

## Perbandingan %EE Dan Properti Fisik Lipid Partikel Asam Stearat-PEG400 Pengekapsulasi Eritromisin Dan Fraksi Polar Brotowali

### *Comparison of %EE and Physical Properties Lipids Particles of Stearic Acid-PEG400 Encapsulated Erythromycin and Brotowali Polar Fraction*

Mardiyanto<sup>1</sup>, Budi Untari<sup>1</sup>, Ady Mara<sup>2</sup>, Faris Alfarizi<sup>1</sup>, Amelia Wibowo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya, Indralaya

<sup>2</sup> Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya, Indralaya

Corresponding author : [mardiyanto@mipa.unsri.ac.id](mailto:mardiyanto@mipa.unsri.ac.id)

#### Abstrak

Pengaruh komposisi PEG400 yang bersifat polar dapat memperbaiki sifat partikel lipid yang dibuat dengan asam stearat sehingga jenis bahan obat yang dapat dienkapsulasi adalah mulai dari non-polar hingga semi polar. Belum diketahui data penelitian yang menggunakan bahan alam yang polar. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan persen enkapsulasi (%EE) dan property fisik dari bahan obat non polar yaitu eritromisin dan bahan alam polar yaitu fraksi polar brotowali. Metode untuk menjawab tujuan ini adalah pembentukan partikel secara emulsifikasi panas dilanjutkan dengan homogenisasi. Data properti fisik yang dihasilkan berupa ukuran, distribusi, dan zeta potensial partikel pembawa eritromisin lebih baik dibandingkan fraksi polar brotowali demikian juga halnya dengan data %EE dari partikel yang dihasilkan pada penelitian ini. Penggunaan PEG400 menghasilkan sifat partikel lipid yang sesuai untuk obat non polar, sehingga perlu dipelajari selanjutnya optimasi jenis PEG dan tingkat kepolaran bahan alam yang digunakan.

**Kata Kunci :** %EE, property fisik, Lipid-partikel, eritromisin, brotowali.

#### Abstract

*The effect of the polar composition of PEG400 can improve the properties of the lipid particles formed with stearic acid as well as the types of encapsulated medicinal ingredients range from non-polar to semi-polar. There is no published research data using polar natural ingredients. This research aims to compare the physical properties and percent encapsulation (%EE) of non-polar drug ingredients as erythromycin and polar natural ingredients of brotowali polar fraction. The methods to answer these aims are the formation of particles by hot emulsification and followed by homogenization. Physical property data documented in the form of size, distribution, and zeta potential of erythromycin carrier particles were better than the brotowali polar fraction as well as %EE data from the particles formed in this research. The use of PEG400 produces lipid particle properties that are suitable for non-polar drugs, so it is necessary to further study the optimization of the type of PEG and the level of polarity of the natural ingredients used.*

**Keywords :** %EE, physical property, Lipid-particles, erythromycin, brotowali.

#### PENDAHULUAN

Brotowali (*Tinospora cordifolia* Miers) adalah tumbuhan semak liana, umumnya ditemukan di pagar rumah dan di hutan. Tumbuhan ini asli Asia yang dapat tumbuh subur dengan mudah di daerah tropis. Tumbuhan ini juga bisa

ditemui di Myanmar dan *Ceylon*. Tumbuhan ini banyak digunakan dalam pengobatan *herbal medicine* di India sebagai tonik, vitalizer, dan sebagai obat untuk diabetes mellitus dan gangguan metabolisme. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa batang brotowali berkhasiat sebagai antidiabetik, imunomodulator, hepatoprotektif, dan antipiretik. Ada laporan yang menunjukkan bahwa daun brotowali memiliki aksi antidiabetes pada kelinci diabetes aloksan. Akar brotowali memiliki antiulcer, dan antihipertensi. Aksi hipoglikemik akar brotowali sejauh ini belum diselidiki. Kami melaporkan di sini, untuk pertama kalinya, aksi hipoglikemik dan efeknya pada lipid otak, enzim hati dan serum pada tikus diabetes aloksan (Mainzen,2010).

Pemanfaatan ramuan brotowali sudah dikenal oleh masyarakat Indonesia secara tradisional. Terlebih lagi air rebusan brotowali secara ilmiah sudah terbukti dapat meningkatkan sistem imun tubuh (Waqas,2015) dan dapat mencegah penyakit diabetes melitus (Sangeetha,2012). Efek yang menjanjikan dari brotowali sangat diperlukan saat ini yang masih menghadapi wabah penyakit infeksi menyerang secara global. Disamping sistem imun ditingkatkan, resiko penyakit komorbid seperti diabetes juga perlu diperhatikan untuk meringankan penyakit infeksi (Jing,2020 dan Knoop,2010). Sebagai ramuan tradisional, brotowali memiliki rasa yang pahit. Masyarakat yang sedang sakit infeksi oleh gigitan nyamuk telah menggunakan ramuan ini, namun untuk konsumsi sehari-hari sebagai ramuan pencegah penyakit diabetes-melitus masih jarang dilaporkan.

Eritromisin termasuk ke dalam golongan antibiotik makrolida yang sulit larut dalam air dan memiliki efek bakterostatik yang luas terutama terhadap banyak bakteri gram positif dan juga beberapa bakteri gram negatif Cao, 2019). Eritromisin memiliki spektrum antibakteri yang mirip dengan penisilin, tetapi tidak identik dengan penisilin. Oleh karena itu, eritromisin umumnya digunakan sebagai alternatif pada pasien yang alergi terhadap penisilin. Eritromisin merupakan obat pilihan pertama untuk penyakit infeksi saluran pernafasan. Sifat eritromisin yang sulit larut dalam air dapat diatasi dengan membuat solid lipid nanopartikel (SLN). Pembuatan SLN merupakan salah satu cara progresif untuk meningkatkan kelarutan bahan aktif farmasi. Ukuran partikel secara langsung mempengaruhi sistem penghantaran obat serta dapat memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih kecil sehingga lebih efisien untuk digunakan (Samuel, 2021).

Penelitian ini dimaksudkan untuk membandingkan formula SLN pembawa bahan obat fraksi polar brotowali dan bahan obat non polar yang diwakili oleh eritromisin dengan metode *hot emulsification-homogenization*. Karakterisasi partikel dilakukan antara lain: diameter partikel, distribusi ukuran partikel, nilai zeta potensial dan % EE. Kestabilan fisik diuji berdasarkan metode pemanasan-pendinginan dan uji mekanik.

## **METODE**

### **Bahan**

Bahan penelitian diantaranya air rebusan brotowali, PEG400, Asam stearat, Tween80, dan PEG-6000 dari Sigma-Aldrich, Eritromisin (Sigma-Aldrich), capryol-

90, etanol, etil asetat, purified water, kertas saring, NaOH *pellet p.a.*, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dari Merc viva-spin 300 (Sartorius), kertas Whatman, metanol *p.a.* dari Merc.

### Formula

Formula yang digunakan dalam penelitian (Tabel 1) ini sebanyak tiga formula dan dilakukan variasi pada konsentrasi asam stearat. Konsentrasi fraksi polar brotowali dan Eritromisin yang digunakan masing-masing 0,1 g. *Solid lipid nanoparticle* merupakan dispersi yang biasanya memiliki kadar air dengan rentang 70-99% (w/w) dan terdiri dari 0,1% sampai 30% (w/w) lipid yang terdispersi dalam media air. Jika perlu *solid lipid nanoparticle* distabilkan dengan menambahkan surfaktan dengan rentang dari 0,5% hingga 5% (Bhattacharyya, 2019; Mardiyanto, 2021).

Tabel 1.  
Formula SLN

Bahan	Fungsi	Jumlah (g)		
		F1	F2	F3
Eritromisin	<b>Zat aktif</b>	0,1	0,1	0,1
Fraksi brotowali	<b>Zat aktif</b>	0,1	0,1	0,1
<b>Bahan Tambahan</b>				
Asam Stearat	Lipid	1	2,5	5
Tween 80	Surfaktan	10	10	10
PEG 400	Ko-surfaktan	5	5	5
PVA	Stabilizer	1	1	1
Aquadest	Pelarut	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL

### Preparasi Solid Lipid Nanopartikel

SLN dibuat dengan menggunakan metode *hot homogenization* dan ultrasonikasi (Mardiyanto, 2021). Pembuatan nanopartikel diawali dengan pembuatan fase lipid. Eritromisin didispersikan ke dalam Asam stearat yang telah dipanaskan di atas waterbath pada suhu 75°C sebagai fase non polar untuk bahan obat masing-masing fraksi polar brotowali dan non polar adalah eritromisin. Kemudian dilakukan pembuatan fase air dengan cara melarutkan Tween 80, PEG-400, dan PVA lalu distirring (150 rpm) selama 3 jam dengan suhu 75°C untuk bahan polar seperti fraksi polar dari brotowali. Fase lipid kemudian didispersikan ke dalam fase air secara *drop by drop* di atas magnetic stirrer selama 3 menit suhu 70°C untuk membentuk emulsi minyak dalam air, dan kemudian disonikasi lebih lanjut menggunakan *bath sonicator* selama 5 menit, dengan amplitudo 35% untuk membentuk nanoemulsi. Nanoemulsi panas dengan cepat dituangkan ke dalam 100 ml Aquadest dingin untuk mendapatkan suspensi nanopartikel.

### Pemurnian dan Penentuan Efisiensi Enkapsulasi (EE)

Sampel SLN 10 mL disentrifugasi (Hettich EBA BS®) pada 12.000 rpm selama 30 menit sehingga diperoleh 2 fasa fasa dan diperoleh fasa tidak terserap.

Melakukan pemisahan fasa yang tidak terserap pada membran, kemudian 10 mL WFI dituangkan ke dalam fasa yang ditumpuk di atas membran. Sentrifugasi berulang dilakukan sebanyak tiga kali. Perlakuan ini dilakukan hingga diperoleh partikel sebagai supernatan. Penentuan %EE dilakukan dengan kurva kalibrasi dengan konsentrasi masing-masing 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm dari larutan induk bahan obat 1000 ppm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 301 nm. Hasil absorbansi dibuat dalam persamaan garis ( $y = a + bx$ ) dengan  $y$  sebagai konsentrasinya dan  $x$  sebagai konsentrasinya (DepKes-RI,2015). Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (UV-1700 Shimadzu®) pada fase supernatan eritromisin SLN dan selanjutnya dilakukan untuk mendapatkan bahan obat bebas dari SLN eritromisin dan SLN fraksi polar brotowali, kemudian dilakukan perhitungan %EE (Mardiyanto,2021).

### **Pengukuran Diameter, PDI, dan Potensi Zeta**

Alat yang digunakan untuk menentukan diameter, distribusi ukuran partikel dan potensi zeta adalah alat *particles size analyzer* (Horiba Scientific® SZ-100). Pengukuran rata-rata diameter, sebaran ukuran partikel dan potensial zeta dilakukan dengan menggunakan metode *dynamic light scattering* DLS (Daniel et.al., 2020). Sampel SLN diencerkan dan diambil sebanyak 50  $\mu$ L dalam 950 mL *water for injection*, kemudian dimasukkan ke dalam PSA quad.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tumbuhan brotowali dengan nama latin *Tinospora crispa* ini termasuk dalam keluarga tanaman *Menispermaceae* dengan daun berbetuk hati bewarna hijau tua dan batang bersisik bewarna hijau kecoklatan mengeluarkan akar hawa yang halus bewarna putih. Tumbuhan ini banyak tumbuh di negara-negara Asia. Tumbuhan liana dengan rasa pahit ini lebih menyukai tempat terbuka yang terkena sinar matahari dengan intensitas tinggi dan tidak tumbuh pada suhu dingin. Gambar tumbuhan brotowali dapat dilihat pada Gambar 1.

Secara tradisional, pemanfaatan secara turun-temurun terhadap tumbuhan brotowali sudah lama diketahui. Tumbuhan ini sering digunakan untuk membantu dalam penanganan malaria, mengurangi nyeri, hingga mengelola kadar gula darah.

Pada tahun 2015, peneliti Waqas Ahmad dari UKM Malaysia melaporkan bahwa tumbuhan ini selain sebagai antidiabetes juga memiliki aktivitas untuk menstimulasi sistem imun. Namun brotowali memiliki rasa yang kurang enak dan kurang menarik perhatian pasien.

Metode preparasi partikel berukuran nanometer dan submikro yang diupayakan dapat menjerap zat aktif secara efisien menjadi sangat penting ketika mempersiapkan sediaan nanopartikel dengan sistem pelepasan terkontrol. Keuntungan dari pembuatan nanopartikel diantaranya kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (1 – 100 nm) dan kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi baik melalui difusi maupun sonifikasi dan fleksibilitasnya untuk dikombinasi dengan berbagai teknologi lain sehingga membuka potensi yang luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Pengantaran nanopartikel dideskripsikan

sebagai formula suatu partikel yang terdispersi pada ukuran nanometer. Ukuran ini dapat dikarakterisasi secara visual menghasilkan dispersi yang relatif transparan. Preparasi nanopartikel banyak dibuat dengan menggunakan empat metode, yaitu metode penguapan pelarut, emulsifikasi spontan, metode polimerisasi dan gelasi ionik. Preparasi SLN adalah menggabungkan keunggulan dan menghindari kelemahan nanopartikel koloid lain seperti stabilitas fisik, proteksi obat dari degradasi, pelepasan terkontrol, dan toleransi yang baik. Beberapa keunggulan SLN adalah penggunaan lipid fisiologis biodegradable untuk mengurangi toksisitas akut dan kronis serta menghindari pelarut organik dalam metode produksi dan dapat meningkatkan bioavailabilitas molekul obat yang memiliki kelarutan air yang rendah (Mardiyanto,2021).

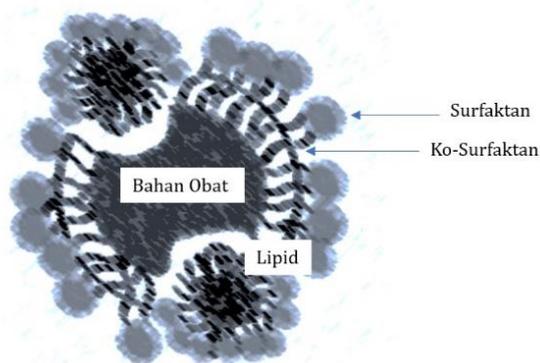
Tween 80 pada konsentrasi 1 - 3% dari sebuah formula dapat menghasilkan ukuran partikel berukuran nano pada kisaran 100 - 1000 nm. Variasi tween 80 dilakukan untuk mendapatkan formula optimum yang memiliki ukuran kecil dan % EE tinggi. Asam stearat merupakan salah satu lipid yang paling aman dikonsumsi oleh penderita penyakit degeneratif. Asam lemak rantai panjang yang terkandung dalam asam stearat tidak disimpan di jaringan tubuh tetapi langsung diubah menjadi energi. Polyethylene glycol (PEG) 6000 digunakan sebagai matriks padat untuk mendapatkan partikel lipid padat, sedangkan PEG 400 digunakan sebagai ko-surfaktan untuk meningkatkan kelarutan obat. PEG 6000 padat pada suhu kamar mirip dengan lipid padat seperti asam stearat yang juga padat pada suhu kamar. Titik lebur PEG 6000 berkisar antara 55 - 63°C. PEG 6000 dapat meminimalkan kehilangan obat dan juga memiliki keuntungan untuk pemberian obat secara oral (Diqui,2015).

Gambar 1  
Tumbuhan Brotowali



Sumber: Koleksi Pribadi

Gambar 2  
Ilustrasi SLN Pembawa Bahan Obat



Sumber: Diadaptasi dari Mardiyanto, 2021

Pembentukan partikel terjadi atas interaksi dari setiap komponen yang digunakan dalam formula dengan teknologi yang dapat mengarahkan bahwa bahan obat terlindung di dalam partikel (ilustrasinya terdapat pada Gambar 2) sehingga perlu diketahui berapa sisa bahan obat yang tidak berhasil masuk ke dalam partikel (%EE). Metode ini adalah metode tidak langsung dengan mengukur sisa bahan obat dalam supernatan karena untuk memecah partikel tentu juga ikut memecah bahan obat dalam partikel kalau dilakukan secara langsung. Nilai persen EE yang didapatkan pada formula 1, 2, dan 3 masing-masing seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2 dan 3 dengan sifat non polar SLN dapat menjerap eritromisin lebih banyak. Presisi dinyatakan sebagai *relative standard deviation* (RSD) atau *coefficient of variation* (CV). Hasil perhitungan CV menunjukkan data yang seragam atau ketelitian yang baik jika memiliki  $CV \leq 5\%$  atau tidak melebihi batas maksimum.

Tabel 2.

Hasil Penentuan %EE SLN Fraksi Polar Brotowali

Formula	Rata-rata (%) $\pm$ SD	CV (%)
F1	30,14 $\pm$ 0,0124	0,0300
F2	36,44 $\pm$ 0,0203	0,0192
F3	35,25 $\pm$ 0,0310	0,0772

Tabel 3.

Hasil Penentuan %EE SLN Eritromisin

Formula	Rata-rata (%) $\pm$ SD	CV (%)
F1	82,17 $\pm$ 0,0122	0,0104
F2	84,35 $\pm$ 0,0208	0,0104
F3	84,15 $\pm$ 0,0213	0,0341

Properti fisik yang ditentukan pada penelitian ini adalah ukuran partikel, distribusi partikel, dan zeta potensial partikel. Alat yang digunakan untuk mendeteksinya adalah PSA. *Pricipal work* dari PSA menggunakan metode DLS (*dynamic light scattering*) yang meneruskan hamburan sinar infra-red. Cahaya yang *reflected* pada sudut 173° akan didatakan oleh detektor untuk menghasilkan zeta potensial. Cahaya yang dihamburkan pada sudut 90° akan diolah oleh detektor untuk menghasilkan data-diameter, berat molekul, dan distribusi *partcle-size*. Semakin kecil ukuran partikel diketahui lebih lanjutnya akan mempengaruhi luas permukaan dan laju disolusi sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas senyawa tersebut. Dengan menggunakan fraksi polar brotowali disamping %EE nya rendah, properti fisik partikelnya tidak memenuhi syarat terutama ukuran distribusinya (PDI) 0,614 yang artinya hanya 38,6% partikel yang seragam 61,4% adalah tidak seragam. Ukuran partikelnya 819 $\pm$ 0,014 nm dan zeta potensial +5,8 mV. Dari data ini terlihat partikel cenderung membesar mendekati skala mikron dan indikasi dari zeta potensial yang tidak berada pada < -30 mV dan > +30 mV partikel cenderung aglomerasi dengan berjalannya waktu. Sebaliknya, sifat yang sesuai untuk non polar, SLN yang membawa eritromisin menghasilkan properti fisik yang memenuhi kriteria partikel kecil. Ukuran partikelnya 229 $\pm$ 0,041 nm dengan PDI 0,350 serta zeta potensial -17,4 mV. Data tersebut mengindikasikan bahwa lebih dari 50% yaitu 65% partikel seragam dengan skala ukuran yang menjauh dari rentang mikron dan mnedekat ke rentang 100 nm.

## KESIMPULAN

Telah berhasil dilakukan pembentukan partikel secara emulsifikasi panas dilanjutkan dengan homogenisasi. Data properti fisik yang dihasilkan berupa ukuran, distribusi, dan zeta potensial partikel pembawa eritromisin lebih baik dibandingkan fraksi polar brotowali demikian juga halnya dengan data %EE dari partikel yang dihasilkan pada penelitian ini. Penggunaan PEG400 menghasilkan sifat partikel lipid yang sesuai untuk obat non polar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharyya, S. and P. Reddy 2019. Effect of Surfactant on Azithromycin Dihydrate Loaded Stearic Acid Solid Lipid Nanoparticles. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(4); 425-9.
- Cao, Y., S. Xuan, Y. Wu, and X. Yao, 2019. Effects of Long-Term Macrolide Therapy at Low Doses in Stable COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 14, 1289.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2015, Farmakope Indonesia Edisi ke V, Jakarta.
- Diqui L.X., X. Wu, X. Yu and Q. Huang, 2015. Synergistic effect of non-ionic surfactants Tween 80 and PEG6000 on cytotoxicity of insecticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 677-682.
- Jing Y. and Wang Y., 2020. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis, *International Journal of Infectious Diseases*, 94, 91-95.
- Knoop K.J, L.B Stack, A. Storrow, R.J Thurman, 2010. Tropical Medicine. *Atlas of Emergency Medicine* (3<sup>rd</sup> ed.). New York: McGraw-Hill Professional. pp. 658-9.
- Mainzen P. S., P. Venugopal, and P. Menon, 2010, Hypoglycaemic and other related actions of *Tinospora cordifolia* roots in alloxan-induced diabetic rats, *Etnopharmacology*, 70, 9-15.
- Mardiyanto, M., N. A. Fithri, A. Amriani, H. Herlina, and D. P. Sari, 2021. Formulation and Characterization of Glibenclamide Solid Lipid Submicroparticles Formated by Virgin Coconut Oil and Solid Matrix Surfactant. *Science and Technology Indonesia*, 6(2); 58-66.
- Samuel M. and P. Boulas. (2021). Comprehensive analysis of liposome formulation parameters and their influence on encapsulation, stability and drug release in glibenclamide liposomes,. *International Journal of Pharmaceutics*, 592, 0378-5173.
- Sangeetha, M.K. and H.V. Rachel, 2012. Anti-diabetic property of *Tinospora cordifolia* and its active compound is mediated through the expression of Glut-4 in L6 myotubes, *Phytomedicine*, 6(11), 25-30.
- Waqas A, I. Jantan, E. Kumolosasi, and S. N. Abbas-Bukhari (2015). Immunostimulatory effects of the standardized extract of *Tinospora crispa* on innate immune responses in Wistar Kyoto rats, *Drug design, development, and therapy*, 9(1), 2961-73.