

# FORMULASI DAN PENETAPAN KADAR NANOPARTIKEL KUERSETIN PRE DAN PASCA PROSES *FREEZE DRYING* DENGAN KRIOPROTEKTAN MALTODEKSTRIN-GLISERIN

Eric Indrawan\*, Aditya Trias Pradana, Fawandi Fuad Alkindi

Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Raya Kalirungkut, Surabaya 60293

\*Corresponding author: 2015016@smapetrus.net

**Abstrak**—Pada penelitian ini dilakukan formulasi freeze drying nanopartikel kuersetin dengan krioprotektan untuk menjaga stabilitas obat dan menggunakan HPLC untuk membandingkan kadar kuersetin blank dengan kadar kuersetin setelah freeze drying menggunakan cyroprotectan. Formula terpilih ditentukan berdasarkan sifat fisik (detailkan ukuran partikel, kandungan lembab, morfologi permukaan dengan SEM, bobot jenis, dll), dan kestabilan fisika-kimia yang paling optimal. Keberhasilan dalam meningkatkan karakteristik fisikokimia diduga menunjukkan peningkatan bioavailabilitas dan aktivitas senyawa gabungan untuk studi lebih lanjut. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan apakah formulasi nanokristal kuersetin dapat mempengaruhi ukuran partikel pada sampel dan untuk mengetahui apakah Formulasi nanokristal kuersetin dengan maltodekstrin dan gliserin dapat menjaga kestabilan kimia sediaan. Hasil analisis menunjukkan kadar kuersetin pada sampel formulasi 1 yaitu 66,44% dengan bobot awal 103,5 mg bertambah menjadi 106,8 mg setelah freeze drying. Pada sampel formulasi 2 diperoleh kadar 95%, namun bobot kuersetin tetap berbobot 101,05 mg. Pada sampel formulasi 3 diperoleh kadar 78,83%, dengan bobot kuersetin yang bertambah dari 99,8 mg menjadi 110,5 mg. Artinya, replikasi formulasi nanopartikel kuersetin dengan gliserin mengandung kuersetin yang lebih besar dibandingkan dengan maltodekstrin atau gabungan keduanya. Kedua senyawa yang digunakan dapat mempertahankan stabilitas kimia kuersetin yang diformulasi.

**Kata kunci:** formulasi, nano partikel, kuersetin, freeze drying, krioprotektan, maltodekstrin, gliserin

## Pendahuluan

Gangguan depresi, yang juga dikenal sebagai depresi, adalah gangguan mental umum yang ditandai dengan perasaan sedih yang terus-menerus dan hilangnya minat pada aktivitas yang pernah dinikmati. Pada dasarnya, depresi adalah suasana hati yang buruk atau hilangnya kesenangan dalam beraktivitas dalam jangka waktu yang lama. Hal ini berbeda dari perubahan suasana hati normal dan respons emosional sehari-hari. Depresi dapat menyebabkan bunuh diri, tetapi dapat dicegah dengan dukungan yang tepat. Sangat penting untuk menyadari bahwa ada banyak cara untuk membantu kaum muda dengan kecenderungan bunuh diri (WHO, 2023). Penelitian sebelumnya telah memverifikasi bahwa terjadinya depresi terkait dengan berbagai faktor biologis seperti genetika, ketidakseimbangan neurotransmitter, perubahan struktur dan fungsi otak, gangguan hormonal, peradangan, gangguan neuroendokrin, gaya hidup, dan faktor lingkungan. Patogenesis depresi meliputi kerusakan saraf dan anomali aplastik (Liu *et al.*, 2015), disfungsi aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA) (Aubry, 2013), hipoaktivitas sistem neurotransmitter monoamina (Yohn *et al.*, 2017), peradangan (Felger, 2019), stres oksidatif (Bhatt *et al.*, 2020), serta faktor genetik dan psikososial (Ménard *et al.*, 2016) (Chen *et al.*, 2022).

Obat antidepresan biasanya hanya menargetkan satu aspek patogenesis, sehingga menghasilkan tindakan yang lambat. Kepatuhan pasien sering kali menurun karena efek samping seperti pusing, muntah, dan penurunan libido. Beberapa obat juga dapat meningkatkan kadar glukosa darah dan berat badan, sehingga meningkatkan risiko penyakit lain (Carvalho *et al.*, 2016). Oleh karena itu, ada kebutuhan mendesak untuk menemukan antidepresan yang aman dan efektif dengan mekanisme target ganda. Pengobatan Tradisional Tiongkok (TCM), dengan khasiat penyembuhannya yang unik dalam mengobati depresi, telah menarik perhatian seiring dengan ditemukannya obat antidepresan baru. Artikel "Bahan aktif antidepresan dari herba dan

*nutraceutical* yang digunakan dalam TCM: mekanisme farmakologis dan prospek penemuan obat" merangkum penelitian tentang produk alami dari TCM yang dilaporkan dalam dua dekade terakhir, yang dapat diklasifikasikan menurut berbagai mekanisme termasuk peningkatan konsentrasi monoamina sinaptik, pengurangan disfungsi aksis HPA, pengurangan gangguan neuroplastisitas, dan penanganan disregulasi imun dan inflamasi. Bahan aktif antidepresan yang diidentifikasi dari TCM umumnya terbagi dalam beberapa kategori seperti saponin, *flavonoid*, alkaloid, polisakarida, dan lainnya (Y. S. Wang dkk., 2019)

*Quercetin*, senyawa *flavonoid*, telah mendapatkan perhatian signifikan dalam industri farmasi dan *nutraceutical* karena sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan anti-karsinogeniknya yang luar biasa. Namun, kelarutan air yang buruk dan bioavailabilitas *quercetin* yang rendah telah membatasi aplikasi klinisnya. Untuk mengatasi keterbatasan ini, para peneliti telah mengeksplorasi berbagai strategi nanoformulasi, termasuk sistem pengiriman obat nanoemulsifikasi diri dan nanopartikel, untuk meningkatkan kelarutan, stabilitas, dan pengiriman *quercetin* yang ditargetkan (Tran *et al.*, 2014) (Das *et al.*, 2020).

Salah satu pendekatan yang menjanjikan untuk meningkatkan bioavailabilitas *quercetin* adalah penggunaan pengeringan beku dengan krioprotektan, seperti maltodekstrin dan gliserin. Pengeringan beku adalah teknik yang banyak digunakan untuk persiapan nanopartikel *quercetin*, karena dapat meningkatkan stabilitas dan masa simpan formulasi (Rao, 2020). Penambahan krioprotektan, seperti maltodekstrin dan gliserin, dapat lebih meningkatkan stabilitas nanopartikel selama proses pengeringan beku dan penyimpanan selanjutnya (Yang *et al.*, 2020).

Dalam makalah penelitian ini, kami bertujuan untuk memformulasi nanopartikel *quercetin* menggunakan metode pengeringan beku dan menyelidiki efek dari dua krioprotektan, maltodekstrin dan gliserin, pada sifat fisikokimia, pelepasan obat, dan aktivitas biologis nanopartikel.

Nanopartikel *quercetin* disiapkan menggunakan metode penguapan pelarut, diikuti dengan pengeringan beku dengan maltodekstrin atau gliserin sebagai krioprotektan. Karakterisasi fisikokimia nanopartikel, termasuk ukuran partikel, potensi zeta, dan morfologi, dilakukan menggunakan hamburan cahaya dinamis dan mikroskop elektron. Profil pelepasan obat *in vitro* dievaluasi, dan aktivitas antioksidan dan antibakteri nanopartikel *quercetin* dinilai dan dibandingkan dengan *quercetin* murni.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan maltodekstrin atau gliserin sebagai krioprotektan selama proses pengeringan beku secara signifikan meningkatkan sifat fisikokimia nanopartikel *quercetin*. Nanopartikel yang diformulasikan dengan maltodekstrin menunjukkan ukuran partikel yang lebih kecil, potensi zeta yang lebih tinggi, dan pelepasan obat yang lebih berkelanjutan dibandingkan dengan nanopartikel yang diformulasikan dengan gliserin. Selain itu, nanopartikel *quercetin* menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan dan antibakteri dibandingkan dengan *quercetin* murni (Das *et al.*, 2020) (Davarnejad *et al.*, 2021).

Sebagai kesimpulan, penelitian ini menunjukkan potensi penggunaan metode pengeringan beku dengan maltodekstrin atau gliserin sebagai krioprotektan untuk memformulasi nanopartikel *quercetin* dengan sifat fisikokimia, pelepasan obat, dan aktivitas biologis yang lebih baik. Temuan penelitian ini berkontribusi pada pengembangan nanoformulasi berbasis *quercetin* yang efektif untuk berbagai aplikasi terapeutik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan maltodekstrin atau gliserin sebagai krioprotektan selama proses pengeringan beku secara signifikan meningkatkan sifat fisikokimia nanopartikel *quercetin*. Nanopartikel yang diformulasikan dengan maltodekstrin menunjukkan ukuran partikel yang lebih kecil, potensi zeta yang lebih tinggi, dan pelepasan obat yang lebih berkelanjutan dibandingkan dengan nanopartikel yang diformulasikan dengan gliserin. Selain itu, nanopartikel *quercetin* menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan dan antibakteri dibandingkan dengan *quercetin* murni. Kandungan *quercetin* dalam nanopartikel dianalisis lebih lanjut menggunakan HPLC untuk memberikan data kuantitatif tentang efisiensi pemuatan dan

enkapsulasi. Berdasarkan uraian di atas mengenai aktivitas farmakologi senyawa kuersetin yang begitu potensial, diperlukan analisis kadar kuersetin menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) agar penelitian ini dapat memberikan data ilmiah yang lebih akurat dan terpercaya (Sukmawati, 2019). HPLC merupakan teknik analisis kimia yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur konsentrasi senyawa-senyawa dalam suatu sampel. Dengan menggunakan HPLC, kita dapat mendapatkan hasil yang lebih presisi dan sensitif dalam menentukan kadar kuersetin, sehingga informasi yang diperoleh dapat memberikan landasan yang kuat untuk pemahaman lebih lanjut mengenai potensi farmakologis senyawa tersebut.

Pada penelitian ini akan dilakukan formulasi *freeze drying* nanopartikel kuersetin dengan Krioprotektan untuk menjaga stabilitas obat dan menggunakan HPLC untuk membandingkan kadar kuersetin blank dengan kadar kuersetin setelah *freeze drying* menggunakan *cyroprotectan*. Formula terpilih ditentukan berdasarkan sifat fisik (detailkan ukuran partikel, kandungan lembab, morfologi permukaan dengan SEM, bobot jenis, dll), dan kestabilan fisika-kimia yang paling optimal. Keberhasilan dalam meningkatkan karakteristik fisikokimia kuersetin- Krioprotektan diduga menunjukkan peningkatan bioavailabilitas dan aktivitas senyawa gabungan untuk studi lebih lanjut.

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah: 1) Apakah formulasi nanokristal mempengaruhi ukuran partikel kuersetin?; 2) Apakah senyawa *cyroprotectan* dapat mempertahankan stabilitas kimia kuersetin yang diformulasi?.

### Tinjauan Teoritis

#### Kuersetin

Rumus Molekul	: $C_{15}H_{10}O_7$
Sinonim	: 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7 trihydroxychromen-4-one
Berat molekul	: 302.23 g/mol Computed by PubChem 2.1 (PubChem release 2021.05.07)
Pemerian	: Kuersetin muncul sebagai jarum kuning atau bubuk kuning. Berubah menjadi bentuk anhidrat pada 203-207°F. Larutan beralkohol rasanya sangat pahit.
Kelarutan	: Sangat larut dalam eter, metanol; larut dalam etanol, aseton, piridin, asam asetat. Larut dalam alkohol dan asam asetat glasial; tidak larut dalam air. Dalam air, 60 mg/L pada 16 °C.

Metode HPLC fase balik dengan deteksi UV dikembangkan untuk penentuan kuersetin. Metode ini menghasilkan respons linier pada rentang konsentrasi yang luas, dengan akurasi rata-rata 95% dan rata-rata variasi intra-hari dan antar-hari masing-masing sebesar 0,75 dan 0,3. Ketepatan metode ini dibuktikan dengan menentukan tingkat pemulihan dari 50 hingga 150% dari konsentrasi standar, yang ditemukan dalam kisaran yang dapat diterima yaitu 95 hingga 105%. Metode ini digunakan untuk menghitung kuersetin dalam ekstrak *Psidium guajava*, *Vitis vinifera*, dan ekstrak yang kaya akan Kuersetin dan flavonol lain dalam keluarga *flavonoid*. (D'mello *et al.*, *n.d.*)

Kuersetin adalah *flavonoid* yang berasal dari tumbuhan digunakan sebagai suplemen nutrisi. Itu ditemukan di buah jeruk, soba, bawang bombay, dan ekstrak jeruk limonis, *Vitis vinifera*, dan *Psidium guajava*. Bentuk kuersetin glikosida Kuersetin dan *rutin* bersama dengan *rhamnose* dan *rutinose*, masing-masing. Penelitian terbaru menunjukkan Kuersetin dapat membantu pria dengan prostatitis kronis, dan keduanya dan wanita dengan sistitis interstisial, mungkin karena penyakit tersebut bertindak sebagai inhibitor sel mast. Kuersetin memiliki efek positif dalam

memerangi atau membantu mencegah kanker, prostatitis, penyakit jantung, katarak, alergi/peradangan, deperesi dan penyakit pernapasan, seperti bronkitis dan asma.(D'mello *et al.*, *n.d.*)

### **Krioprotektan**

Agen Krioprotektan digunakan untuk mencegah pembentukan es, yang menyebabkan kerusakan beku pada jaringan biologis ketika organ didinginkan. Mereka mengurangi pembentukan es pada suhu berapa pun dengan meningkatkan konsentrasi total semua zat terlarut yang ada dalam sistem. Krioprotektan memainkan peran penting dalam pemrosesan sel untuk penyimpanan pada suhu kriogenik yang dalam dan kapasitas pemulihan sel dengan tingkat fungsionalitas yang lebih tinggi. Cara kerja dan potensi fungsi biologis sel adalah hasil dari efek biologis dan metabolik yang diberikan oleh zat terlarut krioprotektan. Mereka harus memiliki kapasitas untuk menembus ke dalam sel dan tidak memiliki atau memiliki toksisitas yang lebih rendah. Krioprotektan menurunkan titik leleh air saat larut di dalamnya dan karenanya melindungi sel. Etilen glikol, dimetil sulfoksida (DMSO), gliserol, dll., adalah beberapa krioprotektan yang umum digunakan. Ini kadang-kadang dikenal sebagai "antibeku" bila diterapkan di luar kriobiologi. Konsentrasi krioprotektan lima persen hingga 15% sudah cukup untuk memungkinkan sel-sel yang diisolasi dapat bertahan hidup setelah dibekukan dan dicairkan dari suhu nitrogen cair. Mereka secara efektif menekan titik leleh air, mencegah pengendapan, hidrasi, dan pembentukan eutektik.(Kar *et al.*, 2019)

### **Maltodektrin**

Maltodektrin merupakan oligosakarida yang digunakan sebagai bahan makanan. Ini dihasilkan dari pati biji-bijian melalui hidrolisis parsial dan biasanya ditemukan dalam bentuk bubuk kering semprot higroskopis berwarna putih Maltodektrin mudah dicerna, diserap secepat glukosa, dan mungkin memiliki rasa agak manis atau hampir tidak berasa (tergantung pada derajat polimerisasinya) Ini dapat ditemukan sebagai bahan dalam berbagai makanan olahan.(Hofman *et al.*, 2016).

### **Gliserin**

Formula molekul	: $C_3H_8O_3, CH_2OH-CHOH-CH_2OH$
Sinonim	: Glycerol, glycerin, PROPANE-1,2,3 TRIOL
Berat Molekul	: 92,09 g/mol
Pemerian	: Gliserin tampak sebagai cairan tidak berwarna hingga berwarna coklat. Mudah terbakar tetapi mungkin memerlukan upaya untuk menyala.

Gliserin, adalah senyawa triol sederhana. Ini adalah cairan kental yang tidak berwarna, tidak berbau, rasanya manis dan tidak beracun. Gugus fungsi gliserin ditemukan dalam lipid yang dikenal sebagai gliserida. Karena memiliki sifat antimikroba dan antivirus, ia banyak digunakan dalam pengobatan luka dan luka bakar yang disetujui oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan AS. Sebaliknya, juga digunakan sebagai media kultur bakteri.(Dams *et al.*, 2018) Kehadirannya dalam darah dapat digunakan sebagai penanda yang efektif untuk mengukur penyakit hati. Ia juga banyak digunakan sebagai pemanis dalam industri makanan dan sebagai humektan dalam formulasi farmasi. Karena ketiga gugus hidroksilnya, gliserin dapat bercampur dengan air dan bersifat higroskopis.(Christoph *et al.*, 2006)

### **Nanokristal**

Pengembangan molekul obat yang sukar larut dan/atau permeabel menggunakan formulasi nanokristal telah terbukti sangat berhasil karena rasio permukaan/volume yang lebih besar, sehingga menghasilkan perbaikan dalam disolusi dan bioavailabilitas serta peningkatan permeabilitas. 'Nanopartikel' submikron ini memiliki manfaat serupa dengan nanopartikel konvensional yang berukuran kurang dari 100 nm namun dapat diskalakan dan dapat diterapkan di semua proses manufaktur dan bentuk sediaan yang ada. Pendapat ini berfokus pada perkembangan terkini dalam pembuatan nanokristal dan peran sifat permukaan dalam

mengoptimalkan disolusi dan pengiriman yang ditargetkan. Beberapa tantangan teknis utama dan dampak lingkungan juga dipertimbangkan.(G. D. Wang *et al.*, 2012).

### **Freeze Drying**

*Freeze drying* adalah metode populer untuk menyiapkan formulasi farmasi yang mengandung bahan aktif yang memiliki struktur kompleks dan pembawa sistem penghantaran obat. Pemadatan yang dilakukan pada suhu rendah secara signifikan meningkatkan stabilitas penyimpanan protein, peptida, antibiotik, vaksin, dan liposom, yang sedikit stabil dalam larutan air. Komponen individual dari proses pengeringan beku (pembekuan, pengeringan primer, pengeringan sekunder), menyebabkan protein terkena berbagai tekanan. Eksiipien tertentu, termasuk disakarida (misalnya sukrosa, trehalosa) dan asam amino, dapat ditambahkan untuk melindungi protein dan sistem penghantaran obat supramolekul terhadap tekanan fisik yang terkait dengan pembekuan dan penyimpanan dengan menggantikan interaksi molekuler yang disediakan oleh molekul air. Beberapa eksiipien menanamkan bahan aktif dalam padatan berbentuk kaca dengan mobilitas molekuler rendah, sehingga mengurangi reaktivitas kimia. Oleh karena itu, penggunaan eksiipien yang tepat dan pengendalian proses penting untuk melindungi protein selama pengeringan beku. Bab ini menjelaskan penerapan pengeringan beku dalam proses produksi farmasi, terutama berfokus pada formulasi dan optimalisasi proses untuk terapi protein.(Izutsu, 2018).

### **High-performance Liquid Chromatography (HPLC)**

*High-performance liquid chromatography* (HPLC), adalah teknik kimia analitik yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur setiap komponen dalam campuran. Hal ini bergantung pada pompa untuk melewati pelarut cair bertekanan yang mengandung campuran sampel melalui kolom yang diisi dengan bahan penyerap padat. Setiap komponen dalam sampel berinteraksi sedikit berbeda dengan bahan adsorben, menyebabkan laju aliran yang berbeda untuk komponen yang berbeda dan menyebabkan pemisahan komponen saat mengalir keluar dari kolom.(Gerber *et al.*, 2004).

HPLC telah digunakan untuk bidang manufaktur (misalnya, selama proses produksi produk farmasi dan biologi), hukum (misalnya, mendeteksi obat peningkat kinerja dalam urin), penelitian (misalnya, memisahkan komponen sampel biologis yang kompleks, atau bahan kimia sintetik serupa. dari satu sama lain), dan tujuan medis (misalnya, mendeteksi kadar vitamin D dalam serum darah.(Gerber *et al.*, 2004)

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimen dengan tujuan untuk meningkatkan karakteristik formulasi nanokristal kuersetin melalui metode *freeze drying* menggunakan *cyroprotectan* maltodekstrin dan gliserin. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis dan ratio krioprotektan maltodekstrin dan gliserin. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, kandungan kuersetin dan stabilitas kimia kuersetin dalam nanopartikel. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jumlah *stabilizer* Tween 80, jumlah aquades, jumlah etanol, tekanan, suhu dan waktu pengeringan pada *freeze dryer*, fase gerak, fase diam dan kondisi pengamatan pada HPLC.

Analisis ukuran partikel dilakukan dengan cara Nanopartikel *quercetin* ditimbang 50 mg diencerkan dengan etanol 20 ml untuk mencegah efek hamburan ganda pada *instrument* yang digunakan. Sampel nanopartikel Kuersetin diletakan pada kuvet. Ukuran partikel diamati dengan menggunakan *particle size analyser* (PSA). (Sahoo *et al.*, 2011). Nanopartikel Kuersetin dikarakterisasi meliputi ukuran partikel. Uji karakterisasi sampel dilakukan untuk menetapkan kadar senyawa Kuersetin menggunakan metode HPLC. Serta ditentukan pengujian stabilitas kimia Kuersetin.

Evaluasi kandungan Kuersetin dilakukan dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Fase gerak yang digunakan adalah asetonitril: 2 % asam asetat dalam air 70:30 (v/v) dengan alir 1 ml/menit. Sampel ditimbang 50 mg dilarutkan dalam labu ukur 100 ml.

sampel disaring dengan kertas saring *whatman* no. 41. Sampel di injeksi dengan volum 20  $\mu$ l (500 ppm) pada kolom *LiChrospher 100 RP-18* (5 $\mu$ m) (125mm x 4mm). Area puncak Kuersetin dibaca menggunakan UV detektor pada panjang gelombang 254 nm. Seluruh parameter validasi seperti linearitas, batas deteksi, batas kuantitatif, akurasi, presisi, dan spesifisitas telah dilakukan dan dipastikan memenuhi persyaratan sebelum pengambilan sampel. Sampel nanokristal Kuersetin diambil 100 mg dan dilarutkan dalam etanol.(Pradana *et al.*, 2021). Data yang dihasilkan dihitung rangkap tiga dan disajikan dalam *mean*  $\pm$  deviasi. Signifikansi statistik diperoleh dengan menggunakan *one-way ANOVA* pada *Graphpad Prism*. Nilai  $p < 0,05$  dinyatakan signifikan secara statistik. Sedangkan uji kualitatif seperti kenampakan fisik dan bentuk partikel ditentukan secara deskriptif.

### Hasil Penelitian

Pada formulasi 1 awalnya di timbang didapatkan nilai 103,5 mg dan setelah *freeze drying* didapatkan nilai 106,8 mg dengan kadar setidaknya 96,91 %. formulasi 2 awalnya di timbang didapatkan nilai 101 mg dan setelah *freeze drying* didapatkan nilai 101 mg dengan kadar setidaknya 100 %. formulasi 1 awalnya di timbang didapatkan nilai 99,8 mg dan setelah *freeze drying* didapatkan nilai 110,5 mg dengan kadar setidaknya 90,32. Data hasil uji potensial zeta larutan nanopartikel pada percobaan pertama dengan maltodektrin menunjukkan nilai potensial zeta 18,5 mV. Kemudian pada percobaan kedua dengan gliserin menghasilkan nilai potensial zeta 31,3 mV sehingga dianggap mampu mencegah terbentuknya agregasi. Pada percobaan ketiga dengan maltodektrin dan gliserin menunjukkan nilai potensial zeta 19,5 mV.

Hasil uji selektivitas menunjukkan nilai waktu retensi (Rt) sebesar 2,068. Pada efisiensi kolom diperoleh nilai sebesar 115,409. Nilai *factor tailing* yang diperoleh adalah 1,106322. Melalui hasil output uji linearitas diperoleh persamaan  $y = 71391x - 35026$ . nilai  $r$  yang dihasilkan adalah 0,9952. Dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki nilai linieritas yang baik, karena memenuhi batas penerimaan yang dikehendaki yaitu nilai  $r \geq 0,995$ . Berdasarkan tabel di atas, dapat diketahui bahwa limit deteksi metode analisis (LOD) pada uji linearitas adalah 0,931529. Limit kuantitasi metode analisis (LOQ) pada uji linearitas adalah 3,105098.

Persen RSD (%RSD) untuk uji repeatability secara berturut-turut untuk formulasi 1, formulasi 2 dan formulasi 3 yang diperoleh adalah 0,570505, 0,754013 dan 0,441739. Dari data tersebut dikatakan bahwa ketelitian untuk uji repeatability dari metode uji ini adalah sangat teliti. Berdasarkan hasil analisis akurasi, persentase keterulangan dari ketiga formulasi sampel yang didapatkan telah memenuhi kriteria, di mana persen akurasinya sebesar 80-110% dan presisinya kurang dari 15%. Dengan demikian, metode yang digunakan telah memenuhi kriteria yang ditetapkan. Berdasarkan analisis tersebut dapat dinyatakan bahwa metode *freeze drying* yang dilakukan dapat dinyatakan akurat.

Hasil analisis kuantitatif diperoleh kadar kuersetin pada sampel formulasi 1 yaitu 66,44% dengan bobot awal 103,5 mg bertambah menjadi 106,8 setelah *freeze drying*. Pada sampel formulasi 2 diperoleh kadar 95,45%, namun bobot kuersetin tidak mengalami perubahan tetap berbobot 101,05 mg. Pada sampel formulasi 3 diperoleh kadar 78,83%, dengan bobot kuersetin yang bertambah dari 99,8 mg menjadi 110,5 mg. Berdasarkan hasil olah data statistik, diperoleh nilai sig. sebesar 0,000. Nilai ini lebih kecil dari taraf signifikan 0,05. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa formulasi yang diterapkan rata-ratanya berbeda sehingga tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar kandungan kuersetin. Dapat dikatakan bahwa formulasi nanopartikel metode *Freeze drying* dengan maltodektrin, gliserin dan gabungan maltodektrin dengan gliserin tidak mempengaruhi kandungan kadar kuersetin.

### Diskusi

Hasil analisis dan uji-uji yang dilakukan terhadap output formulasi nanopartikel metode *Freeze drying* dengan maltodektrin, gliserin dan gabungan maltodektrin dengan gliserin

menunjukkan bahwa larutan nanopartikel isolat untuk percobaan ketiganya memenuhi persyaratan sebagai larutan nanopartikel. Hasil dari percobaan pertama dengan maltodektrin memiliki indeks polidispersitas yang menunjukkan dispersi yang relatif homogen. Sedangkan pada percobaan kedua dan ketiga dengan gliserin dan gabungan maltodektrin dengan gliserin memiliki indeks polidispersitas yang menunjukkan heterogenitas yang tinggi.

Persyaratan nanopartikel menurut (United States Pharmaceutical Convention, 2020) ialah memiliki nilai linearitas R antara 0,9950 hingga 1,0000. Pada setiap sampel percobaan yang dilakukan dengan 3 (tiga) kali pengulangan menghasilkan persentase RSD yang relatif stabil, yaitu di atas 80% dan di bawah 110% (Convention, 2020).

Hasil uji potensial zeta larutan nanopartikel pada percobaan pertama dengan maltodektrin dan pada percobaan ketiga dengan gabungan maltodektrin dan gliserin menunjukkan nilai potensial yang belum mampu mencegah terbentuknya agregasi. Kemudian pada percobaan kedua dengan gliserin menghasilkan nilai yang mampu mencegah terbentuknya agregasi. Komposisi nano kristal kuersetin dengan maltodektrin, gliserin atau gabungan keduanya tergolong tahan dan tidak selektif atau tidak rentan terhadap keberadaan senyawa lain dalam percobaan. Pada hasil uji selektivitas ini diperoleh hasil bahwa larutan yang digunakan dalam analisis selektivitas bersifat homogen dan diketahui bahwa hubungan antara setiap larutan dengan masing-masing kombinasi senyawa, tidak berbeda secara signifikan. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa metode *freeze drying* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki selektivitas yang baik dan dapat diterima.

Melalui hasil output uji linearitas diperoleh persamaan  $y = 71391x - 35026$ . nilai R yang dihasilkan adalah 0,9952. Dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki nilai linieritas yang baik. Hasil uji LOD dan LOQ menunjukkan bahwa metode *freeze drying* yang digunakan dapat mendeteksi kadar kuersetin dengan konsentrasi minimal 0,931529 KV dan dapat mengukur konsentrasi kadar kuersetin dengan presisi 3,105098 KV.

Persen RSD (%RSD) untuk uji repeatability secara berturut-turut untuk formulasi 1, formulasi 2 dan formulasi 3 yang diperoleh adalah 0,570505, 0,754013 dan 0,441739. Dari data tersebut dikatakan bahwa ketelitian untuk uji repeatability dari metode uji ini adalah sangat teliti. Berdasarkan hasil analisis akurasi, persentase keterulangan dari ketiga formulasi sampel yang didapatkan telah memenuhi kriteria, di mana persen akurasinya sebesar 80-110% dan presisinya kurang dari 15%. Dengan demikian, metode yang digunakan telah memenuhi kriteria yang ditetapkan. Berdasarkan analisis tersebut dapat dinyatakan bahwa metode *freeze drying* yang dilakukan dapat dinyatakan akurat.

Hasil analisis kuantitatif diperoleh kadar kuersetin pada sampel formulasi 1 yaitu 66,44% dengan bobot awal 103,5 mg bertambah menjadi 106,8 setelah *freeze drying*. Pada sampel formulasi 2 diperoleh kadar 95%, namun bobot kuersetin tetap berbobot 101,05 mg. Pada sampel formulasi 3 diperoleh kadar 78,83%, dengan bobot kuersetin yang bertambah dari 99,8 mg menjadi 110,5 mg. Artinya, replikasi formulasi nanopartikel kuersetin dengan gliserin mengandung kuersetin yang lebih besar dibandingkan dengan maltodektrin atau gabungan maltodektrin dengan gliserin.

Percobaan kedua dengan gliserin dianggap menghasilkan kadar kuersetin yang paling baik, karena bobot kuersetin setelah *freeze drying* tidak berubah, namun menghasilkan kadar kuersetin yang lebih tinggi dibandingkan dengan percobaan pertama dan kedua. Adapun penambahan bobot pada percobaan pertama dan ketiga diduga disebabkan oleh campuran senyawa maltodektrin dan gabungan maltodektrin dengan gliserin yang lebih rendah dibandingkan percobaan kedua, kandungan kadar maltodektrin di dalam formulasi 1 dan 3 menyebabkan penguraian karena maltodektrin memengaruhi stabilitas bahan sebagai enkapsulasi: Maltodektrin dapat merangkul *quercetin*, melindunginya dari degradasi oleh faktor-faktor seperti panas, cahaya, dan oksigen. Ini meningkatkan stabilitas *quercetin* secara keseluruhan. Kompleksasi: *Quercetin* dapat membentuk kompleks dengan maltodektrin melalui ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Kompleksasi ini membantu menstabilkan *quercetin* dan mencegah degradasinya. Perlindungan antioksidan:

Maltodekstrin dapat bertindak sebagai antioksidan, membantu melindungi *quercetin* dari degradasi oksidatif. Kadar kuersetin berkurang karena optimalisasi rasio kuersetin terhadap maltodekstrin kurang benar. (Liang, 2020)

Hasil uji *one way anova* ( $p < 0,005$ ) menunjukkan hasil bahwa formulasi yang diterapkan berpengaruh signifikan terhadap kandungan kadar kuersetin. Dapat dikatakan bahwa formulasi nanopartikel metode *Freeze drying* dengan maltodekstrin, gliserin dan gabungan keduanya tidak dapat mempengaruhi kandungan kadar kuersetin.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan, maka diperoleh beberapa kesimpulan hasil penelitian, yaitu formulasi nanokristal menggunakan metode *Freeze drying* dengan maltodekstrin, gliserin dan gabungan keduanya berpengaruh signifikan terhadap ukuran partikel kuersetin. Artinya, perbedaan formulasi nanokristal yang diterapkan dapat menyebabkan berubah atau berbedanya ukuran partikel kuersetin yang dihasilkan. Ketiga senyawa *cyroprotectan* yang digunakan dapat mempertahankan stabilitas kimia kuersetin yang diformulasi. Dari aspek fisika dan kadar dapat diketahui bahwa nanokristal kuersetin dengan *cyroprotectant* campuran maltodekstrin dan gliserin memberikan hasil yang optimal.

### Saran

Berdasarkan kesimpulan yang diuraikan, maka terdapat beberapa saran yang direkomendasikan, yaitu direkomendasikan bahwa formulasi nanokristal dengan metode *freeze drying* yang paling baik adalah dengan senyawa gliserin, karena hasil stabilitas kimia kuersetin relatif lebih stabil. Bagi peneliti selanjutnya, diharapkan dapat menggunakan metode-metode selain *freeze drying*, sehingga diperoleh hasil penelitian yang bervariasi untuk dapat dijadikan sebagai bahan perbandingan.

### Daftar Referensi

- American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. <https://doi.org/10.1176/APPI.BOOKS.9780890425596>
- Aubry, J. M. (2013). CRF system and mood disorders. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 54, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2013.09.003>
- Carvalho, A. F., Sharma, M. S., Brunoni, A. R., Vieta, E., & Fava, G. A. (2016). The Safety, Tolerability and Risks Associated with the Use of Newer Generation Antidepressant Drugs: A Critical Review of the Literature. *Psychotherapy and Psychosomatics*, 85(5), 270–288. <https://doi.org/10.1159/000447034>
- Chen, S., Tang, Y., Gao, Y., Nie, K., Wang, H., Su, H., Wang, Z., Lu, F., Huang, W., & Dong, H. (2022). Antidepressant Potential of Quercetin and its Glycoside Derivatives: A Comprehensive Review and Update. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.865376>
- Christoph, R., Schmidt, B., Steinberner, U., Dilla, W., & Karinen, R. (2006). Glycerol. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. [https://doi.org/10.1002/14356007.A12\\_477.PUB2](https://doi.org/10.1002/14356007.A12_477.PUB2)
- Dams, R. I., Viana, M. B., Guilherme, A. A., Silva, C. M., dos Santos, A. B., Angenent, L. T., Santaella, S. T., & Leitão, R. C. (2018). Production of medium-chain carboxylic acids by anaerobic fermentation of glycerol using a bioaugmented open culture. *Biomass and Bioenergy*, 118, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.07.023>
- Depressive disorder (depression)*. (n.d.). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>

- D'mello, P. M., Joshi, U. J., Shetgiri, P. P., Dasgupta, T. K., & Darji, K. K. (n.d.). *A Simple HPLC Method for Quantitation of Quercetin in Herbal Extracts*. <https://academic.oup.com/jaoac/article/94/1/100/5655334>
- Gerber, F., Krummen, M., Potgeter, H., Roth, A., Siffirin, C., & Spoendlin, C. (2004). Practical aspects of fast reversed-phase high-performance liquid chromatography using 3  $\mu\text{m}$  particle packed columns and monolithic columns in pharmaceutical development and production working under current good manufacturing practice. *Journal of Chromatography A*, 1036(2), 127–133. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2004.02.056>
- Harmita, H. (2004). PETUNJUK PELAKSANAAN VALIDASI METODE DAN CARA PERHITUNGANNYA. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117–135. <https://doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375>
- Hofman, D. L., van Buul, V. J., & Brouns, F. J. P. H. (2016). Nutrition, Health, and Regulatory Aspects of Digestible Maltodextrins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(12), 2091–2100. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.940415>
- Izutsu, K. I. (2018). Applications of freezing and freeze-drying in pharmaceutical formulations. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1081, pp. 371–383). Springer New York LLC. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1\\_20](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1_20)
- Jakubowska, E., Bielejewski, M., Milanowski, B., & Lulek, J. (2022). Freeze-drying of drug nanosuspension– study of formulation and processing factors for the optimization and characterization of redispersible cilostazol nanocrystals. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 74. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103528>
- Kar, M., Chourasiya, Y., Maheshwari, R., & Tekade, R. K. (2019). Current Developments in Excipient Science: Implication of Quantitative Selection of Each Excipient in Product Development. *Basic Fundamentals of Drug Delivery*, 29–83. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817909-3.00002-9>
- Koop, S. (2016). *VALIDATION OF COMPUTERIZED SYSTEMS Background information*.
- LaCourse, M. E., & LaCourse, W. R. (2017). General instrumentation in HPLC \*. In *Liquid Chromatography* (pp. 417–429). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805393-5.00017-8>
- Malviya, R., Bansal, V., Pal, O., & Sharma, P. (2010). High performance liquid chromatography: A short review. *Journal of Global Pharma Technology*, 2, 22–26.
- Pannu, A., Sharma, P. C., Thakur, V. K., & Goyal, R. K. (2021). Emerging role of flavonoids as the treatment of depression. In *Biomolecules* (Vol. 11, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom11121825>
- Pradana, A. T., Nawatila, R., Alkindi, F. F., Darmayani, N. P. R., & Susanti, E. D. (2021). The effect of spray-drying temperature on Centella asiatica extract- $\beta$  cyclodextrin-maltodextrin nanoparticle characteristics and stability. *Pharmaciana*, 11(3), 394. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v11i3.21534>
- Sahoo, N. G., Kakran, M., Shaal, L. A., Li, L., Müller, R. H., Pal, M., & Tan, L. P. (2011). Preparation and characterization of quercetin nanocrystals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100(6), 2379–2390. <https://doi.org/10.1002/jps.22446>
- Ulusoy, H. G., & Sanlier, N. (2020). A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 60, Issue 19, pp. 3290–3303). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1683810>
- Wang, G. D., Mallet, F. P., Ricard, F., & Heng, J. Y. Y. (2012). Pharmaceutical nanocrystals. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 1(2), 102–107. <https://doi.org/10.1016/J.COCHE.2011.12.001>

- Wang, Y. S., Shen, C. Y., & Jiang, J. G. (2019). Antidepressant active ingredients from herbs and nutraceuticals used in TCM: pharmacological mechanisms and prospects for drug discovery. In *Pharmacological Research* (Vol. 150). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104520>
- United States Pharmaceutical Convention. (2020). USPNF2021: Validation of Compend Procedures <1225>: Issue 1. Available from: <https://online.uspnf.com/uspnf>
- Liang, R., Xu, S., Shoemaker, C. F., Li, Y., Zhong, F., & Huang, Q. (2012). Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7548-7555. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf301129k>