Original Article

p-ISSN : 2442-6032
e-ISSN : 2598-9979

DOI : 10.35311/jmpi.v10i2.546

Skrining dan Karakterisasi Komponen *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) Atorvastatin Menggunakan *Fractional Factorial Design* (FFD)

Ifa Rizki Wijayanti*, Ilham Kuncahyo, Wiwin Herdwiani
Program S2, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta

Sitasi: Wijayanti, I. R., Kuncahyo, I., & Herdwiani, W. (2024). Skrining dan Karakterisasi Komponen Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Atorvastatin Menggunakan Fractional Factorial Design (FFD). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 346–355. https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.546

Submitted: 17 Juli 2024
Accepted: 24 Oktober 2024
Published: 21 Desember 2024

*Penulis Korespondensi:
Ifa Rizki Wijayanti
Email: ifa.rizki190@gmail.com

Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ABSTRAK

Atorvastatin merupakan obat yang memiliki kelarutan rendah dalam air (BCS kelas II) serta memiliki aktivitas farmakologis sebagai terapi hiperkolesterolemia. *Self-nanoemulsifying drug delivery systems* (SNEDDS) dianggap sebagai pendekatan yang potensial untuk meningkatkan kelarutan atorvastatin karena stabil dan proses pembuatan yang relatif sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk memilih komponen dan rasio komponen SNEDDS atorvastatin menggunakan pendekatan desain faktorial terfraksi (DFT) terhadap parameter waktu emulsifikasi, ukuran droplet, indeks polidispersitas (PDI), zeta potensial, persen transmitan, dan *loading* obat. Variabel yang digunakan dalam pengembangan SNEDDS atorvastatin adalah tipe dan konsentrasi minyak (*capryol 90* dan asam oleat), surfaktan (*cremophor RH40* dan tween 80), dan ko-surfaktan (*transcutol* dan PEG 400). Hasil DFT didapatkan 16 run dengan perbedaan proporsi komponen SNEDDS atorvastatin, kemudian dilakukan karakterisasi parameter kritis meliputi waktu emulsifikasi, persen transmitan, ukuran droplet, *loading* obat, indeks polidispersitas, dan zeta potensial. Komponen dan rasio komponen SNEDDS atorvastatin ditentukan dengan analisa *single factor plot* menggunakan program *design expert* 13. Hasil penelitian menunjukkan *capryol 90*, *cremophor RH40*, dan *transcutol* terpilih sebagai komponen minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan yang memiliki kontribusi paling besar dalam pembuatan SNEDDS atorvastatin dengan rasio minyak pada 11,1-37,5 %, rasio surfaktan 36,4-77,8 %, rasio ko-surfaktan 11,1-44,4 %.

Kata Kunci : Atorvastatin, SNEDDS, Desain Faktorial Terfraksi

ABSTRACT

Atorvastatin is a drug with low solubility in water (BCS class II) and has pharmacological activity as a therapy for hypercholesterolemia. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) are considered as a potential approach to increase the solubility of atorvastatin because of their stability and relatively simple manufacturing process. Using a fractional factorial design (DFT) and parameters for emulsification duration, droplet size, polydispersity index (PDI), zeta potential, percent transmittance, and drug loading, this work attempts to choose components and component ratios of atorvastatin SNEDDS. The variables used in development of atorvastatin SNEDDS were the type and concentration of oils (capryol 90 and oleic acid), surfactants (cremophor RH40 and tween 80), and co-surfactants (transcutol and PEG 400). DFT results show 16 runs with different proportions of atorvastatin SNEDDS components, then be characterized by critical parameters including emulsification time, percent transmittance, droplet size, drug loading, polydispersity index, and zeta potential. Selection components and component ratios of atorvastatin SNEDDS was determined by single factor plot analysis using design expert 13 software.The research results showed that capryol 90, cremophor RH40, and transcutol were selected as oil, surfactant, and co-surfactant components that had the greatest contribution in making atorvastatin SNEDDS with an oil ratio of 11,1-37,5 %, a surfactant ratio of 36,4-77,8 %, a co- surfactant 11,1-44,4 %.

Keywords : Atorvastatin, SNEDDS, Fractional Factorial Design

PENDAHULUAN

Rute oral telah diakui sebagai metode pemberian obat yang paling nyaman dan umum digunakan karena mudah diberikan, tingginya kepatuhan pasien, efektivitas biaya, kendala sterilitas minimum, dan desain bentuk sediaan yang fleksibel, namun bioavailabilitas yang rendah menjadi tantangan utama dalam desain bentuk sediaan oral. Bioavailabilitas obat adalah bagian dari dosis yang diberikan yang mencapai sirkulasi sistemik (Miryala and Kurakula, 2013). Bioavailabilitas oral ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kelarutannya di dalam air, permeabilitas obat, laju disolusi, metabolisme lintas pertama, metabolisme presistemik, dan kerentanan terhadap mekanisme efflux (Krishnaiah, 2010).

Atorvastatin merupakan obat yang digunakan untuk terapi hiperkolesterolemia. Atorvastatin secara kompetitif menghambat HMG-CoA reduktase, yaitu enzim pembatas laju yang mengkonversi HMG-CoA menjadi mevalonat, yang merupakan prekursor sterol termasuk kolesterol. Atorvastatin termasuk dalam BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) II, dimana obat yang masuk dalam kategori ini memiliki karakteristik berupa permeabilitas yang tinggi tetapi kelarutan yang rendah sehingga berpengaruh terhadap ketersediaan hayatinya dalam tubuh.

Atorvastatin cepat diserap setelah pemberian oral dengan konsentrasi plasma puncak pada 1 sampai 2 jam. Bioavailabilitas absolut dari atorvastatin adalah sekitar 12% dan hanya 30% obat yang diserap pada pemberian oral (Simatupang, 2017). Ketersediaan hayati atorvastatin oral rendah karena metabolisme lintas pertama yang ekstensif. Hal ini terjadi karena presistemik klirens yang tinggi dan larutannya yang buruk dalam air (Gardouh *et al.*, 2020). Meningkatkan kelarutan atorvastatin dan mengurangi metabolisme lintas pertama merupakan cara yang menarik untuk meningkatkan efek terapeutiknya. Beberapa metode yang telah diteliti untuk meningkatkan laju kelarutan obat termasuk dispersi padat, pengurangan ukuran partikel, kopresipitasi, dan sistem penghantaran obat berbasis lipid (Ashfaq *et al.*, 2022).

Sistem penghantaran obat berbasis lipid atau pembawa lipid adalah teknik menjanjikan yang telah digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas oral dari obat yang kurang larut. Tujuan utama dari formulasi berbasis lipid adalah untuk melindungi dari metabolisme lintas pertama melalui transport jalur limfatik, melindungi obat di lingkungan usus terhadap degradasi enzimatik atau perubahan pH, serta meningkatkan *loading* obat dan bioavailabilitas obat (Ashfaq *et al.*, 2022).

Sistem penghantaran obat nanoemulsifikasi mandiri (SNEDDS) telah dikembangkan secara ekstensif karena banyaknya manfaat potensial yang dimilikinya (Wahyuningsih *et al.*, 2015). Karena SNEDDS memiliki ukuran droplet obat yang lebih kecil, ia dapat membawa zat obat aktif ke sel target tanpa memengaruhi lingkungan sekitarnya, secara fisik lebih stabil daripada nanoemulsi/mikroemulsi, meningkatkan bioavailabilitas obat dengan kelarutan rendah, dan meningkatkan luas permukaan saluran pencernaan (Wang *et al.*, 2010).

Penggunaan SNEDDS sebagai sistem penghantaran obat dengan kelarutan rendah dapat mengurangi efek samping dengan meningkatkan laju pelarutan dan memungkinkan dosis yang lebih rendah. Kombinasi isotropik dari ko-surfaktan, surfaktan, dan fase minyak disebut SNEDDS. Sistem ini akan secara spontan menghasilkan nanoemulsi berukuran 20–200 nm di saluran pencernaan saat bersentuhan dengan media berair dengan sedikit agitasi. Diperkirakan bahwa tetesan berukuran nano dapat meningkatkan luas permukaan secara signifikan, yang akan meningkatkan kelarutan, laju pelarutan, dan bioavailabilitas. Pilihan lain untuk mengembangkan obat dari molekul lipofilik adalah SNEDDS (Ashfaq *et al.*, 2022).

Metode konvensional dalam pemilihan komponen minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan untuk SNEDDS didasarkan pada kemampuan tiap komponen untuk melarutkan obat dan dibuat diagram *pseudoternary* untuk menentukan rasio masing-masing komponen. Metode ini memiliki kelemahan yaitu komponen yang dipilih berdasarkan kelarutan tidak berkorelasi langsung terhadap mekanisme *self-emulsifying* sehingga memerlukan beberapa langkah untuk menentukan proporsi SNEDDS dan masih menggunakan media air sebagai media nanoemulsi, dengan demikian ada empat komponen yang perlu diperhitungkan saat menentukan area nanoemulsi yang menyebabkan percobaan dan pengujian tambahan. Ketercampuran komponen merupakan faktor utama untuk mencapai formulasi yang sukses, dan tidak berkorelasi dengan kelarutan obat di setiap komponen (Kuncahyo *et al.*, 2021).

Metode lain untuk menentukan komponen dan rasio komponen SNEDDS dapat menggunakan pendekatan statistik dengan *Fractional Factorial Design* (FFD). FFD digunakan untuk menentukan dan menilai faktor-faktor yang berkontribusi dalam pembuatan SNEDDS dengan sedikit percobaan

tanpa kehilangan informasi penting, dan terbukti lebih efisien daripada metode *pseudoternary*. Keuntungan FFD diantaranya tidak hanya faktor numerik yang dapat diuji, tetapi faktor kategori (jenis minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan) juga dapat diuji. Selain itu juga meningkatkan efisiensi dalam mengurangi biaya dan waktu (Kuncahyo *et al*., 2021). Penggunaan FFD terbukti efisien pada pengembangan SNEDDS pitavastatin yang menggunakan 6 faktor (Kuncahyo *et al*., 2021).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk memilih dan menentukan rasio komponen minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan dalam SNEDDS atorvastatin menggunakan desain faktorial terfraksi.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimental menggunakan variasi jumlah dari komponen minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan berdasarkan *Fractional Factorial Design* (FFD). Parameter uji SNEDDS atorvastatin meliputi waktu emulsifikasi, ukuran droplet, indeks polidispersitas (PDI), zeta potensial, persen transmitan, dan *loading* obat.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi ini adalah sentrifugator, *vortex*, *magnetic stirrer*, seperangkat alat gelas (*Pyrex*), timbangan analitik (*Metler Toledo xs205*), *micropipette* (*Thermo Scientific dan Finnpipette*), spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV Specthrophotometer*, UV-1800), ultrasonikator (*Biologis Inc model 300 v/t*), dan *particle size analyzer* (*HORIBA Scientific Nano Partica SZ 100*).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi atorvastatin, PEG 400, air suling, metanol pro-analisis, asam oleat, tween 80, cremophor RH 40, dan transcutol. Bahan yang digunakan dalam proses pembuatan SNEDDS dengan kualitas *pharmaceutical grade* dan untuk proses pengujian digunakan bahan dengan kualitas pro-analisa.

Penentuan panjang gelombang maksimal atorvastatin

Larutan standar 5.000 ppm disiapkan dengan melarutkan 50 mg atorvastatin dalam 10 ml metanol. 100 ml metanol dicampur dengan 1 ml larutan stok, menghasilkan konsentrasi larutan stok 50 bagian per juta (Soni *et al*., 2011). Pada panjang gelombang 200–400 nm, absorbansi larutan stok atorvastatin diukur. Pelarut metanol dapat memiliki nilai serapan maksimum pada panjang gelombang ini.

Pembuatan kurva baku atorvastatin

Larutan baku atorvastatin dibuat seri konsentrasi 4; 6; 8; 10; 12 ppm. Seri larutan ini diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum atorvastatin. Serapan yang diperoleh dibuat kurva regresi linear antara konsentrasi atorvastatin (ppm) dan serapannya sehingga diperoleh persamaan regresi linear (Soni *et al*., 2011).

Validasi Metode Analisa Atorvastatin

1. Linearitas

Linearitas dipastikan dengan mengukur absorbansi larutan stok atorvastatin dalam pelarut metanol, yang bervariasi dari 4 hingga 12 ppm pada panjang gelombang maksimum. diekstraksi dari bahan mentah dan ditempatkan dalam vial dengan campuran komponen yang digunakan dalam SNEDDS, yang mencakup masing-masing 100 µl kapriol 90, asam oleat, cremophor RH 40, tween 80, transcutol, dan PEG 400. Pada panjang gelombang 200–400 nm, tanda menjadi terlihat setelah penambahan metanol. Selain itu, persamaan garis regresi linier dibuat untuk melihat data absorbansi. Setelah itu, linearitas ditentukan dengan menghitung koefisien korelasi, atau nilai r. Pada tingkat kepercayaan 95%, ini dicapai dengan membandingkan nilai r yang dihitung dengan nilai r tabel. Nilai linearitas yaitu Y = a + bx, dimana Y = respon; X = konsentrasi; a = konstanta intersep; b = kemiringan (slope).

2. Selektivitas

Selektivitas merupakan kemampuan metode analisa yang hanya mengukur analit tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel seperti pengotor atau eksipien (Harmita, 2004). Pengujian dilakukan dengan membandingkan spektra UV baku atorvastatin dengan plasebo. Plasebo yang digunakan merupakan campuran komponen SNEDDS yang digunakan (*capryol 90*, asam oleat, *cremophor RH 40*, tween 80, *transcutol*, dan PEG 400) diambil masing-masing 100 µl dan ditambahkan metanol hingga 5000 µl lalu dilihat spektra pada panjang gelombang 200-400 nm.

3. Batas deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Jumlah atorvastatin ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Seri konsentrasi dibuat di bawah konsentrasi terendah untuk uji linearitas. Dalam persamaan regresi linear, y = a + bx, nilai pengukuran dapat ditentukan menggunakan nilai b (kemiringan), dan deviasi kosong setara dengan deviasi standar residual (Sy/x). Persamaan berikut dapat digunakan untuk menemukan batas deteksi dan kuantifikasi:

$$LOD = \frac{3{,}3\ Sy/x}{b}$$

$$LOQ = \frac{10\ Sy/x}{b}$$

Keterangan :
LOD = batas deteksi
LOQ = batas kuantifikasi
$S_{y/x}$ = simpangan baku residual dari serapan
b = slope persamaan regresi linear kurva kalibrasi

4. Akurasi dan presisi

Larutan baku induk atorvastatin dibuat dengan menimbang 50 mg atorvastatin dan dilarutkan dengan metanol hingga 50 ml. Selanjutnya diambil dari baku induk sebanyak 20; 30; 40 µl dimasukkan ke dalam vial campuran *capryol 90*, asam oleat, *cremophor RH 40*, tween 80, *transcutol*, dan PEG 400 masing-masing 100 µl dan ditambahkan metanol 5000 µl. Tiap vial dibaca pada panjang gelombang maksimum sebanyak tiga kali lalu dihitung simpangan baku relatif (RSD) dan perolehan kembali. Kriteria presisi jika nilai % RSD kurang dari 2%. Persen perolehan kembali dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%\ Recovery = \frac{kadar\ sesungguhnya}{kadar\ teoritis} \times 100\ \%$$

Simpangan baku relatif dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\ \%$$

Keterangan :
% recovery = perolehan kembali
RSD = simpangan baku relatif
SD = simpangan baku
x = kadar rata-rata pengukuran

Pemilihan komponen dan rasio komponen dengan Fraksional Faktorial Design (FFD)

Komponen SNEDDS dipilih menggunakan pendekatan *design of experimental* dengan *Fractional Factorial Design* (FFD) menggunakan enam faktor yaitu faktor kategori dan faktor numerik. Faktor kategori terdiri dari tipe minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan sedangkan faktor numerik merupakan konsentrasi tiap komponen dengan dua tingkat yaitu tingkat atas (+1) dan bawah (-1). Desain faktorial terfraksi 2^{6-2} dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain Faktorial Terfraksi 2^{6-2}

No.	Kategori	Batas bawah	Batas atas
1	Asam oleat / Capryol 90	1	3
2	Cremophor RH 40 / Tween 80	4	7
3	PEG 400 / Transcutol	1	4

Formula desain faktorial terfraksi 2^{6-2} didapatkan menggunakan program *design expert* 13 dengan menggunakan faktor kategori dan faktor numerik. Formula desain faktorial terfraksi 2^{6-2} dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Formula Desain Faktorial Terfraksi 2^{6-2}

No. run	Faktor kategori			Faktor numerik		
	A	B	C	D	E	F
1	Capryol 90	Tween 80	PEG 400	3	4	1
2	Asam oleat	Cremophor	PEG 400	3	4	4
3	Asam oleat	Cremophor	Transcutol	1	7	4
4	Capryol 90	Tween 80	PEG 400	1	4	4
5	Capryol 90	Cremophor	PEG 400	1	7	1
6	Asam oleat	Tween 80	Transcutol	1	4	1
7	Capryol 90	Cremophor	Transcutol	3	4	1
8	Capryol 90	Cremophor	Transcutol	1	4	4
9	Asam oleat	Tween 80	Transcutol	3	4	4
10	Capryol 90	Cremophor	PEG 400	3	7	4
11	Capryol 90	Tween 80	Transcutol	1	7	1
12	Asam oleat	Cremophor	Transcutol	3	7	1
13	Asam oleat	Cremophor	PEG 400	1	4	1
14	Asam oleat	Tween 80	PEG 400	1	7	4
15	Capryol 90	Tween 80	Transcutol	3	7	4
16	Asam oleat	Tween 80	PEG 400	3	7	1

Keterangan: A = Minyak; B = Surfaktan; C = Ko-surfaktan; D = Proporsi minyak; E = Proporsi Surfaktan; F = Proporsi Ko-surfaktan

Pembuatan SNEDDS atorvastatin

Kombinasi minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan (tabel 2) dengan berat total 10 g, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 300 rpm selama 10 menit. Ditambahkan atorvastatin hingga jenuh atau terjadi pengendapan dari serbuk atorvastatin, campuran dihomogenkan dengan *stirrer* dan disonikasi selama 10 menit. Setelah jenuh campuran disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 45 menit lalu *supernatant* diambil. SNEDDS yang dihasilkan disimpan pada suhu ruang untuk pengujian selanjutnya (Kuncahyo *et al*., 2021).

Karakterisasi SNEDDS atorvastatin

Waktu emulsifikasi (WE). 0,1 ml atorvastatin SNEDDS ditambahkan ke dalam 10 ml air suling pada suhu 37 ± ^{0}C untuk melihat berapa lama campuran akan teremulsi. Setelah itu, pengaduk diputar 100 putaran per menit. Perhatikan berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk membentuk sistem dispersi emulsi yang seragam (Kuncahyo *et al*. 2021).

Persen transmitan (%T). Dengan memanfaatkan waktu emulsifikasi, % transmisi ditentukan. Selanjutnya, dengan menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 650 nm, sistem dispersi yang terbentuk selama uji waktu emulsifikasi diamati dalam pengaduk dengan kecepatan 500 rpm selama 5 menit. Jika hasil transmisi mendekati 100%, sampel menunjukkan kejernihan yang mirip dengan air (Kuncahyo *et al*., 2021).

Ukuran droplet, *polydispersity index* (PDI), dan zeta potensial**.** Pengujian ini dilakukan dengan mengencerkan 1 ml SNEDDS dalam 100 ml aquadest dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* sehingga terbentuk sistem nanoemulsi. Penetapan ukuran partikel dan nilai PDI menggunakan alat PSA (*Particle Size Analizer*) (Pattewar, 2018).

Loading obat. Spektrofotometer UV digunakan untuk uji penentuan muatan obat. Tambahkan metanol hingga 10 ml ke dalam 0,1 ml atorvastatin SNEDDS, lalu homogenkan. Setelah itu, spektrofotometer UV digunakan untuk mengukur kadar atorvastatin terlarut pada panjang gelombang maksimumnya (Salim & Rajab, 2020).

Skrining pemilihan komponen SNEDDS atorvastatin

Skrining pemilihan komponen dan rasio komponen SNEDDS atorvastatin berdasarkan hasil karakterisasi yang memenuhi kriteria pada semua uji yang dilakukan, meliputi % transmitan, WE, ukuran droplet, PDI, zeta potensial, dan *loading* obat yang dianalisa mengunakan *single factor plot* (Nugroho et al, 2023).

Analisis data statistik

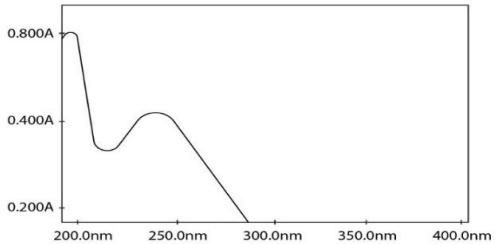
Penentuan komponen dan rasio SNEDDS atorvastatin menggunakan formula desain faktorial terfraksi 2^{6-2} kemudian dikarakterisasi parameter kritis meliputi waktu emulsifikasi, ukuran droplet, persen transmitan, PDI, zeta potensial, dan *loading* obat. Hasil dari parameter kritis dianalisa menggunakan *single factor plot* berdasarkan waktu emulsifikasi < 1 menit, ukuran droplet antara 20-200 nm, persen transmitan > 90%, zeta potensial ± 30 mV, PDI < 0,5 dan loading obat > 90%. Parameter statistik untuk melihat interaksi antar komponen menggunakan pendekatan regresi linier berganda.

$$Y = a + m_1*A + m_2*B + m_3* C + m_4*D + m_5* E + m_6* F$$

Dimana a adalah intersep; A, B, C, …,F sebagai faktor; $m_1, m_2, m_3, \ldots, m_6$ sebagai koefesien regresi. Diuji pula parameter kritis meliputi R^2, *adjusted* R^2, *Predicted* R^2, *adequate precision*, dan efek signifikansi respon ditentukan dengan nilai *p* dari analisa varian (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95% (Kuncahyo *et al*., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Spektrofotometer UV digunakan untuk mengukur panjang gelombang maksimum atorvastatin, yaitu antara 200 dan 400 nm, sebelum metode analisis divalidasi. Panjang gelombang maksimum atorvastatin adalah 246 nm, dan nilai serapannya adalah 0,420. Gambar 1 menunjukkan spektrum panjang gelombang maksimum.



Gambar 1. Spektra Panjang Gelombang Maksimal Atorvastatin
Keterangan puncak: Lamda Max Atorvastatin

Untuk memastikan bahwa analisis yang digunakan dapat dipercaya dan bertanggung jawab terhadap sains, validitas metode analisis diverifikasi berdasarkan linearitas, selektivitas, presisi, akurasi, dan kemampuan untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Tujuan dari prosedur validasi metode, menurut *United States Pharmacopeia* (USP), adalah untuk memastikan metode analisis tersebut tepat, kuat, responsif, dan spesifik terhadap rentang analit yang diuji. Tabel 3 menampilkan hasil validasi analitik.

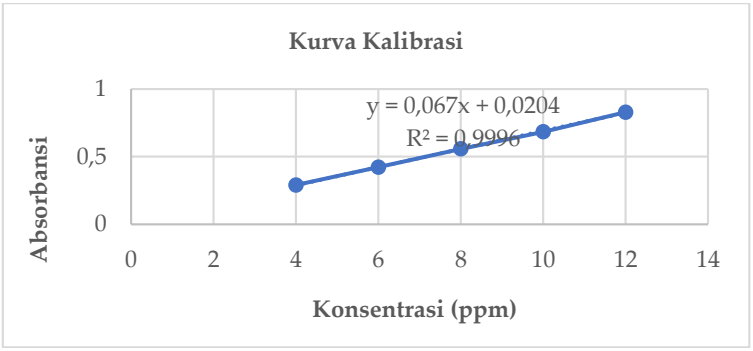
Tabel 3. Parameter validasi metode analisis kurva kalibrasi atorvastatin

No.	Parameter	Hasil
1	Linieritas (r)	0,9996
2	Perolehan kembali (*Recovery*)	100,15%
3	Simpangan baku relatif (RSD)	1,52%
4	Batas deteksi (LOD)	0,230 ppm
5	Batas kuantifikasi (LOQ)	0,696 ppm

Linieritas

Uji ini memberikan respons proporsional antara konsentrasi analit dan absorbansi sampel, yang menunjukkan prosedur analisis (Ramadhan & Musfiroh, 2021). Lima konsentrasi larutan standar (4, 6, 8, 10, dan 12 ppm) digunakan untuk pengujian. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 246 nm. Absorbansi ditampilkan pada sumbu y, sedangkan konsentrasi ditampilkan pada sumbu x. Persamaan regresi linier adalah y = 0,067x + 0,0204, dan koefisien hubungan (r) adalah 0,9996. Asosiasi Kimia Analitik Resmi (AOAC) mensyaratkan nilai koefisien korelasi > 0,99, yang dapat digunakan untuk menggambarkan keakuratan analisis suatu metode. Kurva kalibrasi atorvastatin dalam metanol dengan koefisien korelasi 0,9996 menunjukkan hasil positif karena lebih dari 0,99, yang menunjukkan hubungan proporsional antara konsentrasi terukur dan reaksi analitik. Kurva kalibrasi antara absorbansi dan konsentrasi (ppm) ditampilkan pada Gambar 2.

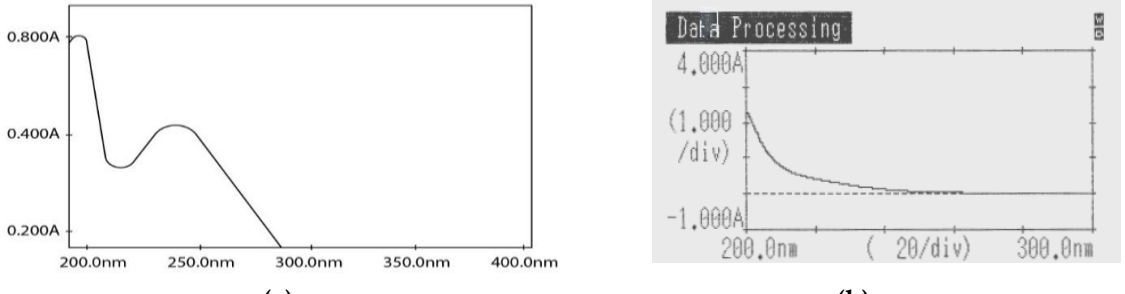
.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Atorvastatin

Selektivitas

Seberapa baik sampel dapat membedakan analit tertentu dalam campuran matriks aditif yang rumit ditunjukkan oleh parameter selektivitas. Untuk mencapai selektivitas, tanda spektral analit dan plasebo dikontraskan. Gambar 3 mengilustrasikan bagaimana penambahan plasebo, bagian dari SNEDDS, dapat meningkatkan penyerapan atorvastatin dalam rentang 246 nm. Gambar 3 menunjukkan spektrum atorvastatin dan plasebo.



(a) **(b)**

Gambar 3. (a) Spektra atorvastatin; (b) placebo

Karakterisasi SNEDDS Atorvastatin

Tujuan dari pengujian karakterisasi SNEDDS atorvastatin adalah untuk menentukan apakah sediaan nanoemulsi stabil dan memenuhi syarat. Parameter yang diuji untuk karakterisasi sediaan nanoemulsi termasuk waktu emulsifikasi, persen transmisi, pengisian obat, ukuran partikel, indeks polidispersitas (PDI), dan zeta potensial. Sediaan nanoemulsi dikatakan baik jika memiliki penampilan jernih, tidak terjadi pemisahan fase, dan homogen. Nilai PDI tidak lebih dari 0,5; ukuran droplet tidak lebih dari 200nm; pengisian obat atau kadar obat yang meningkat; dan nilai potensial zeta kurang dari -30 mV atau lebih dari +30 mV. Hasil karakteristik SNEDDS atorvastatin tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakterisasi SNEDDS Atorvastatin

No. run	Faktor kategori			Faktor numerik			Respon					
	A	B	C	D	E	F	WE (detik)	% T (%)	LO (mg/ml)	UD (nm)	PDI	ZP (mV)
1	Capryol 90	Tween 80	PEG 400	3	4	1	15,28	97,90	88,90	110,20	0,766	-22,85
2	Asam oleat	Cremophor	PEG 400	3	4	4	28,70	45,37	16,76	155,93	0,390	-31,09
3	Asam oleat	Cremophor	Transcutol	1	7	4	24,48	83,13	52,58	84,83	0,251	-26,95
4	Capryol 90	Tween 80	PEG 400	1	4	4	18,17	94,13	73,97	14,24	0,485	-21,99
5	Capryol 90	Cremophor	PEG 400	1	7	1	13,31	97,77	70,54	12,01	0,265	-15,36
6	Asam oleat	Tween 80	Transcutol	1	4	1	25,24	71,43	85,11	169,77	0,289	-28,72
7	Capryol 90	Cremophor	Transcutol	3	4	1	12,47	99,07	86,66	14,78	0,397	-22,64
8	Capryol 90	Cremophor	Transcutol	1	4	4	15,53	94,93	89,34	8,07	0,358	-13,14
9	Asam oleat	Tween 80	Transcutol	3	4	4	29,23	42,37	71,33	410,77	0,431	-29,79
10	Capryol 90	Cremophor	PEG 400	3	7	4	13,49	97,03	45,01	9,75	0,205	-14,08
11	Capryol 90	Tween 80	Transcutol	1	7	1	12,44	99,03	98,05	12,91	0,197	-15,89
12	Asam oleat	Cremophor	Transcutol	3	7	1	16,36	68,77	31,23	226,7	0,650	-26,8
13	Asam oleat	Cremophor	PEG 400	1	4	1	18,10	80,7	53,32	154,17	0,612	-23,75
14	Asam oleat	Tween 80	PEG 400	1	7	4	23,93	70,63	32,08	192,43	0,392	-25,6
15	Capryol 90	Tween 80	Transcutol	3	7	4	17,10	98,17	69,99	10,03	0,285	-18,34
16	Asam oleat	Tween 80	PEG 400	3	7	1	24,34	52,57	60,24	232,27	0,451	-29,1

Keterangan: WE = Waktu emulsifikasi, % T = Persen transmitan, LO = Loading obat, UD = Ukuran droplet, PDI = Indeks polidispersitas, ZP = Zeta potensial

Skrining Pemilihan Komponen SNEDDS Atorvastatin

Desain faktorial fraksional digunakan pada tahap penyaringan pertama untuk memilih jenis komponen minyak, kosurfaktan, dan surfaktan, serta rasio penggunaan dalam formula SNEDDS. Komponen SNEDDS atorvastatin dipilih melalui desain faktorial fraksional menggunakan jenis minyak rantai panjang dan sedang serta surfaktan non-ionik yang menghasilkan campuran isotropik yang stabil. Asam oleat dan kapriol 90 adalah minyak yang digunakan dalam penelitian ini. Lebih sedikit minyak yang dibutuhkan untuk membuat formulasi jika obat lebih larut dalam fase minyak. Ini berarti bahwa jumlah zat terlarut dan waktu pengemulsi akan meningkat. Atorvastatin ditemukan dalam minyak rantai sedang. Dengan menggunakan metode analisis regresi linier berganda, plot faktor tunggal digunakan untuk memilih komponen dan

rasio komponen atorvastatin SNEDDS. Parameter seperti waktu emulsifikasi, persentase pengiriman, ukuran droplet, indeks polidispersitas, dan potensi zeta dimasukkan dalam plot. Analisis regresi linier berganda digunakan untuk menilai pembentukan model yang baik dari parameter yang digunakan. Parameter dengan model yang baik dicirikan oleh signifikansi p <0,05; R2 lebih dari 0,7; perbedaan antara Adjusted dan Predicted kurang dari 0,2; dan presisi Adequate lebih dari 4. Parameter statistik untuk waktu emulsifikasi, persen transmisi, pengisian obat, ukuran droplet, indeks polidispersitas, dan zeta potensial ditunjukkan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Parameter Statistik Dari Waktu Emulsifikasi, % Transmitan, *Drug Loading*, Ukuran Droplet, Indeks Polidispersitas, Dan Zeta Potensial

No.	Parameter	Waktu emulsifikasi	% Transmitan	Drug loading	Ukuran droplet	Indeks polidispersitas	Zeta potensial
1	*p-value model*	0,0006	0,0012	0,0011	0,0007	0,0359	0,0012
2	R^2	0,8951	0,8772	0,8796	0,8898	0,7176	0,8759
3	*Adjusted* R^2	0,8252	0,7954	0,7993	0,8163	0,5293	0,7931
4	*Predicted* R^2	0,6686	0,6120	0,6195	0,6517	0,1073	0,6077
5	*Adequate precision*	11,6409	9,4417	10,5933	9,5474	7,1081	9,4917

Parameter Waktu Emulsifikasi

Pembentukan nanoemulsi yang cepat dan spontan merupakan langkah penting dalam produksi SNEDDS. Karena adanya gerakan peristaltik, diharapkan nanoemulsi akan segera terbentuk dalam sistem pencernaan. Emulsi bekerja paling baik jika terjadi dalam waktu kurang dari 1 menit dan memiliki gambar yang transparan atau jernih. Kecepatan pengemulsian obat memiliki korelasi langsung dengan kecepatan penyerapannya (Erliyana *et al.*, 2022).

Data statistik parameter waktu emulsifikasi memenuhi parameter baik dengan selisih antara yang disesuaikan dan yang diprediksi sebesar 0,1566, signifikansi p 0,0006, R2 sebesar 0,8951, dan presisi memadai sebesar 11,6409 (lihat tabel 5). Waktu emulsifikasi atorvastatin SNEDDS dipengaruhi secara signifikan oleh jenis minyak, jenis surfaktan, dan rasio ko-surfaktan. Dalam hal parameter waktu emulsifikasi, jenis minyak lebih penting daripada jenis surfaktan dan rasio ko-surfaktan.

Parameter % Transmitan

Persentase transmitansi menunjukkan seberapa jernih sediaan SNEDDS. Semakin kecil globul yang terbentuk, semakin tinggi persentase transmitansi (mendekati 100%). Kemurnian sediaan SNEDDS menunjukkan potensinya untuk menghasilkan nanoemulsi setelah kontak dengan media dispersi. Dengan signifikansi p 0,0012, R2 0,8772, perbedaan antara nilai yang disesuaikan dan yang diprediksi 0,1834, dan presisi yang memadai 9,4417, data statistik parameter persentase transmitansi memenuhi parameter yang baik (ditunjukkan pada tabel 5). Pada tingkat signifikansi p <0,05, jenis minyak secara signifikan memengaruhi persentase transmitansi SNEDDS atorvastatin.

Parameter *drug loading*

Salah satu pertimbangan utama dalam pembuatan formulasi bentuk sediaan SNEDDS, khususnya SNEDDS atorvastatin adalah kemampuan obat untuk memuat. Rasio SNEDDS minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan—menentukan kapasitas untuk melarutkan zat aktif.

Dengan nilai signifikansi p 0,0011, R2 0,8796, perbedaan yang disesuaikan dan diprediksi 0,1798, dan presisi yang memadai 10,5933, data statistik parameter pemuatan obat memenuhi parameter model yang sesuai (tabel 5). Pemuatan obat SNEDDS atorvastatin sangat dipengaruhi oleh jenis minyak, jenis surfaktan, jenis ko-surfaktan, rasio surfaktan, dan rasio ko-surfaktan, dengan nilai signifikansi p <0,05. Aspek terpenting yang memengaruhi pemuatan obat adalah jenis minyak. Fase minyak merupakan elemen penting.

Parameter ukuran droplet

Ukuran droplet memengaruhi stabilitas emulsi yang terbentuk dan laju serta kemudahan penyerapan obat yang optimal, hal ini merupakan aspek penting dalam emulsifikasi mandiri. Ukuran globul yang lebih kecil meningkatkan luas permukaan kontak droplet dengan cairan lambung, yang memfasilitasi pemecahan enzim lipase dan mempercepat pelepasan obat dibandingkan dengan ukuran globul yang lebih besar.

Semakin cepat obat diserap, semakin kecil ukuran globulnya. Dengan nilai signifikan p 0,0007, R2 0,8898, perbedaan antara nilai yang disesuaikan dan nilai prediksi 0,1646, dan presisi yang memadai

9,5474, data statistik parameter ukuran droplet memenuhi parameter model yang baik (tabel 5).

Parameter Indeks Polidispersitas (PDI)

Indeks polidispersitas didefinisikan sebagai nilai simpangan baku ukuran globul rata-rata. Pembentukan ukuran nanoemulsi yang konsisten ditunjukkan dengan nilai kurang dari satu. Ukuran globul dan distribusi ukurannya dapat ditentukan dengan teknik emisi cahaya seperti PCS (*Photon Correlation Spectroscopy*) dan mikroskopi elektron. Tabel 5 menampilkan data statistik untuk parameter indeks polidispersitas, yang mematuhi parameter model yang sangat baik. Nilai p = 0,0359, R2 = 0,7176, dan presisi memadai = 7,1081 diamati. Pada tingkat signifikansi p <0,05, jenis minyak secara signifikan memengaruhi indeks polidispersitas atorvastatin SNEDDS.

Parameter zeta potensial

Potensi zeta menggambarkan stabilitas sistem yang terdiri dari partikel-partikel bermuatan serupa yang tersebar luas dan saling berdekatan.

Nilai potensi zeta menunjukkan keseimbangan ideal antara gaya tolak dan gaya tarik, partikel-partikel akan saling mendekat dan menyatu. Kami menyebut kejadian ini sebagai flokulasi. Untuk emulsi o/w, potensi zeta sering kali negatif. Ketika gaya tolak antar partikel lebih kuat daripada gaya tarik, agregat antar partikel yang terdispersi tidak dapat terbentuk, itulah sebabnya peningkatan nilai potensial zeta negatif menunjukkan stabilitas emulsi o/w.

Dengan nilai signifikan p 0,0012, R2 0,8759, perbedaan yang disesuaikan dan diprediksi 0,1854, dan presisi yang memadai 9,4917, data statistik parameter potensial zeta cocok dengan parameter model yang baik (tabel 5). Pada tingkat signifikansi p <0,05, jenis minyak berdampak pada potensi zeta atorvastatin SNEDDS. Dibandingkan dengan kapriol 90, jenis minyak asam oleat menunjukkan nilai potensi zeta yang lebih tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan pada tabel 4 dengan formula 11 memiliki kontribusi yang paling besar dalam pembuatan sediaan SNEDDS atorvastatin berdasarkan *Fractional Factorial Design* (FFD). *Cremophor RH 40* dipilih sebagai surfaktan karena berpengaruh signifikan terhadap parameter waktu emulsifikasi dan ukuran droplet, dengan mempercepat waktu emulsifikasi dan memperkecil ukuran droplet.

Surfaktan berperan dalam menurunkan tegangan antar muka fase minyak dan fase air. Pemilihan *transcutol* sebagai ko-surfaktan dapat meningkatkan *loading* obat dan rasio penggunaannya berpengaruh terhadap parameter *loading* obat dan waktu emulsifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

Ashfaq, M. *et al.* (2022) .Enhancement of the Solubility and Bioavailability of Pitavastatin through a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)', *Pharmaceutics*, 14(3). Available at: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030482.

Erliyana, M. *et al.* (2022). Formulation of self-nano emulsifying drug delivery system (SNEDDS) Red Ginger extract (Zingiber Officinale var. rubrum)', *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 19(2), p. 133. Available at: https://doi.org/10.12928/mf.v19i2.21655.

Gardouh, A.R. *et al.* (2020). Design and evaluation of combined atorvastatin and ezetimibe optimized self- nano emulsifying drug delivery system', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60(September), p. 102093. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102093.

Harmita, H. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya', *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), pp. 117–135. Available at: https://doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375.

Krishnaiah, Y.S.. (2010). Pharmaceutical Technologies for Enhancing Oral Bioavailability of Poorly Soluble Drugs', *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, 02(02), pp. 28–36. Available at: https://doi.org/10.4172/jbb.1000027.

Kuncahyo, I. *et al.* (2021). Development of pitavastatin-loaded super-saturable self-nano emulsion: a continues screening and optimization approach using statistical technique', *Journal of Dispersion Science and Technology*, 44(4), pp. 608–617. Available at: https://doi.org/10.1080/01932691.2021.1957922.

Kurakula, M., & Miryala, V. (2013). Self-nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) for Oral Delivery of Atorvastatin Formulation and Bioavailability Studies,. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics.* 3 (3), 131-142.

Miryala, V. and Kurakula, M. (2013). Self-nano emulsifying drug delivery system (SNEDDS) for oral delivery of atorvastatin -formulation and bioavailibility studies.', *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(3), pp. 131–40.

Nugroho *et al* (2023). Screening of Piroxicam Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Using Fractional Factorial Design', *Jurnal Kimia Riset*, 8(1), pp. 69–80. Available at: https://doi.org/10.20473/jkr.v8i1.43803.

Ramadhan, S.A. and Musfiroh, I. (2021) . Review Artikel: Verifikasi Metode Analisis Obat', *Farmaka*, 19, pp. 87–92. Available at: https://doi.org/10.24198/farmaka.v19i3.32328.

Salim, F.F. and Rajab, N.A. (2020) . Formulation and characterization of piroxicam as self-nano emulsifying drug delivery system', *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(1), pp. 174–183. Available at: https://doi.org/10.31351/VOL29ISS1PP174-183.

Simatupang, A. (2018). *Monograf Statin (HMG-CoA reductase inhibitor) Bukti terbaru pengalaman penggunaannya*. Fakultas Kedokteran – Universitas Kristen Indonesia

Singh R, L. J. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *ExpMolPathol*. 86:215-223

Singh, B., Bandopadhyay, S., Kapil, R., Singh, R., danKatare, O. P. (2009). Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS): Formulation Development, Characterization, and Application, Crit. *Rev. Ther. Drug.Carrier Syst.*,. 26 (5), 427, 431, 444-445, 451.

Wahyuningsih, *et al* (2015). Uji Kelarutan Untuk Seleksi Fase Minyak, Surfaktan Dan Kosurfaktan Dalam Preparasi Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Furosemid', *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*, pp. 99–104.

Wang, Z. *et al.* (2010). Solid self-emulsifying nitrendipine pellets: Preparation and in vitro/in vivo evaluation', *International Journal of Pharmaceutics*, 383(1–2), pp. 1–6. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.08.014.