3	44.7	65.47
<b>Intercept:</b> 0.807	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality:</b> Good			



b. F1B

**Size Distribution Report by Intensity**  
v2.2



**Sample Details**

Sample Name: N F1B 1  
SOP Name: mansettings.nano  
General Notes:

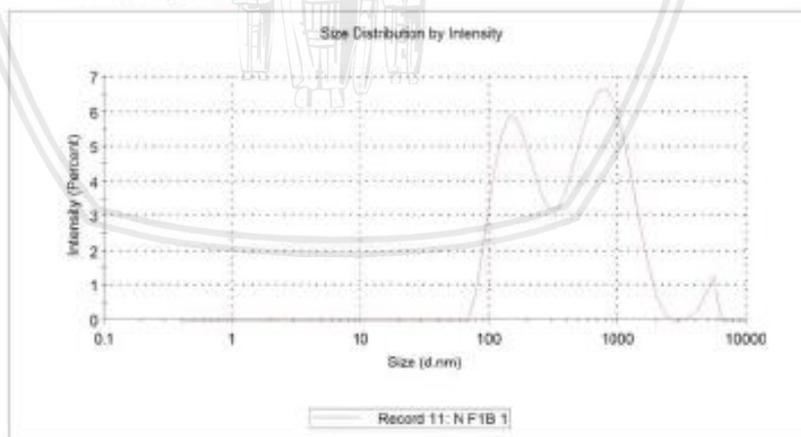
File Name: Zulfa UB 2018.cts      Dispersant Name: Water  
Record Number: 11      Dispersant RI: 1.330  
Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 9:53:30 ...

**System**

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 80  
Count Rate (kcps): 322.9      Measurement Position (mm): 0.65  
Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

**Results**

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm):	316.7		
PdI:	0.498		
Intercept:	0.931		
Result quality:	Good		
	Peak 1:		
	796.7	58.4	384.1
	Peak 2:		
	171.3	39.2	59.67
	Peak 3:		
	5067	2.4	573.7



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F1B 4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zulfa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 14      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 9:59:37 ...

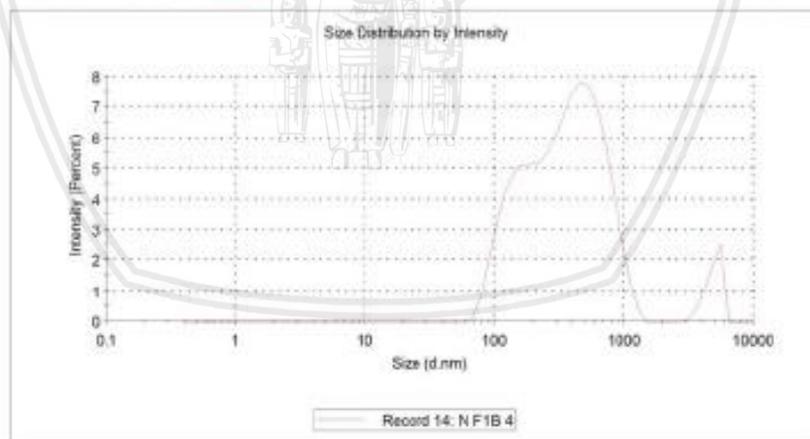
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcpa): 321.3      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

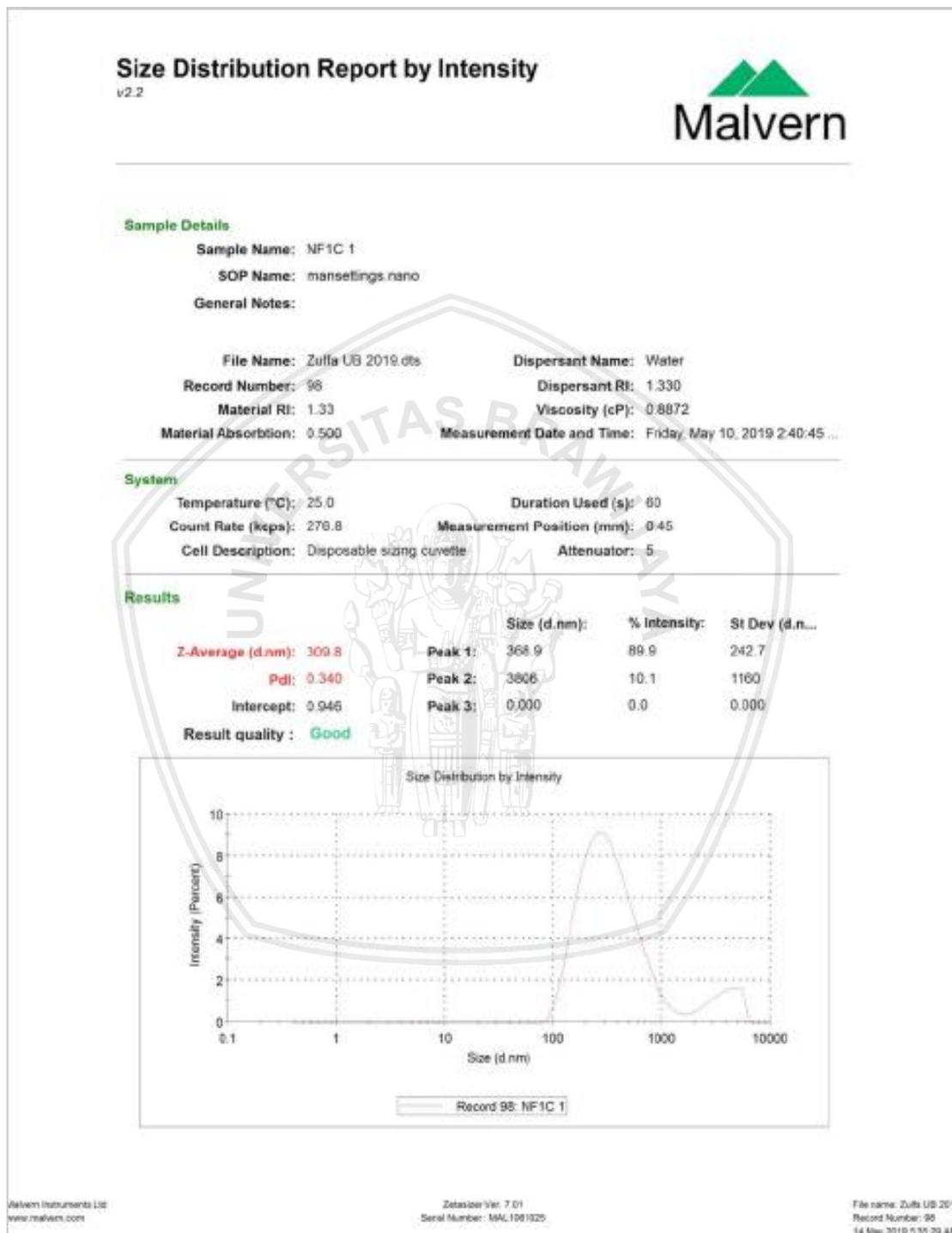
### Results

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm):	315.6		
Pd:	0.389		
Intercept:	0.925		
Peak 1:	398.9	94.0	248.0
Peak 2:	4885	6.0	676.8
Peak 3:	0.000	0.0	0.000

Result quality : **Good**



c. F1 C



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF1C 4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zulfa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 101      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:47:23 ...

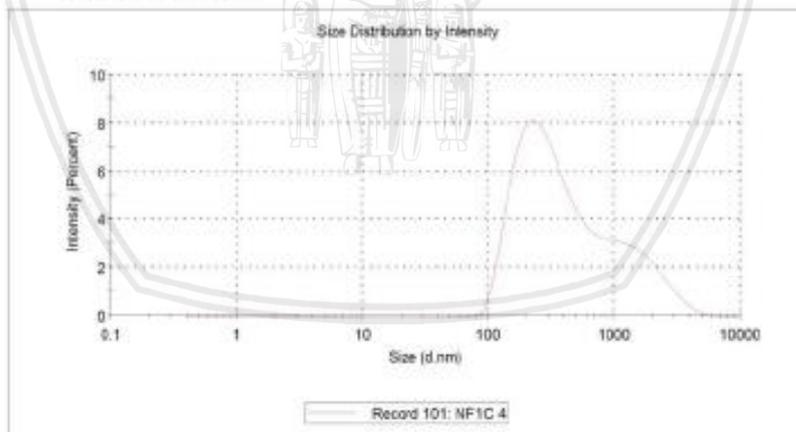
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 280.6      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm):	311.1	100.0	706.8
Pdl:	0.367	0.0	0.000
Intercept:	0.946	0.0	0.000
Peak 1:	639.1		
Peak 2:	0.000		
Peak 3:	0.000		

Result quality : **Good**



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF1C 5  
 SOP Name: manselings.nano  
 General Notes:

File Name: Zulfia UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 102      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:49:36 ..

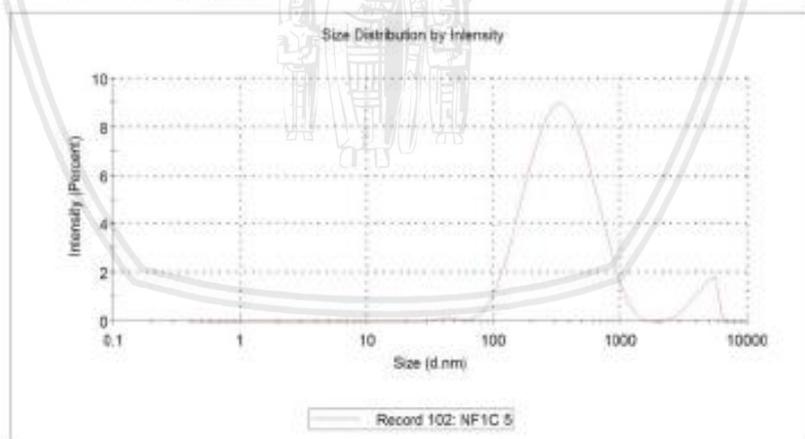
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 277.8      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d,nm)	% Intensity	St Dev (d,nm)
Z-Average (d,nm): 314.7	Peak 1: 382.5	93.1	220.8
Pdi: 0.345	Peak 2: 4509	6.4	881.3
Intercept: 0.943	Peak 3: 44.81	0.5	7.902

Result quality : **Good**



1. F2

a. F2A

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: N F2A 3

SOP Name: mansettings.nono

General Notes:

File Name: Zulfia UB 2019(1).dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 121

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (cP): 0.8872

Material Absorption: 0.500

Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:29:13 ...

System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 258.1

Measurement Position (mm): 0.45

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 5

Results

Z-Average (d.nm): 277.8

Pdi: 0.198

Intercept: 0.950

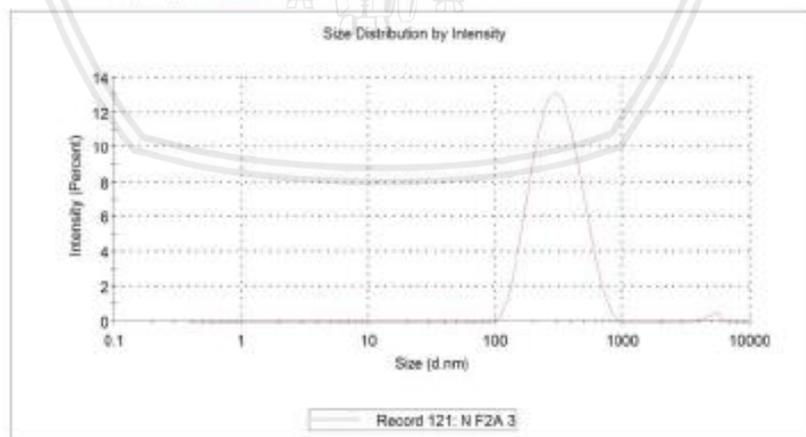
Result quality: Good

Size (d.nm): % Intensity: St Dev (d.nm)

Peak 1: 322.8 98.9 133.3

Peak 2: 5066 1.1 548.9

Peak 3: 0.000 0.0 0.000



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F1B 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

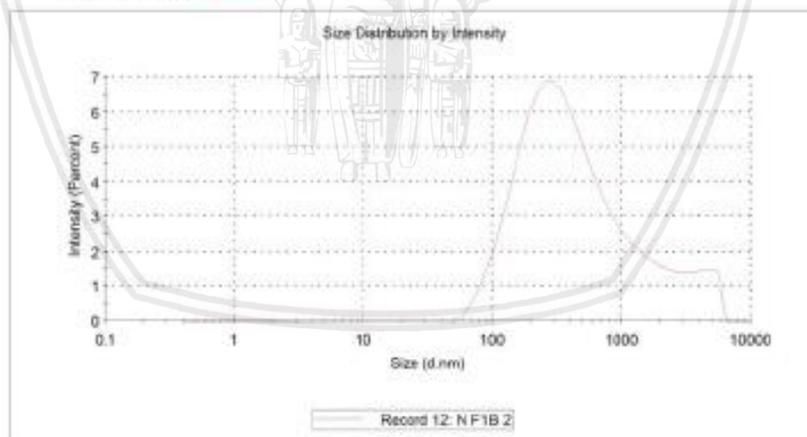
File Name: Zulfu UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 12      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 9:55:32 ...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 321.6      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm):	315.4	Peak 1: 574.6	92.9
Pdi:	0.457	Peak 2: 4248	7.1
Intercept:	0.934	Peak 3: 0.000	0.0
Result quality:	Good		



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2 4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

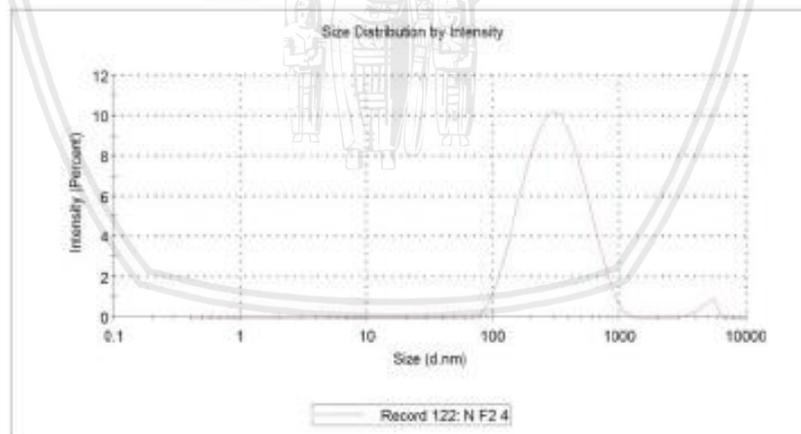
File Name: Zulfa UB 2019(1).dls      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 122      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:31:26 ...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 261.4      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
<b>Z-Average (d.nm):</b> 279.9	Peak 1: 338.5	97.8	178.0
<b>PdI:</b> 0.242	Peak 2: 4672	2.2	689.1
<b>Intercept:</b> 0.953	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality:</b> Good			



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2A 5  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

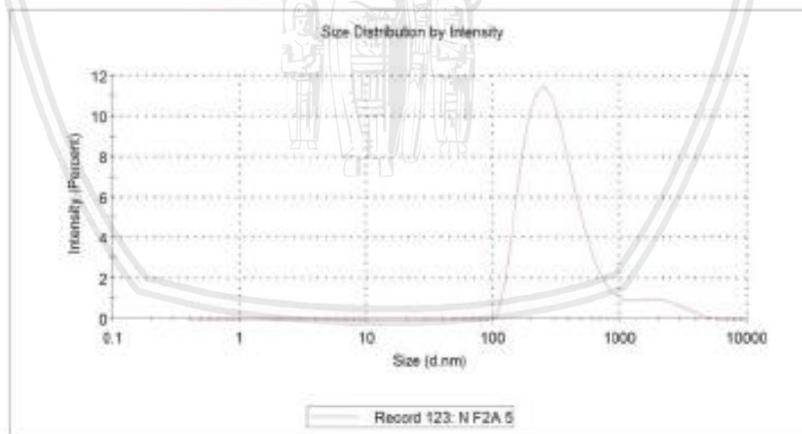
File Name: Zulfa UB 2019(1).dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 123      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8972  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:33:38 ...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 80  
 Count Rate (kcps): 262.8      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 279.3	<b>Peak 1:</b> 335.2	93.2	202.5
<b>PdI:</b> 0.215	<b>Peak 2:</b> 2240	6.8	853.0
<b>Intercept:</b> 0.954	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality:</b> Good			



## b. F2B

## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2B 2

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Zuffa UB 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 84

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (cP): 0.8872

Material Absorption: 0.500

Measurement Date and Time: Friday, April 12, 2019 10:46:2...

### System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcp/s): 402.6

Measurement Position (mm): 0.65

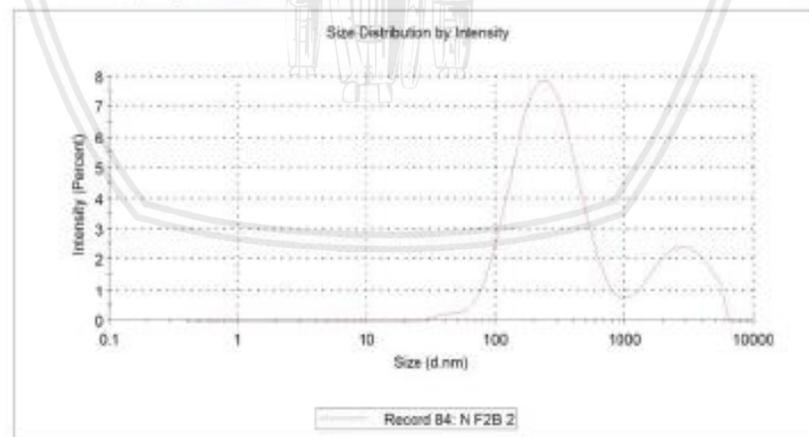
Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm):	263.9		
Pdi:	0.432		
Intercept:	0.905		
Peak 1:	278.3	78.4	168.7
Peak 2:	2813	21.6	1246
Peak 3:	0.000	0.0	0.000

Result quality: **Good**



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2B 3  
 SOP Name: manselings.nano  
 General Notes:

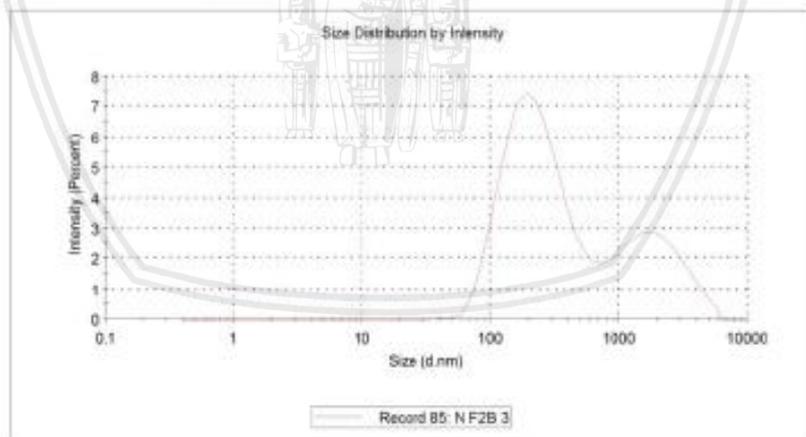
File Name: Zulfia UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 85      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, April 12, 2019 10:48:2...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 406.2      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d,nm)	% Intensity	St Dev (d,nm)
Z-Average (d,nm):	261.9		
Pdi:	0.440		
Intercept:	0.901		
Result quality:	Good		
Peak 1:	250.9	70.1	147.1
Peak 2:	1987	29.9	1097
Peak 3:	0.000	0.0	0.000



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2B 4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zulfa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 86      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, April 12, 2019 10:50:3...

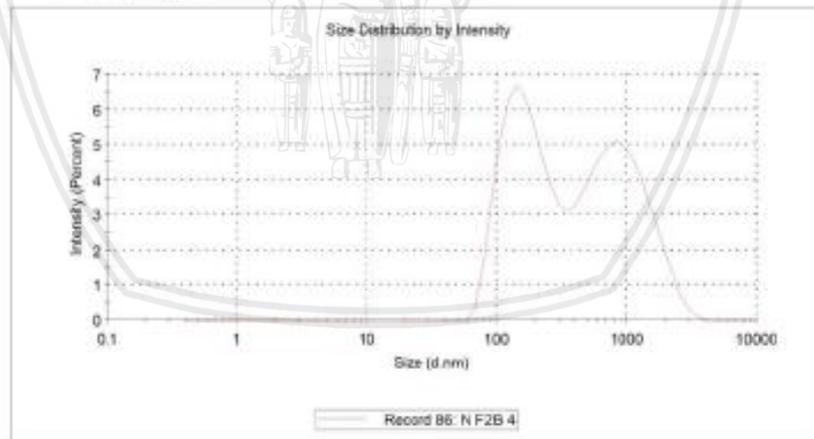
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 80  
 Count Rate (kcps): 402.2      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 262.1	Peak 1: 959.7	50.8	541.0
PdI: 0.438	Peak 2: 176.0	49.2	72.38
Intercept: 0.903	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality : **Good**



c. F2C

Size Distribution Report by Intensity

v2.2



Sample Details

Sample Name: N F2C 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Zulfia UB 2019(1).dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 102

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (cP): 0.8872

Material Absorption: 0.500

Measurement Date and Time: Monday, May 13, 2019 9:17:4...

System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 319.1

Measurement Position (mm): 0.45

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 5

Results

Z-Average (d.nm): 303.8

Peak 1: 350.3

% Intensity:

St Dev (d.nm)

81.7

234.2

Pdl: 0.432

Peak 2: 3293

18.3

1267

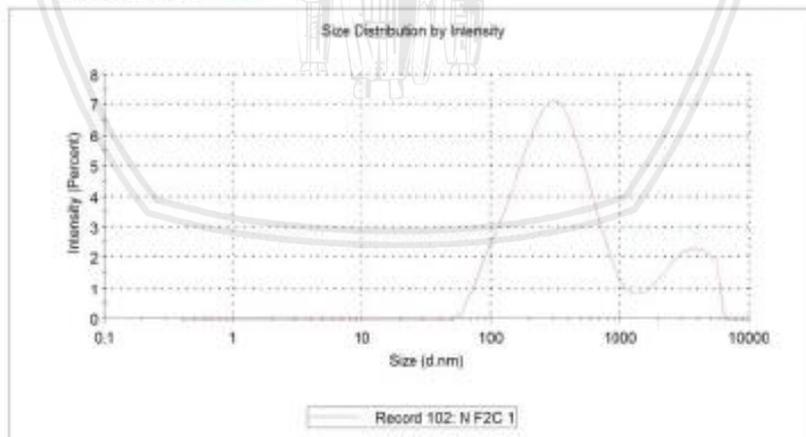
Intercept: 0.917

Peak 3: 0.000

0.0

0.000

Result quality: Good



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2C 2  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

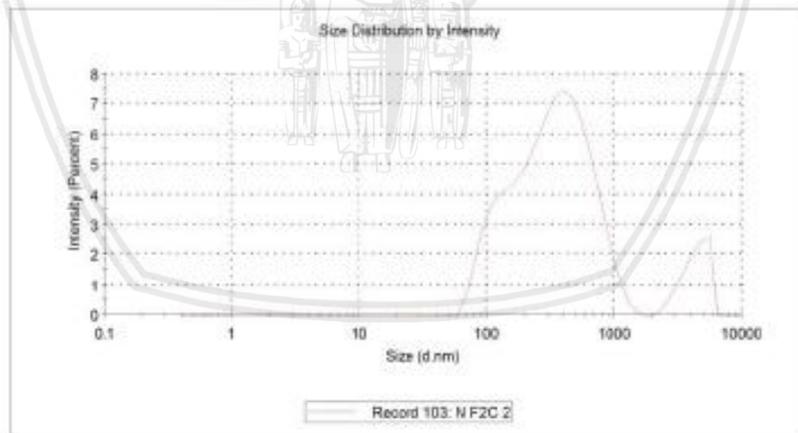
File Name: Zulfu UB 2019(1).dls      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 103      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, May 13, 2019 9:19:4...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 324.8      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm):	303.6	89.6	243.5
Pdl:	0.425	10.4	905.9
Intercept:	0.007	0.0	0.000
Result quality :	Good		



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N F2C 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Zulfia UB 2019(1).dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 106      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, May 13, 2019 9:25:5...

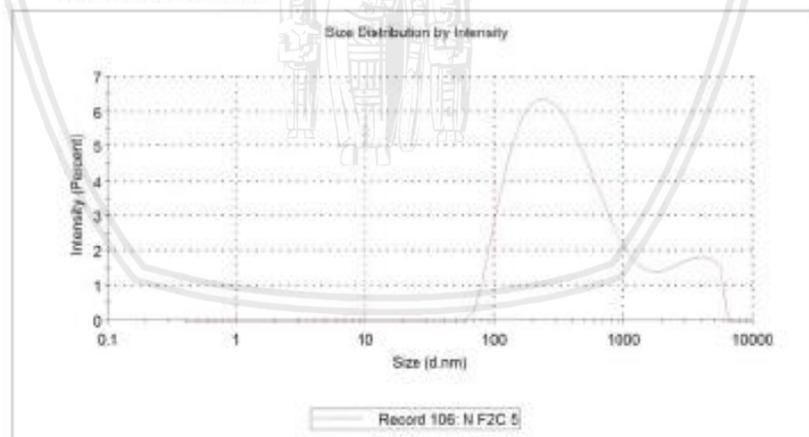
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 317.1      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 295.2	Peak 1: 411.0	85.5	347.5
<b>Pdl:</b> 0.426	Peak 2: 3351	14.5	1211
<b>Intercept:</b> 0.914	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality: **Good**



2. F3

a. F3A

Size Distribution Report by Intensity  
v2.2



Sample Details

Sample Name: N F3A 1  
SOP Name: mansettings.nano  
General Notes:

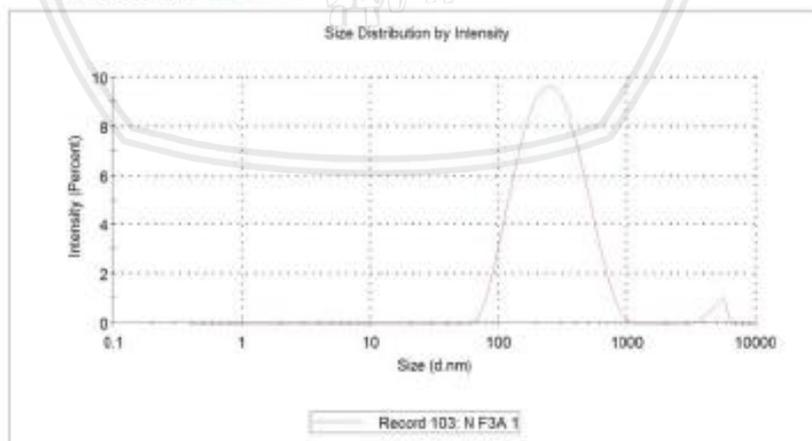
File Name: Zulfa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
Record Number: 103      Dispersant RI: 1.330  
Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:59:10 ...

System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
Count Rate (kcps): 310.8      Measurement Position (mm): 0.45  
Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)
<b>Z-Average (d.nm):</b> 233.8	Peak 1: 283.3	97.6	153.9
<b>PdI:</b> 0.249	Peak 2: 4974	2.4	621.4
<b>Intercept:</b> 0.943	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality:</b> Good			



# Size Distribution Report by Intensity

v2.2



## Sample Details

Sample Name: N F3A.2  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

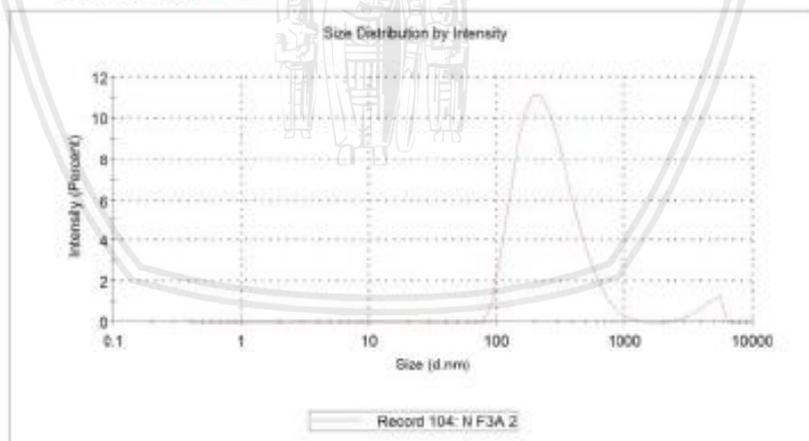
File Name: Zuffa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 104      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 3:05:47 ...

## System

Temperature (°C): 25.9      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 313.7      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 232.4	Peak 1: 266.5	95.7	151.6
<b>Pdl:</b> 0.253	Peak 2: 4551	4.3	874.9
<b>Intercept:</b> 0.943	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality:</b> Good			



## b. F3B

## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF3B 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Zulfis UB 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 67

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (cP): 0.8972

Material Absorption: 0.500

Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 2:56:57

### System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 301.2

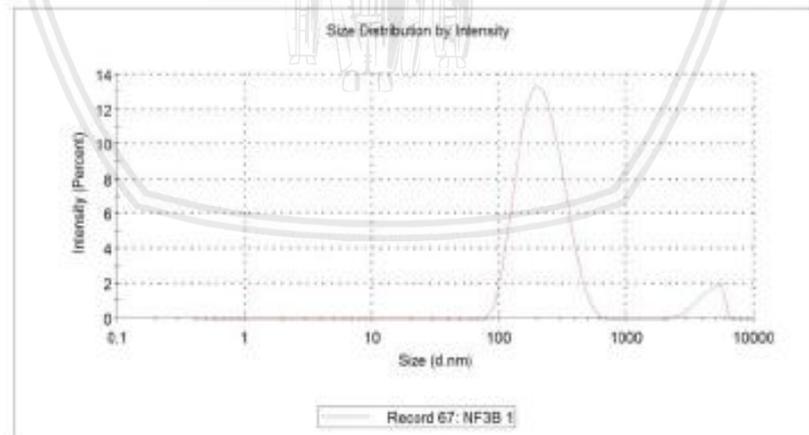
Measurement Position (mm): 0.45

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 5

### Results

	Size (d,nm):	% Intensity:	St Dev (d,n...
Z-Average (d,nm):	222.2		
Pdi:	0.261		
Intercept:	0.943		
Result quality:	Good		
Peak 1:	225.4	92.7	87.53
Peak 2:	4470	7.3	894.5
Peak 3:	0.000	0.0	0.000



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF3B 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

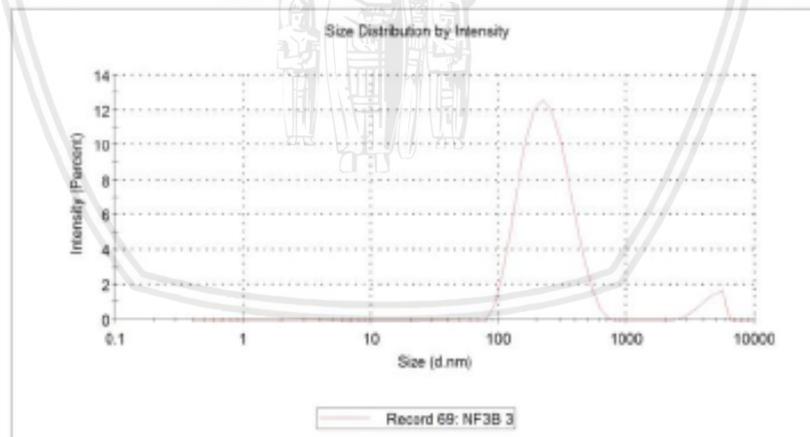
File Name: Zulfa UB 2019.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 69	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.500	Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 3:01:22 ...

### System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 310.0	Measurement Position (mm): 0.45
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 232.2	Peak 1: 246.9	94.4	103.7
<b>Pdl:</b> 0.248	Peak 2: 4588	5.6	834.0
Intercept: 0.943	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality:</b> Good			



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF3B 4

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

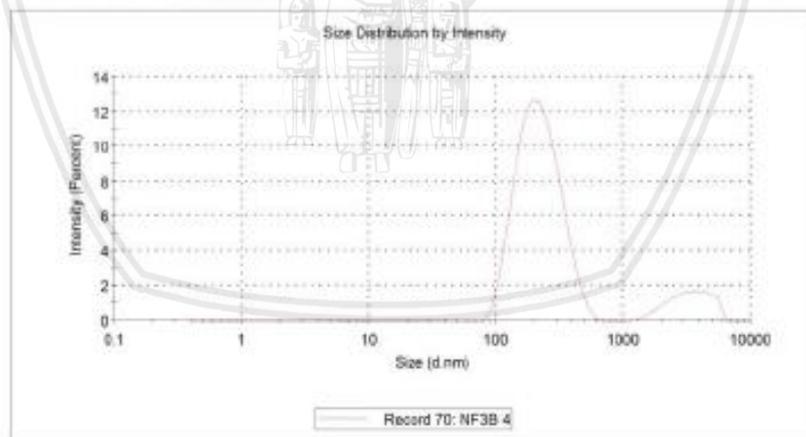
File Name: Zulfu UB 2019.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 70	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorption: 0.500	Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 3:03:35 ...

### System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 308.7	Measurement Position (mm): 0.45
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 229.3	Peak 1: 227.8	87.6	88.05
Pdl: 0.290	Peak 2: 3456	12.4	1177
Intercept: 0.950	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality: <b>Good</b>			



c. F3C

### Size Distribution Report by Intensity

v2.2



**Sample Details**

Sample Name: NF3C 1  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

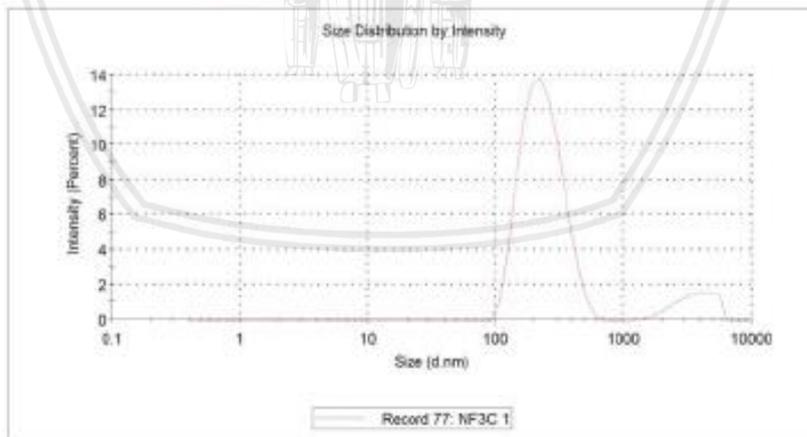
File Name: Zulfu\_UB\_2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 77      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8972  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 3:21:49 ...

**System**

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 324.9      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

**Results**

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
<b>Z-Average (d.nm):</b> 242.1	<b>Peak 1:</b> 239.9	89.8	87.93
<b>Pdi:</b> 0.250	<b>Peak 2:</b> 3720	10.2	1159
<b>Intercept:</b> 0.944	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality : Good</b>			



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF3C 3  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zulfia UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 79      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 3:26:14 ...

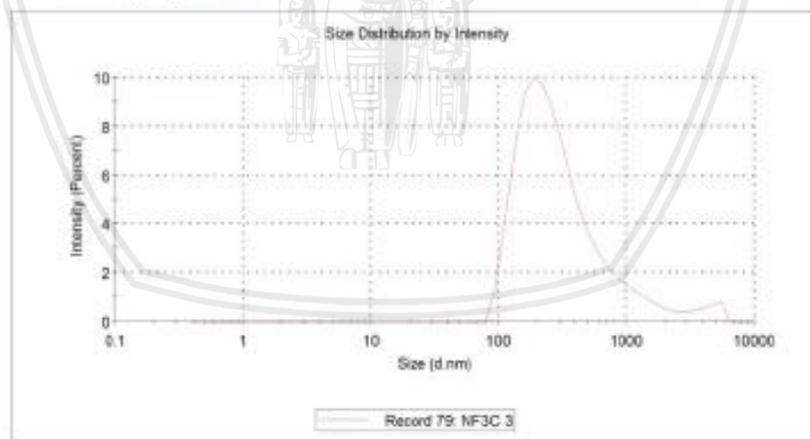
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 325.7      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm):	241.2	98.6	365.4
Pdl:	0.300	3.4	989.1
Intercept:	0.939	0.0	0.000
Peak 1:	364.2		
Peak 2:	4208		
Peak 3:	0.000		

Result quality: **Good**



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NF3C 4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

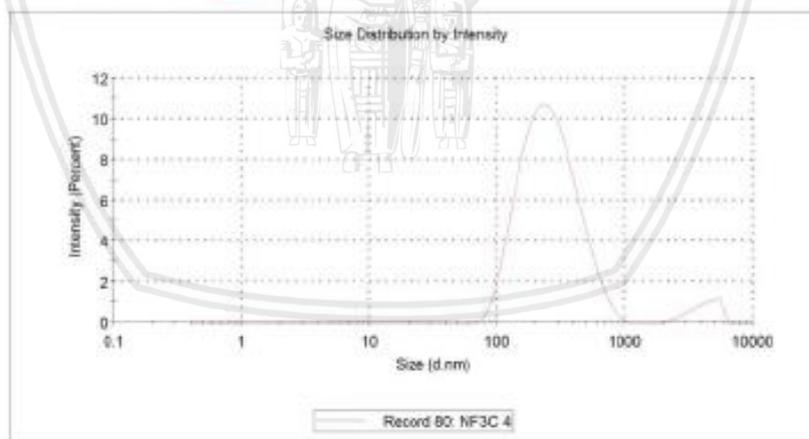
File Name: Zulfia UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 80      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Friday, May 10, 2019 3:28:26 ...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 80  
 Count Rate (kcps): 322.2      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm):	241.3	Peak 1: 278.8	95.1
Pdl:	0.250	Peak 2: 4276	4.9
Intercept:	0.939	Peak 3: 0.000	0.0
Result quality:	Good		



## 3. K1

## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



## Sample Details

Sample Name: N K1 2  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

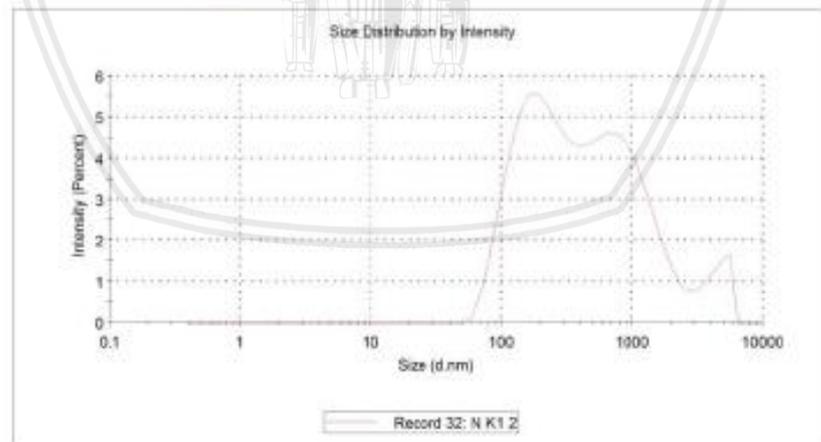
File Name: Zulfu UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 32      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 11:02:5...

## System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (keps): 343.9      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm):	306.7		
Pdl:	0.465		
Intercept:	0.913		
Result quality :	Good		
Peak 1:	208.9	50.2	93.15
Peak 2:	925.6	43.2	509.3
Peak 3:	4252	6.7	968.0



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N K1 3

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Zulfa UB 2019.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 33

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.33

Viscosity (cP): 0.8872

Material Absorbtion: 0.500

Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 11:05:0...

### System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 60

Count Rate (kcps): 336.7

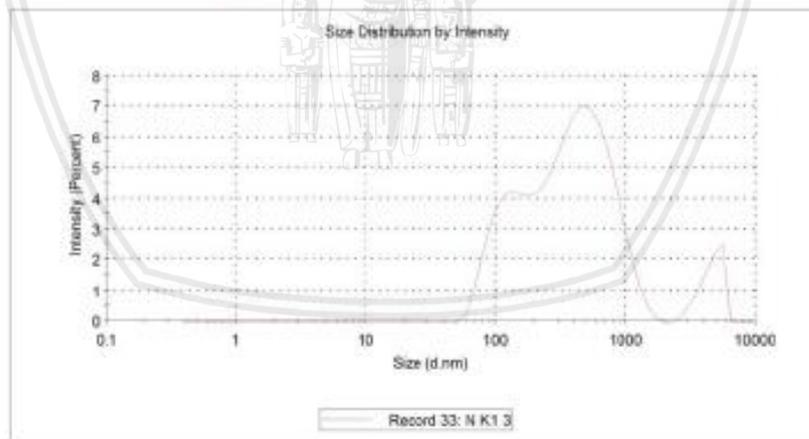
Measurement Position (mm): 0.65

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 303.2	Peak 1: 517.0	66.3	269.5
<b>Pdi:</b> 0.448	Peak 2: 129.7	26.0	37.65
<b>Intercept:</b> 0.918	Peak 3: 4589	7.7	835.4
<b>Result quality:</b> Good			



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N K1.4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

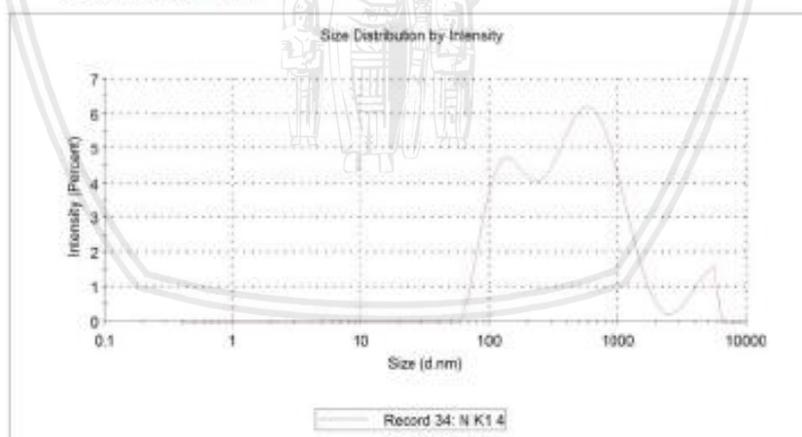
File Name: Zulfa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 34      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbtion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 11:07:1...

### System

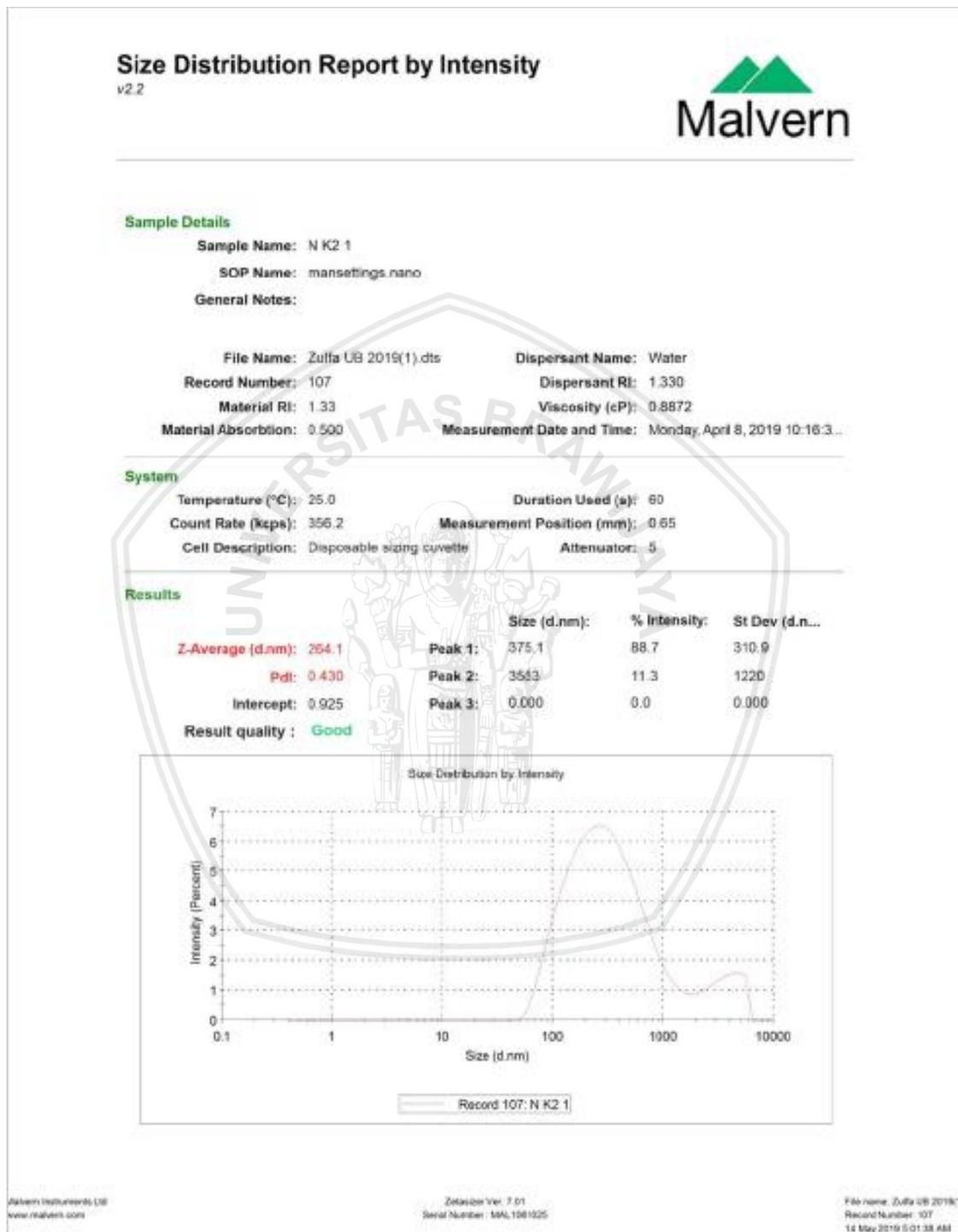
Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 330.9      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
<b>Z-Average (d.nm):</b> 303.3	Peak 1: 650.7	63.8	392.3
<b>PdI:</b> 0.448	Peak 2: 143.2	30.9	44.58
<b>Intercept:</b> 0.922	Peak 3: 4504	5.3	883.6
<b>Result quality:</b> Good			



4. K2



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N K2 3  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

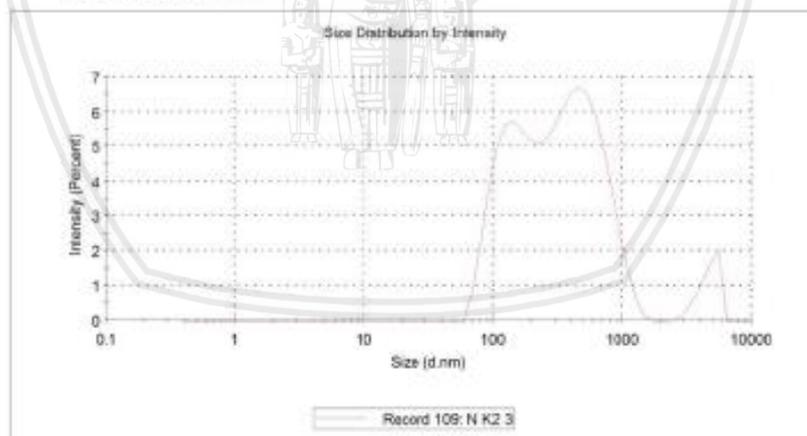
File Name: Zulfa UB 2019(1).dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 109      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 10:20:4...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 360.0      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm)	% Intensity	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm):	265.2		
Pd1:	0.397		
Intercept:	0.922		
Result quality :	Good		
Peak 1:	499.4	57.8	236.6
Peak 2:	144.7	36.7	44.38
Peak 3:	4697	5.5	785.7



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: N K2 5

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

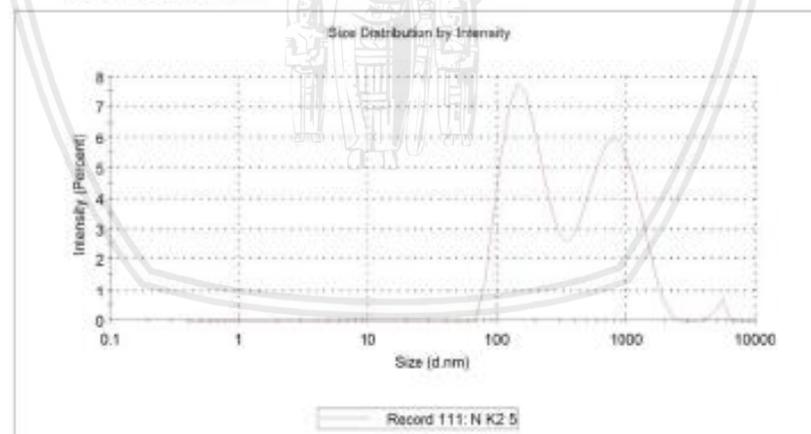
File Name: Zulfia UB 2019(1).dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 111      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, April 8, 2019 10:24:4...

### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 357.4      Measurement Position (mm): 0.65  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 264.8	Peak 1: 174.6	51.4	67.03
<b>PdI:</b> 0.444	Peak 2: 832.0	47.6	363.5
<b>Intercept:</b> 0.925	Peak 3: 5247	1.1	445.5
<b>Result quality:</b> Good			



5. K3

**Size Distribution Report by Intensity**  
v2.2



**Sample Details**

Sample Name: NK3 2  
SOP Name: mansettings.nano  
General Notes:

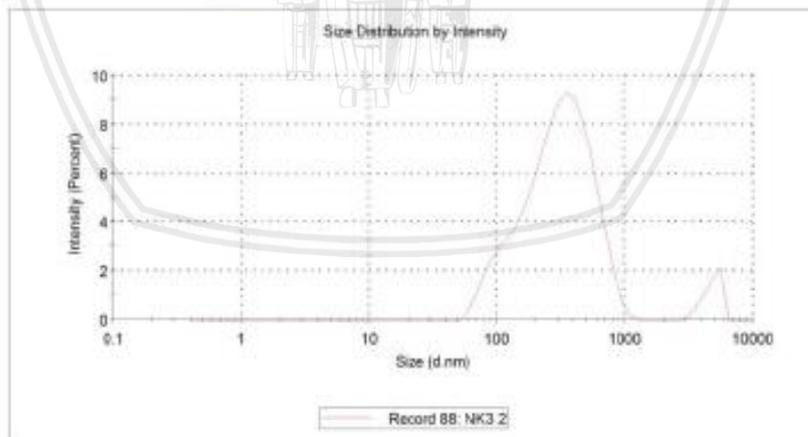
File Name: Zulfia UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
Record Number: 88      Dispersant RI: 1.330  
Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, May 13, 2019 9:35:5...

**System**

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
Count Rate (kcps): 253.9      Measurement Position (mm): 0.45  
Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

**Results**

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)
Z-Average (d.nm): 274.5	Peak 1: 336.9	94.4	188.0
Pdi: 0.388	Peak 2: 4791	5.8	729.6
Intercept: 0.946	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality: <b>Good</b>			



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NK3 3  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zuffa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 89      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorbion: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, May 13, 2019 9:38:0...

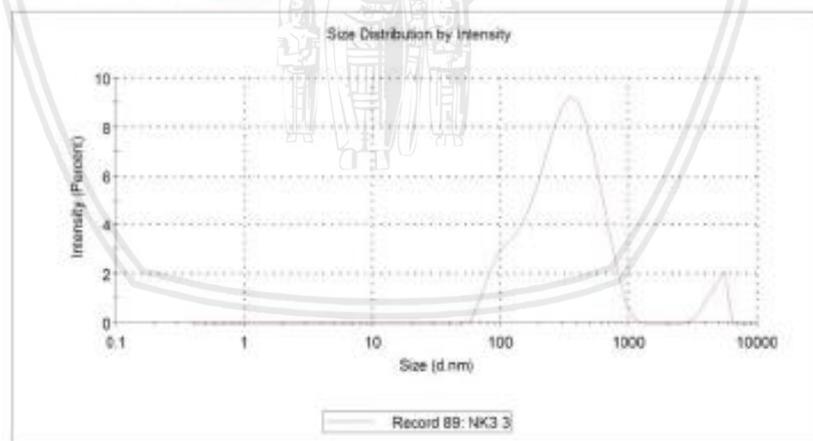
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 254.5      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
<b>Z-Average (d.nm):</b> 275.6	<b>Peak 1:</b> 338.2	94.4	190.2
<b>Pdi:</b> 0.384	<b>Peak 2:</b> 4790	5.6	731.1
<b>Intercept:</b> 0.948	<b>Peak 3:</b> 0.000	0.0	0.000

**Result quality : Good**



## Size Distribution Report by Intensity

v2.2



### Sample Details

Sample Name: NK3 4  
 SOP Name: mansettings.nano  
 General Notes:

File Name: Zulfa UB 2019.dts      Dispersant Name: Water  
 Record Number: 90      Dispersant RI: 1.330  
 Material RI: 1.33      Viscosity (cP): 0.8872  
 Material Absorption: 0.500      Measurement Date and Time: Monday, May 13, 2019 9:40:1...

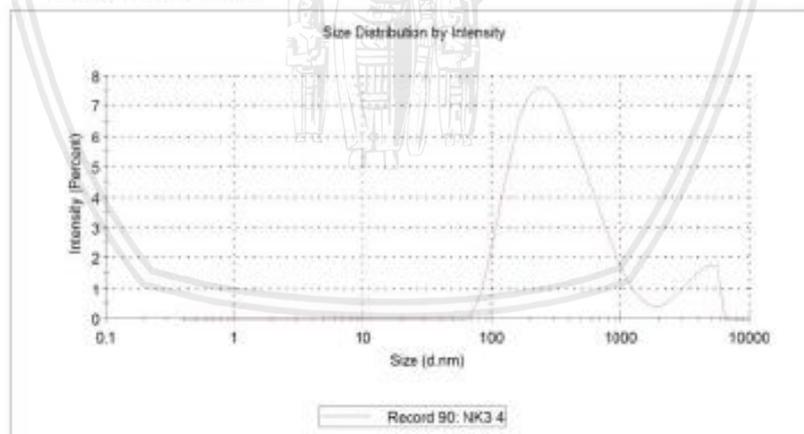
### System

Temperature (°C): 25.0      Duration Used (s): 60  
 Count Rate (kcps): 252.0      Measurement Position (mm): 0.45  
 Cell Description: Disposable sizing cuvette      Attenuator: 5

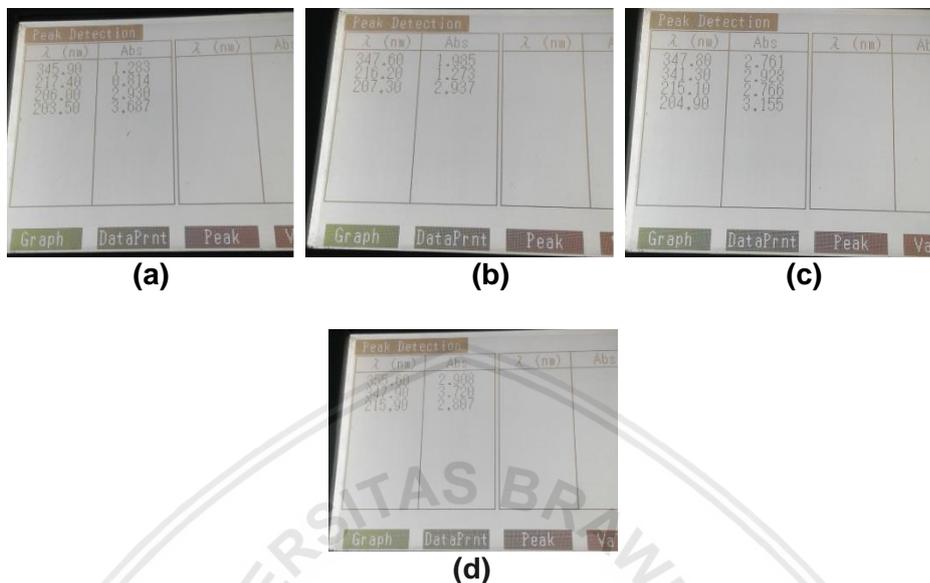
### Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm):	280.8	90.7	294.1
PdI:	0.378	9.3	1101
Intercept:	0.951	0.0	0.000
Peak 1:	373.7		
Peak 2:	4001		
Peak 3:	0.000		

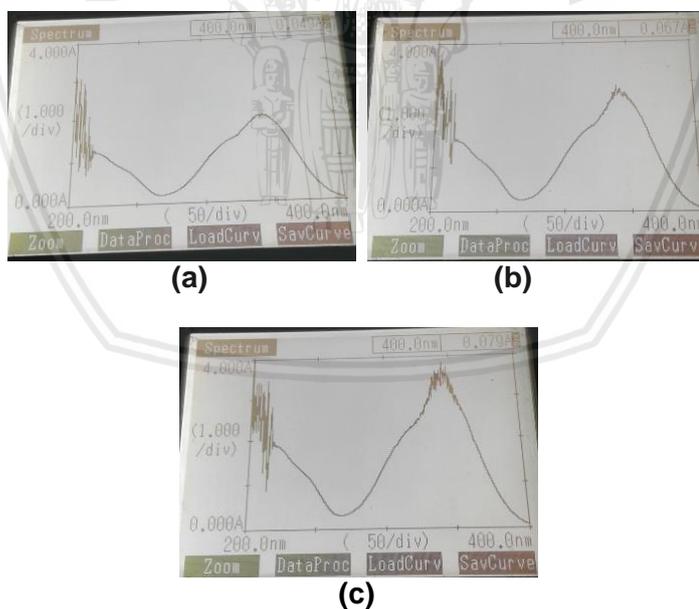
Result quality : **Good**



### Lampiran 8. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal



Gambar 1. Nilai absorbansi larutan pterostilben konsentrasi 10 ppm (a); 15 ppm (b); 20 ppm (c); 25 ppm (d) pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.



Gambar 2. Peak larutan pterostilben konsentrasi 15 ppm (a); 20 ppm (b); 25 ppm (c) pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

### Lampiran 9. Kurva Baku dan Persamaan Regresi Linier

Sampl No.	Abs	KxAbs
1	0,511	125,10
2	1,245	304,90
3	-0,172	-42,213
4	1,928	472,34
5	2,848	697,64
6	2,882	706,11
7	2,848	697,66
8	3,116	763,42

Sampl No.	Abs	KxAbs
9	3,484	853,60

(a)

(b)

**Gambar 1a; 1b. Absorbansi larutan kerja pterostilben konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm pada panjang gelombang maksimum terpilih 345 nm**

**Tabel 1. Absorbansi larutan kerja pterostilben**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,511
10	1,245
15	1,928
20	2,848
25	3,484

Persamaan Regresi Linier

$$a = - 0,2615$$

$$b = 0,15098$$

$$r = 0,9987$$

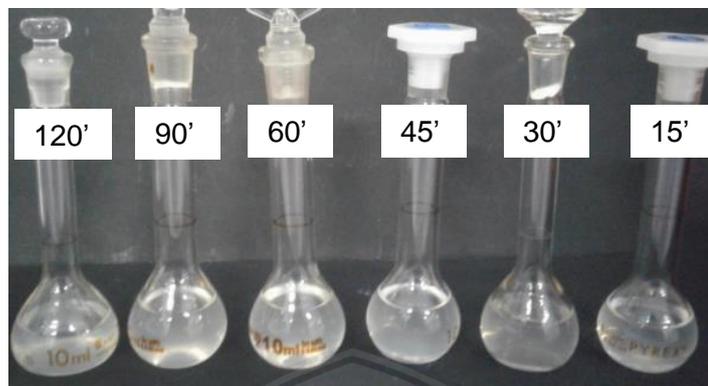
$$r^2 = 0,997$$

$$y = b\mu + a$$

$$= 0,15098 \mu + (- 0,2615)$$

$$= 0,15098 \mu - 0,2615$$

## Lampiran 10. Dokumentasi Uji Difusi dan Perhitungan



Gambar 1. Sampel niosom pterostilben pada interval waktu 15, 30, 45, 60, 90, dan 120 menit.

Shpl No.	Abs	KkAbs
1	0,232	56,840
2	2,921	715,69
3	2,646	648,20
4	2,452	600,81
5	2,192	537,14
6	1,676	410,74
7	1,617	396,04
8	1,796	440,89

Gambar 2. Nilai absorbansi masing-masing sampel pada menit ke 15, 30, 45, 60, 90, dan 120 berturut-turut ditunjukkan nomor 7, 6, 5, 4, 3, dan 2.

### Contoh Perhitungan Uji Difusi Niosom Pterostilben

Sampel menit ke 90

Nilai absorbansi = 2,646

Konsentrasi (ppm)  $\rightarrow y = 0,15098 \mu - 0,2615$

$$2,646 = 0,15098 \mu - 0,2615$$

$$\mu = \frac{2,646 - 0,2615}{0,15098}$$

$$\mu = 15,79 \text{ ppm}$$

Faktor pengenceran (FP) = 10X

Konsentrasi sebenarnya = konsentrasi x FP

$$= 15,79 \text{ ppm} \times 10$$

$$= 157,9 \text{ ppm}$$

Faktor koreksi = konsentrasi sebenarnya.  $\frac{\text{Volume sampel}}{\text{Volume media}}$

$$= 157,9 \frac{1 \text{ mL}}{9 \text{ mL}}$$

$$= 17,54$$

Konsentrasi terkoreksi = konsentrasi sebenarnya + faktor koreksi

$$= 157,9 \text{ ppm} + 17,54$$

$$= 175,44 \text{ ppm}$$

Jumlah pterostilben = konsentrasi  $\times \frac{\text{Volume media}}{1000 \text{ mL}}$

$$= 175,44 \text{ ppm} \times \frac{9 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$= 1,58 \text{ mg}$$

## Lampiran 11. Hasil Analisis Statistika

### A. Uji Normalitas

#### Tests of Normality

	Formula	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ukuran partikel	Formula 1	.263	3	.	.955	3	.593
	Formula 2	.210	3	.	.991	3	.818
	Formula 3	.229	3	.	.982	3	.740

a. Lilliefors Significance Correction

Berdistribusi normal  
 $p > 0,05$

#### Tests of Normality

	K	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ukuran Partikel	K1	.185	3	.	.998	3	.922
	K2	.238	3	.	.976	3	.702
	K3	.324	3	.	.876	3	.314

a. Lilliefors Significance Correction

Berdistribusi normal  
 $p > 0,05$

## B. Uji Homogenitas dan One-way ANOVA

### 1. Formula

#### Test of Homogeneity of Variances

Ukuran partikel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.955	2	6	.222

Varian data homogen  
 $p > 0,05$

#### ANOVA

Ukuran partikel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10194.736	2	5097.368	31.910	.001
Within Groups	958.446	6	159.741		
Total	11153.182	8			

Terdapat perbedaan bermakna  
 $p < 0,05$

### 2. Kontrol

#### Test of Homogeneity of Variances

Ukuran Partikel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.423	2	6	.169

Varian data homogen  
 $p > 0,05$

#### ANOVA

Ukuran Partikel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3346.207	2	1673.103	206.925	.000
Within Groups	48.513	6	8.086		
Total	3394.720	8			

Terdapat perbedaan bermakna  
 $p < 0,05$