

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker rongga mulut atau *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC) telah diakui sebagai salah satu neoplasma yang paling agresif, ditandai dengan tingkat kekambuhan dan aksi metastasis yang tinggi. Selama 20 tahun terakhir, insiden OSCC meningkat secara drastis hingga menyentuh angka 70%. Pada tahun 2022, Oral Cancer Observatory melaporkan terdapat 389.846 kasus baru dengan angka kematian global mencapai 188.438 jiwa, selain itu diperkirakan akan terjadi peningkatan kasus hingga 40% pada tahun 2040 (Badwelan, Muaddi, Ahmed, Lee, & Tran, 2023). Dampak OSCC yang signifikan menjadikannya sebagai salah satu prioritas utama kesehatan global (Cui, Liu, & Cui, 2023; Tan et al., 2023).

Pasien yang telah terdiagnosis OSCC seringkali harus menjalani terapi kombinasi yang intensif seperti pembedahan diikuti dengan kemoterapi dan/atau radioterapi. Namun, pendekatan konvensional masih menemui tantangan besar khususnya masalah toksisitas dan efek samping serius yang dapat meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas (Rodríguez et al., 2022). Selain itu, agen kemoterapi yang umum digunakan dalam pengobatan OSCC seperti *5-fluorouracil*, *paclitaxel*, dan *doxorubicin* telah menunjukkan perkembangan resistensi yang dapat berkontribusi pada kegagalan kemoterapi dan prognosis yang buruk bagi pasien (Meng et al., 2021).

Senyawa bahan alam menawarkan potensi terapi yang menjanjikan dalam menghadapi tantangan besar dalam pengobatan kanker konvensional. Hal ini sejalan dengan program pemerintah yaitu mewujudkan saintifikasi jamu dengan memberikan pembuktian ilmiah khasiat dan keamanan tanaman obat (Kusumaningrum, Setyowati, Rahmawati, & Purnomo, 2022). Salah satunya melalui kajian senyawa bioaktif rimpang kencur (*Kaempferia galanga*) yaitu *Ethyl p-methoxycinnamate* (EPMC). EPMC telah terbukti memiliki aktivitas antikanker dengan menginduksi apoptosis melalui peningkatan regulasi gen pro-apoptotik *caspase-9* dan *p53 upregulated modulator of apoptosis* (PUMA) (Ichwan et al., 2019). Namun, penggunaan agen tunggal tidak cukup untuk meningkatkan respon terapeutik, mengatasi resistensi, dan memperluas spektrum efek antikanker (Szumilak et al. 2021). Maka dari itu, dibutuhkan agen antikanker ganda untuk mencapai efek sinergis dalam melawan sel kanker.

Nitric oxide (NO) sebagai molekul kecil telah terbukti meregulasi serangkaian proses fisiologis dan patologis sel kanker seperti memicu apoptosis, memodulasi respon imun, menghambat metastasis. Selain itu, NO mampu anion superoksida untuk menghasilkan radikal bebas yang sel kanker (Dan et al., 2023; Mintz et al., 2021). Akan tetapi, jendralian NO dalam bentuk gas, waktu paruh yang sangat usinya yang terbatas (150-300 μ m), diperlukan NO donor yang O secara terkontrol melalui dekomposisi spontan (Hasan et al., *sithione* (GSNO) menjadi salah satu NO donor paling ideal g relatif stabil dan kemampuannya untuk berubah menjadi



antioksidan non-toksik yaitu *glutathione* (GSH) setelah melepaskan NO (Lee et al., 2020; Qian et al., 2022).

Meskipun NO dan EPMC menawarkan banyak potensi signifikan dalam terapi OSCC, aplikasi terapeutiknya masih menghadapi kendala, terutama karena kedua agen ini tidak bekerja secara spesifik terhadap sel kanker sehingga berpotensi merusak sel normal (Vong & Nagasaki, 2020; Senapati et al., 2018). Berdasarkan permasalahan ini, dibutuhkan sistem penghantaran obat yang bertarget untuk mengurangi efek samping dan meningkatkan efikasi pengobatan yaitu melalui pengembangan *drug delivery system* (DDS) (Sun et al., 2023). Beberapa DDS telah dikembangkan untuk penghantaran obat pada sel kanker seperti mikropartikel, misel polimer, dendrimer, dan liposom. Nanopartikel (NPs) mendapatkan perhatian lebih karena rasio luas permukaan terhadap volume yang tinggi dan ukuran NPs yang sangat kecil memungkinkan akumulasi obat yang lebih efektif pada sel kanker melalui efek *enhanced permeability and retention* (EPR) (Hsu et al., 2023; Hasan et al., 2019; Wu, 2019). Nanopartikel juga dapat dirancang untuk menghantarkan obat secara spesifik ke sel kanker dengan memodifikasi permukaannya dan salah satu pendekatan inovatif yang paling menarik adalah dengan pengembangan NPs yang responsif terhadap perubahan pH (Ahmed et al., 2020).

Pengembangan NPs yang responsif terhadap pH memungkinkan internalisasi obat kanker secara spesifik dengan memanfaatkan kondisi lingkungan sel kanker yang cenderung asam (pH 5-6) dibandingkan sel normal (Swetha et al., 2021). Nanopartikel yang memiliki sifat pH responsif dibuat menggunakan polimer *poly(lactic-co-glycolic acid)-poly(L-histidine)* (PP). Polimer ini mengandung cincin *imidazole* yang mudah terprotonasi pada kondisi asam melalui mekanisme pengalihan muatan permukaan (*Surface charge switching*) (AlSawaftah et al., 2022; Ding et al., 2020). Selain itu, keuntungan yang lain karena sifatnya yang biodegradable, biocompatible, fleksibel dalam pemuatan obat serta telah disetujui oleh *food and drug administration* (FDA) (Elmowafy et al., 2019).

Namun demikian, penggunaan GSNO menjadi sebuah tantangan dalam proses formulasinya. GSNO yang bersifat hidrofilik akan sulit untuk dioptimalisasi pemuatannya dalam formulasi *organic in water* (O/W) maupun *water in organic in water* (W/O/W), untuk mengatasi hal ini GSNO dapat dikonjugasikan dengan *poly(Lactic-co-glycolic acid)* (PLGA) yang hidrofobik (Lee et al., 2020). Formulasi *pH-responsive nanoparticle* yang mengandung EPMC dan GSNO terkonjugasi polimer PP (EPNO/PPNPs) belum pernah diteliti hingga saat ini. Berdasarkan hal tersebut, telah dilakukan studi formulasi dan karakterisasi EPNO/PPNPs untuk memperoleh NPs dengan karakteristik sifat fisika kimia yang baik.

1.2 Rumusan Masalah



1 variasi konsentrasi polimer PP terhadap sifat fisika kimia

litian

ruh variasi konsentrasi polimer PP terhadap sifat fisika kimia

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas (Pyrex[®]), *centrifuge* (MKE[®]800-1), *differential scanning calorimetry* (TA[®] Instruments DSC), *freeze dryer*, *fourier transform infrared spectrophotometer* (Shimadzu[®] IRPrestige- 21), *magnetic stirrer* (Joanlab[®]), pipet mikro (Joanlab[®]), *homogenizer* (FJ200-SH), *freeze dryer* (Zhengzhou Keda[®]LC-10N-60E), *probe sonicator*, (Scientz[®] 900W), *scanning electron microscope* (SEM), spektrofotometer UV-Vis (Jinghua[®]754PC), timbangan analitik (Osuka[®]FA1004E), *vortex* (DLab[®]), *waterbath sonicator* (DigitalPro+[®]), *x-ray diffractometry* (Shimadzu[®] XRD-7000), dan *zetasizer* (Malvern[®] Nano ZS).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *aqua pro analisis* (One Lab WateroneTM), diklorometana (DCM 99%; LABOTIQ[®]), isolat *ethyl p-methoxycinnamate* (EPMC), *methanol pro analisis* (Merck & co.), *GSNO conjugated PLGA-poly(L-histidine)* (GSNO/PP), *PLGA-poly(L-histidine)* (PP) (Sumbangan dari peneliti Nurhasni Hasan), dan polivinil alkohol (PVA 1%, BM: 44,05 g/mol) .

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Formulasi EPNO/PPNPs

Pada penelitian ini, EPNO/PPNPs dan PPNPs dibuat 3 formulasi berbeda, dengan memvariasikan konsentrasi antar formula. Rancangan formula lengkap dapat dilihat pada tabel di bawah.

Tabel 1. Komposisi formula EPNO/PPNPs dan PPNPs

Bahan	Fungsi	Formula					
		F1	F1B	F2	F2B	F3	F3B
Fase Organik							
EPMC (mg)	Zat aktif	15	-	30	-	45	-
GSNO/PP (mg)	Zat aktif-polimer	100	-	200	-	300	-
PP (mg)	Polimer	-	100	-	200	-	300
DCM (mL)	Pelarut	10	10	10	10	10	10
Fase air							
PVA 1% (mL)	Surfaktan	20	20	20	20	20	20
	Pelarut	10	10	10	10	10	10

15% pada setiap formula 15% dari total polimer



PNPs disesuaikan dengan formula pada Tabel 1. Proses pembuatan metode emulsifikasi penguapan pelarut organik dalam air dilakukan dengan melarutkan GSNO/PP sesuai dengan variasi konsentrasi, 300 mg dan EPMC (15, 30, dan 45 mg) dalam DCM 10 mL.

Fase organik kemudian ditambahkan ke fase air PVA 1% dan dihomogenisasi pada kecepatan 14.500 rpm selama 3 menit dalam penangas es. Kemudian disonikasi menggunakan *probe sonicator* 150 W selama 2 menit dalam penangas es. Setelah itu, ditambahkan aquadest 10 mL dan pelarutnya diuapkan dengan cara diaduk menggunakan *magnetic stirrer* terus menerus pada kecepatan 400 rpm selama 4 jam. EPNO/PPNPs yang telah mengendap dikumpulkan dan dicuci dua kali dengan sentrifugasi pada kecepatan 20.000 x g selama 30 menit. Nanopartikel kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer* dan disimpan pada suhu -20°C untuk penggunaan selanjutnya. PPNPs dibuat dengan prosedur yang sama, namun tanpa EPMC dan GSNO (Lee *et al.*, 2020).

2.2.2 Analisis Morfologi dan Bentuk Partikel

Morfologi dan bentuk NPs diamati menggunakan SEM. Kemudian, EPNO/PPNPs ditempatkan pada karbon tape dan dikeringkan, kemudian dilapisi dengan platinum dibawah vakum selama 2 menit. Setelah itu, diamati morfologinya menggunakan pemindaian SEM menggunakan tegangan akselerasi 1 sampai 5 kV dengan perbesaran 35.000x (Amir *et al.*, 2019; Hasan *et al.*, 2019).

2.2.3 Analisis Ukuran Partikel dan *Polidispersity Index* (PDI)

Ukuran partikel, PDI dan potensial zeta dianalisis menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). Sebelum dilakukan pengukuran, sejumlah NPs disuspensikan dengan *aquadest* pada suhu 25°C. Sampel kemudian diukur menggunakan *nano-zeta sizer* (Malvern® Nano ZS) (Ranjan and Dinda, 2023).

2.2.4 Analisis Potensial Zeta

Nanopartikel diencerkan pada suhu ruang menggunakan air destilasi, kemudian larutan hasil pengenceran dimasukkan ke dalam *disposable folded capillary cells* untuk dianalisis menggunakan *nano-zeta sizer* (Malvern® Nano ZS) (Hasan, Cao, Lee, Hlaing, *et al.*, 2019).

2.2.5 Analisis *X-Ray Diffraction* (XRD)

Deteksi kristalinitas zat aktif, polimer dan NPs dilakukan menggunakan XRD (Shimadzu® XRD-7000). Sampel dipadatkan pada *sample holder* dan dimasukkan ke dalam instrumen pada pengukuran 2-theta. Sinyal diukur pada sudut area 2,5-40° dengan tegangan dan arus secara berturut-turut 40 kV dan 40 mA pada panjang gelombang sinar X 1,54Å (Methela *et al.*, 2023).

2.2.6 Analisis *Differential Scanning Calorimetry* (DSC)



Transisi termal zat aktif, polimer dan EPNO/PPNPs dilakukan (TA® Instruments DSC). Setiap sampel ditempatkan pada piringan, kemudian dipanaskan pada suhu berkisar 0-300°C (Lee *et*

2.2.7 Analisis *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Analisis menggunakan FT-IR (Shimadzu® IRPrestige-21) dilakukan dengan mencampur 20 mg sampel kering bersama dengan 200 mg kalium bromida (KBr). Homogenisasi dilakukan dengan menggiling campuran menggunakan mortar. Rentang bilangan gelombang yang ditetapkan untuk pengukuran adalah 4000-500 cm^{-1} (Lu, Lv and Le, 2019).

2.2.8 Penetapan Kadar

1. Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok 1000 ppm GSNO dan EPMC dibuat dengan menimbang masing GSNO dan EPMC sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu tentukur yang berbeda. GSNO dilarutkan menggunakan *aqua pro analisis* dan EPMC dilarutkan menggunakan methanol PA hingga volume 10 ml. Kedua Larutan stok disonikasi hingga diperoleh larutan homogen dan jernih (Hasan et al., 2023).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum GSNO dan EPMC dilakukan dengan mengencerkan larutan stok GSNO 1000 ppm hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm menggunakan *aqua pro analisis*. Sementara itu, larutan stok EPMC 1000 ppm diencerkan hingga mencapai konsentrasi 10 ppm. Kedua larutan kemudian dianalisis menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis (Jinghua®754PC) pada rentang panjang gelombang UV 200-400 nm (Hasan et al., 2023).

3. Pembuatan Kurva Baku

Larutan stok GSNO 1000 ppm diencerkan hingga diperoleh 6 seri konsentrasi yaitu 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm. Sedangkan, Larutan standar untuk kurva baku EPMC disiapkan dalam 5 seri konsentrasi yaitu 0,5, 1,5, 2,5, 3,5, 4,5, dan 5,5 ppm yang dibuat dari pengenceran larutan stok 1000 ppm menjadi 10 ppm. Setiap seri konsentrasi diukur absorbansinya menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis (Jinghua®754PC) pada panjang gelombang maksimum. Persamaan regresi linear $y = a+bx$ diperoleh berdasarkan hasil analisis regresi (Hasan et al., 2023).

2.2.9 Uji *Drug Loading* (DL) dan *Encapsulation Efficiency* (EE)

Uji DL dan EE dilakukan dengan melarutkan 10 mg NPs menggunakan pelarut 10 mL, kemudian disentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan pada g selama 30 menit suhu 25°C untuk menghilangkan sisa i dikumpulkan dan diukur serapannya pada panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Jinghua®754PC). dilarutkan menggunakan *aqua pro analisis* kemudian i pada kecepatan 16.000x g selama 30 menit suhu 25°C dan pada panjang gelombang 336 nm (Ullah et al., 2022).



Penentuan %EE dan % DL EPMC dan GSNO diperoleh sesuai dengan persamaan (1) dan (2).

$$\%EE = \frac{\text{Berat aktual EPMC/GSNO dalam NPs}}{\text{Berat teoritis EPMC/GSNO dalam NPs}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\%DL = \frac{\text{Berat aktual EPMC/GSNO dalam NPs}}{\text{Berat EPMC/GSNO dalam formula NPs}} \times 100\% \quad (2)$$

2.2.10 Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil penelitian dikumpulkan dan disusun menggunakan *Microsoft Excel*[®] dan dianalisis secara statistik menggunakan *GraphPad Prism*[®]. Data yang diperoleh terdistribusi secara normal, sehingga dianalisis menggunakan uji parametrik *One-Way Anova*. Kemudian dilanjutkan dengan uji post-test *Tukey Honestly Significant Difference (HSD) test*. Nilai *p-value* ($p < 0,05$) ditetapkan sebagai hasil signifikan.

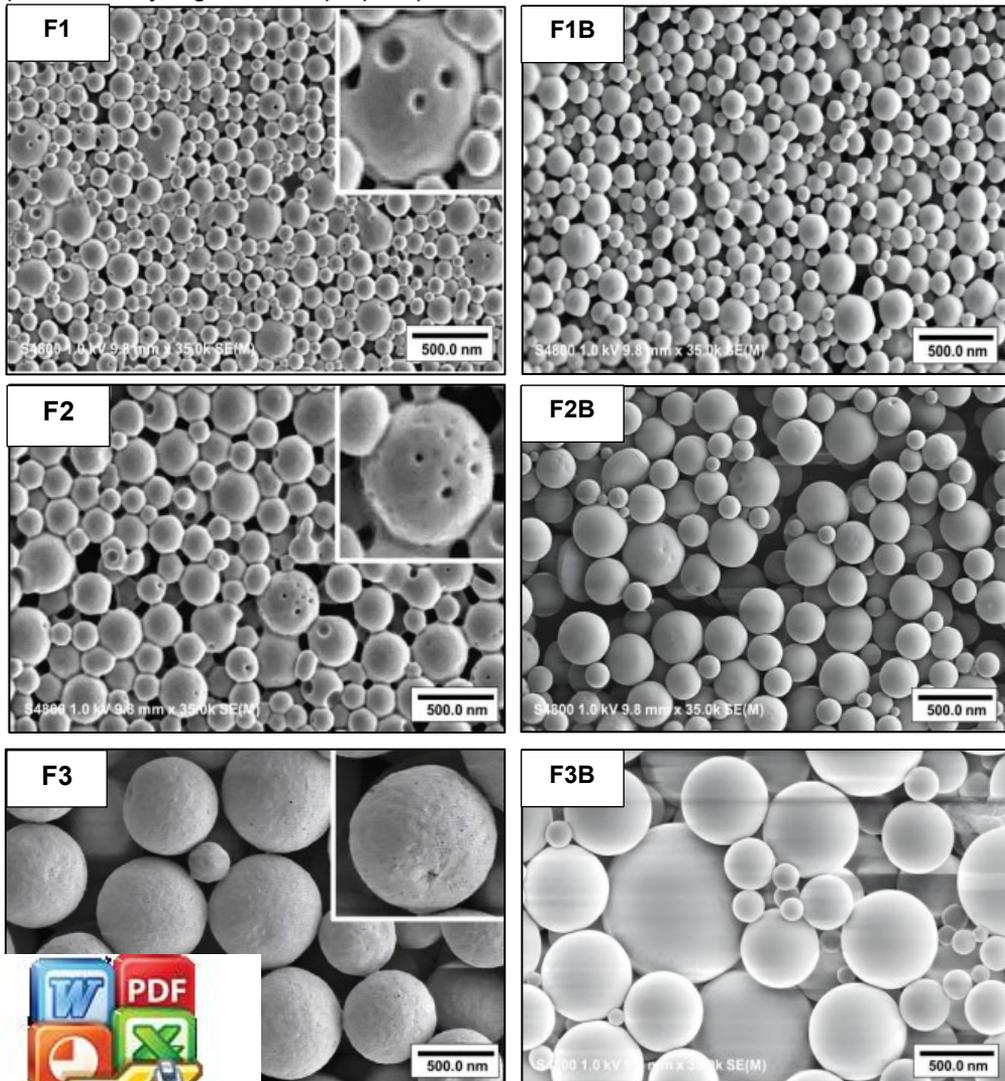


BAB III

HASIL PENELITIAN

3.1 Analisis Morfologi dan Bentuk Partikel

Hasil analisis morfologi dan bentuk partikel menggunakan SEM (**Gambar 1**) menunjukkan EPNO/PPNPs (F1, F2, F3) dan PPNPs (F1B, F2B, F3B) berbentuk sferis, namun dengan karakteristik permukaan yang berbeda. Permukaan EPNO/PPNPs memperlihatkan adanya pori-pori kecil. Sebaliknya, PPNPs memiliki permukaan yang halus tanpa pori-pori.



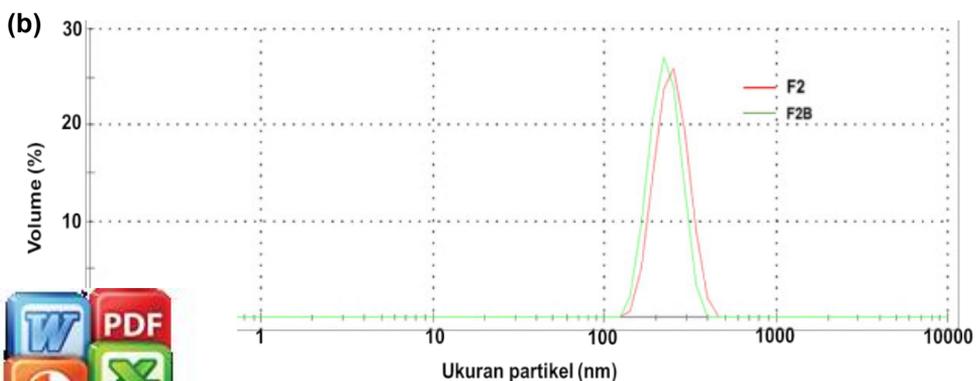
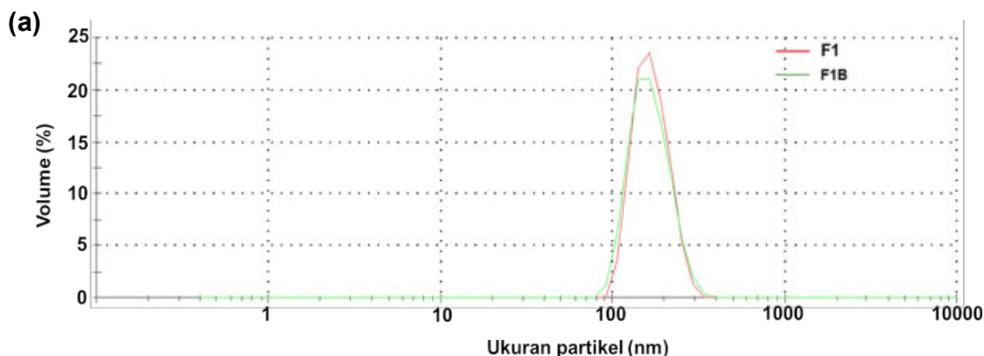
Analisis SEM NPs F1, F1B, F2, F2B, F3, dan F3B, dengan area yang besar untuk menampilkan detail struktur permukaan

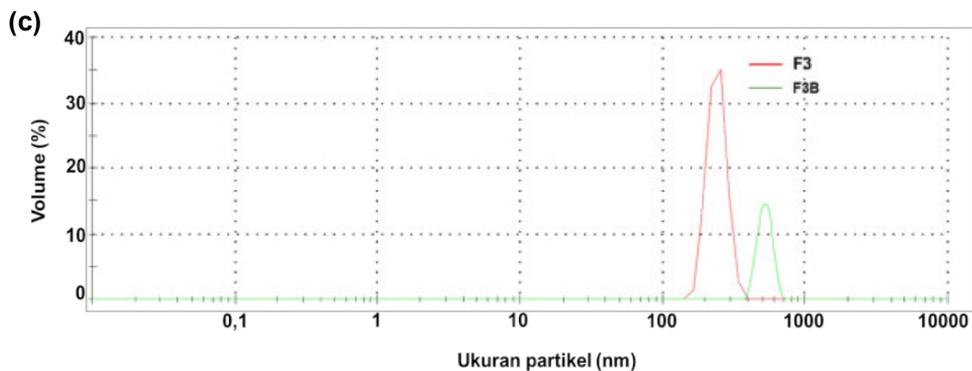
3.2 Analisis Ukuran Partikel dan *Polydispersity Index* (PDI)

Hasil analisis DLS menunjukkan bahwa ukuran partikel rata-rata serta PDI dari semua formula F1, F1B F2, F2B, F3 dan F3B bervariasi. Data lengkap ukuran partikel dan PDI dapat dilihat pada **Tabel. 2**. Penurunan kurva korelasi yang mengukur fluktuasi intensitas cahaya yang tersebar akibat gerakan partikel (**Gambar 3**) menunjukkan adanya perbedaan signifikan ukuran partikel ketiga formula dengan ukuran partikel terkecil adalah F1, ukuran partikel menengah adalah F2, dan ukuran partikel terbesar adalah F3.

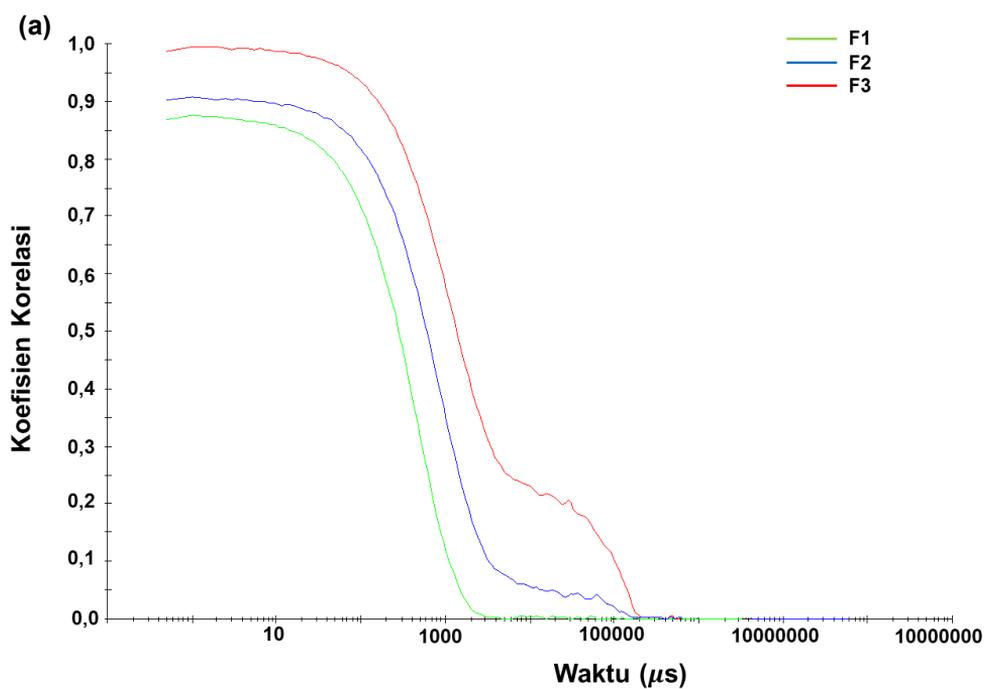
Tabel 2. Hasil analisis ukuran partikel dan PDI EPNO/PPNPs dan PPNPs

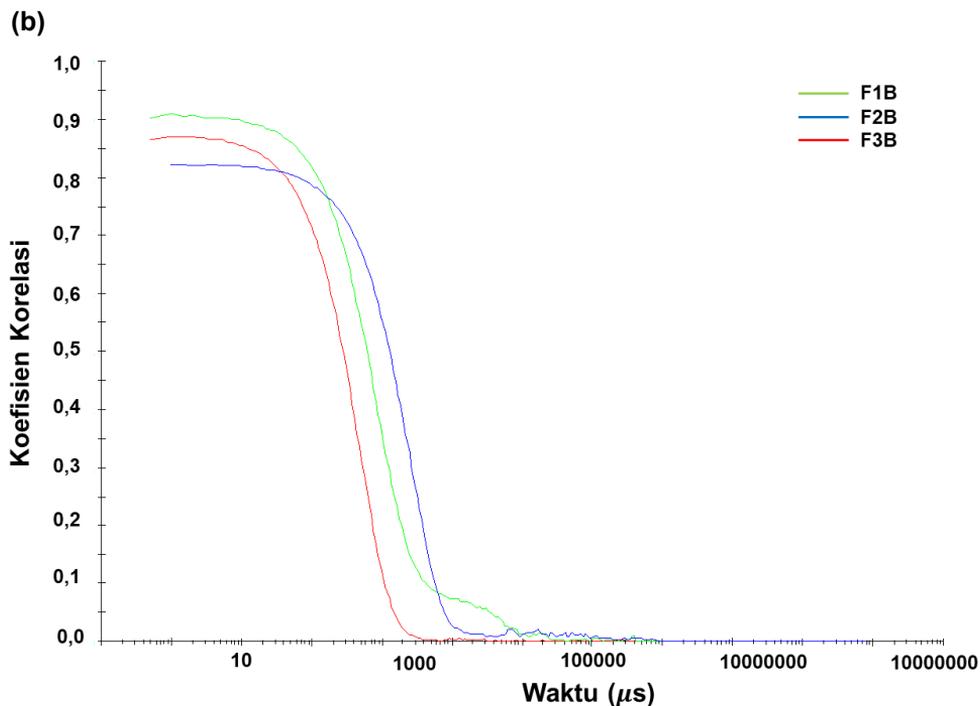
Formula	Rata-rata \pm SD (nm)	PDI
F1	171,9 \pm 35,60	0,03
F1B	169,9 \pm 40,29	0,06
F2	247,9 \pm 43,36	0,39
F2B	320,7 \pm 37,04	0,46
F3	539,0 \pm 25,77	0,69
F3B	504,8 \pm 55,85	0,03





Gambar 2. Hasil analisis ukuran partikel Struktur kimia (a) F1 dan F1B, (b) F2 dan F2B, (c) F3 dan F3B





Gambar 3. Grafik koefisien korelasi terhadap waktu dari (a) F1, F2, dan F3, (b) F1B, F2B, dan F3B

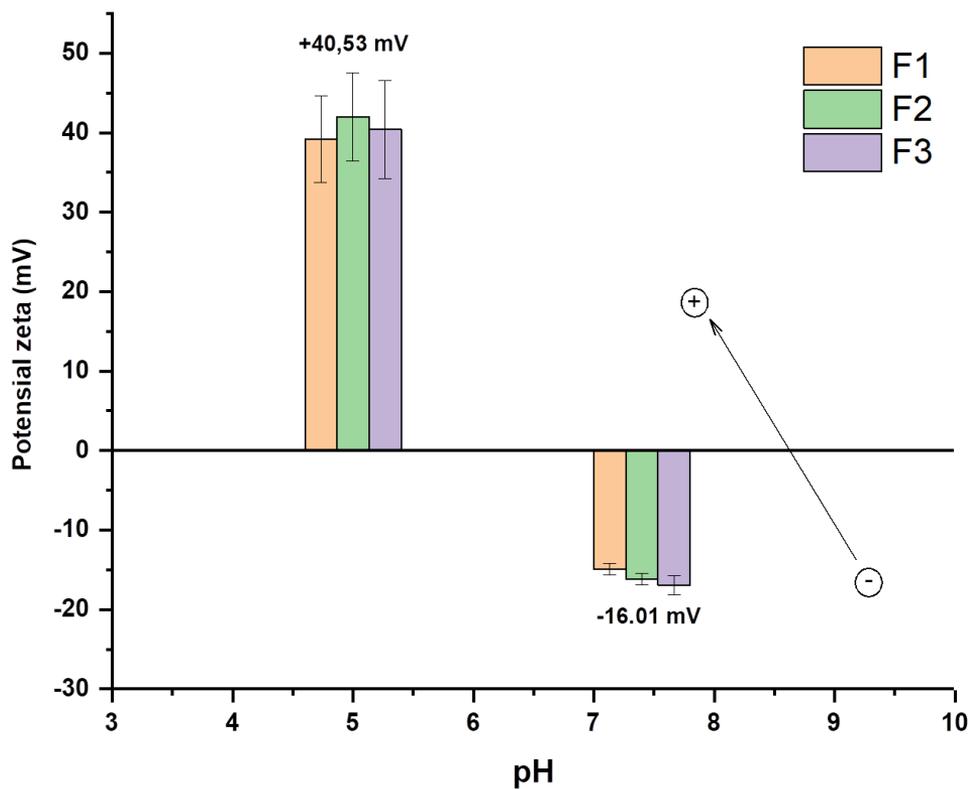
3.3 Analisis Potensial Zeta

Pengukuran potensial zeta dari EPNO/PPNPs dilakukan pada pH 7,4 (netral) dan pH 5 (asam) untuk mengevaluasi perubahan muatan NPs. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada kondisi pH asam terjadi perubahan signifikan nilai potensial zeta menjadi positif pada NPs (**Gambar 4**). Sebaliknya pada pH fisiologis tubuh (pH 7,4) bernilai negatif. Perubahan ini berkaitan dengan kemampuan polimer PP untuk mengalami pertukaran muatan permukaan (*Surface charge Switching*). Hasil analisis potensial zeta dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Nilai potensial zeta EPNO/PP NPs

Formula	Rata-rata \pm SD (mV)	
	pH 7,4	pH 5
F1	-14,90 \pm 0,70	39,2 \pm 5,47
F2	-16,17 \pm 0,75	42,0 \pm 5,57
F3	-16,97 \pm 1,21	40,4 \pm 6,21



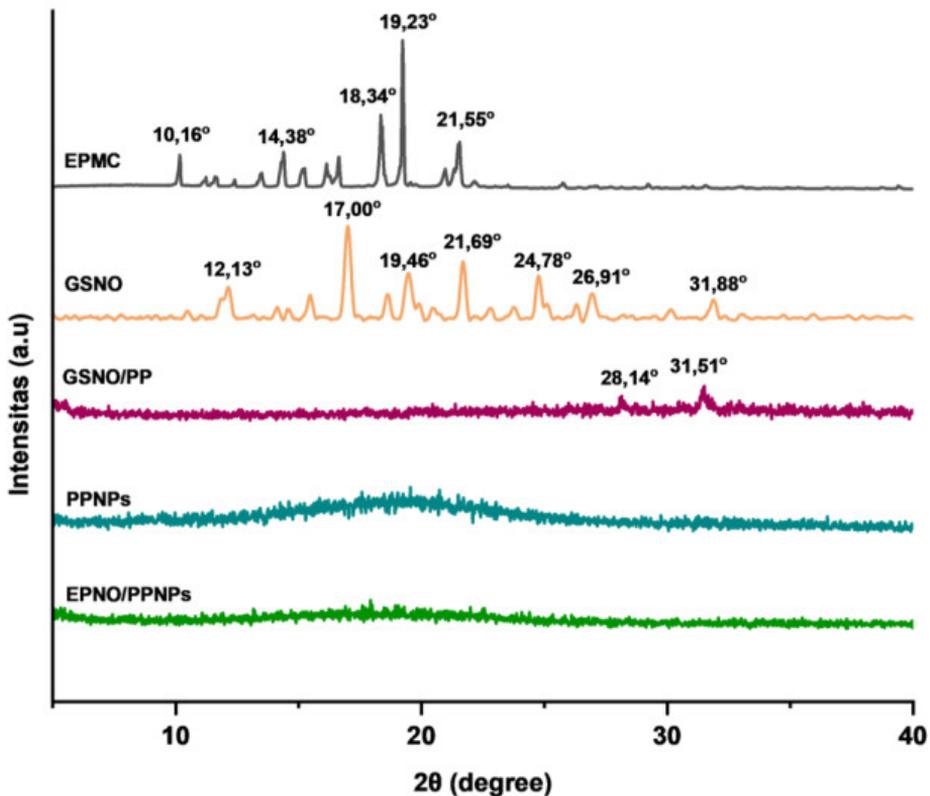


Gambar 4. Diagram batang perubahan potensial zeta pada pH 5 dan pH 7,4



3.4 Analisis X-Ray Diffraction (XRD)

Berdasarkan hasil analisis yang ditunjukkan pada **Gambar 5**, EPMC dan GSNO berada dalam fase kristalin, yang ditunjukkan oleh adanya refleksi tajam pada difraktogramnya. Pola difraksi yang dimiliki oleh GSNO/PP didominasi oleh pola amorf dari polimer PP, dengan puncak GSNO yang mengalami penurunan intensitas pada sudut $28,15^\circ$ dan $31,43^\circ$. Sementara itu, PPNPs menunjukkan pola difraksi amorf yang khas dari polimer penyusun NPs, dan EPNO/PPNPs menunjukkan pola yang serupa, mengindikasikan keberhasilan enkapsulasi dan dispersi kedua zat aktif ke dalam matriks NPs.

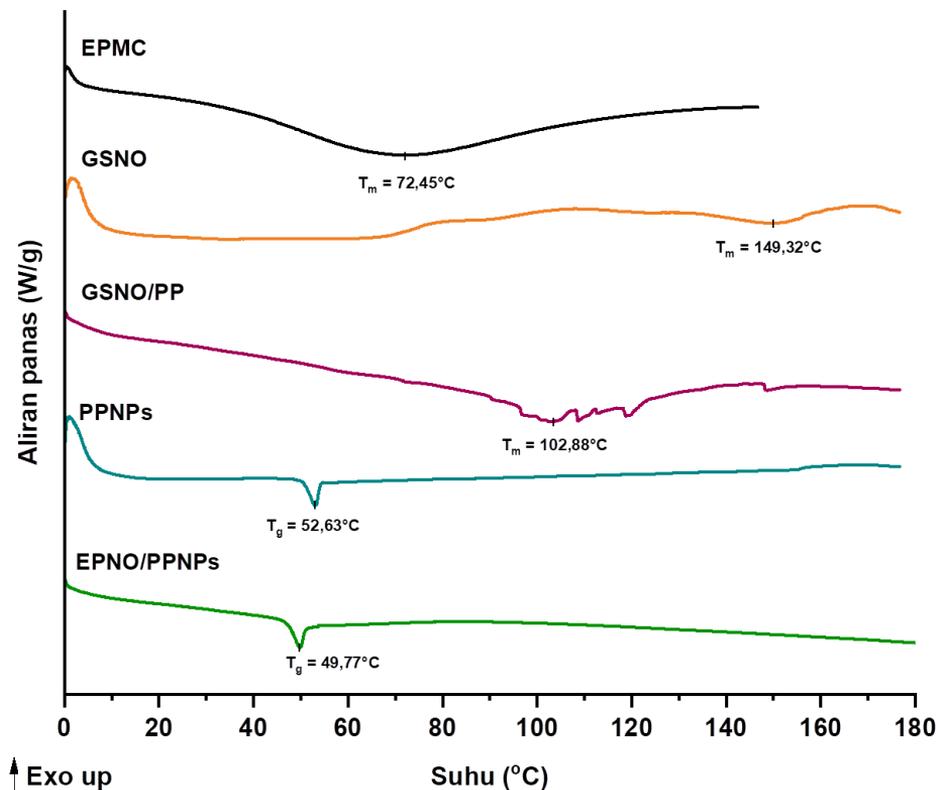


Gambar 5. Difraktogram XRD



3.5 Analisis Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Hasil analisis DSC menunjukkan satu puncak endotermik pada termogram EPMC dan GSNO masing-masing pada suhu $72,45^{\circ}\text{C}$ dan $149,32^{\circ}\text{C}$ yang menandakan titik leleh dari kedua zat. Termogram GSNO/PP menunjukkan puncak endotermik pada $102,88^{\circ}\text{C}$. Pada termogram EPNO/PPNPs, puncak endotermik yang muncul pada suhu $49,77^{\circ}\text{C}$ menunjukkan *glass transition* (T_g) dari PP, yang bergeser dari $52,63^{\circ}\text{C}$ pada termogram PPNPs.



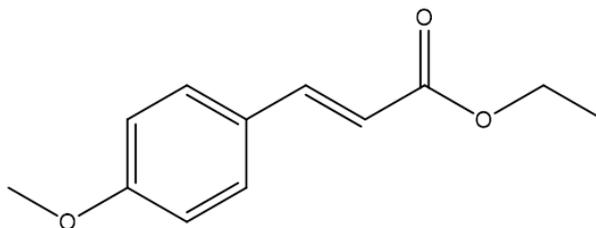
Gambar 6. Termogram DSC



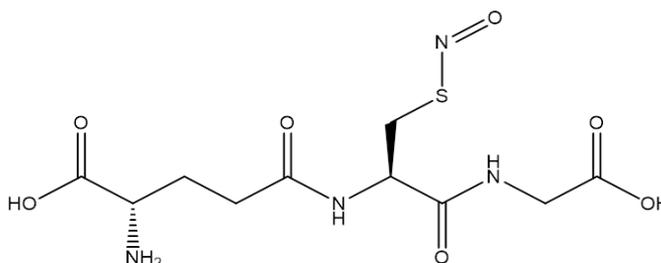
3.6 Analisis Fourier Transform Infrared (FT-IR)

Spektra FT-IR dari EPMC, GSNO, PPNPs, serta EPNO/PPNPs ditampilkan pada **Gambar 7**. Spektrum FT-IR EPMC menunjukkan keberadaan gugus fungsi C-H stretch, C=O stretch, C-O stretch, C=C stretch (cincin aromatis), dan O-CH₃ stretch. Pada spektrum GSNO beberapa puncak diidentifikasi sebagai O-H stretch, N-H stretch, C-H stretch, C=O stretch dan N=O stretch. Spektrum FT-IR PPNPs menunjukkan adanya puncak O-H stretch, C-H stretch dan C=O stretch. Adapun spektrum dari EPNO/PP NPs menunjukkan puncak O-H stretch, C-H stretch, C=O stretch, N=O stretch dan C-H bend. Puncak dari setiap gugus fungsi pada EPNO/PPNPs mengindikasikan kontribusi dari zat aktif (EPMC atau GSNO) serta polimer dalam struktur NPs tanpa adanya interaksi kimia. Hasil analisis FTIR secara lengkap dapat dilihat pada **Tabel 4**.

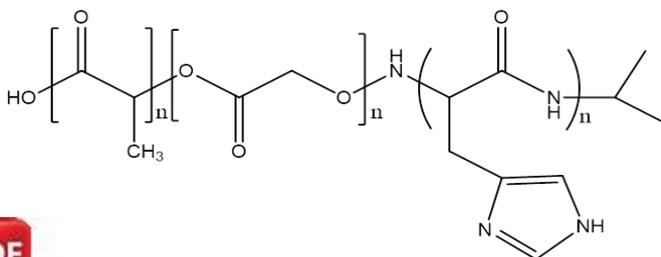
(a)



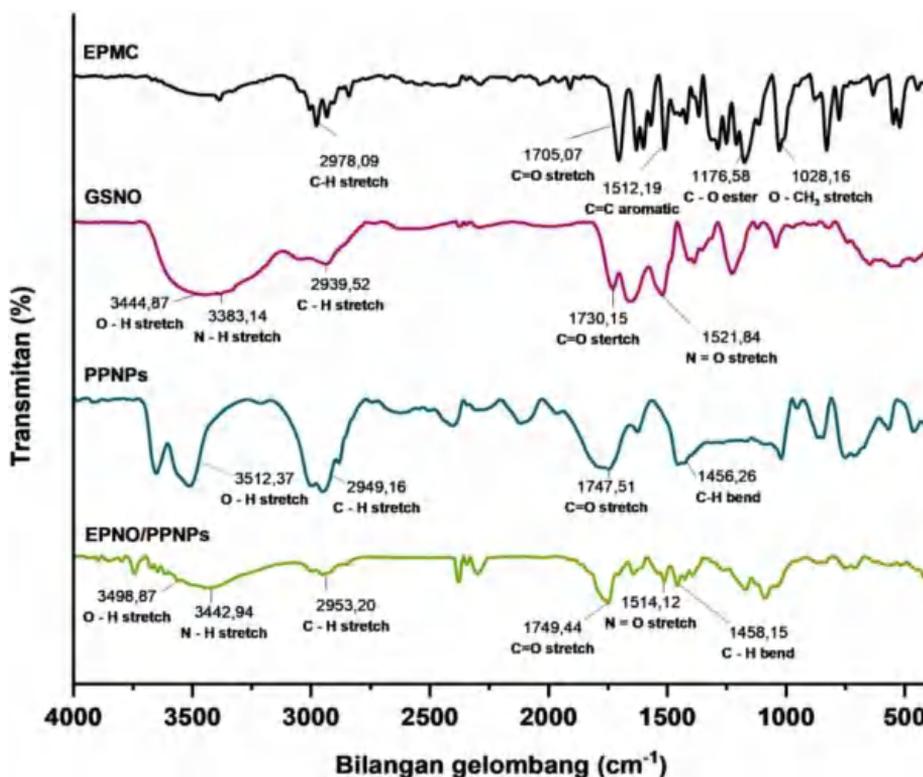
(b)



(c)



Struktur kimia (a) EPMC, (b) GSNO, dan (c) PLGA-PLH



Gambar 8. Spektra FT-IR

Tabel 4. Gugus fungsi hasil analisis FT-IR EPMC, GSNO, PPNPs, dan EPNO/PPNPs

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1}) Referensi (Larkin, 2011)	EPMC	GSNO	PPNPs	EPNO/PPNPs
O-H stretch	3550-3200	-	3444,87	3512,37	3498,87
N-H stretch	3500-3400	-	3383,14	-	3442,94
C-H stretch	3000-2840	2978,09	2939,52	2949,16	2953,2
C=O stretch	1750-1735	1705,07	1730,15	1747,51	1749,44
N=O stretch	1600-1500	-	1521,84	-	1514,12
	1150-1350	1176,58	-	-	-
	1600-1480	1512,19	-	-	-
	1460-1380	-	-	1456,26	1458,15
	1000-1150	1028,16	-	-	-



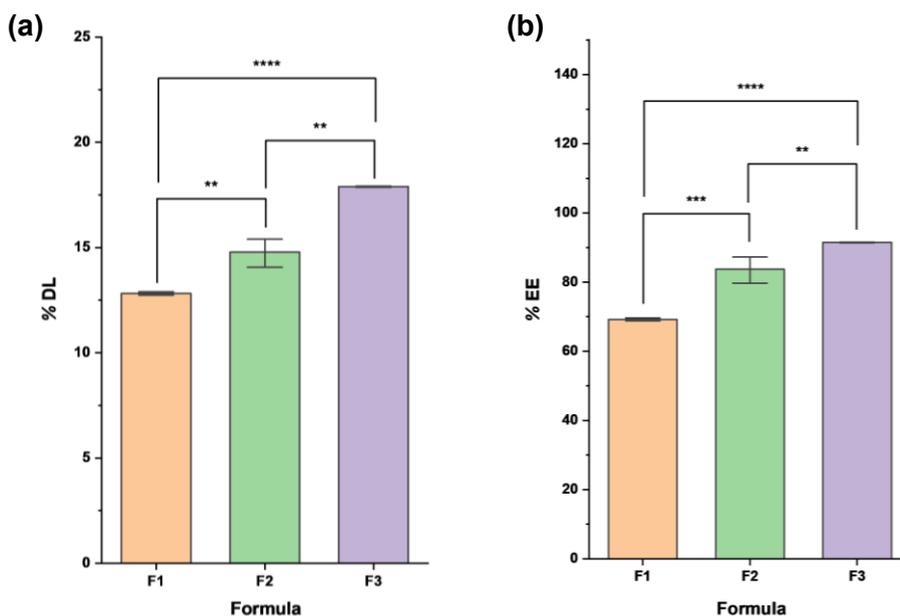
3.7 Uji Drug Loading (DL) dan Encapsulation Efficiency (EE)

Berdasarkan hasil pengujian, diperoleh nilai DL dan EE dari EPMC serta GSNO untuk setiap formula. Data lengkap dapat dilihat pada **Tabel 5 dan 6**. Hasil analisis statistik menggunakan One Way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *Post-test* Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada %DL dan %EE dari EPMC serta GSNO antar setiap formula.

Tabel 5. Hasil uji DL dan EE EPMC

Formula	Rata-rata \pm SD	
	DL (%)	EE (%)
F1	12,86 \pm 0,08	69,43 \pm 0,43
F2	14,81 \pm 0,67	83,90 \pm 3,77
F3	17,89 \pm 0,03	91,43 \pm 0,13

Keterangan: 1 % setara dengan 1 mg/100 mg NPs



Gambar 9. Diagram batang (A) Perbandingan %DL EPMC, (B) Perbandingan %EE (rata-rata \pm SD, $n=3$)

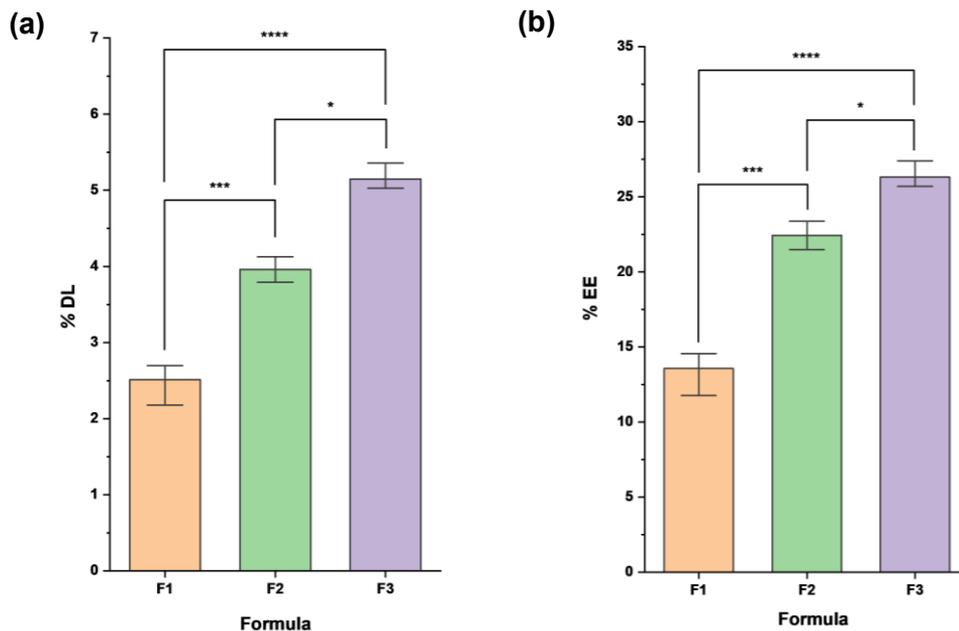


gnifikan ($p < 0,01$)
gnifikan ($p < 0,001$)
gnifikan ($p < 0,0001$)

Tabel 6. Hasil uji DL dan EE GSNO

Formula	Rata-rata \pm SD		
	DL (%)	Jumlah NO ($\mu\text{mol/mg NPs}$)	EE (%)
F1	2,77 \pm 0,44	0,08 \pm 0,01	14,99 \pm 0,43
F2	3,68 \pm 0,26	0,11 \pm 0,01	20,91 \pm 1,49
F3	5,57 \pm 0,29	0,17 \pm 0,01	28,45 \pm 1,48

Keterangan: 1 % setara dengan 1 mg/100 mg NPs



Gambar 10. Diagram batang (a) Perbandingan %DL GSNO, (b) Perbandingan %EE GSNO (rata-rata \pm SD, $n=3$)

Keterangan:

- * = berbeda signifikan ($p < 0,05$)
- *** = berbeda signifikan ($p < 0,001$)
- **** = berbeda signifikan ($p < 0,0001$)

