

Nanoenkapsulasi β -Sitosterol dengan Kombinasi Agen Enkapsulasi: Systematic Literature Review

Eva Nursoleha^{1*}, Rizqika Bastian Tomi², Annisa Dila Febriyanti³, Yoeri Rafiqi Al Hanafi⁴, Nadia Rahma Sari⁵, Nadia Dwi Oktaviani⁶, Resti Media Safitri⁷

^{1,2,3,4}Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Aisyah Pringsewu, Indonesia

⁷Mahasiswa Program Studi S1 Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Aisyah Pringsewu, Indonesia

*Corresponding Author : evanursoleha051@gmail.com

ABSTRAK

Beta-sitosterol (β -Sit) adalah fitosterol tanaman paling melimpah yang didistribusikan dalam berbagai spesies tanaman. dengan tawaran berbagai manfaat kesehatan—dan yang paling penting, aktivitas penghambatannya terhadap sejumlah kanker. Penelitian ini bertujuan untuk memaparkan teknik nanoenkapsulasi beta-sitosterol dengan kombinasi beberapa bahan pengenkapsulan. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pengembangan obat dengan sistem nanoenkapsul menggunakan nanoliposom ataupun SPION-PEG-PNIPAM merupakan hal yang menjanjikan, akan tetapi perlu dipertimbangkan terkait ketidakstabilan fisik dan kimia yang akan terjadi, sehingga ilmu terkait nanoenkapsulasi harus dipelajari kembali secara mendalam.

Kata Kunci: Agen Enkapsulasi, B-Sitosterol, Nanoenkapsulasi

ABSTRACT

Beta-sitosterol (β -Sit) is the most abundant plant phytosterol distributed in various plant species. with a variety of health benefits—and most importantly, its inhibitory activity against a number of cancers. This study aims to describe the technique for nanoencapsulation of beta-sitosterol with some encapsulation agents. Based on the results of the study, it can be concluded that the development of drugs with a nanoencapsulation system using nanoliposome or SPION-PEG-PNIPAM is promising, but it needs to be considered regarding the physical and chemical instability that will occur, so that the science related to nanoencapsulation must be studied again in depth.

Keywords: B-Sitosterol, Encapsulation Agent, Nanoencapsulation

PENDAHULUAN

Beta-sitosterol (β -Sit) adalah fitosterol tanaman paling melimpah yang didistribusikan dalam berbagai spesies tanaman. Selama bertahun-tahun, telah dilaporkan dalam beberapa penelitian untuk menawarkan berbagai manfaat kesehatan—dan yang paling penting, aktivitas penghambatannya terhadap sejumlah kanker. Misalnya, β -Sit dilaporkan menghambat proliferasi kanker payudara

(MCF-7 dan MDB-MB-231), kanker usus besar, leukemia, dan sel kanker prostat. Menariknya, β -Sit memodulasi beberapa target penyakit dengan mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan, yang tidak diragukan lagi akan membuatnya berguna dalam mengobati penyakit multifaktorial dan kompleks seperti kanker. Singkatnya, aktivitas antikankernya dikaitkan dengan stimulasi kematian sel apoptosis, penangkapan siklus sel, dan aktivasi siklus

sphingomyelin. Terlepas dari aktivitas antikankernya, β -Sit sebagian besar tetap menjadi produk alami yang diabaikan, sebagian besar karena kemanjuran *in vitro* yang lebih rendah dibandingkan dengan obat kemoterapi lainnya (Andima et al., 2018).

Seperti halnya dengan beberapa senyawa alami, kelarutan air yang rendah, yang diterjemahkan menjadi ketersediaan hayati yang rendah, dan ditambah dengan kemanjuran penargetan yang rendah, telah membatasi perkembangan klinis β -Sit. Penggunaan pengiriman obat nanopartikel adalah tujuan dari beberapa penelitian saat ini yang bertujuan untuk meningkatkan kemanjuran terapeutik antikanker dari beberapa senyawa alami. Dalam tinjauan baru-baru ini, beberapa formulasi nano baru telah digunakan untuk meningkatkan potensi terapeutik dari sejumlah besar obat yang diturunkan secara alami, seperti kurkumin, paclitaxel, doxorubicin, vincristine, camptothecin, artemisinin, resveratrol, honokiol, katekin teh hijau, dan silymarin. Faktanya, beberapa obat alami ini sudah ada di pasaran, dan yang lain sedang menjalani studi klinis (Bilia et al., 2017).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan kemanjuran terapeutik β -Sit menggunakan sistem pengiriman obat. Sebagian besar penelitian yang dilakukan dengan β -Sit berfokus pada penggunaannya dan turunannya sebagai eksipien untuk menstabilkan pelepasan obat atau untuk meningkatkan penyerapan obat. Namun, dalam penelitian sebelumnya, formulasi liposom yang mengandung β -Sit meningkatkan aktivitas sel pembunuh alami dan menurunkan koloni sel melanoma B16BL6 metastasis di paru-paru tikus yang diobati. Dalam penelitian lain, siklodekstrin (CD) telah digunakan untuk meningkatkan kelarutan air dan ketersediaan hayati β -Sit. Misalnya, beberapa evaluasi biologis β -Sit yang dilakukan oleh Awad et al. terhadap panel sel kanker yang terlibat menggunakan 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β CD)

sebagai kendaraan pembawa. Studi ini menunjukkan bahwa β -Sit menghambat proliferasi sel pada tingkat konsentrasi 16-32 μ M setelah 3-5 hari pengobatan. Umumnya, siklodekstrin telah digunakan sebagai eksipien dalam sediaan farmasi untuk meningkatkan kelarutan dan ketersediaan hayati; namun, kompleks obat-CD telah terbukti memiliki interaksi yang buruk dengan membran sel, sehingga mengurangi ketersediaan hayati. Para peneliti berhipotesis bahwa merangkul β -Sit dalam nanopartikel polimer amfifilik dapat menawarkan peningkatan aktivitas antikanker yang lebih baik terhadap garis sel kanker tertentu. Asumsi ini dikaitkan dengan beberapa sifat bermanfaat dari nanopartikel polimer, seperti peningkatan kapasitas pemuatan obat, pelepasan obat yang difasilitasi, terkontrol, dan ditargetkan, dan peningkatan kelarutan obat yang tidak larut (Perez-Herrero & Fernandez-Medarde, 2015).

Berbicara tentang nanopartikel, tentu tidak lepas sebagai bagian dari nanoteknologi. Nanoteknologi terdiri dari pembangkitan dan pemanfaatan bahan, mekanisme atau sistem pada skala nanometer. Nanomaterial umumnya digambarkan sebagai elemen dengan ukuran partikel di bawah 100 nm, yang memiliki karakteristik tunggal dibandingkan dengan rekan-rekan skala makronya, terutama karena rasio permukaan-ke-volumenya yang besar. Nanoteknologi terbilang penting untuk produksi industri di masa yang akan datang, di mana sifat-sifat baru dapat dikembangkan dari sana, termasuk halnya pengemasan dan desain penghantaran obat. Untuk tujuan ini, nanokapsul fungsional dikembangkan dengan bantuan surfaktan, misel terbalik, dan lapisan emulsi. Selain itu, luas permukaannya yang besar menghasilkan banyak keuntungan, seperti reaktivitas yang baik, kelarutan air atau penyerapan yang efisien, enkapsulasi dengan nanoteknologi telah mendapatkan perhatian khusus dan berkembang (Pateiro et al., 2021).

Dalam perkembangannya, nanoenkapsulasi tidak hanya terdiri atas bahan aktif dan pelindung saja, akan tetapi beberapa hal yang dapat menjaga kualitas kapsul ukuran nano yang diproduksi.

Oleh karena itu, berdasarkan penjelasan di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji penggunaan beberapa bahan enkapsulasi dalam sistem nanoenkapsulasi β -Sitosterol untuk meningkatkan efeknya dalam pengobatan pasien.

METODE PENELITIAN

Studi ini dilakukan menggunakan studi kepustakaan berupa *Systematic Literature Review* yang dilakukan dengan menggunakan literatur yang tersedia dan masih relevan. Pencarian berbagai referensi dilakukan menggunakan dua jenis *database* internasional bereputasi yaitu PubMed dan Science Direct, dengan menggunakan teknik *Boolean search engine* dengan belasan kata kunci yang berkaitan dengan nanoenkapsulasi, bahan enkapsulator, dan β -Sitosterol. Beberapa *keyword* yang dicantumkan dalam pencarian antara lain sebagai berikut:

1. “Nanoencapsulation” AND “ β -Sitosterol”
2. “Encapsulation Agent” AND “ β -Sitosterol”
3. “Encapsulation” AND “ β -Sitosterol”

Pustaka yang dicari adalah kategori jurnal yang dipublikasikan antara tahun 2014-2024 berbahasa Inggris yang tersedia dalam bentuk *free full text* dan *open access*. Belasan buah kata kunci yang digunakan menghasilkan puluhan pustaka mentah yang harus diseleksi lebih lanjut berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria eksklusi yang ditetapkan pada *systematic review* ini adalah sebagai berikut:

1. Tidak ada keterkaitan dengan kata kunci yang telah disebutkan di atas
2. Jurnal tidak membahas tentang nanoenkapsulasi pada β -Sitosterol ataupun topik serupa.

Penyeleksian dilakukan dengan

beberapa tahap sebagai berikut:

1. Pengecekan duplikasi pada judul, hingga diperoleh jurnal yang lolos pengecekan.
2. Skrining abstrak dan isi.
3. Tahap *quality assessment* yang dilakukan dengan tujuan untuk menganalisis terkait kelengkapan data dari masing-masing jurnal sehingga diperoleh beberapa jurnal terpilih.

1 HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut ini pembahasan lebih lanjut mengenai nanoenkapsulasi β -Sitosterol dengan etil selulosa dan gom arab.

Nanoenkapsulasi

Selama beberapa dekade terakhir, nanomedicine telah memberikan kontribusi penting untuk onkologi. Nanomedicine adalah bidang penelitian yang berkembang pesat yang berurusan dengan bahan skala nano untuk diagnosis, pencitraan penyakit, pengiriman obat, dan pengobatan yang lebih baik. Di antara berbagai aplikasi terapeutik dan diagnostik obat nano, sistem pengiriman obat kanker adalah bidang penelitian yang menjanjikan. Ada banyak senyawa alami yang kurang larut atau hidrofobik yang penting untuk kesehatan manusia. Bioavailabilitas yang rendah dan degradasi cepat dari senyawa ini merupakan tantangan utama untuk penggunaannya dalam industri makanan dan farmasi. Nanoenkapsulasi dapat menjadi metode yang menguntungkan untuk melindungi senyawa bioaktif hidrofobik terhadap kondisi yang tidak sesuai dan meningkatkan ketersediaan hayatinya. Nanoliposom adalah agen terapeutik nanopartikel kelas pertama yang menerima persetujuan klinis untuk pengobatan kanker. Keuntungan penting dari metode pengiriman obat yang dienkapsulasi nano adalah bahwa mereka memiliki potensi untuk meningkatkan fitur biofarmasi, sifat farmakokinetik dan kemanjuran terapeutik obat yang terperangkap. Sebagai pembawa obat, nanoliposom dapat meningkatkan kinerja terapeutik agen bioaktif dengan

meningkatkan kelarutan, ketersediaan hayati, dan penyerapan seluler aktif sehingga menghindari toksisitas di luar target (Abeesh, Guruvayoorappan, G. (2022).

Beta-Sitosterol (BS) adalah suatu fitosterol paling melimpah yang menyerupai struktur kolesterol, kecuali selain gugus etil. Ini biasanya digunakan sebagai agen farmasi untuk menurunkan kadar kolesterol dan suplemen kesehatan dalam makanan. Dalam beberapa dekade terakhir, sifat bioaktif BS telah diselidiki secara luas, termasuk aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, anti-diabetes, imunomodulator, dan anti-hiperkolesterolemia. Menariknya, penelitian sebelumnya menemukan bahwa BS memiliki aktivitas ampuh melawan kanker. BS telah terbukti menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis pada sel A549 dan sel NCL-H460 dengan menargetkan Trx/Trx 1 reduktase. BS telah ditemukan memberikan efek antikanker dengan mengaktifkan siklus sphingomyelin sehingga menghambat pertumbuhan sel HT-29. Untuk pengobatan kanker lambung, BS dapat menekan proliferasi sel adenokarsinoma lambung manusia dan mengurangi pertumbuhan tumor tikus xenograft AGS. Meskipun memiliki aktivitas anti-kanker terhadap berbagai jenis kanker, penyerapan yang buruk, degradasi yang cepat dan ketersediaan hayati yang rendah membatasi aplikasi klinisnya yang potensial dalam pengobatan kanker. Untuk mengatasi kemanjuran BS yang lebih rendah, menggunakan terapi spesifik sel kanker memiliki potensi besar. Pengiriman BS yang dimediasi nanocarrier adalah salah satu demonstrasi yang telah terbukti sangat menjanjikan. Untuk meningkatkan kemanjuran pengobatan BS pada kanker, perlu untuk mengembangkan sistem pengiriman obat yang efektif untuk BS (Abeesh & Guruvayoorappan, 2022).

Proses enkapsulasi didasarkan pada pembungkusan senyawa bioaktif dalam keadaan cair, padat atau gas dalam matriks atau bahan inert, biasanya polimer. Dinding

tertutup dapat mengawetkan zat yang dilapisi (molekul/bahan makanan atau rasa), meningkatkan stabilitasnya di lingkungan yang sesuai. Enkapsulasi dapat meningkatkan stabilitas bioaktif yang lebih besar dalam makanan dengan peningkatan regulasi pelepasannya di tempat fisiologis aktif. Pada dasarnya, ia memiliki banyak aplikasi dalam sains dan industri, termasuk kosmetik, medis, farmasi, dan makanan. Aplikasi umum terdiri dari menutupi bau atau rasa yang tidak diinginkan dalam formulasi makanan, atau hanya mengubah fase cair menjadi padat (Pateiro et al., 2021). Secara khusus, nanoenkapsulasi menyediakan partikel <100 nm, dan partikel yang dienkapsulasi dapat diklasifikasikan sebagai nanokapsul (<0,2 μm), mikrokapsul (0,2–5000 μm) dan makrokapsul (>5000 μm). Salah satu manfaat utama penerapan nanoenkapsulasi adalah homogenitas yang diberikannya, menghasilkan efisiensi enkapsulasi yang lebih baik dan sifat fisik dan kimia yang sesuai. Proses ini merupakan alternatif yang menarik untuk desain ulang komponen makanan fungsional yang dapat sangat memengaruhi kemampuan proses, ketersediaan hayati, dan stabilitas produk (Pateiro et al., 2021).

Saat ini, lebih banyak perhatian diberikan pada pembungkusan bahan baku bioaktif yang terkontrol dalam keadaan tertentu, sehingga mengarah pada umur simpan yang diperpanjang dan memastikan penyerapan nutrisi yang optimal. Faktanya, enkapsulasi muncul sebagai salah satu metode yang paling menggembirakan untuk melindungi bahan halus dari keadaan yang tidak diinginkan atau degradasi karena kondisi oksidatif (Pateiro et al., 2021).

Ada banyak fitur penting yang harus diperhitungkan, seperti ukuran partikel akhir, aktivitas bahan yang cukup, bentuk pelepasan atau resistensi kapsul. Selain itu, bahan dinding dan masalah ekonomi penting untuk memasarkan produk yang diproduksi dengan metode baru ini. Selain itu, dampak positif pada bioaksesibilitas dan aktivitas antioksidan dalam sistem

pengiriman berbasis nanoteknologi baru-baru ini diamati. Bioaksesibilitas (kemampuan pencernaan terhadap senyawa nutrisi bebas dari makanan) harus menjadi langkah pertama untuk mengevaluasi penyerapan fisiologisnya]. Oleh karena itu, penilaian bioaksesibilitas diperlukan untuk memvalidasi makanan fungsional dan memperkirakan kemampuan BAC tertentu untuk memberikan efek positif pada

kesehatan (Pateiro et al., 2021).

Secara singkat, nanoenkapsulasi terdiri dari senyawa target pelapis (fase internal atau zat inti) dengan bahan eksternal yang berbeda (umumnya dikenal sebagai bahan cangkang, dinding atau pembawa) untuk menghasilkan partikel kecil yang dapat memberikan efek positif atau sehat.

Tabel 1.1 Zat Internal yang Rentan Dinanoenkapsulasi

No	Bahan Aktif	Aplikasi Enkapsulasi	Contoh
1	Senyawa fenolik	Perlindungan, peningkatan antioksidan dan aktivitas fungsional lainnya, penggabungan sifat positif tambahan, pengiriman target	Quercetin, katekin teh, asam folat, timol, resveratrol, antosianin
2	Karotenoid	Stabilisasi, pelepasan terkontrol yang efisien, perluasan aplikasi industri mereka (sebagai pewarna dan antioksidan)	Tomat likopen, crocins
3	Asam lemak esensial	Stabilisasi, kelarutan yang lebih baik, mengurangi volatilitas, penggunaan dosis yang lebih rendah, dampak yang menguntungkan pada kualitas sensorik produk akhir	DHA, asam linolenat,
4	Vitamin	Perlindungan terhadap oksidasi	Vitamin D3, vitamin B9, vitamin B2, riboflavin, tiamin
5	Peptida dan enzim	Peningkatan aktivitas antimikroba dan/atau antioksidan, penyerapan yang lebih baik	Dipeptida alami, nisin
6	Probiotik dan prebiotik	Peningkatan kelangsungan hidup, promosi kesehatan pencernaan, inklusi yang sesuai dalam produk makanan	<i>L. kasei</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>S. thermophilus</i> , fruktooligosakarida galaktooligosakarida, laktulosa
7	Lain-lain	Stabilisasi, pelepasan terkontrol, peningkatan homogenitas, rasa, rasa dan/atau tekstur sistem pangan	Mineral, pewarna, rasa, penyangga, mikronutrien

Tabel 1.2 Bahan Enkapsulasi yang Umum Digunakan untuk Enkapsulasi Komponen dan Karakteristik Representatif yang Perlu Diingat

Karbohidrat	Protein	Lemak dan Lilin	Polimer
Kitosan	Protein whey	Minyak nabati terhidrogenasi	Poliglikolida
Pektin	Natrium kaseinat	Lilin lebah	Polilaktida
Maltodekstrin	Protein kedelai	Lesitin	Polietilen glikol
Alginate	Gelatin	Trigliserida rantai menengah	Poliortoester
Siklodekstrin	Kasein	-	Polianhidrida
Permen karet Arab	Zein	-	Poliakrilamida
Turunan selulosa	-	-	Polikaprolakton
Pati yang dimodifikasi	-	-	Asam poliakrilik
Karagenan	-	-	Polivinil alkohol
Properti yang harus dipertimbangkan:	Kelarutan, dimakan, kemampuan membentuk film, emulsifikasi, viskositas, tingkat kristalinitas, kompatibilitas dengan senyawa inti, biaya, rasa dan rasa		

Secara tradisional, teknologi nanoenkapsulasi telah dibagi menjadi dua mekanisme umum untuk elaborasi nanomaterial: "top-down" dan "bottom-

up". Menurut teknik "top-down", ukuran partikel dikurangi dengan enkapsulasi dengan penerapan alat yang akurat. Di sisi lain, metode "bottom-up" memiliki ukuran

partikel yang meningkat. Teknik seperti perakitan diri dan pengorganisasian diri molekul, cairan superkritis, koaservasi, kompleksasi inklusi dan nanoprecipitation dianggap sebagai metode dari bawah ke atas, sedangkan emulsifikasi adalah pendekatan top-down. Dalam beberapa kasus, kedua pendekatan dapat digabungkan untuk menghasilkan hasil yang optimal. Klasifikasi ini tidak digunakan saat ini, tetapi sistem nanoenkapsulasi cenderung dipisahkan menjadi sistem cair-cair, padat-cair dan padat-padat. Proses cair-cair utama, yang biasanya digunakan untuk pelarutan, adalah sistem berbasis emulsi minyak-air (O/W) (Salem & Ezzat, 2020).

Berbagai proses nanoenkapsulasi untuk BAC makanan atau nutrasetikal telah dilakukan dalam beberapa tahun terakhir. Misalnya, metode yang menyerupai pembawa lipid berstruktur nano (NLC), nanoemulsi, nanosuspensi, nanoliposom, nanopartikel biopolimer (NP) atau misel yang terbuat dari polisakarida dan/atau protein telah dikembangkan (Jafari, 2017). Panigrahi et al. (2018) menjelaskan proses berbasis cairan (*nanoprecipitation*), emulsifikasi-penguapan pelarut, koaservasi, gelasi ionotropik, ekstraksi cairan superkritis emulsi (O/W) dan teknik berbasis elektrokimia (*electrospinning* dan *electrospraying*) sebagai teknik yang cocok untuk nanoenkapsulasi.

Selain itu, struktur nano juga dapat diatur menjadi dua kelas dasar: inti tunggal dan multi inti. Diklasifikasikan teknik nanoenkapsulasi menjadi lima kelompok, yang memperhitungkan prosedur/komponen utama yang digunakan untuk mengembangkan nanokapsul, termasuk: (1) formulasi lipid (nanoemulsi, nanoliposom dan pembawa lipid berstruktur nano); (2) pembawa nano alami (kasein, siklodekstrin, nanokristal dan struktur nano amilosa); (3) peralatan khusus (serat nano elektrospin, biopolimer alami yang disemprotkan dan partikel kering nanospray); (4) biopolimer alami fungsional dan (5) teknik yang berbeda

(tabung nano protein dan nanogel karbohidrat) (Pateiro et al., 2021).

Manfaat yang ditawarkan oleh sistem pengiriman nano ini bergantung pada kompatibilitas sifat NP dengan sifat BAC dan aplikasi yang diinginkan, yang memungkinkan penggunaannya dalam berbagai macam makanan dan minuman padat. Penting untuk mempertimbangkan beberapa parameter untuk sediaan NP yang optimal, termasuk pH, pemilihan pelarut organik, waktu pemrosesan, jenis polimer, keberadaan surfaktan, rasio senyawa target-ke-polimer dan metode pengeringan. Faktanya, NP yang dihasilkan dari metode enkapsulasi ini biasanya bervariasi dalam ukuran, bentuk, sifat mekanik, dan komposisi, yang akan mengkondisikan penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi bahan aktifnya (Pateiro et al., 2021).

Ukuran partikel dianggap sebagai karakteristik utama, yang akan menentukan sifat fungsional produk nanoenkapsulasi (Reddy et al., 2018). Peningkatan lebih lanjut dalam konsentrasi polimer dan/atau NP ber dinding ganda menimbulkan peningkatan ukuran partikel tetapi juga perubahan morfologi (Liang et al., 2016). Dengan cara ini, ukuran partikel yang lebih kecil mengarah pada perilaku pembubaran yang lebih baik, mungkin karena peningkatan rasio luas permukaan terhadap volume NP. Selain itu, indeks polidispersitas (PDI) juga merupakan faktor penting yang menunjukkan distribusi ukuran. Telah ditetapkan bahwa nilai yang lebih tinggi dari 0,6 dianggap menunjukkan polidispersitas, sedangkan nilai di bawah 0,3 dianggap menunjukkan monodispersitas. Oleh karena itu, parameter ini dapat menunjukkan bahwa ukuran NP didistribusikan secara merata atau tidak dalam suspensi (Granata et al., 2018). Dalam kasus potensial zeta (ZP), yang menetapkan perbedaan potensial antara lapisan ionik yang tidak bergerak dan dinamis pada partikel bermuatan, memainkan peran penting dalam stabilitas NP. Secara umum, NP dengan ZP lebih

positif dari +30 mV atau lebih negatif dari -30 mV menyebabkan kompleks yang lebih stabil. Selain parameter ini, kekuatan ionik, pH, jenis dan konsentrasi bahan pelapis, dan rasio di antara keduanya, efektif pada jumlah muatan permukaan dan mobilitas elektroforesis yang menghasilkan kompleks ZP yang bervariasi (Ghasemi et al., 2018).

Beta-Sitosterol

Sterol dominan, yang tersebar luas di Kingdom plantae, telah diidentifikasi sebagai β -sitosterol. β -Sitosterol telah dipelajari secara ekstensif karena nilai gizinya yang luar biasa dan beragam aktivitas farmakologis seperti efek anti-kolesterol; efek pada hiperplasia prostat jinak; sebagai anti-inflamasi; efek pada menginduksi apoptosis; kemoprotektif atau kemopreventif dan angiogenik, genotoksik, analgesik, antihelmintik, anti-mutagenik, dan imunomodulator, dan efek antioksidan; perlindungan saraf; dan aktivitas antidiabetes, antibakteri, dan antijamur. Selain itu, β -sitosterol bersama dengan analognya telah dilaporkan memainkan peran penting dalam pengobatan HIV multistage dengan mengatur jumlah limfosit D4 dan mengarahkan kekebalan. Selain itu, β -sitosterol juga menunjukkan efek netralisasi pada racun ular berbisa dan ular kobra. Secara struktural, senyawa ini menyerupai kolesterol, kecuali gugus etil tambahan pada posisi C-24. Dengan demikian, potensi tinggi dan beberapa penggunaan obat dari senyawa ini dan analognya mengklasifikasikannya sebagai obat masa depan yang patut diperhatikan (Amina et al., 2017).

Sudah ditetapkan dengan baik bahwa peningkatan konsentrasi kolesterol serum merupakan faktor risiko dalam perkembangan penyakit jantung koroner. Pengobatan umum hiperkolesterolemia termasuk kelas obat yang dikenal sebagai statin yang menghambat produksi kolesterol di hati. Cara lain adalah penggunaan sterol tumbuhan (phytosterols) yang menunjukkan sifat penurun kolesterol

karena kesamaan strukturalnya dengan kolesterol. Dibandingkan dengan resep obat rutin, fitosterol makanan seperti β -sitosterol dapat dianggap sebagai strategi yang layak secara finansial dan bila digunakan bersama dengan obat hipokolesterolemia, mereka dapat memberikan efek tambahan. Namun, jumlah β -sitosterol yang diterima orang melalui diet seringkali tidak cukup untuk memberikan aktivitas penurun kolesterol darah yang signifikan. Keberhasilan penggabungan β -sitosterol ke dalam sediaan obat atau makanan fungsional benar-benar menantang. Faktanya, ia memiliki kelarutan yang rendah dalam air dan minyak dan bersifat kristal pada suhu sekitar dan tubuh. Selain itu, efisiensi β -sitosterol dalam menurunkan kolesterol sangat tergantung pada keadaan fisik dan formulasi. Struktur mikrokristalin β -sitosterol akan meningkatkan dosis-respons karena gangguan pembubaran dalam cairan usus kecil. Menurut penelitian sebelumnya, konsumsi 10-20 g/hari fitosterol kristal memiliki efek yang sebanding (penurunan 10% kadar kolesterol serum) dengan 2 g/hari fitosterol bebas yang dipecahkan/dilarutkan. Demikian pula, Dosis harian 1,5 g sterol tanaman yang tersebar dalam olesan cukup untuk mencapai pengurangan 7,5-11,6% dalam kolesterol lipoprotein total serum dan densitas rendah. Ditunjukkan efek penurun kolesterol yang berbeda dari ester sterol tanaman menurut matriks makanan. Meskipun semua produk yang diperkaya fitosterol secara signifikan menurunkan kadar kolesterol, penurunan terbesar terlihat dengan susu rendah lemak. Enkapsulasi fitosterol sebagai formulasi yang dapat didistribusikan air meningkatkan kelarutan dan stabilitasnya dan diharapkan dapat memberikan aktivitas penurun kolesterol yang lebih tinggi serta peluang besar untuk menghasilkan berbagai macam makanan fungsional rendah lemak, efektif dalam menurunkan risiko penyakit kardiovaskular (Solemanian et al., 2020).

Sudah ditetapkan dengan baik bahwa peningkatan konsentrasi kolesterol

serum merupakan faktor risiko dalam perkembangan penyakit jantung koroner. Pengobatan umum hiperkolesterolemia termasuk kelas obat yang dikenal sebagai statin yang menghambat produksi kolesterol di hati. Cara lain adalah penggunaan sterol tumbuhan (*phytosterols*) yang menunjukkan sifat penurun kolesterol karena kesamaan strukturalnya dengan kolesterol. Dibandingkan dengan resep obat rutin, fitosterol makanan seperti β -sitosterol dapat dianggap sebagai strategi yang layak secara finansial dan bila digunakan bersama dengan obat hipokolesterolemia, mereka dapat memberikan efek tambahan. Namun, jumlah β -sitosterol yang diterima orang melalui diet seringkali tidak cukup untuk memberikan aktivitas penurun kolesterol darah yang signifikan. Keberhasilan penggabungan β -sitosterol ke dalam sediaan obat atau makanan fungsional benar-benar menantang. Faktanya, ia memiliki kelarutan yang rendah dalam air dan minyak dan bersifat kristal pada suhu sekitar dan tubuh. Selain itu, efisiensi β -sitosterol dalam menurunkan kolesterol sangat tergantung pada keadaan fisik dan formulasi. Struktur mikrokristalin β -

sitosterol akan meningkatkan dosis-respons karena gangguan pembubaran dalam cairan usus kecil. Menurut penelitian sebelumnya, konsumsi 10-20 g/hari fitosterol kristal memiliki efek yang sebanding (penurunan 10% kadar kolesterol serum) dengan 2 g/hari fitosterol bebas yang dipecahkan/dilarutkan. Demikian pula, ditemukan bahwa dosis harian 1,5 g sterol tanaman yang tersebar dalam olesan cukup untuk mencapai pengurangan 7,5-11,6% dalam kolesterol lipoprotein total serum dan densitas rendah. Meskipun semua produk yang diperkaya fitosterol secara signifikan menurunkan kadar kolesterol, penurunan terbesar terlihat dengan susu rendah lemak. Enkapsulasi fitosterol sebagai formulasi yang dapat didistribusikan air meningkatkan kelarutan dan stabilitasnya dan diharapkan dapat memberikan aktivitas penurun kolesterol yang lebih tinggi serta peluang besar untuk menghasilkan berbagai macam makanan fungsional rendah lemak, efektif dalam menurunkan risiko penyakit kardiovaskular (Solemanian et al., 2020)

Tabel 1.3 Perbandingan Formula, Jenis Enkapsulator, dan Hasil untuk Berbagai Metode

Peneliti	Metode	Formula	Agen Enkapsulator	Hasil
Alemán et al., 2021	Liposom	Ekstrak Chia yang mengandung beta-sitosterol (1,6 gram beku-kering) + LEC (5 gram) atau PPL (5 gram)	Letisin dan Fosfolipid	Beta-sitosterol dienkapsulasi dalam liposom yang terbuat dari letisin (L-LEC) dan fraksi kaya fosfolipid murni (L-PPL) dengan efisiensi jebakan masing-masing sebesar 61,3% dan 69,3%. Suspensi L-PPL menunjukkan ukuran partikel yang lebih kecil dan potensi ζ yang lebih rendah daripada rekan-rekan L-LEC mereka, bersama dengan destabilisasi partikel yang nyata setelah 7 hari penyimpanan. Sifat antioksidan lebih besar pada L-LEC daripada suspensi L-PPL. L-LEC, ChE, dan lesitin liposom kosong (LE) tidak menunjukkan efek sitotoksik baik pada sel Caco-2 atau THP-1 dan menginduksi penurunan respon peradangan.
Ilangovan et al., 2023	Ko-presipitasi, konjugasi	Beta Sitosterol,	SPIONs (nanopartikel besi	Efisiensi enkapsulasi obat terpantau tertinggi pada BS-

		SPIONs, PEG, PNIPAM	oksida superparamagnetik), Polietilen Glikol, PNIPAM (Poli-N-isopropillakrilamida)	SPP (82,5%), dibandingkan dengan BS-S (61%) dan BS-SP (74,9%). Pelepasan obat berkelanjutan dicapai pada BS-SP (82,6%) dan BS-SPP (83%). Nilai IC 50 BS, BS-S, BS-SP, dan BS-SPP terhadap MCF 7 adalah 242 µg/mL, 197 µg/mL, 168 µg/mL, dan 149 µg/mL, HEPG2 adalah 274 µg/mL, 261 µg/mL, 233 µg/mL dan 207 µg/mL dan NCIH 460 adalah 191 µg/mL, 185 µg/mL, 175 dan 164 µg/mL, menunjukkan penghambatan tertinggi terhadap sel NCIH 460. Disimpulkan bahwa β-sitosterol terkonjugasi dengan SPION, PEG, dan PNIPAM dapat menjadi terapi bertarget potensial dalam menghambat sel kanker yang mengekspresikan reseptor EGFR dan MET.
Andima et al. (2018)	Evaporasi Emulsi- Pelarut Sederhana	β-sitosterol, PLGA, PEG-PLA	Asam Polilaktida-ko-glikolik serta kopolimer PEG-PLA	Efisiensi enkapsulasi β-Sit masing-masing adalah $62,89 \pm 4,66$ dan $51,83 \pm 19,72\%$ pada nanopartikel PLGA dan PEG-PLA. Pelepasan in vitro dalam garam buffer fosfat (PBS) dan PBS/dengan 0,2% Tween 20 menunjukkan pelepasan ledakan awal, diikuti oleh pelepasan berkelanjutan selama 408 jam. Nanopartikel β-Sit-PLGA umumnya stabil dalam media kaya protein, sedangkan nanopartikel β-Sit-PEG-PLA menunjukkan kecenderungan untuk berkumpul. Analisis sitometri aliran (FACS) menunjukkan bahwa nanopartikel β-Sit-PLGA secara efisien diambil oleh sel berbeda dengan nanopartikel β-Sit-PEG-PLA. Oleh karena itu, nanopartikel β-Sit-PLGA dipilih untuk mengevaluasi aktivitas antiproliferasi. Viabilitas sel terhambat hingga 80% dalam kisaran konsentrasi 6,64-53,08 µg/mL dibandingkan dengan sel yang tidak diobati. Secara keseluruhan, enkapsulasi β-Sitosterol dalam nanopartikel PLGA adalah strategi yang menjanjikan untuk meningkatkan aktivitas

				antikankernya terhadap sel kanker payudara.
Amina et al. (2017)	Electrospinning	β -Sitosterol, Poliuretan	Poliuretan	Serat nano bengkok yang dihasilkan telah dikarakterisasi melalui mikroskop elektron pemindaian dan spektroskopi inframerah transformasi Fourier. Kelangsungan hidup sel pada perancah bengkok diperiksa menggunakan fibroblas NIH 3T3 sebagai garis sel model. Penggabungan β -sitosterol dalam poliuretan mengubah struktur dan ukuran serat nano, dan perancah bengkok tidak sitotoksik. Dengan demikian, pita nano bengkok, yang mengandung anti-inflamasi β -sitosterol, dapat digunakan sebagai bahan masa depan yang menjanjikan, yang akan membantu meringankan peradangan dan juga membantu penyembuhan luka. Kesimpulannya, hasil penelitian pendahuluan jelas menunjukkan potensi perancah bengkok dalam aplikasi biomedis.
Abeesh & Guruvayoorappan (2022)	Liposom	β -sitosterol	Liposom	Nanoliposom yang disiapkan memiliki efisiensi enkapsulasi 86%. Hasil studi in vitro menunjukkan bahwa pengobatan LBS dapat menginduksi apoptosis pada garis sel limfoma sebagaimana dibuktikan oleh jeruk acridine / etidium bromida dan pewarnaan nuklir. Studi in vivo kami yang melibatkan model tumor eksperimental mengungkapkan bahwa pengobatan LBS dapat secara signifikan ($p < 0,01$) mengurangi beban tumor, meningkatkan tingkat kelangsungan hidup, dan menstabilkan berat badan pada tikus pembawa tumor Dalton Lymphoma Asitess (DLA) jika dibandingkan dengan BS. Hasil studi keseluruhan mengungkapkan bahwa LBS menunjukkan kemanjuran terapeutik yang menjanjikan dibandingkan dengan BS yang tidak dienkapsulasi dalam mengatur perkembangan tumor eksperimental serta induksi apoptosis sel limfoma.

Efektifitas Hasil Nanoenkapsulasi β -Sitosterol dengan Berbagai Agen Enkapsulator

Aleman et al. (2021) mengembangkan nanoenkapsulasi ekstrak biji Chia (*Salvia hispanica* L.) yang mengandung β -sitosterol dalam liposom yang mengandung letisin ataupun fraksi kaya fosfolipid. Liposom dari PPL (L-PPL) dan LEC (L-LEC), keduanya yang dicampur dengan ekstrak biji chia, dibuat dengan melarutkan 1,6 g ekstrak chia beku-kering dalam buffer fosfat pada pH 7 dan dicampur dengan 5 g LEC atau PLL (L-LEC dan L-PPL). Liposom kosong (EL) tanpa ekstrak chia juga disiapkan untuk tujuan komparatif. Baik LEC dan PPL dinilai kemampuannya untuk merangkul ekstrak etanol/air dari biji chia dalam liposom. Efisiensi jebakan (EE; *entrapment efficiency*), yang ditentukan dalam hal zat reaktif Folin, adalah 61,3% pada liposom LEC (L-LEC) dan sedikit lebih tinggi (69,3%) pada liposom PPL (L-PPL). Sementara itu, berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan uji FRAP, L-LEC menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (179,1 mM Fe^{2+} .eq/g) dibandingkan L-PPL (143 mM Fe^{2+} .eq/g). Sedangkan dalam efektivitasnya sebagai obat kanker dengan kapasitas antioksidan tinggi dan stabilitas partikel, semua sampel tidak menunjukkan efek sitotoksik, tidak tergantung pada konsentrasi yang diuji dengan viabilitas sel > 90%. Sehingga untuk stimulasi imun, konsentrasi sampel terendah direkomendasikan untuk dilakukan analisis.

Ilangovan et al. (2023) melakukan analisis terkait enkapsulasi beta-sitosterol dengan berbagai bahan enkapsulator. Berbagai konsentrasi β -sitosterol mulai dari 1 mg/mL hingga 6 mg/mL dimuat ke 5 mg SPION, dan pemuatan obat maksimum dicapai dengan 5 mg/mL dan 6 mg/mL dengan efisiensi enkapsulasi obat 61%.. Oleh karena itu, konsentrasi 5 mg/mL BS dipilih untuk percobaan lebih lanjut. Karena adsorpsi obat maksimum dicapai pada konsentrasi 5 mg/mL β -sitosterol,

konsentrasi yang sama digunakan dengan BS-SP. Sekitar 74,9% efisiensi enkapsulasi obat dicapai dengan BS-SP. Peningkatan kapasitas pemuatan obat menunjukkan peran polimer dalam jebakan obat dengan SPION. SPION yang terkonjugasi dengan PEG dan PNIPAM menunjukkan peningkatan efisiensi enkapsulasi obat sebesar 82,5%. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan dua polimer dapat secara efektif menjebak obat dibandingkan dengan polimer tunggal PNIPAM. Konjugasi dua polimer meningkatkan efisiensi pemuatan obat dan enkapsulasi obat. Selanjutnya, penggunaan dua polimer meningkatkan pemuatan obat hidrofobik secara efektif dan menghindari penyerapan RES dengan peningkatan waktu sirkulasi darah. Selain itu, perilaku pelepasan obat BS-S, BS-SP, dan BS-SPP dievaluasi dalam buffer garam fosfat. Hasilnya, mengungkapkan bahwa sekitar 74% dari BS yang dimuat dilepaskan dari SPION setelah 110 jam. Profil pelepasan menunjukkan efek ledakan awal, dengan 40% obat dilepaskan dalam 6 jam pertama. Pelepasan ledakan awal ini dapat dikaitkan dengan pelepasan cepat obat yang terikat secara longgar ke SPION. Pada BS-SP dan BS-SPP, pelepasan burst awal diamati dalam 12 jam, dengan 35,5% pelepasan obat pada BS-SPP jika dibandingkan dengan BS-SP (49%). Meskipun pelepasan cepat awal, pelepasan obat berkelanjutan dicapai dalam formulasi BS-SP dan BS-SPP, dengan pelepasan obat maksimum masing-masing 82,6% dan 83%. Dalam formulasi BS-SP dan BS-SPP, jumlah pelepasan obat tetap konstan dari 84 hingga 210 jam.

MCF7, HEPG2, dan sel kanker NCIH460, serta sel ginjal (HEK293) yang mengekspresikan reseptor EGFR dan MET, dijadikan subjek uji berbagai konsentrasi (62,5, 125, 250, dan 500 $\mu\text{g/mL}$) SPION, BS-S, BS-SPP, dan Butein untuk memprediksi efek sitotoksiknya dengan uji reduksi pewarna MTT. Nilai IC₅₀ yang diperoleh untuk BS, BS-S, BS-SP dan BS-SPP dengan butein kontrolnya pun bervariasi. Nilai IC₅₀ terhadap MCF7

paling tinggi diraih pada beta-sitosterol yaitu 242 µg/mL, terhadap HEPG2 paling tinggi diraih pada BS-S yaitu 261 µg/mL, serta pada NCIH460 paling tinggi diraih pada BS yaitu 191 µg/mL. Perbedaan yang signifikan tidak diamati dengan SPION yang tidak dilapisi, kecuali pada konsentrasi yang lebih tinggi 500 µg/mL, menunjukkan bahwa mereka menunjukkan aktivitas antikanker hanya pada konsentrasi yang lebih tinggi di setiap sel. Efek antikanker bergantung pada konsentrasi yang diamati untuk BS-S, BS-SP, dan BS-SPP di semua garis sel kanker.

Andima et al. (2018) mengevaluasi β -sitosterol yang dimuat dalam PLGA dan PEG-PLA untuk pengobatan kanker payudara. β -Sitosterol-loaded-PLGA (β -Sit-PLGA) dan β -sitosterol-loaded-PEG-PLA (β -Sit-PEG-PLA), serta nanopartikel PLGA dan PEG-PLA kosong, disiapkan dengan metode penguapan emulsi-difusi-pelarut sederhana. Terdapat variasi dalam efisiensi enkapsulasi dan kapasitas *drug-loading* dari β -Sit-PLGA dan β -Sit-PEG-PLA pada konsentrasi 2 and 4 mg/mL. Di mana untuk EE% tertinggi pada konsentrasi 2 dan 4 mg/mL diperoleh β -Sit-PEG-DCM dengan nilai 85,13% dan 88,48%. Tidak ada perbedaan signifikan sehingga formulasi 2 mg/mL dipilih untuk investigasi lebih lanjut.

Pelepasan nanopartikel in vitro dipelajari dalam media PBS dan PBS/Tween 20. Diketahui terdapat pelepasan burst awal selama 24 jam pertama, diikuti oleh pelepasan β -Sit yang sangat lambat dan berkelanjutan hingga 408 jam (17 hari) di PBS/Tween 20. Sebuah perilisasi kumulatif menyumbang $70,10 \pm 5,50$, $87,11 \pm 5,54$, dan $56,83 \pm 2,99\%$ β -Sit dilepaskan dari β -Sit-PLGA-EtAC, β -Sit-PEG-PLA (R25), dan β -Sit-PEG-PLA (R45) masing-masing di PBS/Tween 20. Menariknya, nanopartikel β -Sit-PLGA-DCM menunjukkan pelepasan obat bertahap yang lambat pada PBS/Tween 20, dengan hanya $43,61 \pm 0,80\%$ β -Sit dilepaskan setelah 408 jam (Gambar 3a). Profil pelepasan obat serupa ditemukan

untuk kedua formulasi, yaitu β -Sit-PEG-PLA (R25) dan β -Sit-PEG-PLA (R45) pada PBS. Umumnya, pelepasan ledakan awal dikaitkan dengan molekul obat yang teradsorpsi pada permukaan nanopartikel dan molekul yang terperangkap dengan buruk dalam matriks nanopartikel. Pelepasan berkelanjutan yang lambat dikaitkan dengan difusi molekul obat yang terperangkap di inti nanopartikel. Namun, ada pelepasan β -Sit yang lebih terbatas dari formulasi β -Sit-PLGA-EtAC dan β -Sit-PLGA-DCM dalam PBS, dengan hanya $30,33 \pm 3,28$ dan $14,66 \pm 3,36\%$ dilepaskan dalam PBS setelah 216 jam (Gambar 3b). Sampai batas tertentu, pola pelepasan ini dikaitkan dengan ukuran partikel β -Sit-PLGA-DCM yang lebih besar, yang meningkatkan jalur difusi obat yang panjang. Selain ukuran partikel, kelarutan β -Sit yang rendah dalam PBS diperkirakan akan menjadi penyebab utama lambatnya pelepasan pada PBS.

Kemudian, terkait uji antiproliferasi nanoenkapsulasi, karena nanopartikel β -Sit-PEG-PLA menunjukkan penyerapan seluler yang sangat buruk menurut analisis FACS, nanopartikel ini tidak dimasukkan dalam studi viabilitas sel. Viabilitas sel menurun secara keseluruhan untuk kedua garis sel dengan cara yang bergantung pada dosis, dengan pengurangan sekitar 80% pada tingkat konsentrasi tertinggi dari kelompok perlakuan ($26,5\text{--}53,08$ µg/mL) selama masa inkubasi 24 jam (* $P < 0,05$). Penghambatan viabilitas sel pada tingkat konsentrasi yang lebih rendah ($6,64$ dan $13,27$ µg/mL) sebanding dengan β -sitosterol bebas ($13,27$ µg/mL) dalam pembawa HP- β -CD. Nanopartikel PLGA kosong pada konsentrasi yang setara dengan gugus perlakuan ($6,64\text{--}53,08$ µg/mL) juga dievaluasi untuk sitotoksitas yang melekat terhadap sel uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam viabilitas sel untuk sel yang diobati dengan nanopartikel PLGA kosong pada konsentrasi setara β -Sit-PLGA; Dengan

demikian, hasilnya disajikan sebagai rata-rata untuk perawatan kosong. Disimpulkan bahwa penghambatan proliferasi sel yang sama dicapai dalam 24 jam inkubasi, menunjukkan bahwa formulasi nanopartikel menawarkan keuntungan yang memungkinkan partikel β -Sit-PLGA mudah terkonsentrasi di lokasi penyakit. Diyakini bahwa β -Sit praktis tidak larut pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga membatasi aktivitasnya. Dalam hal ini, formulasi nanopartikel meningkatkan kelarutan β -Sit dan membuatnya lebih tersedia untuk sel, sehingga meningkatkan aktivitas antiproliferasinya, terutama pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi.

Amina et al. (2017) mengevaluasi sistem enkapsulasi β -Sitosterol dalam poliuretan dengan metode *electrospinning*. *Electrospinning* larutan polimer poliuretan 10% wt% menghasilkan serat nano berbentuk benar yang memiliki diameter dari 200 hingga 700 nm (± 10 nm). Serat nano poliuretan murni memiliki permukaan luar yang merata tanpa manik-manik dan diilustrasikan variasi diameter serat yang relatif lebih sedikit. Sebaliknya, campuran β -sitosterol dalam larutan poliuretan mengubah bentuk serat nano. 5% β -sitosterol dalam PU menghasilkan morfologi seperti pita bengkok dan didistribusikan secara merata dalam serat nano elektrosipinal, membentuk pita tipis dan lebar. Perubahan dari serat nano kontinu polos ke pita nano memverifikasi interaksi β -sitosterol dengan polimer PU dan oleh karena itu menunjukkan pencapaian fabrikasi pita nano bengkok PU/ β -sitosterol dengan *electrospinning* yang mudah. Dalam penelitian ini, dipilih sel fibroblas tikus, yang dikultur dalam kondisi *in vitro*, untuk memeriksa biokompatibilitas perancah poliuretan murni dan perancah pita nano campuran β -sitosterol/poliuretan. Fibroblas yang dibudidayakan pada perancah β -sitosterol/Poliuretan menunjukkan pola pertumbuhan yang sebanding seperti yang diamati pada sel yang dikultur dalam pelat

kultur, dengan viabilitas sel PU adalah 80% serta PU- β -sitosterol adalah 85%. Secara umum, perancah fabrikasi (PU dan β -sitosterol/PU) menunjukkan ekspansi sel maksimum selama waktu pertumbuhan yang ditentukan. Juga telah dicatat bahwa pertumbuhan berlanjut secara eksponensial dalam periode pertumbuhan. Oleh karena itu, ditegaskan bahwa pita nano as-spun tidak beracun bagi fibroblas dan dengan demikian direkomendasikan penggunaannya dalam aplikasi biomedis.

Abeesh & Guruvayoorappan (2022) mengevaluasi karakterisasi enkapsulasi beta-sitosterol dalam formulasi nanoliposom dalam efektivitasnya terhadap kanker sel. Nanoliposom konvensional beta sitosterol dibuat menggunakan metode hidrasi film tipis. Secara singkat, lipid fosfatidil kolin dan kolesterol dengan perbandingan molar 2:1 dilarutkan dalam kloroform yang kemudian dicampur menggunakan pengaduk magnet dengan kecepatan 200 rpm selama 6 jam. BS dilarutkan dalam pelarut organik yang sama dan ditambahkan ke dalam campuran lipid. Untuk mengukur BS yang dienkapsulasi dalam cangkang lipid, obat bebas dihilangkan dengan dialisis dan sentrifugasi diikuti dengan lisis nanoliposom. Konsentrasi BS pasca pemuatan ditentukan setelah pemurnian liposom. Efisiensi enkapsulasi BS dalam nanoliposom ditemukan sebesar $86,37 \pm 1,2\%$. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa formulasi liposom memiliki pelepasan BS yang jauh bebas rendah dibandingkan dengan obat bebas. Obat bebas menunjukkan pelepasan 90% setelah 24 jam. Liposom menunjukkan pelepasan obat hanya sebesar 52,4% setelah 24 jam, dan hal ini dapat dikaitkan dengan pelepasan obat yang lebih lambat dari liposom setelah enkapsulasi dengan liposom. Hasilnya menunjukkan bahwa BS di LBS menampilkan tingkat pelepasan, menampilkan profil pelepasan yang lambat, berkelanjutan, dan berkepanjangan. Hasil ini menunjukkan bahwa LBS menunjukkan perilaku pelepasan obat yang berkelanjutan

jika dibandingkan dengan obat bebas.

Aktivitas induksi apoptosis LBS *in vitro* selanjutnya dikonfirmasi dengan pewarnaan AO/EtBr. Hasil pewarnaan AO/EtBr menunjukkan bahwa berbeda dengan kontrol, sel DLA yang diberi perlakuan BS dan LBS menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi kuning/merah yang berhubungan dengan fitur apoptosis. LBS ($59,4 \pm 1,6\%$) sel DLA yang diobati menunjukkan peningkatan persentase sel apoptosis dibandingkan BS ($31,46 \pm 2,1\%$). Hasil AO/EtBr menunjukkan bahwa sel yang diobati dengan LBS menunjukkan peningkatan efek apoptosis yang signifikan ($p < 0,01$) pada sel DLA jika dibandingkan dengan obat bebas. Kemudian, Model tumor asites DLA dikembangkan dengan injeksi sel DLA intraperitoneal ke tikus Balb/c. Representasi skema studi tumor asites *in vivo* ditunjukkan bahwa baik BS dan LBS secara signifikan ($p < 0,01$) menurunkan pertumbuhan tumor jika dibandingkan dengan kelompok kontrol tumor ($8,8 \pm 0,36$ ml). Rata-rata volume tumor pada kelompok pengobatan BS dan LBS masing-masing adalah $3,6 \pm 0,15$ ml dan $2,3 \pm 0,2$ ml. Penghambatan pertumbuhan tumor pada kelompok pengobatan BS dan LBS masing-masing adalah 59% dan 73,8%. Pemberian LBS secara signifikan ($p < 0,01$) menghambat pertumbuhan tumor asites DLA dibandingkan dengan kelompok pengobatan bebas. Selain itu, kelompok yang mendapat pengobatan standar secara signifikan ($p < 0,01$) menurunkan pertumbuhan tumor bila dibandingkan dengan kelompok kontrol tumor.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pengembangan obat dengan sistem nanoenkapsulasi merupakan hal yang menjanjikan, akan tetapi perlu dipertimbangkan terkait ketidakstabilan fisik dan kimia yang akan terjadi. Jika mengacu pada efisiensi enkapsulasi, maka β -sitosterol cocok dikembangkan dalam nanoliposom. Namun jika mengacu pada efektivitas secara *in vitro* terhadap sel

kanker, maka β -sitosterol cocok dipersatukan dengan semua polimer yang dipakai dalam penelitian sebelumnya seperti SPION, PEG, dan PNIPAM dan tidak menutup kemungkinan terhadap polimer lain yang dapat meningkatkan serta memperbaiki stabilitas dan efektivitas β -sitosterol.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeesh, P., Guruvayoorappan, C., 2022, Preparation and characterization of beta sitosterol encapsulated nanoliposomal formulation for improved delivery to cancer cells and evaluation of its anti-tumor activities against Daltons Lymphoma Ascites tumor models, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 102832.
- Alemán, A., Pérez-García, S., Fernández de Palencia, P., Montero, M.P., Gómez-Guillén, M.d.C., 2021, Physicochemical, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Rapeseed Lecithin Liposomes Loading a Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Extract, *Antioxidants*, 10, pp.693.
<https://doi.org/10.3390/antiox10050693>.
- Amina, M., Amna, T., Al-Musayeib, N.M., Zabin, S., Hassan, M.S., & Khil, M.S., 2017, Encapsulation of β -Sitosterol in Polyurethane by Sol-Gel Electrospinning, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 182, pp. 624-634.
- Andima, M., Costabile, G., Isert, L., Ndakala, A.J., Derese, S., and Merkel, O.M., 2018, Evaluation of β -Sitosterol Loaded PLGA and PEG-PLA Nanoparticles for Effective Treatment of Breast Cancer: Preparation, Physicochemical Characterization, and Antitumor Activity, *Pharmaceutics*, 10, 232.
- Bilia, A.R., Piazzini, V., Guccione, C.,

- Risaliti, L., Asprea, M., Capecchi, G., and Bergonzi, M.C., 2017, Improving on Nature: The Role of Nanomedicine in the Development of Clinical Natural Drugs, *Planta Med*, 83, pp.366–381.
- Fonte, P., Reis, S., Sarmiento, B., 2016, Facts and Evidences on the Lyophilization of Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery, *J. Control. Release*, 225, pp.75–86. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.01.034.
- Ghasemi, S., Jafari, S.M., Assadpour, E., Khomeiri, M., 2018, Nanoencapsulation of D-limonene within nanocarriers produced by pectin-whey protein complexes, *Food Hydrocoll*, 77, pp.152–162. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.09.030.
- Granata, G., Consoli, G.M., Nigro, R.L., Geraci, C., 2018, Hydroxycinnamic acids loaded in lipid-core nanocapsules, *Food Chem*, 245, pp.551–556. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.106.
- Ilangovan, S.S., Mahanty, B., Perumal, V., Sen, S., 2023, Modulating the Effect of β -Sitosterol Conjugated with Magnetic Nanocarriers to Inhibit EGFR and Met Receptor Cross Talk, *Pharmaceutics*, 15(8), pp.2158. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082158>.
- Liang, J., Yan, H., Yang, H.-J., Kim, H.W., Wan, X., Lee, J., Ko, S., 2016, Synthesis and controlled-release properties of chi-tosan/ β -Lactoglobulin nanoparticles as carriers for oral administration of epigallocatechin gallate, *Food Sci. Biotechnol*, 25, pp.1583–1590. doi: 10.1007/s10068-016-0244-y.
- Panigrahi, S.S., Syed, I., Sivabalan, S., Sarkar, P., 2018, Nanoencapsulation strategies for lipid-soluble vitamins, *Chem. Pap.*, 73, pp.1–16. doi: 10.1007/s11696-018-0559-7.
- Pateiro, M., Gómez, B., Munekata, P. E. S., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., and Lorenzo, J. M., 2021, Nanoencapsulation of Promising Bioactive Compounds to Improve Their Absorption, Stability, Functionality and the Appearance of the Final Food Products, *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6), pp.1547. <https://doi.org/10.3390/molecules26061547>.
- Pérez-Herrero, E., and Fernández-Medarde, A., 2015, Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy, *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 93, pp.52–79.
- Reddy, M.N.P., Ishwarya, S.P., Anandharamakrishnan, C., 2019, Nanoencapsulation of roasted coffee bean oil in whey protein wall system through nanospray drying, *J. Food Process. Preserv.*, 43, pp.e13893. doi: 10.1111/jfpp.13893.
- Salem M.A., Ezzat S.M., 2019, Some New Aspects of Colloidal Systems in Foods. IntechOpen; London, UK, Nanoemulsions in food industry; pp. 1–21.