

**PENGARUH PENAMBAHAN POLIETILEN GLIKOL (PEG) 6000
PADA STABILITAS MIKROSFER KALSIUM ALGINAT
TERHADAP ENZIM SALURAN PENCERNAAN**

NIKEN CINDY PRATIWI

0305050418



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2009**

**PENGARUH PENAMBAHAN POLIETILEN GLIKOL (PEG) 6000
PADA STABILITAS MIKROSFER KALSIUM ALGINAT
TERHADAP ENZIM SALURAN PENCERNAAN**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

Oleh:

NIKEN CINDY PRATIWI

0305050418



DEPOK

2009


SKRIPSI : PENGARUH PENAMBAHAN POLIETILEN GLIKOL
(PEG) 6000 PADA STABILITAS MIKROSFER KALSIMUM
ALGINAT TERHADAP ENZIM SALURAN
PENCERNAAN


NAMA : NIKEN CINDY PRATIWI

NPM : 0305050418

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009


Dr. Iskandarsyah, MS
PEMBIMBING I


Sutriyo, M.Si
PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana :

9-7-2009

Penguji I : Prof. Dr. Effionora, MS.....


Penguji II : Dra. Azizahwati, MS.....


Penguji III : Dr. Harmita.....


KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak yang telah penulis terima, kiranya sulit bagi penulis untuk menyelesaikan penulisan ini tepat pada waktunya. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih yang tulus kepada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
2. Ibu Dra. Azizahwati, MS, Apt selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama masa pendidikan di Farmasi FMIPA UI.
3. Bapak Dr. Iskandarsyah, MS selaku pembimbing I dan bapak Sutriyo, M.Si selaku pembimbing II yang selama ini telah memberi bimbingan dan pengarahan yang sangat bermanfaat selama penelitian.
4. Semua staf pengajar, laboran, dan karyawan Departemen Farmasi yang telah membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
5. Keluarga tercinta Bapak, Ibu, dan Mas Kiky (Alm) yang selalu menjadi tempat bersandar dan memberi dorongan.

6. PT. Kalbe Farma atas bantuan bahan-bahan selama penelitian.
7. Teman-teman penelitian di KBI Farmasetika, Gina, Disa, Lita, Nezla, Seffy, Ijul dan yang lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan dan kebersamaannya selama penelitian.
8. Semua teman-teman 2005, Gina, Ambar, Hasma, Itine, Annis, Muthia, Itina, Ventry dan yang lainnya atas persahabatannya selama 4 tahun ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah banyak membantu hingga terselesaikannya skripsi ini.

Depok, Juni 2009

Penulis

ABSTRAK

Mikrosfer merupakan salah satu bentuk sediaan untuk pelepasan terkendali. Pelepasan obat di dalam tubuh dari bentuk sediaan dapat dipengaruhi oleh adanya perbedaan pH dan enzim dalam saluran cerna. Pada penelitian ini, diuji efek enzim-enzim proteolitik pada pelepasan obat dari mikrosfer alginat dengan dan tanpa penambahan polietilen glikol 6000. Alginat telah menjadi perhatian sebagai pembawa dalam penghantaran obat terkontrol. Mikrosfer kalsium alginat dibuat dengan menggunakan metode *ionotropic gelation* dengan penambahan polietilen glikol 6000. Adanya polietilen glikol dalam formulasi mikrosfer kalsium alginat diperkirakan dapat mempengaruhi stabilitas enzimatik mikrosfer. Evaluasi yang dilakukan adalah pemeriksaan bentuk dan morfologi mikrosfer, distribusi ukuran partikel, uji perolehan kembali proses, penetapan kadar air, uji kadar obat yang terjerap dalam mikrosfer dan uji pelepasan obat in vitro. Uji pelepasan obat dilakukan dalam medium simulasi cairan lambung (pH 1,4) dan simulasi cairan usus (pH 7,4) tanpa enzim atau dengan enzim yaitu pepsin dan tripsin. Hasil uji pelepasan obat menunjukkan bahwa pelepasan obat dari mikrosfer kalsium alginat meningkat dengan peningkatan polietilen glikol.

Kata kunci : alginat, enzim, mikrosfer, polietilen glikol, uji pelepasan obat
xi + 89 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi : 31 (1986-2009)

ABSTRACT

Microspheres are one dosage form for sustained release. Drug release from dosage form can be influenced by the differences of pH and the enzyme in gastrointestinal tract. In this research, has been tested the effects of proteolytic enzymes on drug release from alginate microspheres with or without the addition of polyethylene glycol 6000. Alginate has become a concern in controlled drug delivery. Calcium alginate microspheres was made by *ionotropic gelation* method with the addition of polyethylene glycol 6000. Polyethylene glycol in the formulation of calcium alginate microspheres is estimated can affect the enzymatic stability of microspheres. Evaluation that had been done were microspheres morphology, particle size distribution, recovery process, water content, drug entrapment efficiency and in vitro drug release test. Drug release test had been done in the simulated gastric fluid medium (pH 1.4) and simulated intestinal fluid (pH 7.4) without or with pepsin and tripsin enzyme. Drug release test showed the drug release from calcium alginate microspheres increase with the addition of polyethylene glycol.

Keywords : alginate, enzyme, microsphere, polyethylene glycol, drug release test

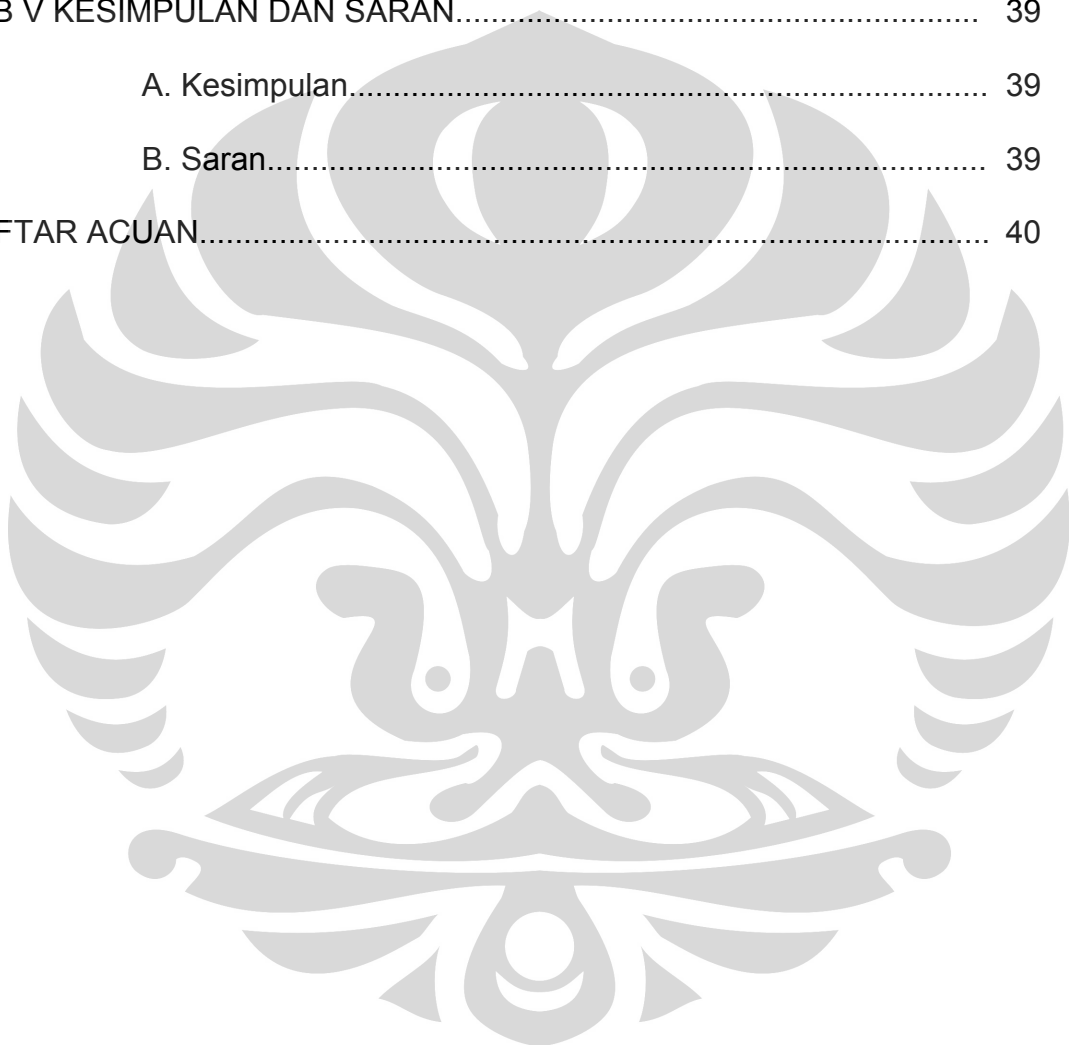
xi + 89 pages.; pict.; tab.; app.

Bibliography : 31 (1986-2009)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Mikrosfer.....	4
B. Mekanisme Pelepasan Obat.....	11
C. Polietilen Glikol.....	12
D. Natrium Alginat.....	15
E. Sistem Pencernaan dan Enzim Pencernaan.....	17
F. Ketoprofen.....	20
BAB III ALAT, BAHAN DAN CARA KERJA.....	22
A. Bahan.....	22
B. Alat.....	22

C. Cara Kerja.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
A. Hasil	30
B. Pembahasan.....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran.....	39
DAFTAR ACUAN.....	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Metode <i>ionotropic gelation</i>	8
2. Struktur polietilen glikol.....	12
3. Struktur alginat.....	15
4. Struktur ketoprofen.....	20
5. Serbuk natrium alginat.....	45
6. Mikrosfer kalsium alginat.....	45
7. Hasil Scanning Electron Microscopy.....	46
8. Grafik distribusi ukuran partikel.....	47
9. Kurva kalibrasi ketoprofen standar untuk efisiensi penjerapan dalam medium NaOH 0,1 N pada λ 260 nm.....	48
10. Kurva kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 1,4 pada λ 258 nm	48
11. Kurva kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 1,4 dengan pepsin pada λ 258 nm.....	49
12. Kurva kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 7,4 pada λ 260 nm.....	49
13. Kurva kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada λ 260 nm.....	50
14. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 1,4	50
15. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 1,4 dengan pepsin.....	51
16. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 7,4	51

17. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 7,4 dengan tripsin.....	52
18. Kurva disolusi formula 1.....	52
19. Kurva disolusi formula 2.....	53
20. Kurva disolusi formula 3.....	53



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Formulasi mikrosfer.....	24
2. Perbandingan distribusi ukuran partikel mikrosfer.....	55
3. Persentase perolehan kembali proses pembentukan mikrosfer.....	55
4. Penetapan kadar air.....	56
5. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi untuk efisiensi penjerapan dalam medium NaOH 0,1 N.....	56
6. Efisiensi penjerapan ketoprofen dalam mikrosfer kalsium alginat.....	57
7. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 1,4	57
8. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 1,4 dengan pepsin.....	58
9. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 7,4	59
10. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 7,4 dengan tripsin.....	60
11. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4	61
12. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin.....	62
13. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4	63
14. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat analisis natrium alginat.....	66
2. Sertifikat analisis ketoprofen.....	67
3. Sertifikat analisis polietilen glikol (PEG) 6000.....	68
4. Sertifikat analisis enzim pepsin.....	69
5. Sertifikat analisis enzim tripsin.....	70
6. Sertifikat analisis kalsium klorida.....	71
7. Uji distribusi normal Saphiro-Wilk terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 pada menit ke-15	72
8. Uji homogenitas varian kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 pada menit ke-15.....	73
9. Uji analisis varian satu arah terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 pada menit ke-15...	74
10. Uji distribusi normal Saphiro-Wilk terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin pada menit ke-15	75
11. Uji homogenitas varian kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin pada menit ke-15.....	76
12. Uji analisis varian satu arah terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin pada menit ke-15.....	77
13. Uji distribusi normal Saphiro-Wilk terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 pada menit ke-15	78

14. Uji homogenitas varian kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 pada menit ke-15.....	79
15. Uji analisis varian satu arah terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 pada menit ke-15...	80
16. Uji distribusi normal Saphiro-Wilk terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada menit ke-15	81
17. Uji homogenitas varian kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada menit ke-15.....	82
18. Uji analisis varian satu arah terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada menit ke-15.....	83
19. Uji distribusi normal Saphiro-Wilk terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 pada menit ke-480.....	84
20. Uji homogenitas varian kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 pada menit ke-480.....	85
21. Uji analisis varian satu arah terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 pada menit ke-480..	86
22. Uji distribusi normal Saphiro-Wilk terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada menit ke-480	87
23. Uji homogenitas varian kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada menit ke-480.....	88
24. Uji analisis varian satu arah terhadap kadar ketoprofen terdisolusi mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada menit ke-480.....	89

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Perbedaan pH dan adanya enzim pencernaan merupakan pencetus pelepasan obat dari sediaannya (1). Pada formulasi sediaan pelepasan terkendali untuk oral yang baik harus dapat mengatasi terjadinya perubahan lingkungan pada saluran pencernaan ketika melewati suasana asam pada lambung (pH 1-3) menuju suasana basa pada usus halus (pH 6.5-7.5) (2).

Berbagai produk obat pelepasan terkendali telah dirancang dengan tujuan terapeutik tertentu yang didasarkan atas sifat fisikokimia, farmakologik, dan farmakokinetik obat. Tujuan utama dari suatu produk obat pelepasan terkendali adalah untuk mencapai suatu efek terapeutik yang diperpanjang, di samping memperkecil efek samping yang tidak diinginkan yang disebabkan oleh fluktuasi kadar obat dalam plasma (3).

Mikrosfer merupakan salah satu pengembangan bentuk sediaan untuk pelepasan terkendali. Mikrosfer berperan penting sebagai sistem penghantaran obat dengan maksud meningkatkan bioavailabilitas obat konvensional dan meminimalkan efek samping (4). Mikrosfer merupakan

pembawa berukuran mikro yang dapat dengan mudah mencapai target obat pada loka aksinya (5).

Alginat, telah menjadi banyak perhatian sebagai pembawa dalam penghantaran obat terkontrol. Alginat merupakan senyawa yang terbentuk secara alami, ditemukan dalam alga coklat. Alginat dapat dianggap sebagai kompleks polimer, yang sebagian besar terdiri dari asam manuronat (M), asam guluronat (G) dan kompleks manuronat-guluronat (MG). Alginat dikenal nontoksik saat diberi secara oral dan juga melindungi efek pada membran mukus dari saluran cerna bagian atas. Alginat memiliki sifat *reswelling* rentan terhadap pH, yang melindungi obat sensitif asam dari getah lambung (6). Pada saluran cerna, natrium alginat juga dapat mengurangi aktivitas protease dalam saluran intestinal bagian atas (7). Adanya pengaruh alginat pada saluran pencernaan perlu dibuktikan pada penelitian ini.

Selain alginat, polietilen glikol (PEG) juga dipilih sebagai polimer pembawa karena dikenal tidak toksik, non-antigenik, non-teratogenik, non-imunogenik, dan biokompatibel. Senyawa ini tersedia dalam berbagai macam berat molekul, PEG berbentuk linier, tidak bermuatan, polimer ampifilik yang larut dalam air dan banyak pelarut organik dan mempunyai sifat melarutkan. Selain itu, PEG juga dengan cepat dieliminasi dari tubuh dan telah dipakai secara luas untuk aplikasi *biomedical* (8).

PEGlasi merupakan teknologi yang telah digunakan secara luas untuk meningkatkan stabilitas kimia dan biologi (9). Efek PEGlasi juga mencakup stabilitas fisik dan suhu yang lebih baik, meningkatkan waktu sirkulasi,

mengurangi imunogenisitas dan antigenisitas, serta menurunkan toksisitas (10). Keuntungan teknologi PEG adalah meningkatkan kelarutan obat, meningkatkan stabilitas obat, mengurangi imunogenisitas, meningkatkan waktu sirkulasi, dan memperbaiki profil pelepasan (11). Oleh karena itu, dalam penelitian ini, ingin diketahui stabilitas mikrosfer kalsium alginat terhadap enzim saluran pencernaan dengan ketoprofen sebagai model obat setelah ditambahkan PEG dalam formulasinya.

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan polietilen glikol (PEG) 6000 pada stabilitas mikrosfer kalsium alginat dengan adanya enzim saluran pencernaan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. MIKROSFER

Mikrosfer dapat didefinisikan sebagai zat padat, berupa partikel sferis dengan ukuran 1 hingga 1000 μm . Terbuat dari polimer, wax, atau bahan pelindung lainnya, yang berupa polimer sintetik biodegradable dan produk alam termodifikasi seperti amilum, gom, protein, lemak, dan wax. Polimer alam mencakup albumin dan gelatin, sedangkan polimer sintetik mencakup asam polilaktat dan asam poliglikolat (12).

Ada dua tipe mikrosfer yaitu mikrokapsul, di mana senyawa terjerap secara keseluruhan dan dikelilingi dengan dinding kapsul yang jelas, dan mikromatriks, di mana senyawa yang terjerap terdispersi seluruhnya dalam matriks mikrosfer (12).

Mikrosfer yang ideal untuk sistem penghantaran obat terkontrol harus mikrosfer yang mengandung banyak partikel kecil, partikel obat terdispersi homogen (4). Mikrosfer mempunyai ukuran yang kecil dan oleh karena itu mempunyai luas permukaan hingga perbandingan volume yang besar (12).

Aplikasi mikrosfer dalam bidang farmasi mempunyai beberapa keuntungan diantaranya adalah (12) :

- a. Menutupi rasa dan bau
- b. Mengubah minyak-minyak atau cairan lainnya menjadi padatan dengan penanganan yang mudah
- c. Melindungi obat terhadap lingkungan (kelembaban, cahaya, panas, dan/atau oksidasi)
- d. Menunda penguapan
- e. Memisahkan bahan-bahan yang tidak bercampur (obat lainnya atau eksipien seperti buffer)
- f. Meningkatkan aliran serbuk
- g. Penanganan yang aman dari senyawa toksik
- h. Meningkatkan kelarutan bahan yang sukar larut dalam air, dan
- i. Memproduksi *sustained-release*, *controlled-release*, dan *target medications*

Ukuran diameter partikel yang terbentuk bergantung pada ukuran bahan inti, jenis dan konsentrasi bahan penyalut serta metode pembuatan yang digunakan. Bahan-bahan yang digunakan dalam proses mikroenkapsulasi terbagi tiga, yaitu:

1. Bahan inti

Bahan inti, didefinisikan sebagai zat aktif atau bahan yang akan disalut berupa cairan atau padatan. Komposisi bahan inti dapat bervariasi. Bahan inti cairan dapat berupa bahan terdispersi atau bahan terlarut. Bahan inti zat padat berupa zat tunggal atau campuran zat aktif, stabilisator, pengisi, dan penghambat atau peningkat pelepasan obat (13).

2. Bahan penyalut

Bahan penyalut yang digunakan untuk mikroenkapsulasi harus mampu memberikan suatu lapisan tipis yang bersatu dengan bahan inti, dapat bercampur secara kimia dan tidak dapat bereaksi dengan bahan inti, memberikan sifat penyalutan yang diinginkan seperti kekuatan, fleksibilitas, impermeabilitas, sifat-sifat optik dan stabilitas. Contoh bahan penyalut yang biasa digunakan adalah golongan polimer, resin larut air, resin tidak larut air, resin enterik, serta malam dan wax. Ketebalan penyalutan efektif bervariasi dari beberapa mikron sampai beberapa ratus mikron, tergantung pada perbandingan penyalut terhadap inti serta ukuran partikel (luas permukaan) dan bahan inti (4).

3. Pelarut

Bahan penyalut perlu dilarutkan terlebih dahulu dalam suatu pelarut sebelum dilakukan proses penyalutan, kecuali untuk metode pembekuan semprot (*spray congealing*). Pada metode pembekuan semprot digunakan bahan bukan pelarut seperti malam, asam lemak dan

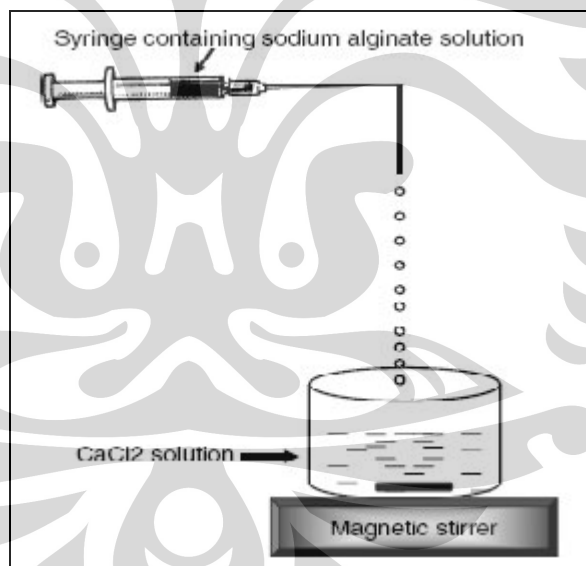
alkohol, polimer dan gula yang berupa padatan pada suhu kamar tetapi dapat meleleh pada suhu tertentu (13).

Pelarut yang digunakan pada proses mikroenkapsulasi dapat berupa pelarut tunggal ataupun campuran (13). Pelarut yang digunakan untuk melarutkan polimer dipilih berdasarkan kelarutan dan stabilitas polimer dan obat, keamanan proses, dan pertimbangan ekonomi (12). Pemilihan pelarut biasanya berdasarkan sifat kelarutan dari bahan inti dan bahan penyalut. Dalam pemilihan pelarut tersebut perlu diperhatikan kemampuan penguapan pelarut karena penguapan pelarut yang terlalu lambat mengakibatkan proses kerja yang lama dan dibutuhkan suhu lingkungan yang lebih tinggi. Jika digunakan pelarut campuran, komposisi pelarut tidak boleh berubah selama proses. Selain itu, jika kemampuan penguapannya berbeda dapat mengakibatkan pemisahan pelarut yang terlalu cepat sehingga terjadi penggumpalan penyalut. Untuk menghindari hal tersebut biasanya digunakan campuran azeotrop yaitu campuran pelarut dengan komposisi dan titik didih yang tetap sehingga selama proses penguapan komposisi tidak berubah (13). Contoh pelarut yang dapat digunakan dalam proses mikroenkapsulasi adalah metilen klorida pada pembuatan mikrosfer dengan metode semprot kering (*spray dry*) (12).

Sejumlah metode yang dapat digunakan untuk membuat mikrosfer yaitu :

a. *Iontropic gelation*

Mikrosfer yang dibuat dengan polimer yang bersifat gel, seperti alginat, dibuat dengan melarutkan polimer dalam air, mensuspensikan bahan aktif dalam campuran, dan digunakan alat untuk menghasilkan mikrodroplet. Mikrodroplet tersebut dijatuhkan ke dalam *hardening bath* yang diaduk secara lambat. *Hardening bath* biasanya mengandung larutan kalsium klorida, di mana ion kalsium divalent menyambung silang polimer membentuk mikrosfer tergelatinasi (1). Contoh obat yang dapat dibuat dengan metode ini adalah ibuprofen (24).



Gambar 1. Metode *ionotropic gelation* (17)

b. Semprot kering

Semprot kering adalah suatu langkah proses dengan sistem tertutup yang diaplikasikan untuk berbagai jenis bahan, termasuk bahan

yang sensitif terhadap panas. Obat dan polimer pelapis/penyalut bahan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau obat dapat berada sebagai suspensi dalam larutan polimer. Pilihan lainnya, dapat pula terlarut atau tersuspensi melalui sistem emulsi atau koaservasi. Ukuran mikrokapsul dikontrol dengan kecepatan penyemprotan, ukuran pipa semprot, dan suhu saat penyemprotan (12). Contoh obat yang dapat dibuat dengan metode ini adalah propranolol HCl (25).

c. Penguapan pelarut

Ini merupakan teknik yang paling awal untuk produksi mikrosfer. Polimer dan obat harus larut dalam pelarut organik, umumnya metilen klorida. Larutan yang mengandung polimer dan obat dapat terdispersi dalam fase air untuk membentuk droplet. Pencampuran yang terus-menerus dan suhu tinggi mungkin digunakan untuk menguapkan pelarut organik lebih banyak dan meninggalkan partikel polimer-obat yang berbentuk padatan yang tersuspensi dalam medium yang encer. Partikel akhirnya disaring dari suspensi (12). Contoh obat yang dibuat dengan menggunakan metode ini adalah natrium diklofenak (26).

d. Pengendapan

Merupakan variasi dari metode penguapan. Emulsi yang terdiri dari droplet yang polar terdispersi dalam medium nonpolar. Pelarut dapat dikeluarkan dari droplet dengan menggunakan kosolven. Akibat dari peningkatan konsentrasi obat-polimer menyebabkan pengendapan

membentuk suspensi (12). Contoh obat yang dapat dibuat dengan menggunakan metode ini adalah ciprofloxacin (27).

e. Beku-kering (*Freeze drying*)

Teknik ini mencakup pembekuan emulsi. Titik beku relatif dari fase kontinu dan fase terdispersi sangat penting. Pelarut dalam fase kontinu biasanya pelarut organik dan dikeluarkan dengan sublimasi pada suhu dan tekanan rendah. Terakhir, pelarut fase terdispersi dari droplet dikeluarkan dengan sublimasi, meninggalkan partikel polimer-obat (12). Contoh obat yang dapat dibuat dengan menggunakan metode ini adalah heparin (28).

f. Sambung Silang secara Kimia dan Panas

Mikrosfer yang terbuat dari polimer alam dibuat dengan proses sambung silang. Polimer-polimer tersebut mencakup gelatin, albumin, amilum, dan dekstran. Emulsi air-minyak dibuat, dimana fase air merupakan larutan polimer yang mengandung obat yang dimasukkan. Fase minyak adalah minyak tumbuhan yang tepat atau campuran pelarut organik-minyak yang mengandung *emulsifier* larut minyak. Jika diinginkan pembentukan emulsi a/m, polimer larut air mengeras dengan beberapa jenis proses sambung silang. Ini mungkin membutuhkan panas atau penambahan agen sambung silang kimia seperti glutaraldehid untuk membentuk sambung silang kimia yang stabil seperti dalam albumin. Jika digunakan glutaraldehid sebagai agen sambung silang, sejumlah residu dapat mengakibatkan efek toksik (12). Contoh obat yang dibuat dengan

metode sambung silang secara kimia adalah natrium diklofenak (29) dan obat yang dibuat dengan metode sambung silang secara panas adalah doxorubicin (12).

B. MEKANISME PELEPASAN OBAT

Kecepatan pelepasan obat dari mikrosfer ditentukan dengan aksi terapeutiknya. Selain itu, pelepasan obat ditentukan dengan struktur molekular obat dan polimer, resistensi polimer untuk terdegradasi, dan luas permukaan dan sifat menyerap mikrosfer. Struktur internal dari mikrosfer mungkin bermacam-macam sesuai fungsi proses mikroenkapsulasi yang digunakan. Mikrokapsul reservoir mempunyai inti obat yang disalut/dilapisi dengan polimer. Obat yang terdistribusi homogen seluruhnya dalam matriks polimer merupakan mikrosfer monolitik (12).

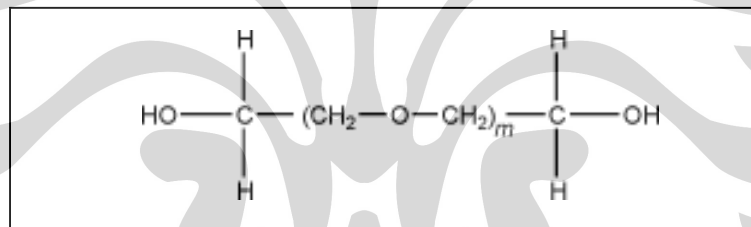
Mekanisme pelepasan obat pada pelepasan terkontrol dari mikrosfer mencakup difusi obat melalui eksipien polimer, difusi obat terperap dan erosi polimer, dan pelepasan obat melalui pori dalam eksipien polimer (12).

Apabila obat dilepaskan dengan difusi melalui eksipien polimer tanpa erosi yang bermakna, pelepasan bergantung pada luas permukaan mikrosfer dan perjalanan obat dalam transit ke lingkungan sekitar. Sehingga, peningkatan luas permukaan dengan mengurangi ukuran partikel sebagai contoh, menghasilkan peningkatan kecepatan pelepasan. Sifat fisikokimia obat dan eksipien seperti permeabilitas, ciri-ciri polimer, derajat kristalisasi,

pemasukan *plasticizer* dan pengisi, dan ketebalan polimer mempengaruhi kecepatan pelepasan obat (12).

C. POLIETILEN GLIKOL (PEG)

Polietilen glikol (PEG) digunakan secara luas dalam berbagai macam formulasi farmasetika termasuk sediaan parenteral, topikal, optalmik, oral, dan rektal. Selain itu, juga dapat digunakan sebagai matriks polimer biodegradable yang digunakan dalam sistem pelepasan terkendali. Polietilen glikol merupakan senyawa yang stabil dan bersifat hidrofilik yang pada dasarnya bersifat nontoksik dan noniritan (16).



Gambar 2. Struktur molekul polietilen glikol (16)

Rumus molekulnya adalah $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$ di mana m menggambarkan rata-rata jumlah gugus oksietilen. Polietilen glikol dibentuk dengan kondensasi polimer dengan mereaksikan etilen oksida dan air di bawah tekanan dengan adanya katalis (16).

Pada formulasi sediaan solid, polietilen glikol dengan berat molekul lebih besar dapat meningkatkan efektivitasnya sebagai pengikat pada tablet dan memberikan plastisitas pada granul-granul. Akan tetapi, mereka hanya

mempunyai aksi pengikatan yang terbatas saat digunakan sendiri, dan dapat memperpanjang disintegrasi jika berada dalam konsentrasi lebih dari 5% b/b. Polietilen glikol dapat juga digunakan untuk meningkatkan kelarutan cairan atau karakteristik disolusi dari senyawa yang kurang larut dengan membuat dispersi padat dengan polietilen glikol yang tepat (16).

Dalam salut lapis tipis, polietilen glikol padat dapat digunakan sendiri untuk lapis tipis tablet atau dapat berguna sebagai bahan pengkilap hidrofilik. Bentuk padat juga secara luas digunakan sebagai *plasticizer*. Adanya polietilen glikol dalam salut lapis tipis, khususnya dari bentuk cair, cenderung untuk meningkatkan permeabilitasnya terhadap air dan mungkin mengurangi perlindungan melawan pH rendah dalam lapisan salut enterik. Polietilen glikol berguna sebagai *plasticizer* dalam produk mikroenkapsulasi untuk mencegah pecahnya lapisan salut saat mikrokapsul dicetak menjadi tablet (16).

PEG tipe 2000, 4000, dan 6000 dapat digunakan untuk penyalutan. Penyalutan dengan PEG terutama menggunakan PEG 4000 dan 6000 diaplikasikan dalam larutan alkohol pada 50°C. Penyalutan dengan PEG termasuk metode penyalutan lapis tipis dengan peleburan panas. PEG dapat juga digunakan dalam kombinasi dengan pembentuk lapis tipis, sepanjang mereka tercampur (14).

PEG 200–600 merupakan cairan jernih, tidak berwarna atau sedikit berwarna kuning, dan kental. Senyawa ini mempunyai sedikit karakteristik bau dan pahit, sedikit rasa membakar. PEG>1000 berwarna putih atau

hampir putih, dan memiliki konsistensi dari bentuk pasta hingga serpihan lilin (16).

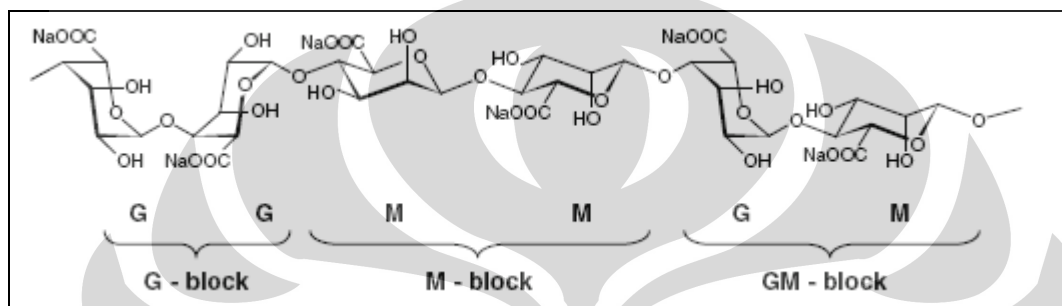
Polietilen glikol secara kimia stabil dalam udara dan dalam larutan. Polietilen glikol sangat higroskopis, walaupun higroskopis menurun dengan peningkatan berat molekul. Bentuk padat, PEG 4000 dan di atasnya tidak bersifat higroskopis. PEG 200 mempunyai higroskopisitas 70% dari gliserol tetapi akan menurun dengan peningkatan berat molekul. PEG 1540 mempunyai higroskopisitas 30% dibandingkan gliserol. Senyawa ini digunakan sebagai pelarut untuk obat seperti hidrokortison. PEG tidak bercampur dengan fenol dan dapat mengurangi aktivitas antimikroba dari pengawet lainnya (15).

Semua polietilen glikol larut dalam air dan bercampur dengan polietilen glikol lainnya (setelah peleburan, jika perlu). Larutan dari polietilen glikol yang memiliki berat molekul besar mungkin membentuk gel. Polietilen glikol cair larut dalam aseton, alkohol, benzen, gliserin, dan glikol-glikol. Polietilen glikol padat larut dalam aseton, diklormetan, etanol (95%), dan metanol; mereka sedikit larut dalam hidrokarbon alifatik dan eter, tetapi tidak larut dalam lemak (16).

Reaktivitas kimia dari polietilen glikol umumnya terbatas dengan dua terminal gugus hidroksil, yaitu dapat diesterifikasi atau dieterifikasi. Akan tetapi, semua jenis polietilen glikol dapat menunjukkan aktivitas oksidasi dengan adanya ketidakmurnian peroksida dan produk sekunder dapat

dibentuk dengan autoksidasi. Polietilen glikol cair dan padat mungkin tidak tercampur dengan beberapa zat pewarna (16).

D. NATRIUM ALGINAT (7)



Gambar 3. Struktur molekul alginat (17)

Natrium alginat digunakan pada berbagai sediaan farmasi untuk oral dan topikal. Penggunaan natrium alginat adalah sebagai pengikat dan disintegran dalam formulasi tablet serta sebagai pengisi dalam formulasi kapsul. Natrium alginat juga digunakan dalam formulasi *sustained-release* sediaan tablet, kapsul, dan suspensi karena dapat menunda disolusi obat (16).

Natrium alginat dibuat dengan reaksi penetralan asam alginat dengan natrium bikarbonat. Asam alginat diekstraksi dari ganggang coklat. Natrium alginat terdiri dari garam natrium dari asam alginat. Asam alginat merupakan campuran asam-asam poliuronat yang tersusun dari residu D-asam manuronat dan L-asam guluronat (16).

Natrium alginat telah digunakan dalam proses mikroenkapsulasi dan untuk pembentukan nanopartikel. Sistem hidrogel yang mengandung alginat juga telah digunakan untuk penghantaran protein dan peptida (16).

Natrium alginat merupakan serbuk yang tidak berbau, tidak berasa, dan berwarna putih hingga coklat kekuningan. Larutan natrium alginat 1% memiliki pH 7,2 dan pada suhu 20°C mempunyai viskositas 20–400 mPa s (20–400 cP). Viskositas dapat bervariasi bergantung pada konsentrasi, pH, suhu, atau adanya ion logam. Di atas pH 10, viskositas alginat akan menurun (16).

Untuk kelarutannya, natrium alginat praktis tidak larut dalam etanol (95%), eter, kloroform, campuran etanol/air di mana kandungan etanol lebih dari 30%, dan larutan asam encer yang memiliki pH kurang dari 3. Lambat larut dalam air, membentuk larutan koloidal yang kental (16).

Natrium alginat bersifat higroskopis dan stabil dalam penyimpanan pada kelembaban dan suhu rendah. Larutan natrium alginat paling stabil pada pH 4–10. Pada pH di bawah 3, alginat akan mengendap. Setelah penyimpanan selama 2 tahun dan terpapar pada suhu yang berbeda-beda, larutan natrium alginat 1% akan mempunyai viskositas 60-80% dari viskositas sebelumnya. Larutan alginat tidak boleh disimpan dalam wadah logam (16).

Natrium alginat tidak bercampur dengan derivat akridin, kristal violet, fenil merkuri asetat dan nitrat, garam-garam kalsium, logam berat, dan etanol dengan konsentrasi lebih dari 5%. Konsentrasi rendah dari elektrolit

menyebabkan peningkatan viskositas tetapi elektrolit dalam konsentrasi tinggi menyebabkan *salting-out* dari natrium alginat; *salting out* terjadi bila terdapat lebih dari 4% natrium klorida (16).

E. SISTEM PENCERNAAN DAN ENZIM PENCERNAAN

Fungsi utama sistem pencernaan adalah untuk memindahkan zat gizi atau nutrient, air, dan elektrolit dari makanan yang kita makan ke dalam lingkungan internal tubuh. Sistem tersebut tidak mengubah-ubah penyerapan nutrient, air, atau elektrolit berdasarkan kebutuhan tubuh, tetapi lebih berperan mengoptimalkan keadaan untuk mencerna dan menyerap apa yang dimakan (masuk). Sistem pencernaan melaksanakan empat proses pencernaan dasar yaitu motilitas, sekresi, pencernaan, dan penyerapan (19).

Pada sistem pencernaan terdiri dari saluran pencernaan ditambah organ-organ pencernaan tambahan. Organ-organ pencernaan tambahan adalah kelenjar liur, pankreas eksokrin, dan sistem empedu, yang terdiri dari hati dan kandung empedu. Saluran pencernaan mencakup organ-organ berikut yaitu mulut, faring (tenggorokan), esofagus, lambung, usus halus (terdiri dari duodenum, jejunum, dan ileum), usus besar (terdiri dari sekum, apendiks, kolon, dan rektum), dan anus (19). Selain itu, pada sistem pencernaan terdapat enzim-enzim pencernaan. Enzim merupakan katalisator protein yang mengatur kecepatan berlangsungnya berbagai proses fisiologik (20). Enzim dapat mempercepat reaksi dengan pembentukan kompleks

enzim-substrat. Enzim dari saluran pencernaan berfungsi dalam mencerna protein, polisakarida, trigliserida, dan asam nukleat agar menjadi metabolit yang lebih mudah diabsorpsi (18).

Mulut merupakan pintu masuk saluran pencernaan, mensekresikan saliva terdiri dari 99,5% H₂O serta 0,5% protein dan elektrolit. Protein air liur terpenting yaitu amilase, mukus, dan lisozim. Pencernaan di mulut melibatkan hidrolisis polisakarida menjadi disakarida oleh amilase. Namun, sebagian besar pencernaan yang dilakukan oleh enzim ini berlangsung di korpus lambung setelah massa makanan dan air liur telah tertelan. Asam menyebabkan amilase tidak aktif, tetapi di bagian tengah massa yang belum dicapai oleh asam lambung, enzim ini terus berfungsi selama beberapa jam lagi (19).

Lambung adalah ruang berbentuk kantung mirip huruf J yang terletak di antara esofagus dan usus halus. Lambung melakukan beberapa fungsi. Fungsi terpenting adalah menyimpan makanan yang masuk sampai disalurkan ke usus halus dengan kecepatan yang sesuai untuk pencernaan dan penyerapan yang optimal. Fungsi kedua dari lambung adalah untuk mensekresikan asam hidroklorida (HCl), yang mengaktifkan pepsinogen, menyebabkan denaturasi protein, dan mematikan bakteri; serta pepsinogen, yang jika diaktifkan memulai pencernaan protein (19).

Dalam lambung terdapat enzim pepsin, lipase lambung, gelatinase, dan amilase lambung sebagai enzim hidrolitik. Pada lambung, enzim hidrolisis yang utama adalah pepsin. Enzim pepsin dihasilkan oleh kelenjar

lambung berupa pepsinogen. Selanjutnya pepsinogen bereaksi dengan asam lambung menjadi pepsin. Cara kerja enzim pepsin adalah mengubah protein menjadi pepton (30). Pepsin memecah protein dekat asam amino aromatis. Salah satu peran penting pepsin adalah dalam mencerna kolagen. Diperkirakan pepsin berperan antara 10-30% mencerna protein dalam saluran pencernaan. Aktivitas optimal pepsin terjadi antara pH 1,6 – 2,3 (18).

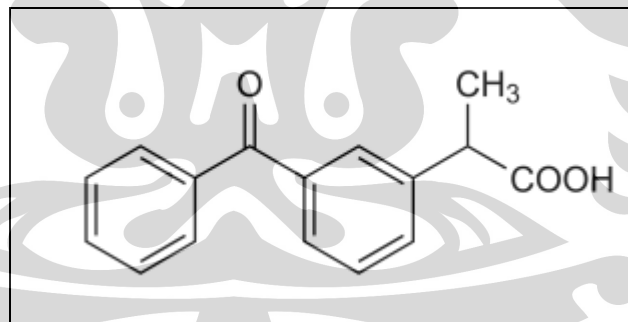
Baik sekresi pankreas eksokrin maupun empedu dari hati masuk ke lumen duodenum. Enzim-enzim pankreas secara aktif disekresikan oleh sel asinus. Ketiga jenis enzim pankreas tersebut adalah enzim-enzim proteolitik yang berperan dalam pencernaan protein, amilase pankreas yang berperan dalam pencernaan karbohidrat dengan cara serupa dengan amilase liur, dan lipase pankreas yaitu satu-satunya enzim yang penting dalam pencernaan lemak. Enzim proteolitik pankreas adalah tripsinogen, kimotripsinogen, dan prokarboksipeptidase, yang masing-masing disekresikan dalam bentuk inaktif. Setelah disekresikan ke dalam lumen duodenum, tripsinogen diaktifkan menjadi bentuk aktifnya yaitu tripsin oleh enterokinase, suatu enzim di batas luminal sel-sel yang melapisi mukosa duodenum. Kimotripsinogen dan prokarboksipeptidase, enzim proteolitik pankreas lainnya, diubah oleh tripsin masing-masing menjadi bentuk-bentuk aktif mereka, kimotripsin dan karboksipeptidase, di dalam lumen duodenum (19).

Enzim tripsin dihasilkan oleh kelenjar pankreas dan dialirkan ke dalam usus dua belas jari. Cara kerja enzim tripsin adalah mengubah pepton menjadi asam amino. Asam amino memiliki molekul yang lebih sederhana

jika dibanding molekul pepton. Molekul asam amino ini yang diangkut darah dan dibawa ke seluruh sel yang membutuhkan (30).

Usus halus adalah tempat utama pencernaan dan penyerapan. Getah yang dikeluarkan oleh usus halus tidak mengandung enzim pencernaan apapun. Enzim-enzim yang disintesis oleh usus halus bekerja secara intrasel di dalam membran *brush border* sel epitel. Enzim-enzim ini menyelesaikan pencernaan karbohidrat dan protein sebelum kedua jenis zat gizi tersebut masuk ke dalam darah. Di dalam usus besar tidak terjadi sekresi enzim pencernaan atau penyerapan zat gizi, pencernaan dan penyerapan semua zat gizi sudah selesai di usus halus (19).

F. KETOPROFEN



Gambar 4. Struktur molekul ketoprofen

Ketoprofen merupakan salah satu obat inflamasi non steroid golongan asam karboksilat derivat asam propionat yang banyak digunakan dalam pengobatan *arthritis rheumatoid*, *osteoarthritis*, pirai dan keadaan nyeri lainnya. Bahan obat ini mempunyai kelarutan yang rendah dalam air, larut

dalam aseton, etil asetat, etanol, kloroform dan eter. Senyawa ini memiliki efek samping terutama menyebabkan gangguan saluran cerna dan reaksi hipersensitivitas (21). Oleh karena itu, tujuan pembuatan mikrosfer ketoprofen adalah untuk menghasilkan sediaan ketoprofen dengan pelepasan zat aktif yang diperlambat, yang dapat memperpanjang kerja obat sekaligus menurunkan efek samping pada saluran cerna.



BAB III

BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

A. BAHAN

Bahan kimia yang digunakan adalah natrium alginat (Duchefa Biochemie, Belanda), polietilen glikol 6000 (Clariant, Jerman), ketoprofen (Chemo Lugano Branch, Swiss), kalsium klorida (China), kalium klorida (Merck, Jerman), asam klorida (Merck, Jerman), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Malincort), enzim pepsin (Sigma, Amerika Serikat), enzim tripsin (Fluka, Swiss), dan aquadest.

B. ALAT

Peralatan yang digunakan ialah spektrofotometer UV-Vis (Jasco, Jepang), scanning electron microscopy (LEO Electron Microscopy), timbangan analitik AFA-210 LC (Adam, Amerika Serikat), homogenizer (Multimix, Malaysia), ayakan (Retsch test sieve, Jerman), pHmeter (Eutech, Singapura), stirrer magnetic C-Mag HS 7 (IKA), alat disolusi (Electrolab, India), syringe, oven, ultrasonic Branson 3200, *moisture balance* (Adam AMB 50, Amerika Serikat), dan alat-alat gelas.

C. CARA KERJA

1. Pembuatan mikrosfer ketoprofen dengan penyalut natrium alginat dan penambahan polietilen glikol 6000

Mikrosfer dibuat dengan teknik *ionotropic gelation*. Larutan 3% b/v natrium alginat dibuat dengan melarutkan polimer dalam air. Pada larutan tersebut, sejumlah ketoprofen yang telah ditimbang seksama ditambahkan ke larutan alginat untuk menghasilkan dispersi yang homogen. Selain itu, polietilen glikol 6000 juga ditambahkan dan dilarutkan dalam dispersi tersebut. Dispersi tersebut lalu disonikasi selama 30 menit untuk menghilangkan gelembung udara yang mungkin terbentuk selama proses pengadukan. Dispersi natrium alginat-obat dan polietilen glikol (25 mL) ditambahkan tetes demi tetes via jarum suntik 26 gauge ke dalam 50 ml dari 5% b/v kalsium klorida, yang diaduk pada 200 rpm. Tetesan dari dispersi dengan segera membentuk gel menjadi matriks ketoprofen-alginat. Pembentukan mikrosfer alginat selanjutnya diikuti dengan pengadukan dalam larutan kalsium klorida selama 15 menit. Terakhir, larutan kalsium klorida didekantasi dan mikrosfer dicuci dengan 3 x dengan volume 50 ml air. Mikrosfer lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 9 jam.

Tabel 1. Formulasi mikrosfer

Zat	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Natrium alginat (% b/v)	3	3	3
Ketoprofen (%b/v)	1	1	1
PEG 6000 (% b/v)	-	2,5	5
Kalsium klorida (%b/v)	5	5	5

2. Evaluasi Mikrosfer

a. Pemeriksaan bentuk dan morfologi mikrosfer

Scanning Electron Microscopy digunakan untuk evaluasi tekstur permukaan, bentuk dan ukuran mikrosfer. Sampel mikrosfer ditempatkan pada *sample holder* kemudian disalut dengan partikel emas menggunakan *fine coater* membentuk lapisan tipis. Sampel kemudian diperiksa dengan *Scanning Electron Microscopy* (22).

b. Distribusi ukuran partikel

Penetapan distribusi ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan metode ayakan. Mikrosfer alginat akan terbagi dalam ukuran fraksi yang berbeda dengan pengayakan selama 5 menit dengan menggunakan ayakan

standar yang mempunyai ukuran lubang 1,18 mm, 0,710 mm, 0,5 mm, 0,355 mm, dan 0,25 mm (ayakan no. 16, 25, 35, 45, dan 60 secara berturut-turut).

c. Uji Perolehan Kembali Proses

Uji perolehan kembali proses dilakukan dengan cara membandingkan bobot total mikrosfer yang diperoleh terhadap bobot bahan pembentuk mikrosfer. Dihitung dengan rumus :

$$W_p = \frac{W_m}{W_t} \times 100\%$$

Keterangan: W_p = faktor perolehan kembali proses (%)

W_m = bobot mikrosfer yang diperoleh (g)

W_t = bobot bahan pembentuk mikrosfer (g)

d. Penetapan kadar air

Mikrosfer diukur kadar airnya menggunakan alat pengukur kadar lembab (*moisture balance*).

e. Penentuan jumlah obat yang terjerap dalam mikrosfer

1) Penentuan panjang gelombang maksimum ketoprofen

Uji ini dilakukan untuk menentukan serapan maksimum ketoprofen dalam 0,1 N NaOH. Dibuat larutan ketoprofen dengan konsentrasi 10 ppm, kemudian diukur serapan maksimumnya. Panjang gelombang maksimum

yang diperoleh akan digunakan untuk pengukuran serapan ketoprofen selanjutnya.

2) Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat larutan ketoprofen dalam 0,1 N NaOH dengan konsentrasi 3, 4, 5, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Kemudian larutan tersebut segera diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan sebelumnya. Selanjutnya dibuat persamaan regresi liniernya.

3) Penentuan persentase ketoprofen yang terjerap dalam mikrosfer

Sejumlah mikrosfer kalsium alginat-ketoprofen digerus kemudian dilarutkan dalam 0,1 N NaOH dengan bantuan ultrasonik. Kemudian larutan tersebut diukur serapannya dengan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan sebelumnya. Serapan yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung kadar ketoprofen yang dalam mikrosfer menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi.

$$\begin{aligned} &\text{Penjerapan ketoprofen dalam mikrosfer (\%)} \\ &= \frac{\text{Jumlah ketoprofen dalam mikrosfer}}{\text{Jumlah mikrosfer yang ditimbang}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\text{Efisiensi penyerapan (\%)} = \frac{\text{Jumlah obat terjerap dalam mikrosfer}}{\text{Jumlah obat teoritis dalam mikrosfer}} \times 100\%$$

f. Uji pelepasan obat in vitro

1) Pembuatan medium pH 1,4

Sebanyak 50,0 ml KCl 0,2 M dimasukkan ke dalam labu ukur 200,0 ml lalu ditambah 53,2 ml HCl 0,2 N dan diencerkan dengan dengan aquadest bebas CO₂ hingga batas, diaduk dan diatur hingga pH 1,4 (23).

2) Pembuatan medium pH 1,4 dengan pepsin

Sebanyak 130,8 mg pepsin (367 unit mg⁻¹) dilarutkan dalam 1 liter medium pH 1,4 (2).

3) Pembuatan medium pH 7,4

Sebanyak 50,0 ml KH₂PO₄ 0,2 M dimasukkan ke dalam labu ukur 200,0 ml lalu ditambah 39,1 ml NaOH 0,2 N dan diencerkan dengan dengan aquadest bebas CO₂ hingga batas, diaduk dan diatur hingga pH 7,4 (23).

4) Pembuatan medium pH 7,4 dengan tripsin

Sebanyak 78,8 mg tripsin (13206 unit mg⁻¹) dilarutkan dalam 1 liter medium pH 7,4 (2).

5) Cara Kerja

a) Penentuan panjang gelombang maksimum ketoprofen

Penentuan panjang gelombang maksimum ketoprofen dilakukan pada medium pH 1,4 dan pH 7,4 masing-masing dengan atau tanpa enzim. Larutan ketoprofen dibuat dengan konsentrasi 10 µg/ml dalam medium tersebut, dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada gelombang 200-400 nm.

b) Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat dalam medium pH 1,4 dan pH 7,4 masing-masing dengan atau tanpa enzim dalam berbagai konsentrasi yaitu 3, 4, 5, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Kemudian larutan tersebut diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

c) Uji pelepasan obat

Pada uji ini ditentukan profil disolusi dari ketoprofen dengan menggunakan alat disolusi tipe II (dayung) dalam medium pH 1,4 dan pH 7,4 masing-masing dengan atau tanpa enzim; volume medium 900 ml pada suhu $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, dengan kecepatan putaran 100 rpm selama 8 jam. Pengambilan sampel sebanyak 10 ml dilakukan pada 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; dan 8 jam. Sampel dianalisa menggunakan spektrofotometer uv

pada panjang gelombang maksimum ketoprofen yang diperoleh dalam medium pH 1,4 dan pH 7,4 masing-masing dengan atau tanpa enzim.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Pembuatan mikrosfer ketoprofen dengan penyalut natrium alginat dan penambahan polietilen glikol 6000

Mikrosfer yang dihasilkan melalui metode *ionotropic gelation* dari formula 1 berupa partikel bulat berwarna kuning muda, formula 2 berupa partikel bulat berwarna kuning muda dengan ukuran yang lebih besar dari formula 1, dan formula 3 berupa partikel bulat berwarna kuning muda dan memiliki ukuran yang lebih besar jika dibandingkan dengan formula 1 dan formula 2 (Gambar 6).

2. Evaluasi mikrosfer

a. Pemeriksaan bentuk dan morfologi mikrosfer

Pengamatan mikrosfer menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) menunjukkan bahwa ketiga formula mikrosfer memiliki permukaan partikel yang berbeda. Pada mikrosfer formula 1, didapatkan bentuk partikel bulat kasar dengan ukuran yang lebih kecil. Pada mikrosfer formula 2, didapatkan bentuk partikel bulat yang lebih halus dibandingkan formula 1. Pada mikrosfer formula 3, didapatkan bentuk partikel bulat halus (Gambar 7).

b. Distribusi ukuran partikel

Distribusi ukuran partikel untuk formula 1, 2, dan 3 yaitu dengan menggunakan metode ayakan. Sebagian besar formula 1, 2, dan 3 berada dalam rentang ukuran partikel 710-1180 μm . Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 8.

c. Uji Perolehan Kembali Proses

Berdasarkan perhitungan dari hasil penimbangan sesudah proses dibandingkan sebelum proses, diperoleh faktor perolehan kembali proses dalam formula 1 adalah 45,00%, formula 2 adalah 35,84%, dan formula 3 adalah 35,33% (Tabel 3).

d. Penetapan kadar air

Kadar air yang diperoleh pada formula 1 adalah $3,52 \pm 0,31\%$, formula 2 adalah $3,38 \pm 0,37\%$, dan formula 3 adalah $3,45 \pm 0,17\%$ (Tabel 4).

e. Penentuan jumlah obat yang terjerap dalam mikrosfer**1. Penentuan panjang gelombang maksimum ketoprofen**

Dari penetapan panjang gelombang maksimum ketoprofen dalam NaOH 0,1 N, diketahui panjang gelombang maksimumnya adalah 260 nm.

2. Pembuatan kurva kalibrasi

Dari kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran ketoprofen pada panjang gelombang maksimum, diperoleh persamaan regresi linear

yaitu $y = 5,6212 \cdot 10^{-3} + 6,3379 \cdot 10^{-2} x$ dengan $r = 0,9999$ (Tabel 5 dan Gambar 9).

3. Penentuan persentase ketoprofen yang terjerap dalam mikrosfer

Berdasarkan perhitungan dari persamaan kurva kalibrasi, didapatkan kandungan obat yang terdapat dalam mikrosfer formula 1 sebesar $15,95 \pm 1,04 \%$, formula 2 sebesar $13,19 \pm 0,35 \%$, formula 3 sebesar $10,40 \pm 0,20\%$ (Tabel 6).

Dari hasil kandungan obat yang terdapat dalam mikrosfer, didapatkan persentase penyerapan ketoprofen dalam mikrosfer formula 1 sebesar $63,81 \pm 4,15 \%$, formula 2 sebesar $85,72 \pm 2,25 \%$, dan formula 3 sebesar $93,58 \pm 1,84 \%$ (Tabel 6).

f. Uji pelepasan obat in vitro

1. Penentuan panjang gelombang maksimum dan kurva kalibrasi ketoprofen dalam medium pH 1,4 dan pH 7,4 dengan atau tanpa enzim

Pada penetapan panjang gelombang maksimum ketoprofen dalam medium pH 1,4 dengan atau tanpa enzim diketahui panjang gelombang maksimumnya adalah 258 nm. Sedangkan, dari penetapan panjang gelombang maksimum ketoprofen dalam medium pH 7,4 dengan atau tanpa enzim diketahui panjang gelombang maksimumnya adalah 260 nm. Pada medium pH 1,4 tanpa enzim, dari kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran ketoprofen pada panjang gelombang maksimum, diperoleh

persamaan regresi linear $y = -5,2436 \cdot 10^{-3} + 6,479 \cdot 10^{-3} x$ dengan $r = 0,9999$ (Tabel 7 dan Gambar 10).

Pada medium pH 1,4 dengan enzim pepsin, persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 5,3230 \cdot 10^{-2} + 6,4460 \cdot 10^{-2} x$ dengan $r = 0,9999$ (Tabel 8 dan Gambar 11).

Sedangkan untuk medium pH 7,4 tanpa enzim, dari kurva kalibrasi yang diperoleh dari penetapan ketoprofen pada panjang gelombang maksimum, diperoleh persamaan regresi $y = -1,0718 \cdot 10^{-3} + 6,2508 \cdot 10^{-2} x$ dengan $r = 0,9999$ (Tabel 9 dan Gambar 12).

Pada medium pH 7,4 dengan enzim tripsin, persamaan linear yang diperoleh adalah $y = 4,9238 \cdot 10^{-4} + 6,3344 \cdot 10^{-2} x$ dengan $r = 0,9995$ (Tabel 10 dan Gambar 13).

2. Uji pelepasan obat

Jumlah ketoprofen dalam formula 1, 2 dan 3 yang terlepas hingga 8 jam berturut-turut dalam medium pH 1,4 tanpa enzim adalah $41,27 \pm 0,22\%$, $51,44 \pm 1,21\%$, dan $65,97 \pm 1,94\%$ (Tabel 11 dan Gambar 14). Sedangkan, untuk medium pH 1,4 dengan enzim pepsin, jumlah ketoprofen yang terlepas hingga 8 jam yaitu untuk formula 1 adalah $32,38 \pm 2,98\%$, untuk formula 2 adalah $42,73 \pm 2,44\%$, dan untuk formula 3 adalah $47,56 \pm 3,19\%$ (Tabel 12 dan Gambar 15).

Pada medium pH 7,4 tanpa enzim, jumlah obat yang terlepas dalam 8 jam untuk formula 1,2 dan 3 berturut-turut adalah $99,91 \pm 0,09\%$, $99,95 \pm 0,08\%$, dan $100 \pm 0,06\%$ (Tabel 13 dan Gambar 16). Sedangkan,

untuk medium pH 7,4 dengan enzim tripsin, jumlah ketoprofen yang terlepas hingga 8 jam yaitu untuk formula 1 sebesar $90,71 \pm 0,31\%$, untuk formula 2 sebesar $88,91 \pm 3,01\%$, dan untuk formula 3 sebesar $89,59 \pm 0,22\%$ (Tabel 14 dan Gambar 17).

B. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan dengan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM), morfologi setiap formula mikrosfer berbeda-beda. Semakin besar perbandingan jumlah alginat dan polietilen glikol 6000 dengan ketoprofen, maka partikel mikrosfer yang terlihat semakin halus dan semakin besar ukurannya. Hal ini dipengaruhi oleh perbandingan jumlah penyalut dengan zat aktifnya. Semakin banyak jumlah penyalut dibanding zat aktifnya, maka semakin banyak pula zat aktif yang dapat tersalut di dalamnya sehingga akan terbentuk mikrosfer yang semakin sempurna.

Hasil pemeriksaan distribusi ukuran partikel menggunakan metode ayakan diperoleh rentang ukuran partikel yang cukup homogen antara 365 -1180 μm . Sebagian besar formula 1, 2 dan 3 berada dalam rentang 711 – 1180 μm . Akan tetapi, dari metode ayakan ini, terlihat ukuran partikel dari formula 2 lebih besar dari formula 1, dan formula 3 memiliki ukuran partikel terbesar dibandingkan ketiga formula tersebut. Hal ini terjadi karena semakin banyak jumlah polietilen glikol 6000 yang digunakan

maka larutan akan menjadi lebih kental sehingga ukuran tetesan larutan polimer yang ditambahkan ke dalam *crosslinking agent* menjadi lebih besar. Oleh karena itu, formula 3 memiliki ukuran partikel yang lebih besar.

Setelah mikrosfer ketoprofen terbentuk, faktor perolehan kembali dari setiap formula dihitung. Dari perhitungan faktor perolehan kembali proses ini, persentase uji perolehan kembali proses pada formula 1 lebih besar dari formula 2 dan 3. Dalam prosesnya, kehilangan mikrosfer terjadi karena sebagian mikrosfer banyak yang terbang pada saat dekantasi, pencucian, ataupun kesulitan penetesan serta sebagian lagi terbang pada tahap pengeringan. Semakin kecilnya faktor perolehan kembali proses pada formula 1 sampai formula 3 menunjukkan penyalutan zat aktif yang semakin tidak sempurna, sehingga semakin sedikit zat aktif yang tersalut. Hasil yang paling baik adalah formula 1. Jika dilihat dari hasil uji perolehan kembali proses, metode pembuatan mikrosfer dengan metode *ionotropic gelation* ini kurang baik karena persentase perolehan kembali proses berada dibawah 50%.

Pada penentuan kadar air dari ketiga formula diperoleh hasil yang tidak jauh berbeda. Hal ini disebabkan karena suhu dan waktu pengeringan pada ketiga formula adalah sama sehingga formula 1, 2 ataupun 3 memiliki kadar air yang tidak jauh berbeda.

Penetapan kandungan obat dalam mikrosfer dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dimana ditetapkan berdasarkan serapan yang diperoleh dari pengukuran sampel pada panjang gelombang maksimum ketoprofen dalam NaOH 0,1 N. Cara ini dilakukan karena

penetapan kadar ketoprofen menggunakan spektrofotometer memiliki keuntungan yaitu lebih praktis dan lebih murah dibandingkan menggunakan cara lain seperti Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT) ataupun Kromatografi Gas (KG).

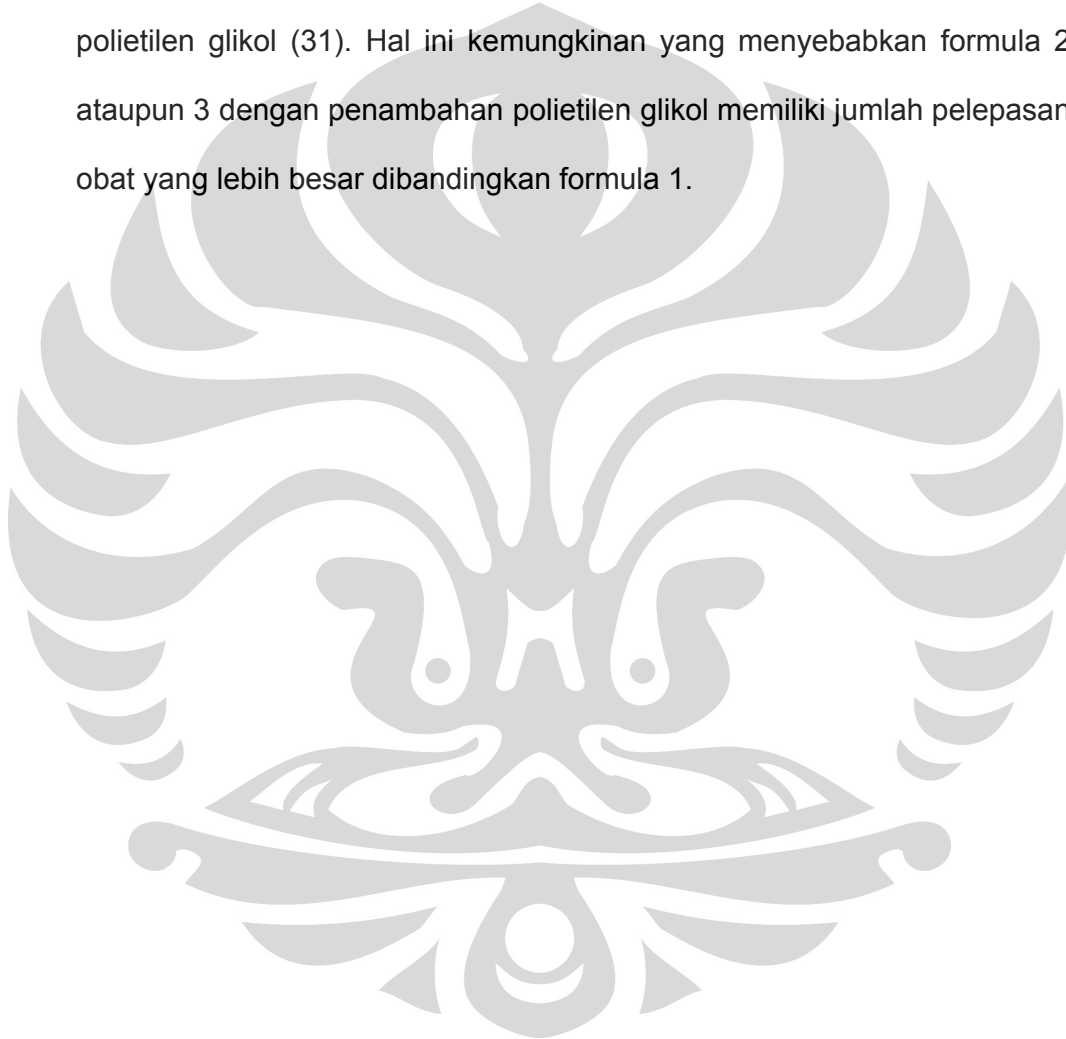
Hasil penetapan kandungan obat dalam mikrosfer pada ketiga formula menunjukkan persentase formula 2 lebih besar dari formula 3 dan persentase formula 1 paling tinggi dibandingkan ketiga formula tersebut (Tabel 6). Hal ini menjelaskan bahwa semakin banyak jumlah alginat dan polietilen glikol 6000 menyebabkan semakin sedikit zat aktif yang dapat terkandung dalam mikrosfer.

Dari hasil penetapan kandungan obat, dapat dihitung persentase penyerapan ketoprofen dalam mikrosfer. Hasil penetapan penyerapan ketoprofen dalam mikrofer pada ketiga formula menunjukkan persentase formula 2 lebih besar dari formula 1, dan formula 3 memiliki penyerapan yang paling besar (Tabel 6). Penyerapan ketoprofen yang semakin tinggi disebabkan oleh jumlah alginat dan polietilen glikol. Semakin banyak jumlah alginat dan polietilen glikol yang ditambahkan maka akan semakin sempurna bentuk mikrosfer. Akibatnya, jumlah ketoprofen yang terjerap juga semakin banyak. Penyerapan ketoprofen tidak mencapai 100% tersebut disebabkan oleh beberapa kemungkinan yang terjadi selama proses pembuatan mikrosfer berlangsung, diantaranya adalah adanya sebagian ketoprofen yang tertinggal pada dinding wadah sebelum penetesannya ataupun dikarenakan oleh ketoprofen yang terbuang akibat kesulitan penetesannya.

Untuk pelepasan obat secara in vitro dalam berbagai medium yaitu medium pH 1,4 dengan pepsin atau tanpa enzim diperoleh hasil bahwa jumlah persentase pelepasan obat dalam 8 jam untuk formula 2 lebih besar dibandingkan formula 1 dan formula 3 memiliki jumlah persentase pelepasan obat yang paling besar. Hal ini disebabkan karena pada formula 3 jumlah penambahan polietilen glikol 6000 adalah yang paling besar. Polietilen glikol memiliki fungsi untuk meningkatkan kestabilan atau kelarutan zat aktif. Akan tetapi, dalam formulasi ini sifat polietilen glikol sebagai peningkat kestabilan tidak terlihat. Efek yang terlihat adalah adanya polietilen glikol 6000 akan meningkatkan kelarutan zat aktif yaitu ketoprofen sehingga jumlah obat yang terlepas akan menjadi lebih besar. Hal ini mungkin disebabkan terjadinya sistem dispersi padat dalam formulasi ini sehingga kelarutan ketoprofen bertambah dan laju disolusi menjadi lebih cepat. Akan tetapi, dalam medium pH 7,4 dengan tripsin atau tanpa tripsin, pelepasan obat setelah jam ke-8 tidak ada perbedaan yang bermakna. Hal ini dibuktikan dengan uji Anova dengan menggunakan SPSS 16 pada Lampiran 19-24. Hal ini disebabkan karena mikrosfer alginat hancur pada pH basa dan ketoprofen juga larut sempurna dalam pH basa.

Perbedaan jumlah pelepasan obat juga terjadi pada formula 1, 2, dan 3 dari medium yang tanpa enzim dan yang dengan menggunakan enzim yaitu pepsin untuk medium pH 1,4 dan tripsin untuk medium pH 7,4. Untuk medium yang tanpa enzim umumnya jumlah obat yang terlepas lebih besar jika dibandingkan dalam medium dengan enzim. Hal ini

disebabkan adanya polimer alginat dapat menghambat aktivitas protease enzim pepsin atau tripsin (7). Selain itu, ada pula kemungkinan terjadinya kompleks polietilen glikol dan enzim pepsin atau tripsin membentuk kompleks yang larut air. Terjadinya kompleks sebagian besar melalui ikatan hidrogen antara gugus karboksil pada enzim dan gugus eter pada polietilen glikol (31). Hal ini kemungkinan yang menyebabkan formula 2 ataupun 3 dengan penambahan polietilen glikol memiliki jumlah pelepasan obat yang lebih besar dibandingkan formula 1.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil bahwa mikrosfer formula 1 memiliki stabilitas terhadap enzim yang lebih baik dari formula 2 dan 3. Hal ini disebabkan oleh semakin besar polietilen glikol 6000 yang ditambahkan ke dalam mikrosfer kalsium alginat maka pelepasan obat akan semakin cepat. Adanya pelepasan obat yang semakin cepat dari formula 2 dan 3 menggambarkan stabilitas mikrosfer terhadap enzim yang kurang baik.

B. SARAN

Parameter pelepasan obat saja tidak cukup untuk mengetahui kestabilan enzimatik suatu mikrosfer. Oleh karena itu, untuk uji lebih lanjut diperlukan uji secara kimia untuk mengetahui apakah ada interaksi antara alginat, polietilen glikol, ketoprofen, dan enzim pepsin atau tripsin.

DAFTAR ACUAN

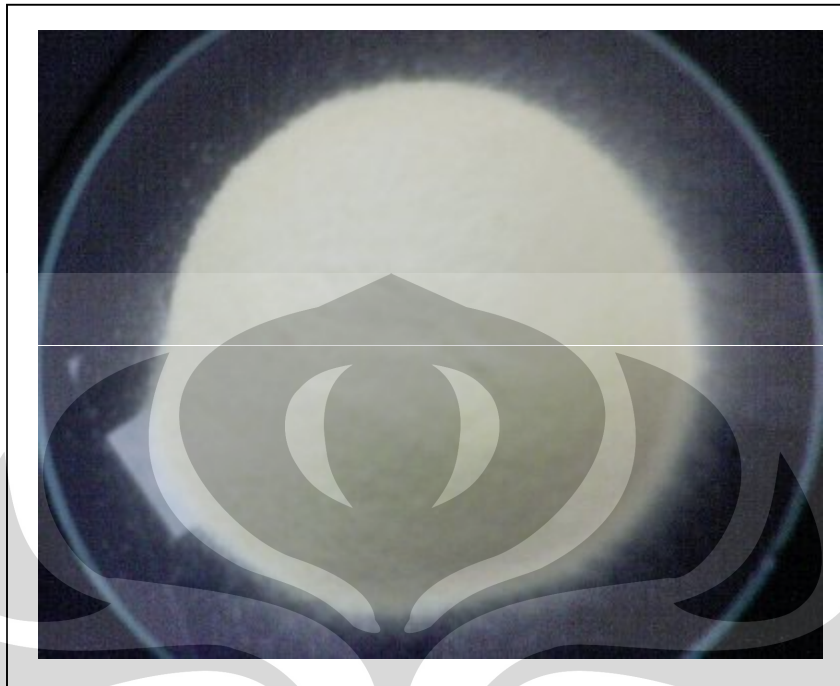
1. Krowczynski, Leszek. *Extended-Release Dosage Forms*. Florida: CPC Press, Inc. 1987: 97-149.
2. Win, PP, Shin-ya Y, Hong KJ dan Kajiuchi T. Effect of proteolytic enzymes in gastrointestinal fluids on drug release from polyelectrolyte complex microspheres based on partially phosphorylated chitosan. *Polym int* **54**. 2005: 533-536.
3. Shargel, Leon, Andrew BCYU. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 2nd Edition*. Terj. Fasich, Siti Sjamsiah. Surabaya: Penerbit Universitas Airlangga. 1988: 445, 449.
4. Anonim. *Microencapsulation, Methods and Industrial Applications, Second Edition*. Edited by Simon Benita. New York: CRC Press. 2006: 16,99,100.
5. Eroglu, Hakan, H. Suheyla Kas, Levent Oner, Mustafa Sargon, A. Atilla Hincal. Preparation of Bovine Serum Albumin Microspheres Containing Dexamethasone Sodium Phosphate and the in Vitro Evaluation. *Turk J Med Sci* **30**. 2000: 125-128.
6. Das, MK, PC Senapati. Furosemide-loaded Alginate Microspheres Prepared by Ionic Cross-linking Technique: Morphology and Release Characteristics. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008: 77-84.
7. Warrand, Jerome. Healthy Polysaccharides The Next Chapter in Food Products. *Food Technology Biotechnology* **44**(3). 2006: 355-370.
8. Zacchigna, M, G. Di Luca, V. Maurich, E. Boccu. *Syntheses, Chemical and Enzymatic Stability of New Poly(ethylene Glycol) – Acyclovir Prodrugs*. *Farmaco II* (57). 2002: 207-214.

9. Pepinsky, R. Blake, et al. Improved Pharmacokinetic Properties of a Polyethylene Glycol-Modified Form of Interferon- β -1a with Preserved in Vitro Bioactivity. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **297** (3). 2001: 1059-1066.
10. Na, Dong Hee, et al. Preparation and Stability of Poly(Ethylene Glycol) (PEG)ylated Octreotide for Application to Microsphere Delivery. *AAPS PharmSciTech* **4** (4) Article 72. 2003.
11. Anonim. *Drug Delivery Systems*. Edited by Kewal K. Jain. Totowa, NJ: Humana Press. 2008: 30-31, 39-40.
12. Swarbrick, James, James C. Boylan. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Volume 10*. New York: Marcel Dekker, Inc. 1994: 1-29.
13. Lachman, Leon, Herbert A. Lieberman, Joseph L. Kanig. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. Philadelphia: Marcel Dekker, Inc. 1986: 860-892.
14. Baver, Kurt H, Klaus Lehmann, Hermann P. Osterwald, Gerhard Rothgang. *Coated Pharmaceutical Dosage Forms, Fundamentals, Manufacturing Techniques, Biopharmaceutical Aspects, Test Methods and Raw Materials*. Stuttgart: CRC Press. 1998: 46, 255.
15. Florence, AT, D. Attwood. *Physicochemical Principles of Pharmacy, Second Edition*. London: Macmillan Press. 1988: 309-310.
16. Anonim. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Second Edition*. Edited by Ainley Wade and Paul J Weller. Washington: American Pharmaceutical Association. 1994: 355-361, 428-430.
17. Anonim. *Alginates: Biology and Applications*. Edited by Bernd H.A.Rehm. Berlin: Springer. 2009: 5.

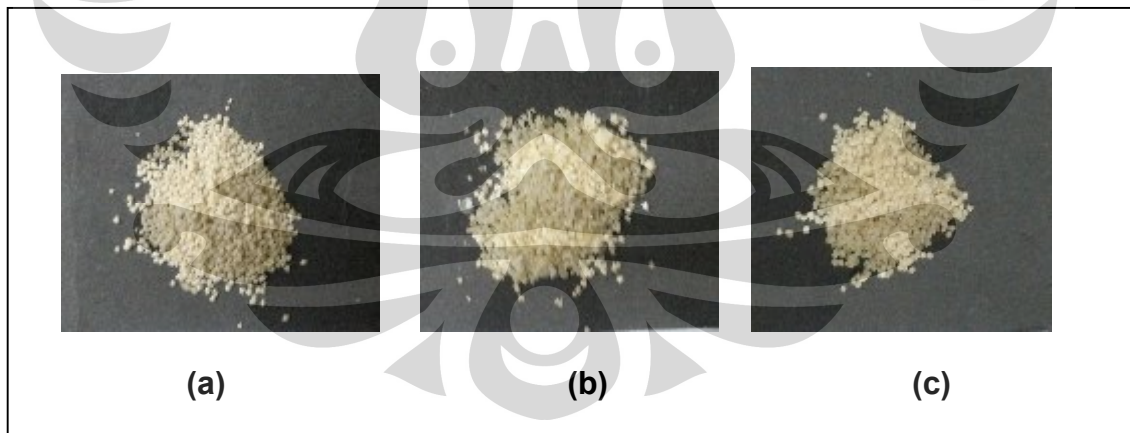
18. Park, Kinam, Waleed S.W. Shalaby, Haesum Park. *Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery*. Pennsylvania: Technomic Publishing Company, Inc. 1993: 116-119, 153-163.
19. Sherwood, Lauralee. *Human Physiology : From Cells to Systems, Second Edition*. Terj. Brahm U. Pendit. Eds. Beatricia I. Santoso. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2001: 537-588.
20. Murray, Robert K., et al. *Harper's Biochemistry, 25th edition*. Terj. Andry Hartono. Eds. Anna P. Bani, Tiara M. N. Sikumbang. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2003 : 80.
21. Anonim. *Farmakologi dan Terapi, Edisi 4*. Editor : Sulistia G. Ganiswara. Jakarta: Gaya Baru. 1995: 208, 218.
22. Timmy, Shefi Angel, Sunita Prem Victor, Chandra P. Sharma, Valsala Kumari J. Betacyclodextrin Complexed Insulin Loaded Alginate Microspheres – Oral Delivery System. *Trends Biomaterial Artificial Organs* Vol. **15** (2). 2002: 48-53.
23. Anonim. *The National Formulary, The United State Pharmacopoeia XXIII*. Rockville: The USP Convention Inc. 1994: 2049, 2059.
24. Khozaeli, Payam, Abbas Pardakhty, Fereshteh Hassanzadeh. Formulation of Ibuprofen Beads by Ionotropic Gelation. *Italian Journal of Pharmaceutical Research* **7** (3). 2008: 163-170.
25. Harikampakdee, Saraporn, et al. Spray-dried Mucoadhesive Microspheres: Preparation and Transport Through Nasal Cell Monolayer. *AAPS PharmSciTech* **7** (1). 2006.
26. A, Marcela, et al. Ethylcellulose Microspheres Containing Sodium Diclofenac: Development and Characterization. *Acta Farm Boraerense* **25** (3). 2006: 401-404.

27. Pham, Hai H, Ping Luo, Francois Genin. Synthesis and characterization of hydroxyapatite-ciprofloxacin delivery systems by precipitation and spray drying technique. https://www.researchgate.net/publication/6294216_Synthesis_and_characterization_of_hydroxyapatite_Ciprofloxacin_delivery_systems_by_precipitation_and_spray_drying_technique. 5 Juli 2009. 9.00 WIB.
28. Ma, X, N Santiago, YS Chen, K Chaudary. Stability Study of Drug-loaded Proteinoid Microsphere Formulation during Freeze-Drying. https://www.researchgate.net/publication/15128835_Stability_study_of_drug-loaded_proteinoid_microsphere_formulations_during_freeze-drying. 5 Juli 2009. 10.00 WIB.
29. Kumbar, SG, AR. Kulkarni, TM Aminabhavi. Crosslinked Chitosan Microspheres for Encapsulation of Diclofenac Sodium: Effect of Crosslinking Agent. *Journal of Microencapsulation*. Vol. **19** (2). 2002: 173-180.
30. Anonim. Sistem Pencernaan pada Manusia. http://www.edukasi.net/mapok/mp_files/mp_374/materi3a.html. 4 Juni 2009. 20.00 WIB.
31. Kokufuta, Etsuo, Hiroichi Nishimura. Complexation of Pepsin Poly(ethylene glycol). *Polymer Bulletin* **26** (3). 1991: 277-282.

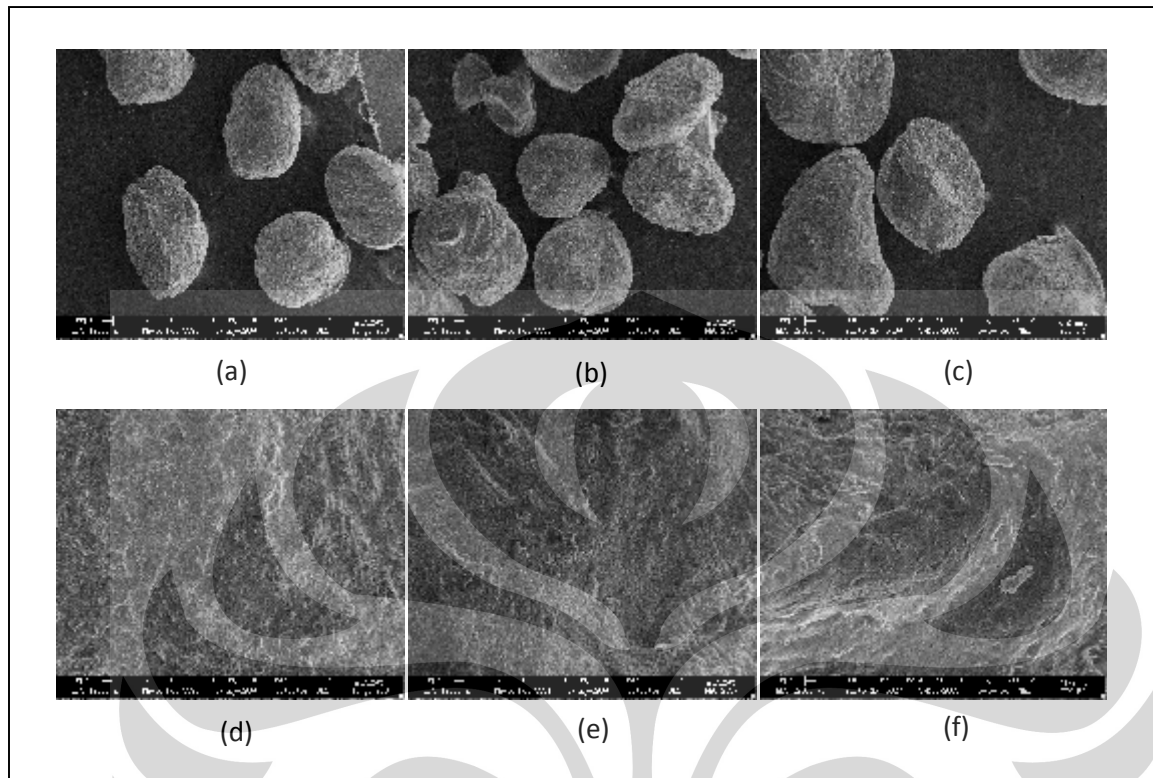




Gambar 5. Serbuk Natrium Alginat

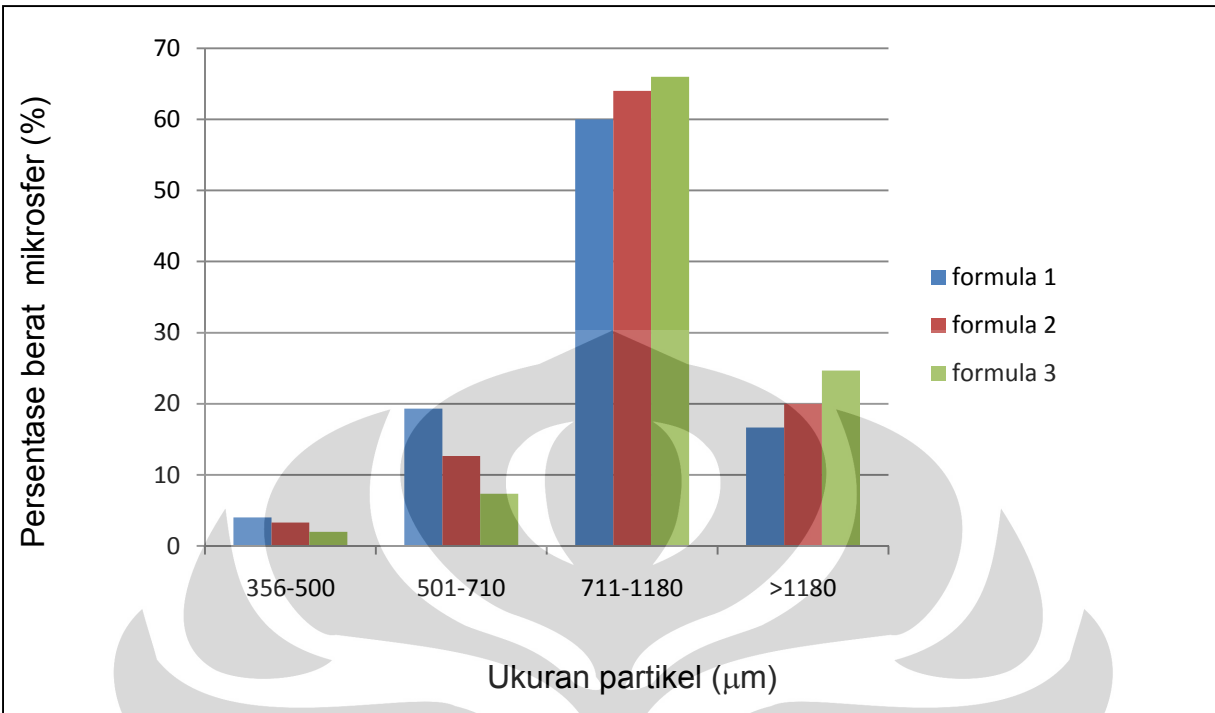


Gambar 6. Mikrosfer Kalsium Alginat, (a) formula 1, (b) formula 2, dan (c) formula 3

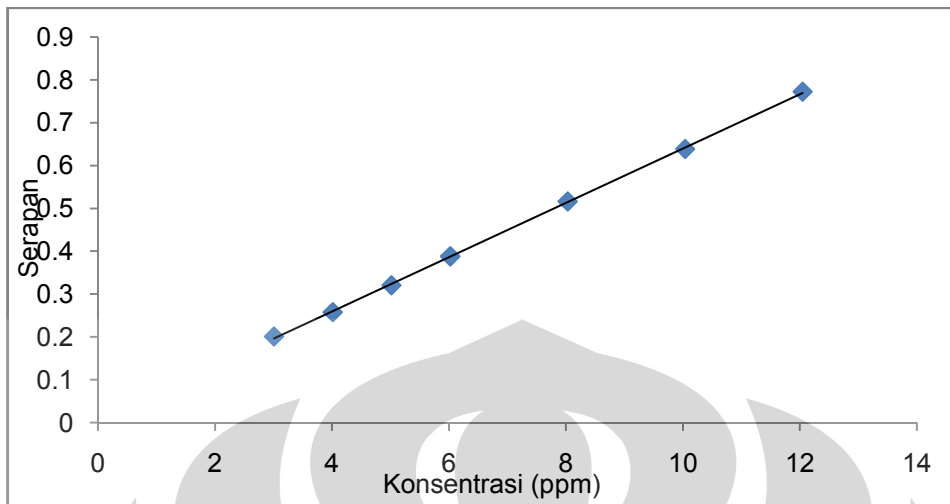


Gambar 7. Hasil Scanning Electron Microscopy

Keterangan gambar : (a) formula 1 dengan perbesaran 50x
(b) formula 2 dengan perbesaran 50x
(c) formula 3 dengan perbesaran 50x
(d) formula 1 dengan perbesaran 500x
(e) formula 2 dengan perbesaran 500x
(f) formula 3 dengan perbesaran 500x

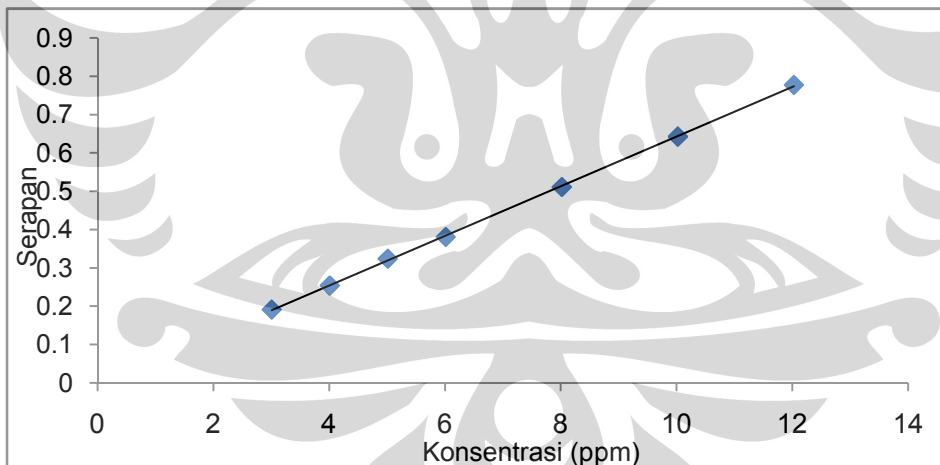


Gambar 8. Grafik distribusi ukuran partikel



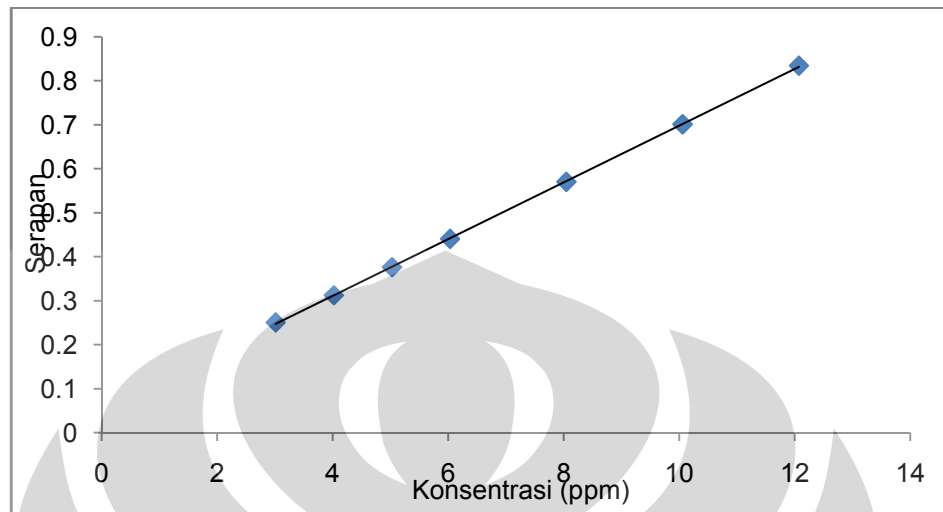
Gambar 9. Kurva kalibrasi ketoprofen standar untuk efisiensi penyerapan dalam medium NaOH 0,1 N pada λ 260 nm

$$y = 0,0056 + 0,0634x$$
$$r = 0,9999$$



Gambar 10. Kurva Kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 1,4 pada λ 258 nm

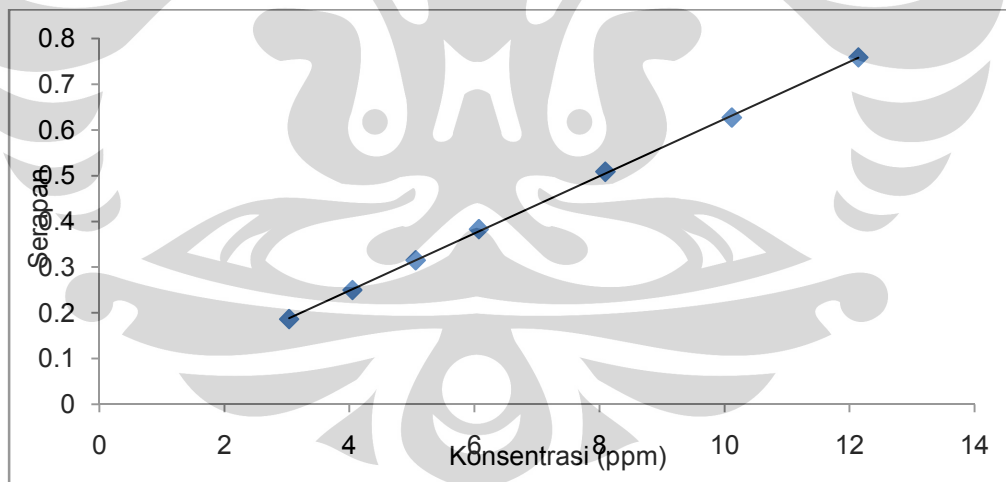
$$y = -0,0052 + 0,0648x$$
$$r = 0,9999$$



Gambar 11. Kurva Kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 1,4 dengan pepsin pada λ 258 nm

$$y = 0,0532 + 0,0645x$$

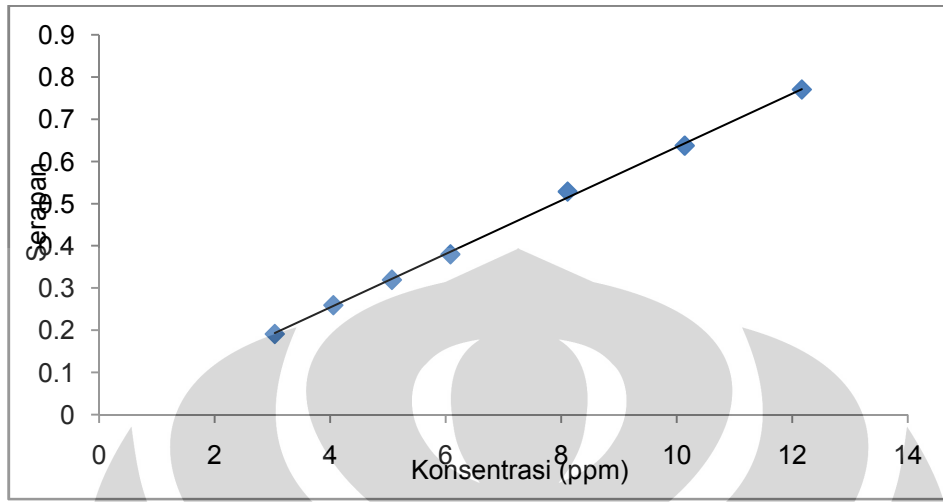
$$r = 0,9999$$



Gambar 12. Kurva Kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 7,4 pada λ 260 nm

$$y = -0,0011 + 0,0625x$$

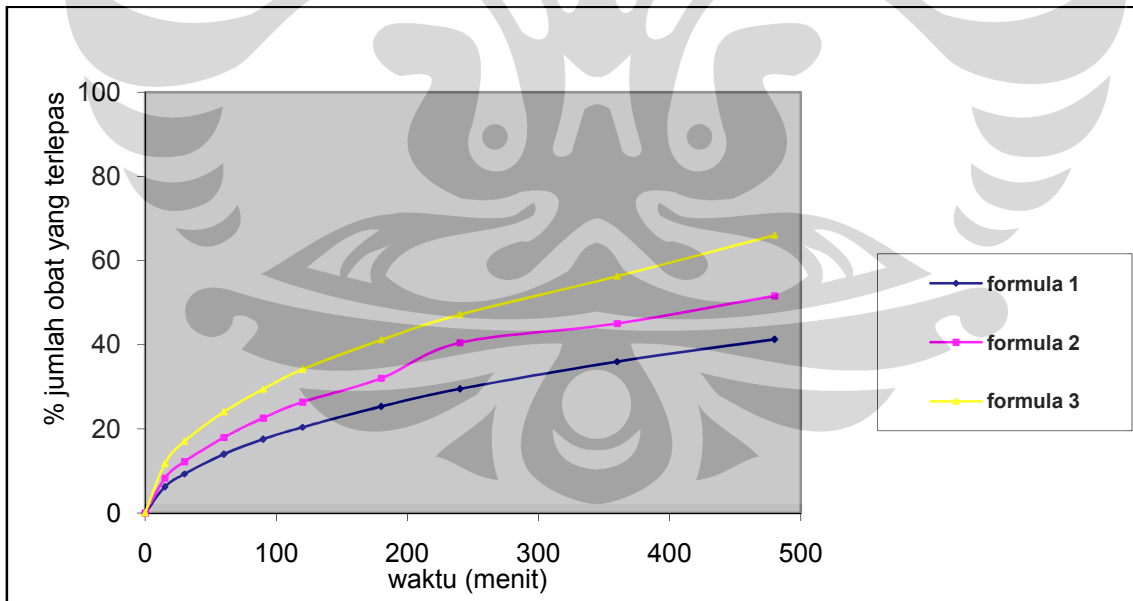
$$r = 0,9999$$



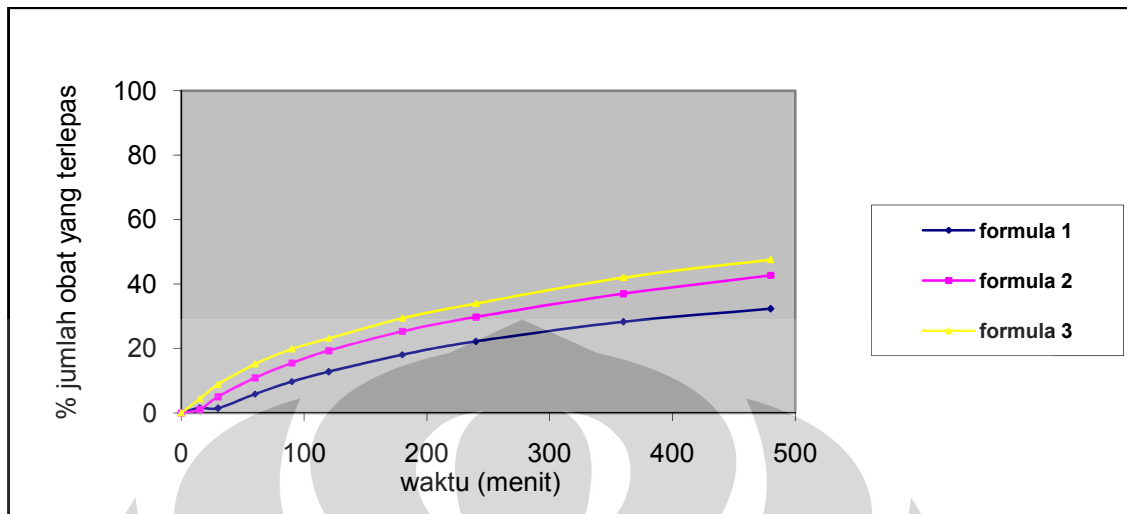
Gambar 13. Kurva Kalibrasi ketoprofen standar dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada λ 260 nm

$$y = 0,0005 + 0,0633x$$

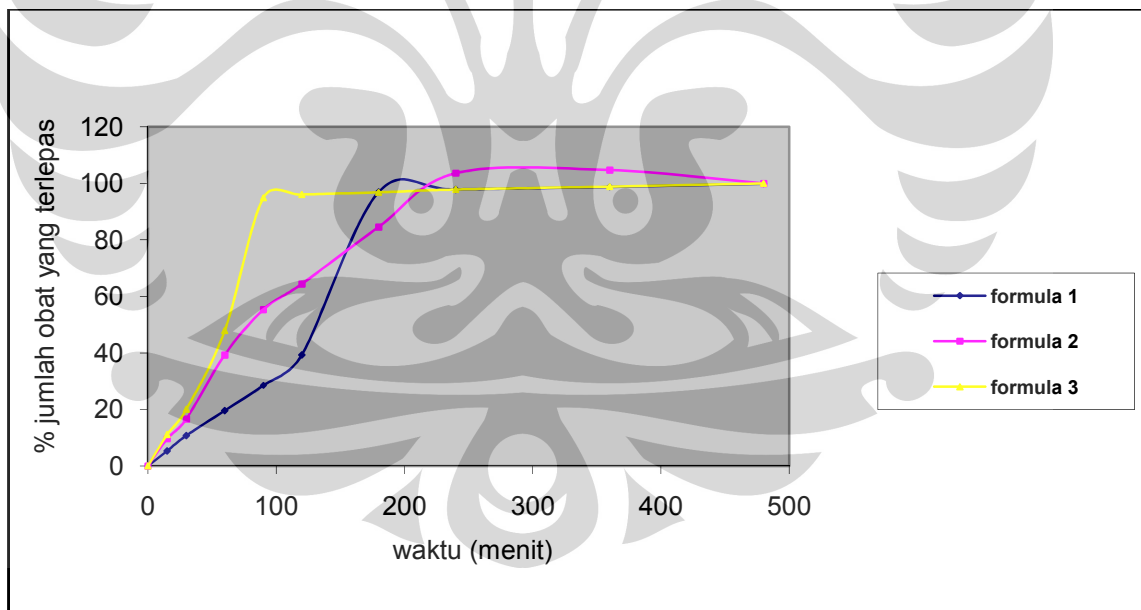
$$r = 0,9995$$



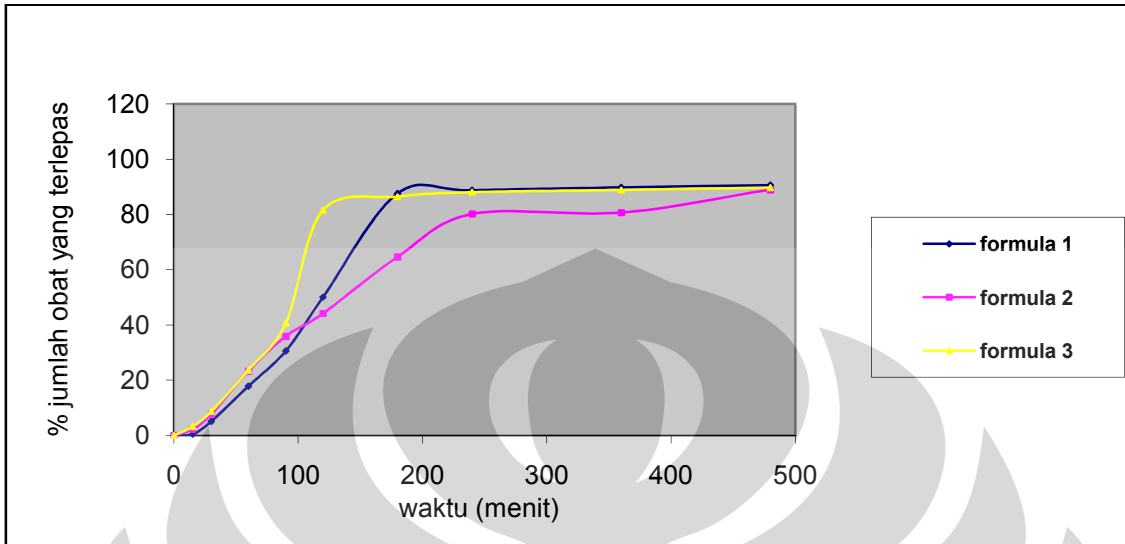
Gambar 14. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 1,4



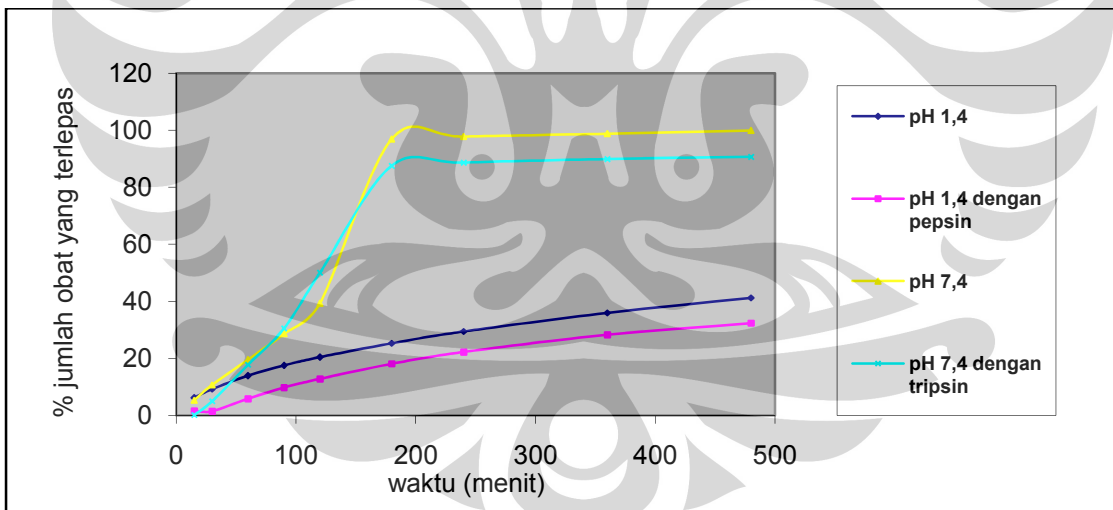
Gambar 15. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 1,4 dengan pepsin



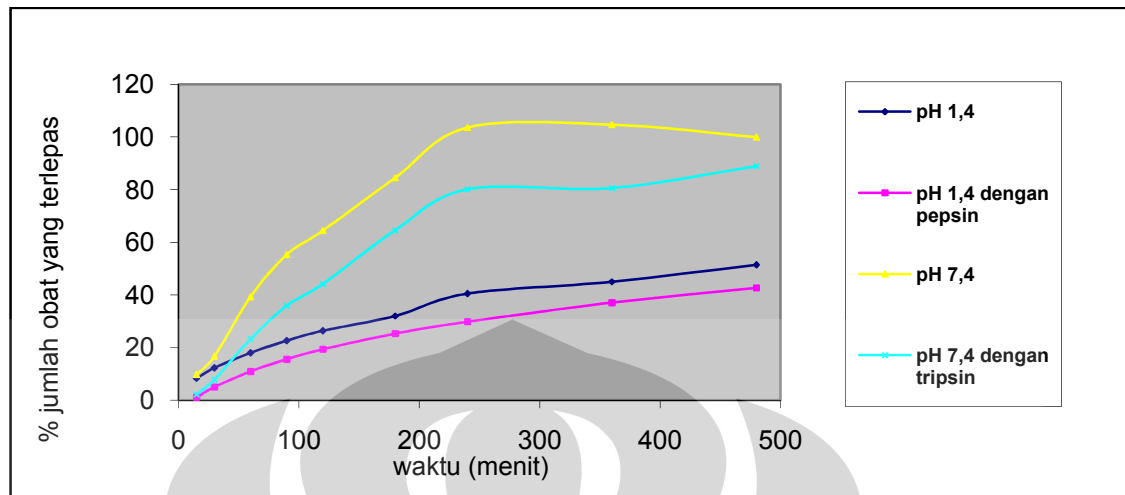
Gambar 16. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 7,4



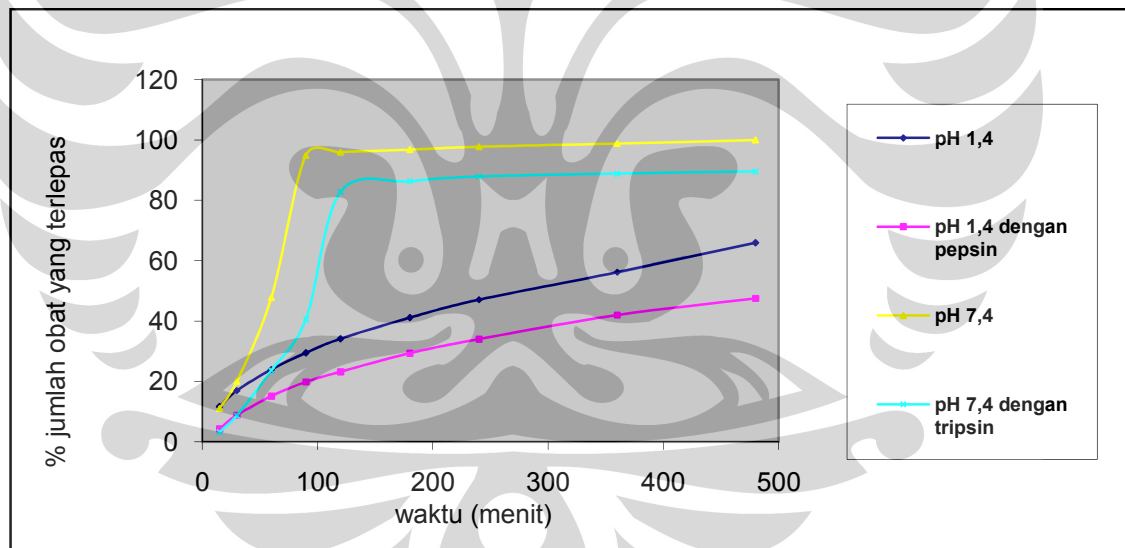
Gambar 17. Kurva disolusi ketoprofen dalam medium pH 7,4 dengan tripsin



Gambar 18. Kurva disolusi Formula 1



Gambar 19. Kurva disolusi formula 2



Gambar 20. Kurva disolusi formula 3



Tabel 2. Perbandingan distribusi ukuran partikel mikrosfer

	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Rata-rata (μm)	865,27	861,8	840,87
365-500 μm (%)	4	3,3	2
501-710 μm (%)	19,33	12,67	7,33
711-1180 μm (%)	60	64	66
>1180 μm (%)	16,67	20	24,67

Tabel 3. Persentase perolehan kembali proses pembentukan mikrosfer kalsium alginat

	Jumlah bobot bahan pembentuk mikrosfer (gram)	Jumlah bobot mikrosfer yang terbentuk (gram)	UPK proses (%)
Formula 1	9	4,0581	45,09
Formula 2	11,5	4,1221	35,84
Formula 3	14	4,9758	35,54

Tabel 4. Penetapan kadar air

	Kadar Air (%)
Formula 1	3,52 ± 0,31
Formula 2	3,38 ± 0,37
Formula 3	3,45 ± 0,17

Tabel 5. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi untuk efisiensi penyerapan dalam medium NaOH 0,1 N pada λ 260 nm

Berat ketoprofen yang ditimbang = 50,2 mg

Konsentrasi (ppm)	Serapan
3,012	0,20108
4,016	0,25774
5,02	0,32048
6,024	0,38793
8,032	0,51599
10,04	0,63851
12,048	0,772

$$y = 0,0056 + 0,0634x$$

$$r = 0,9999$$

Tabel 6. Efisiensi penyerapan ketoprofen dalam mikrosfer kalsium alginat

	% zat aktif	% penyerapan
Formula 1	15,95 ± 1,04	63,81 ± 4,15
Formula 2	13,19 ± 0,35	85,72 ± 2,25
Formula 3	10,40 ± 0,20	93,58 ± 1,84

Tabel 7. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 1,4 pada λ 258 nm

Berat ketoprofen yang ditimbang = 50,1 mg

Konsentrasi (ppm)	Serapan
3,006	0,19109
4,008	0,25361
5,01	0,32386
6,012	0,38035
8,016	0,511
10,02	0,64244
12,024	0,77711

$$y = -0,0052 + 0,0648x$$

$$r = 0,9999$$

Tabel 8. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 1,4 dengan pepsin pada λ 258 nm

Berat ketoprofen yang ditimbang = 50,3 mg

Konsentrasi (ppm)	Serapan
3,018	0,25086
4,024	0,31246
5,03	0,37636
6,036	0,44069
8,048	0,57017
10,06	0,70079
12,072	0,83369

$$y = 0,0532 + 0,0645x$$

$$r = 0,9999$$

Tabel 9. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 7,4 pada λ 260 nm

Berat ketoprofen yang ditimbang = 50,6 mg

Konsentrasi (ppm)	Serapan
3,036	0,18673
4,048	0,25012
5,06	0,31511
6,072	0,38316
8,096	0,5086
10,12	0,62691
12,144	0,75828

$$y = -0,0011 + 0,0625x$$

$$r = 0,9999$$

Tabel 10. Serapan ketoprofen standar dalam pembuatan kurva kalibrasi dalam medium pH 7,4 dengan tripsin pada λ 260 nm

Berat ketoprofen yang ditimbang = 50,7 mg

Konsentrasi (ppm)	Serapan
3,042	0,19156
4,056	0,2597
5,07	0,31967
6,084	0,38009
8,112	0,52839
10,14	0,63716
12,168	0,76996

$$y = 0,0005 + 0,0633x$$

$$r = 0,9995$$

Tabel 11. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4

Waktu (menit)	Persentase ketoprofen terdisolusi (%)		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
15	6,21 ± 0,10	8,33 ± 0,10	11,68 ± 0,10
30	9,30 ± 0,16	12,23 ± 0,34	17,02 ± 0,41
60	13,96 ± 0,03	17,98 ± 0,17	24,01 ± 0,35
90	17,53 ± 0,21	22,59 ± 0,36	29,46 ± 0,45
120	20,42 ± 0,28	26,36 ± 0,38	34,13 ± 0,48
180	25,32 ± 0,10	32,03 ± 0,73	41,11 ± 0,33
240	29,48 ± 0,17	40,47 ± 0,68	47,13 ± 0,47
360	35,40 ± 0,37	45,04 ± 0,11	56,23 ± 0,97
480	41,27 ± 0,22	51,44 ± 1,21	65,97 ± 1,94

Tabel 12. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin

Waktu (menit)	Persentase ketoprofen terdisolusi (%)		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
15	1,64 ± 0,23	1,15 ± 0,46	4,33 ± 0,54
30	2,48 ± 0,54	5,03 ± 0,45	8,84 ± 0,71
60	5,79 ± 0,93	10,94 ± 0,53	15,18 ± 0,90
90	9,78 ± 1,05	15,53 ± 0,44	19,88 ± 1,95
120	12,80 ± 1,21	19,37 ± 0,21	23,19 ± 1,37
180	18,13 ± 1,45	25,35 ± 0,48	29,35 ± 1,58
240	22,22 ± 1,75	29,81 ± 0,27	34,00 ± 2,13
360	28,31 ± 2,08	37,04 ± 0,59	42,02 ± 2,48
480	32,38 ± 2,98	42,73 ± 2,44	47,56 ± 3,19

Tabel 13. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4

Waktu (menit)	Persentase ketoprofen terdisolusi (%)		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
15	5,34 ± 0,41	9,69 ± 0,49	11,08 ± 0,64
30	10,75 ± 1,26	16,64 ± 0,94	20,01 ± 1,39
60	19,56 ± 1,40	39,32 ± 3,68	47,87 ± 1,47
90	28,61 ± 1,00	55,35 ± 3,89	94,94 ± 0,13
120	39,31 ± 1,66	64,44 ± 3,32	96,02 ± 0,06
180	96,87 ± 0,03	84,55 ± 6,61	96,83 ± 0,15
240	97,79 ± 0,11	103,63 ± 0,08	97,82 ± 0,06
360	98,77 ± 0,03	104,73 ± 0,11	98,88 ± 0,11
480	99,90 ± 0,09	99,95 ± 0,08	100,00 ± 0,06

Tabel 14. Persentase ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin

Waktu (menit)	Persentase ketoprofen terdisolusi (%)		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
15	0,18 ± 0,55	2,22 ± 0,42	3,21 ± 0,08
30	5,03 ± 0,29	7,65 ± 1,79	8,66 ± 0,15
60	17,80 ± 2,19	23,27 ± 4,55	23,61 ± 1,31
90	30,56 ± 4,53	35,90 ± 6,03	40,60 ± 4,84
120	50,04 ± 1,81	44,12 ± 4,25	82,84 ± 1,98
180	87,56 ± 0,23	64,58 ± 4,35	86,37 ± 0,09
240	88,70 ± 0,60	80,15 ± 1,11	87,96 ± 0,12
360	89,92 ± 0,30	80,63 ± 1,20	88,83 ± 0,13
480	90,71 ± 0,31	88,91 ± 3,01	89,59 ± 0,21



LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat analisis natrium alginat

From: Zulfikar To: Mr.Chanera Date: 5/30/2008 Time: 10:34:26 AM Page 1 of 1

Duchefa Biochemie

CERTIFICATE OF ANALYSIS


Product: **SODIUM ALGINATE**
 Product number: **51420**
 Batch number: **003351**
 Manufacturing date: **03-2008**
 Expiry date: **06-2009**

Storage conditions: **Store at room temperature**

	SPECIFICATION	RESULT	UNITS	REMARKS
Box of drug	≤ 12	60	%	
Viscosity	40 - 100	155	arbitrary	1% solution, 20°C
Particle size	≥ 94	99.8	%	
pH	6.0 - 8.0	7.0		1% solution
Total plate count	≤ 5000	complies	c.f.u.	
Yeasts and moulds	≤ 500	complies	c.f.u.	
Coliforms (total)	negative	complies		
Salmonella	negative	complies		

This certificate of analysis is confirm the quality of the manufacturer and controlled by T.W.M. Meijneer

Conclusion: **approved**
 Released by: **drs. B. H. K. pharmacist**
 Department of Quality Control Duchefa BV
 Date: **06/09/2008**



Duchefa Biochemie B.V. is a part of the Schering-Plough group of companies. The Schering-Plough group of companies is a part of the Schering-Plough group of companies.

Lampiran 2. Sertifikat analisis ketoprofen

Chemo S.A. Lugano Branch
Via E. Pelli 17, 40. Imp.
6921 Lugano, Switzerland
Tel. + 41 91 973 21 01
Fax + 41 91 973 21 05

**CHEMO
LUGANO BRANCH**

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: KETOPROFEN

Date: 14323010002 Quantity: 100.00 GR
Mfg. Date: April 2006 Release Date: April 2011

TEST	SPECIFICATIONS	PASSETS
DESCRIPTION	White or almost white crystalline powder	Conforms
IDENTIFICATION	IR: Conforms to the standard UV: Conforms to the standard	Conforms Conforms
MELTING RANGE	93.0 - 95.0 °C	94.5 - 93.0 °C
SOLVENTED ASH	Not more than 0.1 %	0.06 %
LOSS ON DRYING	Not more than 0.5 %	0.16 %
EMPIRICAL SUBSTANCE	In accordance with specifications	Conforms
ASSAY	99.5 - 100.5% on dried substance	99.5 %
DENSITY (20°C)	0.19 - 0.20 g/ml	0.20 g/ml
DENSITY (25°C)	0.20 - 0.21 g/ml	0.21 g/ml
IMPURITIES	This product complies with USP	

For above data details have been received from the Quality Control Dept.

Technical CHEMO S.A. Signature
LUGANO BRANCH

CHEMO Sales VAT n. 825 071 Licensing VAT n. LU21442987 www.chemogroup.com

Lampiran 3. Sertifikat analisis polietilen glikol (PEG) 6000

Clariant Produkte (Deutschland) GmbH
 Werk Gendorf, GGG / Qualitätsmanagement
 Industrieparkstraße 1
 D-44329 Burglindlar
 Fax: +49 26 79 / 750 03



Inspection certificate
 according to EN10204-3.1

Date: 10.04.2009
 Page: 2 / 3

Material : POLYGLYCOL 6000 P
 Material No. : 10792616985
 Batch No. : DE11001861

Inspection characteristic/-method	Specification	Result
Water content Karl-Fischer DIN 51777	≤ 0,50	0,12 %
Ethylene oxide content Head-Space GC	≤ 1	≤ 1 ppm
Dioxane content (calculated at 100%) Head-Space GC	≤ 1	≤ 1 ppm
Reducing substances Ph. Eur.		Fulfilled
Oil value (mg/100g) DIN 51240	10 - 20	18 mg/100g
Molar mass (calculated) of Oil value	5500 - 6000	5842 g/mol
Solidification point Ph. Eur.	54 - 58	56 °C
Acidity (ml 0,1N NaOH/5g) Ph. Eur.	≤ 0,1	≤ 0,1 (%)
Sulphated ash Ph. Eur.	≤ 0,1	≤ 0,1 %
Heavy metals (Pb) USP-NP	≤ 5	≤ 5 ppm



Lampiran 4. Sertifikat analisis enzim pepsin

Certificate Of Analysis Page 1 of 1

Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH



Product Name	Pepsin from porcine gastric mucosa, powder, 800-2,500 units/mg protein
Product Number	P7000
Product Brand	SIGMA
CAS Number	9001-75-6

TEST	LOT 118Z0023 RESULTS
APPEARANCE	LIGHT TAN POWDER
SOLUBILITY	VERY SLIGHTLY HAZY COLORLESS
PROTEIN BY UV ABSORBANCE	51%
LOSS ON DRYING	0.5%
ENZYMATIC ACTIVITY	924 UNITS/MG PROTEIN
UNIT DEFINITION	
RECOMMENDED RETEST	NOVEMBER 2010
QC RELEASE DATE	NOVEMBER 2008

Rodney Buelach
 Rodney Buelach, Manager
 Analytical Services
 St. Louis, Missouri USA

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/CertOfAnalysisPage.do?symbol=P7000&LotNo=118Z0023&...> 4/30/2009

Lampiran 5. Sertifikat analisis enzim tripsin

 SIGMA-ALDRICH Sigma-Aldrich Production GmbH CH-9471 Buchs/Schwyz www.sigma-aldrich.com		 Fluka Certificate of Analysis Telefon +41 81 755 2511 Telefax +41 81 755 2272 Email: fluka@sigma-aldrich.com	
Product Brand	Fluka		
PRODUCT-NO	93614		
PRODUCT	TRYPSIN PORCINE PANCREAS BioChemika, \geq 10000units/mg		
FORMULA			
MOLECULAR MASS			
CAS NUMBER	9002-07-7		
LOT	139917		
Test	Specification	Result	
APPEARANCE (COLOR)	WHITE/COLORLESS	WHITE	
APPEARANCE (FORM)	POWDER TO POWDER WITH LUMPS	POWDER	
SOLUBILITY (COLOR)	COLORLESS	COLORLESS	
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR (VISUAL)	CLEAR	
SOLUBILITY (METHOD)	-	5 MG/ML 0.1 M PHOSPHATE PH 7.6	
ENZYMATIC ACTIVITY	\geq 10000 U/MG	13205 U/MG	
		1 U CORRESPONDS TO THE AMOUNT OF ENZYME WHICH INCREASES THE ABSORBANCE AT 253 NM BY 0.001 PER MINUTE AT PH 7.6 AND 25 C	
		(N-BENZOYL-L-ARGININE ETHYL ESTER, FLUKA NO. 12880, AS SUBSTRATE).	
EXTRANECESS ACTIVITIES	CORRESPONDS TO REQUIREMENTS	CORRESPONDS	
QC RELEASE DATE	30/SEP/06		
RECOMMENDED RETEST DATE	28 MONTHS	JAN/11	



Edeltraud Schwärzler, Manager
Quality Control
Buchs, Switzerland

Sigma-Aldrich guarantees the 'Sales-Specification' values only, additional lot specific tests may be included for further information. The current 'Sales-Specifications' sheet is available on request. For further inquiries, please contact our Technical Service Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.

Lampiran 6. Sertifikat analisis kalsium klorida

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT : CALCIUM CHLORIDE 74% MIN. FLAKE
 GRADE : INDUSTRIAL GRADE
 DESCRIPTION : White colour flakes

Analysis

PROPERTIES	VALUE
Content (CaCl ₂)	74.5%
NaCl	3%
Fe	74 ppm
Water Insoluble Matter	0.15%
pH value (5% solution)	8
Sulphate Content (SO ₄)	0.25%

BATCH NO. : C5238
 PACKING : 25 Kg/bag
 ORIGIN : CHINA

This certificate shows a description of the sample and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, and we disclaim any liability for any loss or damage resulting from the use of the product. We do not warrant our responsibility to determine the suitability of the information for the particular purposes of the customer or to be held liable for any claims, losses or damages of any third party or for the price of the product. We do not warrant, consequences or secondary damages, consequences arising, even if we have been advised of the possibility of such damage.

Lampiran 7
Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Ketoprofen
Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 1,4 pada menit
ke 15

- Tujuan : mengetahui distribusi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4
- Hipotesa : Ho = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 terdistribusi normal
 Ha = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 tidak terdistribusi normal
- α : 0.05
- Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data terdistribusi normal

Hasil Uji Normalitas

		Shapiro-Wilk		
formula		Statistic	df	Sig.
kadar ketoprofen terdisolusi	formula 1	.957	3	.600
	formula 2	.999	3	.948
	formula 3	.789	3	.089

Lampiran 8
Uji Homogenitas Varian Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer
Kalsium Alginat dalam Medium pH 1,4 pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui homogenitas variansi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 bervariasi homogen
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 tidak bervariasi homogen
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data bervariasi homogen

Hasil Uji Homogenitas

Kadar Ketoprofen Terdisolusi	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	0.56	2	6	.946

Lampiran 9

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 1,4 pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada Kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4
- Hipotesa : H_0 = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 tidak berbeda secara bermakna
 H_a = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 antar ketiga formula berbeda secara bermakna
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula kelompok $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga ada perbedaan bermakna antar ketiga formula

Hasil Uji Variansi Satu Arah

Kadar Ketoprofen Terdisolusi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43.557	2	21.779	2.048	.000
Within Groups	.064	6	.011		
Total	43.621	8			

Lampiran 10

Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 1,4 dengan Pepsin pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui distribusi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin
- Hipotesa : Ho = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin terdistribusi normal
Ha = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin tidak terdistribusi normal
- α : 0.05
- Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikasi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikasi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data terdistribusi normal

Hasil Uji Normalitas

		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar ketoprofen terdisolusi	formula 1	.983	3	.750
	formula 2	.813	3	.145
	formula 3	.952	3	.577

Lampiran 11
Uji Homogenitas Varian Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 1,4 dengan Pepsin pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui homogenitas variansi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin
- Hipotesa : Ho = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin bervariasi homogen
 Ha = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin tidak bervariasi homogen
- α : 0.05
- Kriteria : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data bervariasi homogen

Hasil Uji Homogenitas

Kadar Ketoprofen Terdisolusi	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	0.912	2	6	.451

Lampiran 12

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 1,4 dengan Pepsin pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin
- Hipotesa : H_0 = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin tidak berbeda secara bermakna
 H_a = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 1,4 dengan pepsin antar ketiga formula berbeda secara bermakna
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula kelompok $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga ada perbedaan bermakna antar ketiga formula

Hasil Uji Variansi Satu Arah

Kadar Ketoprofen Terdisolusi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.652	2	8.826	45.327	.000
Within Groups	1.168	6	.195		
Total	18.821	8			

Lampiran 13

Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui distribusi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 terdistribusi normal
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 tidak terdistribusi normal
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data terdistribusi normal

Hasil Uji Normalitas

		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar ketoprofen terdisolusi	formula 1	.848	3	.235
	formula 2	.809	3	.135
	formula 3	1.000	3	.966

Lampiran 14
Uji Homogenitas Varian Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer
Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui homogenitas variansi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 bervariasi homogen
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 tidak bervariasi homogen
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data bervariasi homogen

Hasil Uji Homogenitas

Kadar Ketoprofen Terdisolusi	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	0.181	2	6	.838

Lampiran 15

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4
- Hipotesa : H_0 = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 tidak berbeda secara bermakna
 H_a = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 antar ketiga formula berbeda secara bermakna
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula kelompok $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga ada perbedaan bermakna antar ketiga formula

Hasil Uji Variansi Satu Arah

Kadar Ketoprofen Terdisolusi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.965	2	26.982	98.660	.000
Within Groups	1.641	6	.273		
Total	55.606	8			

Lampiran 16
Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Ketoprofen
Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 dengan
Tripsin pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui distribusi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin terdistribusi normal
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin tidak terdistribusi normal
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data terdistribusi normal

Hasil Uji Normalitas

		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar ketoprofen terdisolusi	formula 1	.960	3	.614
	formula 2	.908	3	.413
	formula 3	.995	3	.862

Lampiran 17
Uji Homogenitas Varian Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 dengan Tripsin pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui homogenitas variansi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin bervariasi homogen
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin tidak bervariasi homogen
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data bervariasi homogen

Hasil Uji Homogenitas

Kadar Ketoprofen Terdisolusi	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	4.968	2	6	.053

Lampiran 18

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 dengan Tripsin pada menit ke 15

- Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin
- Hipotesa : H_0 = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin tidak berbeda secara bermakna
 H_a = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin antar ketiga formula berbeda secara bermakna
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula kelompok $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga ada perbedaan bermakna antar ketiga formula

Hasil Uji Variansi Satu Arah

Kadar Ketoprofen Terdisolusi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.610	2	5.805	83.888	.000
Within Groups	0.415	6	.069		
Total	12.025	8			

Lampiran 19

Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 pada menit ke 480

- Tujuan : mengetahui distribusi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 terdistribusi normal
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 tidak terdistribusi normal
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data terdistribusi normal

Hasil Uji Normalitas

		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar ketoprofen terdisolusi	formula 1	.984	3	.756
	formula 2	.803	3	.122
	formula 3	.998	3	.915

Lampiran 20
Uji Homogenitas Varian Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer
Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 pada menit ke 480

- Tujuan : mengetahui homogenitas variansi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 bervariasi homogen
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 tidak bervariasi homogen
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data bervariasi homogen

Hasil Uji Homogenitas

Kadar Ketoprofen Terdisolusi	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	.250	2	6	.787

Lampiran 21

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 pada menit ke 480

- Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4
- Hipotesa : H_0 = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 tidak berbeda secara bermakna
 H_a = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 antar ketiga formula berbeda secara bermakna
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula kelompok $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga tidak ada perbedaan bermakna antar ketiga formula

Hasil Uji Variansi Satu Arah

Kadar Ketoprofen Terdisolusi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.015	2	.008	1.214	.361
Within Groups	.037	6	.006		
Total	.052	8			

Lampiran 22
Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Ketoprofen
Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 dengan
Tripsin pada menit ke 480

- Tujuan : mengetahui distribusi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin terdistribusi normal
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin tidak terdistribusi normal
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data terdistribusi normal

Hasil Uji Normalitas

		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar ketoprofen terdisolusi	formula 1	.790	3	.091
	formula 2	1.000	3	.963
	formula 3	.826	3	.178

Lampiran 23
Uji Homogenitas Varian Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 dengan Tripsin pada menit ke 480

- Tujuan : mengetahui homogenitas variansi data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin
- Hipotesa : H_0 = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin bervariasi homogen
 H_a = data kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin tidak bervariasi homogen
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data bervariasi homogen

Hasil Uji Homogenitas

Kadar Ketoprofen Terdisolusi	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2.929	2	6	.130

Lampiran 24

Uji Analisis Varian Satu Arah Terhadap Kadar Ketoprofen Terdisolusi Mikrosfer Kalsium Alginat dalam Medium pH 7,4 dengan Tripsin pada menit ke 480

- Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin
- Hipotesa : H_0 = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin tidak berbeda secara bermakna
 H_a = kadar ketoprofen terdisolusi dari mikrosfer kalsium alginat dalam medium pH 7,4 dengan tripsin antar ketiga formula berbeda secara bermakna
- α : 0.05
- Kriteria : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi ketiga formula kelompok $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga tidak ada perbedaan bermakna antar ketiga formula

Hasil Uji Variansi Satu Arah

Kadar Ketoprofen Terdisolusi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.317	2	1.159	1.026	.414
Within Groups	6.773	6	1.129		
Total	9.090	8			