

BAB III

BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Fisik, Kimia, dan Formulasi Tablet Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok. Waktu pelaksanaannya adalah dari bulan Februari hingga Mei 2008.

A. BAHAN

Kitosan dengan derajat deasetilasi 97,5 % (Vital House, Indonesia), natrium alginat (Duchefa Biochemie, Belanda), atenolol (Quantum, Taiwan), aquadest, asam asetat glasial (Merck, Jerman), natrium asetat (Merck, Jerman), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman) dan natrium hidroksida (Merck, Jerman), asam klorida (Merck, Jerman), dan kalium bromida untuk FTIR (Merck, Jerman).

B. ALAT

Timbangan digital analitik EB-330 (Shimadzu, Jepang), pengaduk ultrasonik S60H (Elmasonik, Jerman), *fourrier transform infrared* 8400s (Shimadzu, Jepang), *scanning electrone microscope* 420i (LEO, Inggris), *differential scanning calorimetry* 6 (Perkin Elmer, Jerman), pHmeter pH510

(Eutech, Singapura), Sentrifuge 5100 (Kubota, Jepang), spektrofotometer UV-Vis 1601 (Shimadzu, Jepang), alat uji disolusi (Erweka, Jerman), dan alat pencetak tablet.

C. CARA KERJA

1. Pembuatan larutan

a. Dapar asetat pH 4 dan 4,5

Sebanyak 1,5 gram natrium asetat ditimbang lalu ditambahkan 20 ml asam asetat 2 N. Kemudian ditambahkan air bebas karbondioksida hingga volumenya 1000 ml. Larutan dapar asetat pH 4,5 dibuat dengan prosedur yang sama dengan menggunakan 3 gram natrium asetat dan 14 ml asam asetat 2 N (27).

b. Asam klorida 0,1 N

Larutan asam klorida 0,1 N dibuat dengan cara 8,5 ml asam klorida P diencerkan dalam 1000 ml aquadest (29).

c. Dapar fosfat pH 7,2

Larutan dapar fosfat pH 7,2 dibuat dengan cara 50 ml larutan kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dicampur dengan 35 ml larutan natrium hidroksida

0,2M. Kemudian volumenya dicukupkan hingga 200 ml dengan aquadest bebas karbondioksida. pH larutan diperiksa dengan pHmeter (27).

2. Pembentukan Kompleks Poliiion Kitosan–Natrium Alginat

Sebanyak 250 mg kitosan dilarutkan dalam 250 ml larutan dapar asetat pH 4. Selanjutnya larutan natrium alginat dibuat dengan cara yang sama. Kedua larutan kemudian dicampur dengan rasio 1:1, 3:7, 7:3, 1:9, dan 9:1. Selanjutnya larutan hasil pencampuran diinkubasi selama 24 jam. Kompleks yang terbentuk diendapkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 25 menit. Selanjutnya endapan disaring dan lalu dicuci dengan aquadest. Endapan lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 6 jam. Setelah kering kompleks poliiion digiling sampai halus dan diayak dengan ayakan 100 mesh, hingga diperoleh serbuk kompleks poliiion kitosan-natrium alginat. Serbuk kering yang terbentuk lalu ditimbang. Prosedur yang sama juga dilakukan pada larutan dapar asetat pH 4,5 dengan konsentrasi larutan kitosan dan natrium alginat masing-masing 0,1% b/v.

Prosedur ini bertujuan untuk memperoleh hasil serbuk kompleks poliiion terbanyak. Setelah diketahui kondisi optimum yang menghasilkan serbuk kompleks poliiion terbanyak, baik berdasarkan pH larutan maupun berdasarkan perbandingan campuran kedua larutan, kondisi optimum terpilih ini digunakan untuk memproduksi kompleks poliiion selanjutnya.

3. Analisis gugus fungsi

Analisis gugus fungsi KPI dilakukan dengan spektrofotometer infra merah (FTIR). Analisis ini bertujuan untuk melihat apakah terbentuk suatu kompleks poliiion seperti yang diharapkan. Hal yang sama dilakukan pada kitosan dan natrium alginat, sehingga dapat diamati perbedaannya. Sebelumnya serbuk kompleks poliiion dibuat menjadi pelet dengan kalium bromida (KBr) yang telah dikeringkan selama 24 jam pada suhu 105°C. Selanjutnya pengukuran dilakukan pada bilangan gelombang 400-4000 cm⁻¹.

4. Analisis bentuk dan permukaan partikel

Bentuk dan permukaan partikel diperiksa dengan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM). Serbuk ditempelkan pada *holder* dengan memakai lem khusus kemudian dimasukkan ke dalam vakum evaporator untuk dilapisi dengan logam emas (Au). Pada tingkat kevakuman tertentu emas akan menguap dan melapisi partikel serbuk pada *holder*. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam alat SEM lalu diamati. Prosedur yang sama juga dilakukan terhadap kitosan dan natrium alginat.

5. Analisis termodinamika

Analisis ini bertujuan untuk identifikasi dan mengetahui kemurnian suatu zat. Melalui analisis termodinamika dapat diketahui kecenderungan

kompleks poliiion terhadap energi panas. Analisis ini dilakukan dengan mengukur suhu puncak yang terjadi saat energi atau panas yang diserap atau dibebaskan oleh bahan pada saat bahan tersebut dipanaskan, didinginkan atau ditahan pada tekanan tetap. Pada saat yang bersamaan alat dapat menghitung jumlah energi yang diserap atau dibebaskan tersebut. Caranya adalah dengan memanaskan sampel dan pembanding inert pada laju yang terprogram. Analisis dilakukan terhadap serbuk kompleks poliiion, serbuk kitosan, dan serbuk natrium alginat dengan *differential scanning calorimeter*.

6. Uji daya mengembang

Serbuk kompleks poliiion, kitosan, dan natrium alginat masing-masing dicetak dengan mesin cetak tablet secara manual dengan bobot 100 mg masing-masing sebanyak sepuluh buah. Proses uji daya mengembang ini menggunakan alat bantu berupa keranjang disolusi. Selanjutnya bahan-bahan yang telah dicetak ini ditimbang satu-persatu (W) lalu dimasukkan ke dalam keranjang disolusi dan ditimbang kembali (W_1), lalu dicelupkan ke dalam gelas piala 25 ml yang berisi 20 ml medium larutan asam klorida 0,1 N dalam penangas air suhu 37°C . Setelah 15 menit, keranjang disolusi dikeluarkan dari medium, dikeringkan secara hati-hati, lalu ditimbang, diperoleh bobot setelah 15 menit (W_2).

Setelah ditimbang, tablet dimasukkan kembali ke dalam medium. Penimbangan dengan prosedur yang sama dilakukan pada interval 30, 45, 60, 90, dan 120 menit. Kemudian dibuat grafik daya mengembang terhadap waktu. Prosedur yang sama juga dilakukan dengan medium aquadest dan larutan dapar fosfat pH 7,2.

Daya mengembang dihitung dengan rumus:

$$\frac{W_2 - W_1}{W}$$

7. Profil disolusi atenolol dari matriks kompleks poliiion kitosan-natrium alginat

- a. Penentuan panjang gelombang maksimum atenolol dalam larutan dapar fosfat pH 7,2 dan larutan asam klorida 0,1 N

Sebanyak kurang lebih 100 mg atenolol ditimbang secara seksama kemudian dilarutkan dalam larutan dapar fosfat pH 7,2 dalam labu tentukur 100,0 ml. Kemudian volumenya dicukupkan hingga batas dengan larutan dapar fosfat pH 7,2 lalu dikocok hingga homogen. Sebanyak 5,0 ml larutan dipipet secara kuantitatif, dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, lalu diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,2 hingga batas. Kemudian larutan dikocok hingga homogen. Selanjutnya serapan larutan diukur pada panjang gelombang 220-340 nm hingga diperoleh panjang gelombang

maksimum untuk atenolol dalam larutan dapar fosfat pH 7,2. Prosedur yang sama dilakukan untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum atenolol dalam asam klorida 0,1 N.

- b. Pembuatan kurva kalibrasi atenolol dalam larutan dapar fosfat pH 7,2 dan asam klorida 0,1 N

Pembuatan kurva kalibrasi atenolol dilakukan setelah panjang gelombang maksimum atenolol dalam kedua pelarut diperoleh. Sebanyak kurang lebih 100 mg atenolol ditimbang secara seksama kemudian dilarutkan dalam larutan dapar fosfat pH 7,2 dalam labu tentukur 100 ml. Selanjutnya, dari larutan tersebut dipipet masing-masing sebanyak 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; dan 8,0 ml secara kuantitatif. Selanjutnya larutan diencerkan dalam labu ukur 50,0 ml hingga batas tanda dengan larutan dapar fosfat pH 7,2, sehingga diperoleh larutan dengan kadar masing-masing 60, 80, 100, 120, 140, dan 160 $\mu\text{g/ml}$. Masing-masing larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Kurva kalibrasi atenolol dalam dapar fosfat pH 7,2 diperoleh dengan memplot serapan terhadap konsentrasi larutan. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk memperoleh kurva kalibrasi atenolol dalam asam klorida 0,1 N.

c. Pembuatan matriks padat

Sebanyak 50 mg atenolol dicampur secara fisik dengan 150 mg serbuk kompleks poliiion hingga merata. Selanjutnya campuran keduanya dicetak dengan alat cetak tablet dengan metode cetak langsung. Prosedur yang sama juga dilakukan terhadap kitosan, natrium alginat, dan campuran fisik antara kitosan dengan natrium alginat dengan perbandingan 1:1.

d. Uji disolusi atenolol dari matriks KPI

Uji disolusi obat dari matriks dilakukan menggunakan alat disolusi tipe satu, yaitu menggunakan keranjang disolusi dengan kecepatan 50 rpm. Uji ini dilakukan dalam medium larutan dapar fosfat pH 7,2 pada suhu $37 \pm 0,5$ °C. Pengambilan sampel larutan dilakukan pada waktu tertentu sejumlah 5 ml hingga jam kedelapan. Setiap kali setelah pengambilan sampel dilakukan penambahan 5 ml larutan dapar fosfat pH 7,2 untuk mengganti volume yang hilang saat pengambilan sampel. Jumlah atenolol terlarut dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 274,5 nm, menggunakan blanko larutan dapar fosfat pH 7,2. Jumlah atenolol terlarut diperoleh dengan perhitungan menggunakan persamaan kurva kalibrasi atenolol dalam larutan dapar fosfat pH 7,2

Uji disolusi dilakukan terhadap matriks kompleks poliiion, kitosan, natrium alginat, dan campuran fisik kitosan-natrium alginat dengan perbandingan 1:1 dan masing-masing dilakukan sebanyak tiga kali.

Untuk mengetahui pengaruh pH medium terhadap profil disolusi atenolol dari matriks KPI, uji disolusi juga dilakukan dalam medium asam klorida 0,1 N. Prosedur uji disolusi dalam asam dilakukan dengan cara yang sama seperti dalam larutan dapar fosfat pH 7,2.

