



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI KITOSAN SUKSINAT
SEBAGAI MATRIKS PADA GRANUL LEPAS LAMBAT
MUKOADHESIF**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
sarjana farmasi**

**AGATHA DWI SETIASTUTI
0706264425**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Agatha Dwi Setiastuti
NPM : 0706264425
Tanda Tangan :
Tanggal : Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Agatha Dwi Setiastuti
NPM : 0706264425
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Preparasi dan Karakterisasi Kitosan Suksinat sebagai Matriks pada Granul Lepas Lambat Mukoadhesif

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt (.....)

Penguji I : Dr. Iskandarsyah, MS., Apt. (.....)

Penguji II : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed., Apt. (.....)

Penguji III : Dr. Harmita, Apt. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Juli 2011

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas limpahan berkat dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mengikuti ujian Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

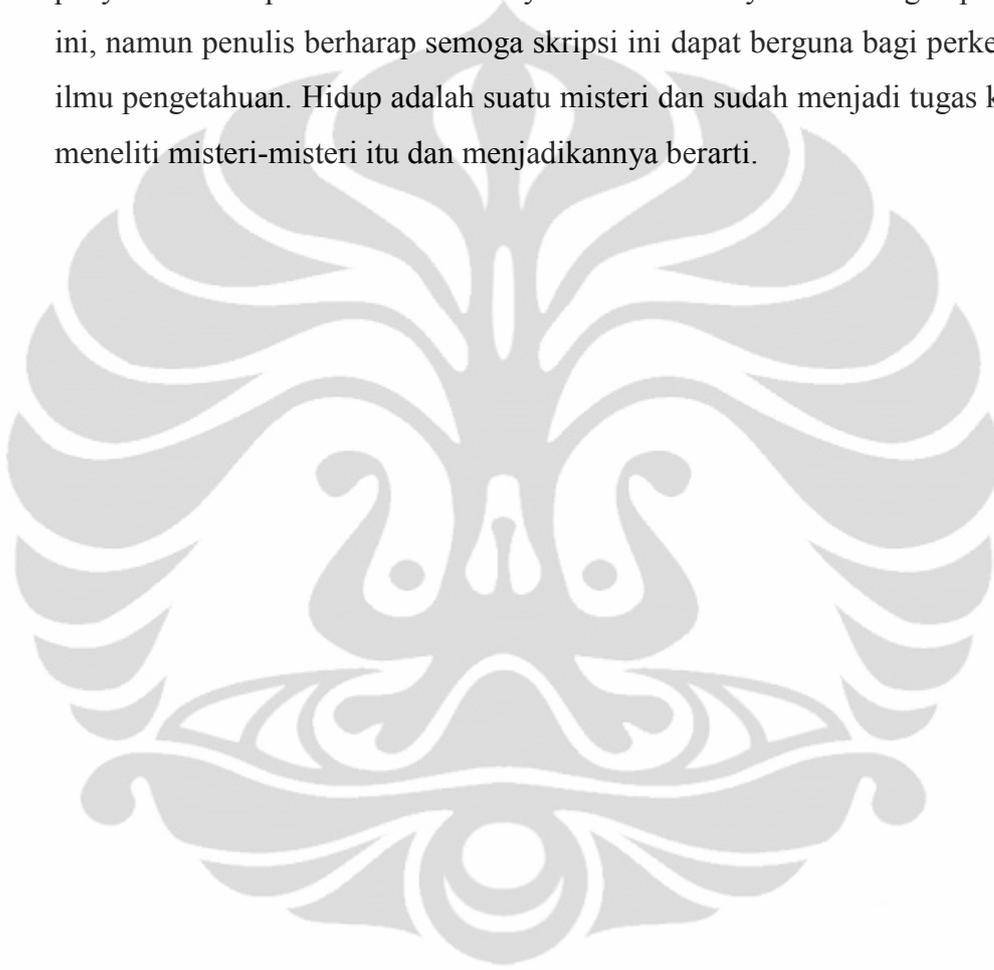
Pada kesempatan ini, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI, yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Ibu Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt., selaku pembimbing skripsi dan pembimbing akademis, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasihat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt., selaku Kepala Laboratorium Teknologi Farmasi, Bapak Drs. Hayun, M.Si, selaku Kepala Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif, dan Bapak Sutriyo, M.Si, selaku Kepala Laboratorium Farmasetika Departemen Farmasi FMIPA UI, beserta segenap laboran yang telah memberikan bimbingan, nasihat, saran, dan izin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium-laboratorium tersebut.
4. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Kedua orang tua, Bapak Stanislaus Suwardi dan Ibu Fransiska Subari, serta kakakku tercinta, dr. Maria dan dr. Danang, untuk segala dukungan dan doa yang menyertai penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

6. Teman-teman seperjuanganku, Farmasi UI angkatan 2007, dan sahabatku tersayang, Veto, untuk segala perhatian dan kerja sama yang kalian berikan.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang MahaKuasa akan membalas kebaikan segala pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Hidup adalah suatu misteri dan sudah menjadi tugas kita untuk meneliti misteri-misteri itu dan menjadikannya berarti.

Penulis
2011



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Agatha Dwi Setiastuti
NPM : 0706264425
Program Studi : Farmasi (S1 Reguler)
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Preparasi dan Karakterisasi Kitosan Suksinat sebagai Matriks pada Granul Lepas Lambat Mukoadhesif

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 11 Juli 2011

Yang menyatakan

(Agatha Dwi Setiastuti)

ABSTRAK

Nama : Agatha Dwi Setiastuti
Program Studi : Farmasi
Judul : Preparasi dan Karakterisasi Kitosan Suksinat sebagai Matriks pada Granul Lepas Lambat Mukoadhesif

Kitosan merupakan polimer alam yang digunakan secara luas dalam bidang farmasi. Hal tersebut didukung oleh karakteristik unggul yang dimiliki oleh kitosan, seperti biodegradabel, biokompatibel, dan tidak toksik. Namun, pemanfaatan kitosan seringkali dibatasi oleh kelarutannya. Kitosan larut dalam medium dengan $\text{pH} < 6,5$, tetapi tidak larut dalam pelarut organik, pelarut yang bersifat alkali, maupun pelarut netral. Oleh karena itu, dilakukan modifikasi terhadap kitosan melalui penambahan anhidrida suksinat dalam pelarut piridin untuk memperluas kelarutan polimer tersebut. Derajat substitusi kitosan suksinat ditentukan dengan metode titrasi asam basa. Derajat substitusi yang diperoleh yaitu 1,97 mol/g. Kitosan suksinat yang dihasilkan menunjukkan perubahan sifat fungsional dibandingkan kitosan, yaitu dapat larut dalam medium dengan $\text{pH} > 6,8$. Kitosan suksinat tersebut digunakan sebagai polimer pembentuk matriks pada granul. Pembuatan granul menggunakan metode granulasi basah dengan natrium diklofenak sebagai model obat. Granul hasil formulasi memiliki daya mukoadhesif terhadap mukosa usus tikus. Hasil uji pelepasan obat secara *in vitro* menunjukkan bahwa granul kitosan suksinat dapat mengurangi pelepasan obat dalam medium HCl pH 1,2. Di samping itu, granul kitosan suksinat dapat memperlambat pelepasan obat dalam medium dapar fosfat pH 7,4 hingga 32 jam untuk formula yang mengandung polimer sebanyak 12 kali zat aktif, dengan kinetika pelepasan obat mengikuti persamaan orde nol. Oleh karena itu, granul kitosan suksinat dapat diaplikasikan sebagai sediaan lepas lambat mukoadhesif.

Kata kunci:

kitosan, kitosan suksinat, polimer mukoadhesif, granul, matriks, sediaan lepas lambat

xv+109 halaman : 19 gambar; 12 tabel; 38 lampiran
Daftar acuan : 54 (1936-2011)

ABSTRACT

Name : Agatha Dwi Setiastuti
Program Study : Pharmacy
Title : Preparation and Characterization of Chitosan Succinate as Matrix in Mucoadhesive Sustained Release Granule

Chitosan is a potential polymer in pharmaceutical field due to the characteristics which are biodegradable, biocompatible, and non toxic. However, chitosan has solubility problem. Chitosan is soluble in acidic solutions where the pH is < 6.5 , but it is insoluble in organic, neutral, and alkaline solvents. Hence, chitosan was modified by introducing succinyl groups to chitosan's amine moieties by using succinic anhydride in organic solvent to expand the solubility. The resulting chitosan succinate was characterized with neutralization titration to determine the degree of substitution. As result, the degree of substitution of chitosan succinate was 1.97 mol/g. The resulting chitosan succinate showed different functional characteristic compared to chitosan. Chitosan succinate could dissolved in solutions, which pH were above 6.8. Furthermore, chitosan succinate was prepared as matrix in granule by wet granulation method. In this research, sodium diclofenac was used as a model drug. Good mucoadhesive properties on rat small intestine were obtained from the granule. The *in vitro* release study was carried out. Drug release from granule decreased in HCl solution (pH : 1,2). Granule, which contained chitosan succinate twelve-fold of drug, could retain drug release up to 32 hours in phosphate buffer (pH : 7,4). This result showed that this formulation has the best characteristic as sustained release dosage form due to its zero order kinetics. This study suggested that granule could be applied as mucoadhesive sustained release dosage form.

Keywords:

chitosan, chitosan succinate, mucoadhesive polymer, granule, matrix, sustained release dosage forms

xv+109 pages : 19 figures; 12 tables; 38 appendices

Bibliography : 54 (1936-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR RUMUS.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Tujuan penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Kitosan.....	4
2.2 Anhidrida suksinat.....	7
2.3 Reaksi N-asilasi.....	8
2.4 Kitosan suksinat.....	9
2.5 Sediaan lepas lambat.....	11
2.6 Sistem penghantaran obat mukoadhesif.....	13
2.7 Bentuk sediaan granul.....	16
2.8 Uji disolusi.....	18
2.9 Kinetika pelepasan obat.....	19
2.10 Natrium diklofenak.....	20
2.11 Piridin.....	22
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Tempat dan waktu penelitian.....	23
3.2 Alat.....	23
3.3 Bahan.....	23
3.4 Cara kerja.....	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Preparasi kitosan suksinat.....	36
4.2 Karakterisasi kitosan suksinat.....	38
4.3 Pembuatan granul lepas lambat mukoadhesif.....	53
4.4 Evaluasi granul lepas lambat mukoadhesif.....	56
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	75
5.1 Kesimpulan.....	75
5.2 Saran.....	75
DAFTAR ACUAN.....	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Rumus struktur kitin dan kitosan.....	5
Gambar 2.2	Rumus struktur anhidrida suksinat.....	8
Gambar 2.3	Rumus struktur gugus karbonil dan gugus asil	8
Gambar 2.4	Mekanisme reaksi substitusi asil nukleofilik	9
Gambar 2.5	Reaksi sintesis kitosan menjadi kitosan suksinat dengan penambahan anhidrida suksinat dalam piridin	10
Gambar 2.6	Rumus struktur kitosan suksinat	10
Gambar 2.7	Skema difusi obat menurut sistem reservoir pada sediaan lepas lambat	12
Gambar 2.8	Rumus struktur natrium diklofenak	21
Gambar 2.9	Rumus struktur piridin.....	22
Gambar 4.1	Serbuk kitosan dan kitosan suksinat	39
Gambar 4.2	Spektrum inframerah dari kitosan suksinat dan kitosan (<i>overlay</i>)	41
Gambar 4.3	Rheogram dari gel kitosan suksinat dengan konsentrasi 6%.....	47
Gambar 4.4	Profil indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat dalam medium HCl pH 1,2 dan medium dapar fosfat pH 7,4.....	49
Gambar 4.5	Bentuk dan morfologi kitosan dan kitosan suksinat menggunakan SEM	51
Gambar 4.6	Kurva analisis sifat termal dari kitosan dan kitosan suksinat.....	53
Gambar 4.7	Granul lepas lambat mukoadhesif dari keempat formula	55
Gambar 4.8	Profil indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium HCl pH 1,2 dan medium dapar fosfat pH 7,4	61
Gambar 4.9	Profil uji pencucian granul (<i>wash off</i>) pada mukosa usus tikus dalam medium dapar fosfat pH 7,4.....	63
Gambar 4.10	Profil pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium HCl pH 1,2 (120 menit) dilanjutkan dengan medium dapar fosfat pH 7,4 (480 menit)	69

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perhitungan kinetika obat	19
Tabel 2.2	Hubungan eksponen pelepasan (n) dengan mekanisme pelepasan obat menurut model persamaan Korsmeyer-Peppas berdasarkan berbagai bentuk geometri sediaan	20
Tabel 3.1	Formulasi granul lepas lambat mukoadhesif	30
Tabel 3.2	Skala flowabilitas	32
Tabel 4.1	Hasil uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut berdasarkan pengamatan visual (secara kualitatif).....	44
Tabel 4.2	Hasil uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif.....	46
Tabel 4.3	Pengukuran pH kitosan suksinat	49
Tabel 4.4	Densitas dan kompresibilitas kitosan dan kitosan suksinat	50
Tabel 4.5	Hasil evaluasi granul lepas lambat mukoadhesif dari keempat formula menurut berbagai parameter	56
Tabel 4.6	Hasil uji kekuatan perlekatan granul mukoadhesif pada mukosa usus tikus menggunakan <i>texture analyser</i>	65
Tabel 4.7	Persentase pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif	70
Tabel 4.8	Kinetika pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif	73

DAFTAR RUMUS

Rumus	3.1	Rumus perhitungan normalitas NaOH 1 N.....	25
Rumus	3.2	Rumus perhitungan normalitas HCl 1 N.....	25
Rumus	3.3	Rumus perhitungan derajat substitusi kitosan suksinat.....	26
Rumus	3.4	Rumus perbandingan serapan dengan konsentrasi kitosan suksinat pada uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif.....	27
Rumus	3.5	Rumus perhitungan indeks mengembang.....	28
Rumus	3.6	Rumus perhitungan indeks kompresibilitas.....	28
Rumus	3.7	Rumus perhitungan faktor perolehan kembali proses.....	30
Rumus	3.8	Rumus perhitungan sudut reposa.....	31
Rumus	3.9	Rumus perhitungan efisiensi penyerapan obat.....	33



DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	1.	Diagram faktor perolehan kembali granul lepas lambat mukoadhesif.....	81
Gambar	2.	Diagram kadar air granul lepas lambat mukoadhesif.....	81
Gambar	3.	Diagram indeks kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif.....	81
Gambar	4.	Diagram laju alir granul lepas lambat mukoadhesif.....	82
Gambar	5.	Diagram sudut reposita dari granul lepas lambat mukoadhesif.....	82
Gambar	6.	Diagram efisiensi penyerapan natrium diklofenak dalam granul lepas lambat mukoadhesif.....	82
Gambar	7.	Spektrum serapan natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4.....	83
Gambar	8.	Kurva kalibrasi natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4.....	83
Gambar	9.	Hasil uji pencucian granul (<i>wash off</i>) dari formula 2.....	84
Gambar	10.	Hasil uji pencucian granul (<i>wash off</i>) dari formula 4.....	84
Gambar	11.	Alat uji disolusi termodifikasi.....	84
Gambar	12.	Spektrum inframerah kitosan suksinat.....	85
Gambar	13.	Spektrum inframerah kitosan.....	86
Tabel	1.	Perubahan visual yang terjadi pada sintesis kitosan suksinat.....	87
Tabel	2.	Ringkasan karakterisasi kitosan suksinat hasil sintesis.....	89
Tabel	3.	Pembakuan HCl 1N.....	90
Tabel	4.	Pembakuan NaOH 1N.....	90
Tabel	5.	Penentuan derajat substitusi kitosan suksinat.....	90
Tabel	6.	Viskositas kitosan suksinat dalam larutan 0,037% NH ₄ OH...	91
Tabel	7.	Indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat dalam medium HCl pH 1,2.....	91
Tabel	8.	Indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat dalam medium dapar fosfat pH 7,4.....	92
Tabel	9.	Data uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif.....	93
Tabel	10.	Hasil uji perolehan kembali (UPK) granul lepas lambat mukoadhesif.....	94
Tabel	11.	Hasil uji kadar air granul lepas lambat mukoadhesif.....	94
Tabel	12.	Hasil uji kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif.....	94
Tabel	13.	Hasil uji laju alir dan sudut reposita granul lepas lambat mukoadhesif.....	95
Tabel	14.	Efisiensi penyerapan natrium diklofenak dalam granul lepas lambat mukoadhesif.....	95
Tabel	15.	Indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium HCl pH 1,2.....	96
Tabel	16.	Indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium dapar fosfat pH 7,4.....	97

Tabel	17.	Data serapan natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4.....	98
Tabel	18.	Data pelepasan kumulatif natrium diklofenak secara <i>in vitro</i> dari granul lepas lambat mukoadhesif.....	99
Tabel	19.	Data perlekatan granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dengan metode pencucian granul (<i>wash off</i>).....	100
Lampiran	1.	Perhitungan pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif.....	104
Lampiran	2.	Contoh perhitungan jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif.....	105
Lampiran	3.	Sertifikat analisis kitosan.....	106
Lampiran	4.	Sertifikat analisis anhidrida suksinat.....	107
Lampiran	5.	Sertifikat analisis natrium diklofenak.....	108
Lampiran	6.	Sertifikat analisis tikus untuk uji daya mukoadhesif.....	109



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Indonesia merupakan negara maritim dengan luas wilayah perairan mencapai 5,8 juta km². Oleh karena itu, Indonesia memiliki sumber daya alam laut yang melimpah, salah satunya berupa udang. Indonesia merupakan salah satu negara pengekspor udang. Ekspor udang diprediksi menghasilkan limbah berupa kulit dan kepala udang dengan bobot mencapai 50-60% dari bobot udang utuh sehingga menyebabkan pencemaran lingkungan (Sugita, Wukirsari, Sjahriza, dan Wahyono, 2009). Pemanfaatan limbah kulit udang, salah satunya sebagai bahan baku pembuatan kitosan, dapat menjadi alternatif upaya pengendalian pencemaran lingkungan.

Kitosan merupakan salah satu polimer yang terdapat dalam jumlah melimpah di alam, yaitu menempati urutan kedua setelah selulosa (Sugita, Wukirsari, Sjahriza, dan Wahyono, 2009). Kitosan diperoleh melalui reaksi N-deasetilasi kitin yang banyak terkandung dalam eksoskeleton suku Crustaceae, seperti udang, kepiting, dan lobster (Champagne, 2008). Kitosan telah digunakan secara luas dalam dunia farmasi, misalnya sebagai polimer mukoadhesif (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999), zat pengental, agen pensuspensi (Mathiowitz, 1999), dan agen pengkelat ion logam (Sandford, 1988). Pemanfaatan tersebut dilatarbelakangi oleh beberapa karakteristik unggul yang dimiliki oleh kitosan, seperti biodegradabel, biokompatibel, dan tidak toksik (Mathiowitz, 1999).

Kitosan merupakan polimer yang memiliki berbagai karakteristik yang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi. Namun, pemanfaatan kitosan seringkali terhalang oleh sifat kelarutan kitosan yang sangat bergantung pada pH. Kitosan sukar larut dalam pelarut organik, pelarut yang bersifat alkali, maupun pelarut netral. Kitosan dapat larut dengan baik pada suasana asam (Mathiowitz, 1999).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memperbaiki sifat kelarutan kitosan. Penelitian-penelitian tersebut didukung oleh struktur kimia kitosan, yang berupa poliaminoglikosida, sehingga memungkinkan terjadinya interaksi antara

gugus amino dari kitosan dengan gugus karbonil dari anhidrida asam membentuk ikatan amida (Aiedeh dan Taha, 1999). Aiedeh dan Taha (1999) telah melakukan penelitian mengenai sintesis dan karakterisasi derivat kitosan, yaitu kitosan suksinat. Berdasarkan penelitian tersebut, diperoleh hasil bahwa kelarutan kitosan suksinat berkurang dalam medium asam, tetapi meningkat dalam medium basa.

Modifikasi kitosan menjadi kitosan suksinat tidak menghilangkan mukoadhesivitas polimer tersebut. Rekha dan Sharma (2008) telah mengaplikasikan kitosan suksinat sebagai eksipien dalam mikrosfer mukoadhesif. Daya mukoadhesif yang dimiliki oleh kitosan suksinat merupakan salah satu karakteristik yang bermanfaat dalam meningkatkan efektivitas penghantaran obat. Sediaan mukoadhesif memungkinkan suatu obat melekat pada membran mukus loka aksi sehingga dapat memperpanjang waktu tinggal obat pada loka aksi (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999). Dengan demikian, sediaan mukoadhesif diharapkan mampu meningkatkan kadar obat pada loka aksi sehingga dapat meningkatkan efek farmakologi obat.

Kitosan suksinat yang disintesis selanjutnya digunakan sebagai polimer pembentuk matriks pada sediaan granul lepas lambat mukoadhesif dengan natrium diklofenak sebagai model obat. Natrium diklofenak merupakan salah satu obat golongan anti inflamasi non-steroid (AINS). Obat-obat AINS memiliki efek samping, yaitu dapat mengiritasi lambung. Kitosan suksinat diprediksi dapat mengurangi pelepasan obat di lambung sehingga dapat mencegah iritasi lambung oleh obat AINS. Natrium diklofenak digunakan secara luas dalam pengobatan jangka panjang terhadap penyakit degeneratif pada persendian, seperti rheumatoid arthritis. Di samping itu, waktu paruh natrium diklofenak relatif singkat, yaitu 1-2 jam (Sweetman (ed.), 2009). Oleh karena itu, natrium diklofenak sesuai untuk diformulasikan sebagai sediaan lepas lambat (Bertocchi, Antoniella, Valvo, Alimonti, dan Memoli, 2005). Sediaan lepas lambat bertujuan untuk mengurangi frekuensi pemberian obat.

Dalam penelitian ini akan dilakukan sintesis kitosan suksinat dari kitosan dan anhidrida suksinat menggunakan pelarut organik. Kitosan suksinat hasil sintesis kemudian dikarakterisasi dan diaplikasikan sebagai granul lepas lambat mukoadhesif pada usus halus. Karakterisasi kitosan suksinat hasil sintesis meliputi

Universitas Indonesia

evaluasi penampilan fisik, pengenalan gugus suksinat dengan *Fourier Transform Infrared Spectrometer*, uji derajat substitusi, uji kekentalan, uji kelarutan, uji daya mengembang, pengukuran pH, uji kompresibilitas, pengamatan terhadap bentuk dan morfologi permukaan polimer, dan analisis sifat termal. Di samping itu, akan dilakukan evaluasi terhadap granul lepas lambat mukoadhesif hasil formulasi, yang meliputi uji faktor perolehan kembali, uji kadar air, uji laju alir dan sudut istirahat, uji kompresibilitas, uji daya mengembang, uji pencucian granul (*wash off*), uji kekuatan daya mukoadhesif, uji pelepasan zat aktif dalam granul secara *in vitro*, dan efisiensi penyerapan obat dalam granul.

1.2. Tujuan penelitian

1. Memperoleh polimer kitosan suksinat sebagai hasil sintesis dari kitosan dan anhidrida suksinat menggunakan pelarut organik (piridin)
2. Memperoleh data karakterisasi dari kitosan suksinat hasil sintesis
3. Memperoleh granul lepas lambat mukoadhesif sebagai hasil formulasi dari kitosan suksinat hasil sintesis
4. Memperoleh data evaluasi terhadap granul lepas lambat mukoadhesif yang diformulasikan

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kitosan

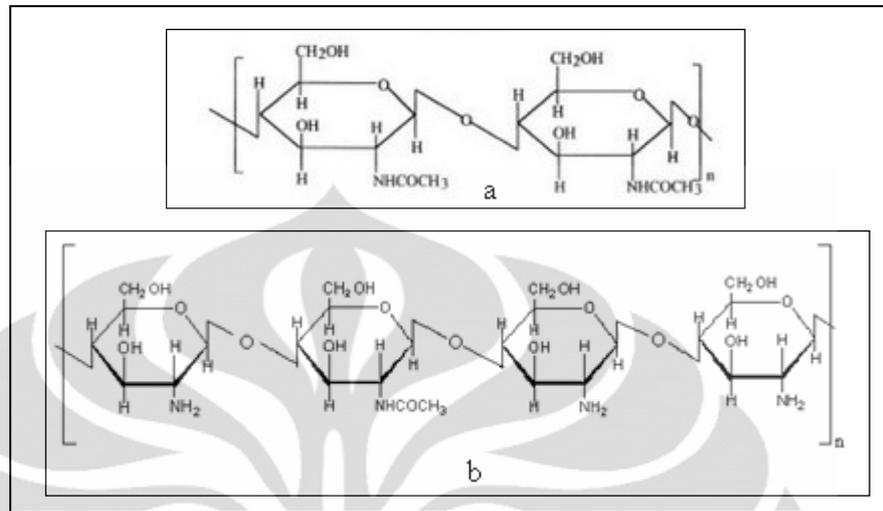
2.1.1. Definisi kitosan

Indonesia merupakan negara maritim dengan luas wilayah perairan mencapai 5,8 juta km². Oleh karena itu, Indonesia memiliki sumber daya alam laut yang melimpah, salah satunya berupa udang. Indonesia merupakan salah satu negara pengekspor udang. Sekitar 80-90% udang yang diekspor merupakan udang beku tanpa kulit dan kepala. Berdasarkan data tersebut, ekspor udang diprediksi menghasilkan limbah berupa kulit dan kepala udang dengan bobot mencapai 50-60% dari bobot udang utuh sehingga menyebabkan pencemaran lingkungan (Sugita, Wukirsari, Sjahriza, dan Wahyono, 2009). Pemanfaatan limbah kulit udang, salah satunya sebagai bahan baku pembuatan kitosan, dapat menjadi alternatif upaya pengendalian pencemaran lingkungan.

Kitosan merupakan polisakarida yang tersusun atas dua subunit, yaitu D-glukosamin dan N-asetil-D-glukosamin yang dihubungkan oleh ikatan $\beta(1,4)$ glikosida (Mathiowitz, 1999). Kitosan diperoleh dari kitin, penyusun utama dari eksoskeleton kelompok Crustacea laut, seperti udang, kepiting, dan lobster (Duck, Hosun, Ha Na, dan Woo, 2009). Kitin juga dihasilkan dari cangkang moluska, beberapa fungi, insekta, dan alga (Champagne, 2008). Kitin sangat melimpah di alam, yaitu menempati urutan kedua setelah selulosa sehingga kitin merupakan biopolimer yang mudah diperoleh dengan harga relatif murah (Sugita, Wukirsari, Sjahriza, dan Wahyono, 2009).

Kitosan terbentuk melalui reaksi deasetilasi kitin menggunakan NaOH pada temperatur tinggi (Mathiowitz, 1999). Kitin dan kitosan merupakan kopolimer : kitin adalah poli-N-asetilglukosamin dengan derajat deasetilasi yang rendah, sedangkan kitosan merupakan kitin yang terdeasetilasi sebagian menghasilkan poliglukosamin (Mathiowitz, 1999).

Derajat deasetilasi kitosan berkisar antara 70%-95% (Säkkinen, 2003). Rumus struktur kitin dan kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.1.



[Sumber : Champagne, 2008, halaman 3]

Gambar 2.1. Rumus struktur : a) kitin dan b) kitosan “telah diolah kembali”

2.1.2. Karakteristik kitosan

2.1.2.1. Sifat elektronik kitosan

Ketika berada dalam larutan dengan pH asam, kitosan membentuk polielektrolit linear yang bersifat basa lemah (Sandford, 1988). Gugus amino pada subunit N-terdeasetilasi dapat terprotonasi dalam pH rendah (< 6,5) sehingga terbentuk polimer polikationik. Muatan positif pada kitosan dapat berinteraksi kuat dengan material bermuatan negatif, seperti protein, polisakarida anionik, asam nukleat, maupun dengan permukaan bermuatan negatif, seperti glikoprotein pada mukosa sehingga kitosan berpotensi sebagai polimer mukoadhesif (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999). Interaksi tersebut timbul sebagai reaksi netralisasi antara komponen-komponen yang berbeda muatan tersebut.

Kitosan memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan beberapa ion logam sehingga dapat digunakan untuk (Sandford, 1988) :

1. Mengkkelat ion besi, tembaga, dan magnesium
2. Mengeliminasi ion logam berat bersifat toksik, seperti perak, kadmium, merkuri, timah, nikel, dan kromium

3. Radionucleides (Pu, U)

2.1.2.2. Sifat biologis kitosan (Sandford, 1988)

Kitosan bersifat biokompatibel karena polimer alam tersebut dapat terdegradasi dalam tubuh (biodegradabel) dan baik kitosan maupun hasil degradasinya tidak toksik. Di samping itu, kitosan juga menunjukkan beberapa aktivitas biologis, seperti akselerator penyembuhan luka, reduktor kadar kolesterol dalam darah, dan sebagai imunostimulan.

2.1.2.3. Sifat kimia kitosan (Sandford, 1988)

Kitosan, suatu polimer dengan bobot molekul besar, memiliki struktur sebagai poliamin linear (poli-D-glukosamin) dengan gugus amino yang reaktif sehingga dapat bereaksi dengan senyawa bersifat asam dan membentuk garam. Selain mengandung gugus amino, struktur kitosan dapat pula diklasifikasikan sebagai derivat selulosa, di mana gugus hidroksil yang terikat secara primer pada atom karbon nomor 6 dan gugus hidroksil sekunder pada atom karbon nomor 3 merupakan gugus yang reaktif sehingga dapat dimanfaatkan dalam proses modifikasi.

2.1.2.4. Sifat fisika kitosan (Sandford, 1988)

Kitosan berbentuk serpihan amorf, berwarna putih atau putih kecoklatan, dan tidak berbau. Kitosan tidak larut dalam air, pelarut organik, larutan bersifat netral, maupun larutan alkali ($\text{pH} > 6,5$). Penambahan asam organik, seperti asam asetat dan asam formiat dapat meningkatkan kelarutan kitosan karena terjadi protonasi pada gugus amino ($-\text{NH}_2$) membentuk gugus ($-\text{NH}_3^+$) yang bersifat kationik. Adapun, senyawa ionik lebih polar sehingga lebih larut dalam air. Secara umum, kitosan larut dalam asam ($\text{pH} < 4$), namun dalam beberapa larutan asam (H_2SO_4 dan H_3PO_4), kitosan kurang larut (Mathiowitz, 1999). Bobot molekul kitosan yang besar (10-1000 kDa) (Säkkinen, 2003) dan struktur kitosan yang berupa rantai panjang tidak bercabang menyebabkan larutan kitosan memiliki viskositas tinggi.

2.1.3. Aplikasi kitosan

Kitosan telah digunakan secara luas dalam bidang teknologi farmasi, yaitu sebagai eksipien dalam sediaan lepas terkendali, polimer mukoadhesif (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999), polimer yang berpotensi sebagai membran biologis artificial (Teruo, Kazuhiko, Hitoshi, Takashi, dan Yasuharu, 1992), zat pengental, stabilisator, agen pensuspensi (Mathiowitz, 1999), agen pengkelat ion logam (Sandford, 1988), zat tambahan pada makanan (dikembangkan di Jepang dan Amerika Serikat) (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999), dan sebagai eksipien dalam sistem penghantaran obat menuju target (Aiedeh dan Taha, 1999). Di samping itu, kitosan juga memiliki beberapa aktivitas biologis, seperti antibakteri dan antifungi (Sonone, Malve, Naikwade, dan Shirote, 2010).

2.2. Anhidrida suksinat (Mclean dan Adams, 1936)

Rumus Molekul : $C_4H_4O_3$

Nama Lain : Asam suksinat anhidrida, Suksinil oksida, Dihidro-2,5-furandion

Pemerian : berbentuk kristal jarum, tidak berwarna atau putih pucat

Kelarutan : larut dalam alkohol dan kloroform; tidak larut dalam air (<1 mg/mL pada 70° F)

Titik Lebur : 119-120°C

Bobot Molekul : 100,07 g/mol

Titik Didih : 261°C

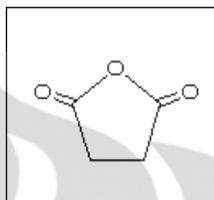
Berat Jenis : 4,16 g cm⁻³

Profil Reaktivitas : Reaksi anhidrida suksinat dalam air bersifat eksotermal dan dapat dipercepat dengan penambahan asam. Reaksi berlangsung lambat, tetapi dapat menimbulkan reaksi hebat jika disertai dengan pemanasan lokal yang mempercepat reaksi. Dalam

larutan air, anhidrida suksinat berubah menjadi asam suksinat.

Inkompatibilitas : asam, oksidator kuat, alkohol, amina, dan senyawa basa

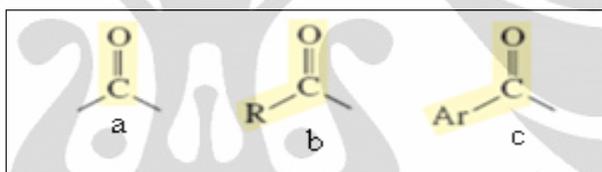
Rumus Struktur :



Gambar 2.2. Rumus struktur anhidrida suksinat

2.3. Reaksi N-asilasi

Golongan senyawa asil terdiri dari kelompok karbonil yang melekat pada gugus alkil atau aril, seperti tampak pada Gambar 2.3.

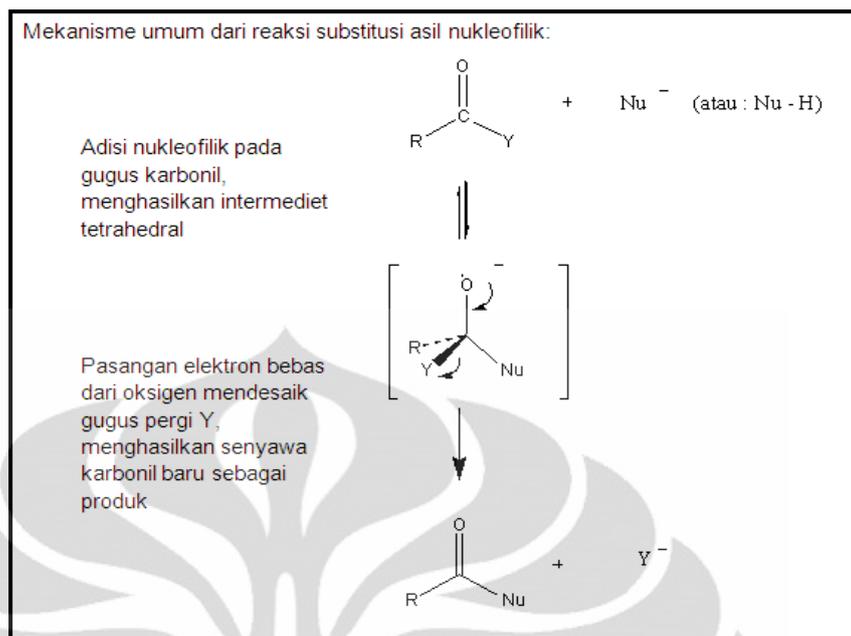


[Sumber : Prahasiwi, Sarmoko, Nugrahani, dan Khumaidi, 2010, halaman 1]

Gambar 2.3. Rumus struktur gugus karbonil (a) dan gugus asil (b dan c) “telah diolah kembali”

Mekanisme reaksi substitusi asil nukleofilik adalah sebagai berikut (Prahasiwi, Sarmoko, Nugrahani, dan Khumaidi, 2010) :

1. Jika nukleofil bermuatan negatif (R^- , HO^- , RO^- , CN^-), nukleofil akan menyerang atom karbon secara cepat sehingga membentuk zat antara, yaitu alkoksida tetrahedral, yang kemudian akan melepaskan gugus pergi (*leaving groups*) ketika melakukan pembentukan ulang ikatan rangkap $C=O$ pada gugus karbonil. Mekanisme dapat dilihat pada Gambar 2.4.
2. Jika nukleofil merupakan molekul netral yang memiliki pasangan elektron bebas (H_2O , ROH), nukleofil membutuhkan suatu katalis asam agar reaksi adisi nukleofilik dapat terjadi. Dalam suasana asam, gugus karbonil akan terprotonasi.



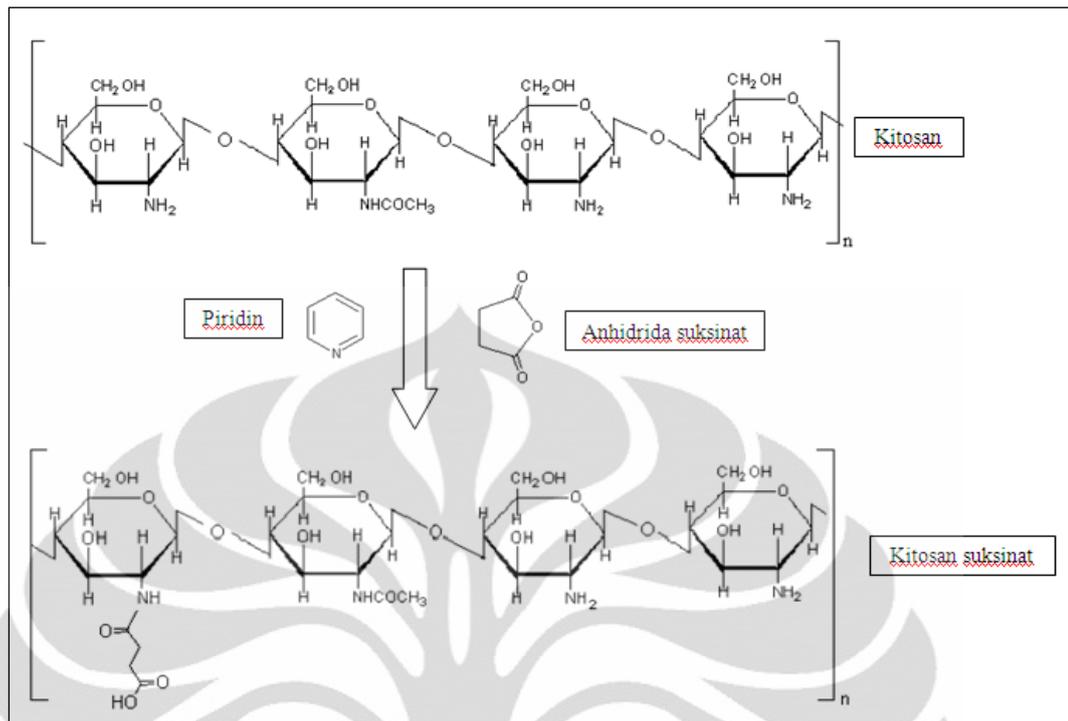
[Sumber : Prahasiwi, Sarmoko, Nugrahani, dan Khumaidi, 2010, halaman 3]

Gambar 2.4. Mekanisme reaksi substitusi asil nukleofilik

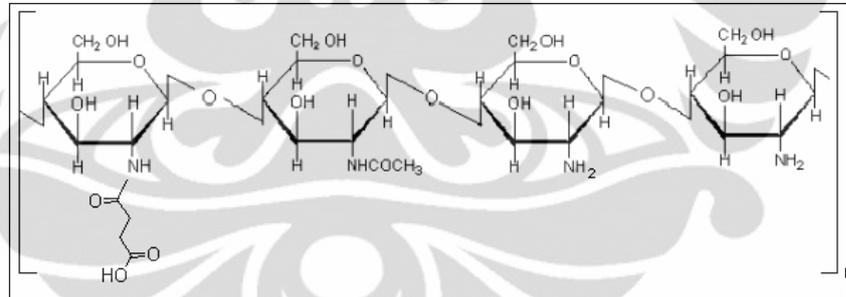
2.4. Kitosan suksinat

Aiedeh dan Taha (1999) telah berhasil melakukan sintesis kitosan suksinat dari kitosan dan anhidrida suksinat menggunakan pelarut organik. Berdasarkan hasil percobaan tersebut, sebagian gugus amino pada kitosan mengalami reaksi N-asilasi dengan gugus karbonil yang berasal dari anhidrida suksinat. Reaksi sintesis kitosan menjadi kitosan suksinat dapat dilihat pada Gambar 2.5. Kitosan mengandung gugus amino yang memiliki karakter nukleofilik lebih kuat dibandingkan dengan gugus hidroksil di sekitarnya. Oleh karena itu, gugus karbonil dari anhidrida asam cenderung bereaksi dengan gugus amino dari kitosan membentuk ikatan amida (Aiedeh dan Taha, 1999). Rumus struktur kitosan suksinat dapat dilihat pada Gambar 2.6.

Pada percobaan tersebut digunakan sodium diklofenak sebagai model obat untuk mengamati profil disolusi matriks kitosan suksinat. Pelepasan obat terjadi secara maksimal pada kondisi pH 7,4. Sebaliknya, pada medium dengan pH 2, matriks kitosan suksinat menahan pelepasan obat. Semakin tinggi konsentrasi kitosan suksinat dalam matriks, ambilan cairan akan berkurang sehingga dapat menurunkan pelepasan obat.



Gambar 2.5. Reaksi sintesis kitosan menjadi kitosan suksinat dengan penambahan anhidrida suksinat dalam piridin



Gambar 2.6. Rumus struktur kitosan suksinat

Penelitian lain melaporkan bahwa kitosan suksinat telah diaplikasikan sebagai eksipien dalam mikrosfer mukoadhesif (Rekha dan Sharma, 2008). Berdasarkan penelitian tersebut, kitosan suksinat menunjukkan sifat mukoadhesif yang optimal pada pH 6,8. Hal tersebut disebabkan pada pH 6,8, gugus karboksil pada suksinat terdapat dalam bentuk bebas sehingga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksi pada glikoprotein mukosa.

2.5. Sediaan lepas lambat

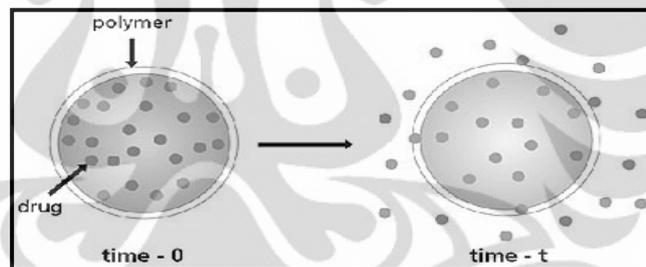
Dewasa ini, sediaan dengan sistem pelepasan yang dimodifikasi telah berkembang pesat, baik sediaan dengan pelepasan diperpanjang (*extended release*) maupun sediaan dengan pelepasan tertunda (*delayed release*). Sediaan yang pelepasannya ditunda, seperti tablet salut enterik, bertujuan untuk menjaga zat aktif agar tidak rusak oleh suasana lambung yang asam. Setelah mencapai usus halus, zat aktif dilepaskan. Sedangkan untuk sediaan yang pelepasannya diperpanjang, pelepasan obat, yang meliputi kecepatan, durasi, dan lokasi ditentukan untuk mencapai dan menjaga kadar terapeutik obat dalam darah (Ansel, Allen, dan Popovich, 1999). Keuntungan sistem pelepasan obat terkendali (Ansel, Allen, dan Popovich, 1999; Robinson dan Lee, 2001) :

1. Memperbaiki bioavailabilitas obat
2. Meminimalkan fluktuasi obat dalam darah
3. Mengurangi frekuensi pemberian obat
4. Meningkatkan kenyamanan dan kepatuhan pasien
5. Mengurangi efek samping, baik lokal maupun sistemik
6. Lebih praktis dan ekonomis

Kadar obat yang konstan dalam darah dapat dicapai melalui kinetika sistem pelepasan obat orde nol yang tidak bergantung pada konsentrasi obat di dalam sistem sehingga kecepatan pelepasan obat konstan. Oleh karena itu, kecepatan obat memasuki sirkulasi harus lebih kurang sama dengan kecepatan eliminasi obat. Kecepatan eliminasi obat secara kuantitatif dideskripsikan sebagai waktu paruh ($t_{1/2}$). Umumnya, obat dengan waktu paruh pendek lebih cocok dibuat menjadi sediaan lepas lambat. Namun, untuk obat-obat dengan waktu paruh sangat pendek (< 2 jam), kurang sesuai dijadikan sediaan lepas lambat karena akan membutuhkan jumlah obat yang lebih banyak dalam tiap unit sediaan untuk menjaga efeknya sehingga sediaan yang dihasilkan akan terlalu besar. Demikian pula, obat dengan waktu paruh terlalu panjang (> 8 jam) tidak dapat digunakan dalam sediaan lepas lambat karena memiliki efek yang lama dalam tubuh (Grass dan Robinson, 1990).

Sediaan lepas lambat dapat dikelompokkan menjadi 2 bentuk, yaitu:

1. Sistem reservoir (sistem membran), merupakan mekanisme pelepasan obat yang dikontrol oleh difusi obat melewati membran, seperti tampak pada Gambar 2.7. Pada sistem tersebut, obat dienkapsulasi oleh membran polimerik, baik yang berpori maupun tidak. Konsentrasi jenuh obat di dalam reservoir penting untuk menjaga gradien konsentrasi yang konstan melewati membran. Polimer yang digunakan sebaiknya tidak terdegradasi atau tidak terurai selama durasi pelepasan obat agar zat aktif dapat dilepaskan sedikit demi sedikit. Mekanisme pelepasan obat yang terjadi :
 - a. cairan tubuh membasahi, kemudian berpenetrasi ke dalam sediaan
 - b. polimer dalam sediaan mengembang
 - c. zat aktif terlarut dalam cairan tersebut kemudian berdifusi ke dalam tubuh
 - d. zat aktif diabsorpsi



Gambar 2.7. Skema difusi obat menurut sistem reservoir pada sediaan lepas lambat

2. Sistem matriks : zat aktif terdispersi secara homogen pada polimer pembawa. Beberapa mekanisme pelepasan obat dalam sediaan berupa matriks lepas lambat adalah sebagai berikut (Shargel, Wu-Pong, dan Yu, 2005) :
 - a. Sistem pelepasan obat dikendalikan difusi

Pada sistem matriks, obat terdispersi homogen pada polimer. Pelepasan obat difasilitasi oleh disolusi bertahap matriks yang dikendalikan oleh kelarutan dan porositas matriks. Mula-mula obat terlarut dalam cairan tubuh yang berpenetrasi ke dalam sediaan, kemudian obat akan berdifusi ke dalam tubuh. Peningkatan jarak difusi menyebabkan molekul obat di bagian tengah membutuhkan waktu

yang lama untuk berdifusi keluar dari matriks sehingga pelepasan obat yang terjadi tidak konstan.

b. Sistem pelepasan obat dikendalikan disolusi

Mekanisme yang terjadi adalah pengaturan kecepatan melarutnya polimer yang digunakan.

c. Sistem pelepasan obat dikendalikan proses osmosis

Osmosis merupakan proses perpindahan air melalui membran semi permeabel ke dalam suatu larutan. Perpindahan air tersebut menyebabkan peningkatan tekanan di dalam larutan (tekanan osmotik). Membran semipermeabel berperan dalam mengendalikan permeasi air sehingga kecepatan permeasi air akan mengatur kecepatan pelepasan obat.

d. Sistem pelepasan obat dikendalikan proses erosi

Polimer penyusun matriks akan mengalami pengikisan karena terbentuk ikatan labil akibat reaksi hidrolisis atau enzimatis. Erosi polimer tersebut diikuti dengan pelepasan obat.

2.6. Sistem penghantaran obat mukoadhesif

Beberapa karakteristik yang harus dipertimbangkan ketika memilih suatu polimer mukoadhesif adalah tidak toksik dan tidak diabsorpsi, tidak mengiritasi mukosa, memiliki harga yang relatif terjangkau, dapat dibasahi dengan baik oleh cairan tubuh, berikatan secara cepat dengan jaringan tubuh yang lembab, menunjukkan spesififikasi terhadap lokasi tertentu, dapat bercampur dengan zat aktif namun tidak menghalangi pelepasan obat, dan memiliki kestabilan yang baik (Peppas dan Buri, 1985). Karakteristik-karakteristik tersebut dipengaruhi oleh sifat fisikokimia polimer, seperti muatan, adanya ikatan hidrogen, hidrofobisitas, fleksibilitas, dan bobot molekul. Faktor lingkungan yang perlu diperhatikan meliputi kelarutan, pH, kekuatan ionik, dan kehadiran garam lain (misalnya garam empedu) atau makromolekul lain (misalnya antibodi, enzim, atau polisakarida). Polimer mukoadhesif dapat bersifat biodegradabel maupun non-biodegradabel.

Beberapa sifat fisikokimia polimer yang berpotensi memberikan sifat adhesif antara lain (Berner dan Shojaei, 2006) :

1. Memiliki berat molekul yang besar (>100000 Da), dibutuhkan untuk menghasilkan interpenetrasi dan pembelitan dengan rantai musin
2. Berupa molekul hidrofilik yang mengandung sejumlah besar gugus fungsional sehingga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan musin
3. Polielektrolit anionik dengan densitas muatan hidroksil dan karboksil yang tinggi

Adhesi polimer pada membran mukosa diawali dengan penurunan total energi permukaan antara kedua material. Selanjutnya, terjadi pembentukan ikatan secara fisik yang ditandai dengan deposisi material mukoadhesif pada celah mukus (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999). Fleksibilitas polimer mukoadhesif dibutuhkan untuk membentuk ikatan kimia sekunder, seperti ikatan van der Waals dan ikatan hidrogen (Duchene, Touchard, dan Peppas, 1988). Mekanisme adhesi dapat dibagi menjadi 2 tahap, yaitu :

1. Terjadi kontak (melalui pembasahan) antara sediaan mukoadhesif dengan membran mukus
2. Tahap konsolidasi, yaitu terjadi berbagai interaksi fisikokimia untuk memperkuat gaya adhesi

Teori yang dapat menjelaskan mekanisme bioadhesi (Peppas dan Buri, 1985) :

1. Mekanisme Kimia

- a. Teori elektronik

Adhesi terjadi sebagai akibat dari adanya gaya tarik-menarik elektrostatik antara polimer mukoadhesif (terutama yang bermuatan positif) dengan epitel membran mukosa yang mengandung musin. Musin tersusun oleh glikoprotein yang bermuatan negatif.

- b. Teori Adsorpsi

Adhesi terjadi akibat pembentukan ikatan hidrogen dan gaya van der Waals antara polimer mukoadhesif dengan membran mukosa.

2. Mekanisme Fisika

a. Teori Pembasahan

Teori pembasahan menjelaskan mengenai kemampuan polimer mukoadhesif untuk menyebar secara spontan pada permukaan mukus. Kontak antara polimer mukoadhesif dengan cairan tubuh menyebabkan polimer terbasahi sehingga dapat melekat pada membran mukosa yang lembab.

b. Teori Interpenetrasi (Difusi)

Menurut teori difusi, terjadi interdifusi rantai polimer melewati adhesi antarpermukaan. Proses tersebut dikendalikan oleh gradien konsentrasi dan dipengaruhi oleh panjang serta mobilitas rantai molekul. Seberapa jauh rantai polimer berpenetrasi tergantung pada koefisien difusi dan waktu kontak.

c. Teori Mekanik

Adhesi timbul dari perlekatan polimer mukoadhesif pada permukaan mukosa yang kasar dan tidak beraturan.

d. Teori Fraktur

Teori fraktur menjelaskan mengenai kegagalan suatu sediaan untuk melekat pada lapisan mukus karena terjadi hidrasi yang berlebihan. Hidrasi berlebihan tersebut membentuk massa gel yang licin sehingga sulit melekat pada permukaan mukus.

Kekuatan bioadhesif suatu polimer ditentukan oleh (Asane, tanpa tahun):

1. Faktor Polimer Mukoadhesif :

- a. Sumber polimer
- b. Bobot molekul
- c. Konsentrasi polimer mukoadhesif
- d. Fleksibilitas rantai polimer
- e. Kekuatan mengembang

2. Faktor Lingkungan :

- a. pH
- b. Waktu kontak

3. Faktor Fisiologis

- a. Waktu penggantian musin (*mucin turn over*)
- b. Penyakit tertentu

2.7. Bentuk sediaan granul (Voight, 1995 dan Parikh (ed.), 2005)

Granul adalah gumpalan-gumpalan dari partikel-partikel yang lebih kecil. Umumnya, granul berbentuk tidak merata dan tampak seperti partikel tunggal yang lebih besar. Sifat granul ditentukan oleh formulasi dan proses pembuatan. Ukuran granul umumnya berkisar antara 4-12 mesh. Granul dibuat dengan berbagai tujuan, seperti untuk meningkatkan keseragaman distribusi zat aktif, meningkatkan kepadatan bahan, mengurangi partikel kecil (*finer*), dan memperbaiki laju alir. Secara umum, pembuatan granul terdiri dari metode granulasi basah dan granulasi kering.

Granulasi basah merupakan proses pencampuran partikel zat aktif dan excipien menjadi partikel yang lebih besar dengan menambahkan cairan pengikat dalam jumlah yang tepat sehingga terbentuk massa lembab yang dapat digranulasi. Metode tersebut biasanya digunakan apabila zat aktif tahan terhadap kondisi lembab dan panas. Di samping itu, metode granulasi basah umumnya digunakan untuk zat aktif yang sulit dicetak langsung karena sifat aliran dan kompresibilitasnya tidak baik. Prinsip dari metode granulasi basah adalah membasahi massa tablet dengan larutan pengikat tertentu hingga didapat tingkat kebasahan tertentu pula, kemudian massa basah tersebut digranulasi.

Metode tersebut membentuk granul dengan cara mengikat serbuk dengan suatu perekat sebagai pengganti pengompakan. Teknik ini membutuhkan larutan, suspensi, atau bubur yang mengandung pengikat untuk dicampurkan ke dalam massa tablet. Zat pengikat tersebut biasanya ditambahkan ke dalam massa tablet, baik dalam bentuk terlarut maupun dalam bentuk serbuk pengikat dilanjutkan dengan penambahan cairan pelarut. Keuntungan metode granulasi basah :

1. Memperoleh sifat alir yang baik karena ukuran dan spherisitas zat meningkat
2. Meningkatkan kompresibilitas
3. Untuk mendapatkan berat jenis yang sesuai
4. Mengontrol pelepasan obat

5. Mencegah pemisahan komponen campuran selama proses
6. Distribusi keseragaman kandungan lebih homogen
7. Meningkatkan kecepatan disolusi
8. Mengurangi kemungkinan udara terperangkap saat pencetakan tablet karena jumlah *fines* berkurang

Kekurangan metode granulasi basah:

1. Banyak tahap dalam proses produksi yang harus divalidasi
2. Biaya cukup tinggi
3. Tidak kompatibel untuk zat aktif yang sensitif terhadap lembab dan panas.
4. Melibatkan banyak tahap pengerjaan sehingga membutuhkan ruang kerja, waktu, dan peralatan yang lebih banyak
5. Kemungkinan kehilangan bahan lebih besar karena massa melekat pada alat

Tahapan-tahapan metode granulasi basah :

1. Pembuatan larutan pengikat
2. Penghalusan zat aktif dan excipien
3. Pencampuran semua bahan, kecuali larutan pengikat, lubrikan, dan disintegran eksternal
4. Penambahan larutan pengikat ke dalam campuran serbuk sedikit demi sedikit hingga diperoleh massa yang basah (untuk menentukan campuran tersebut sudah basah adalah dengan menekan massa pada telapak tangan dan menjatuhkannya kembali ke dalam wadah. Jika campuran tersebut hancur ketika dijatuhkan, maka massa tersebut sudah basah dan siap diayak)
5. Pengayakan massa no. 4 dengan ayakan 6 – 12 mesh
6. Pengeringan massa di dalam oven
7. Pengayakan granul dengan ayakan 14 – 20 mesh.
8. Pencetakan tablet

Pada metode granulasi kering, granul dibuat dengan melakukan *slugging* (proses pencetakan menjadi tablet yang besar dan keras). *Slugging* membutuhkan

tekanan yang besar untuk mengkompakkan ikatan antar partikel. Karakteristik granul yang baik :

1. Memiliki bentuk dan warna yang homogen
2. Memiliki distribusi ukuran yang sempit dan tidak mengandung komponen serbuk (*fines*) lebih dari 10%
3. Memiliki laju alir yang baik (> 10 g/detik)
4. Mudah hancur dalam air

2.8. Uji disolusi

Uji disolusi merupakan suatu metode fisikokimia yang digunakan dalam pengembangan produk dan pengendalian mutu sediaan obat berdasarkan pengukuran parameter laju pelepasan dan melarutnya zat berkhasiat dari sediaan ke dalam medium disolusi (Sugita, Wukirsari, Sjahriza, dan Wahyono, 2009). Menurut Sugita, Wukirsari, Sjahriza, dan Wahyono (2009), uji disolusi dilakukan pada sediaan obat padat untuk mengukur jumlah zat aktif yang terlarut dalam medium disolusi yang diketahui volumenya pada waktu dan suhu tertentu, serta menggunakan model aparatus tertentu pula. Kegunaan dari uji disolusi menurut Farmakope Indonesia adalah (Depkes RI, 1995) :

1. Pengawasan mutu dan variasi sediaan, baik antar produk yang satu dengan yang lain maupun antar pabrik
2. Pengembangan formulasi produk baru
3. Prosedur kendali mutu yang biasa dilakukan dengan cara produksi yang baik

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Depkes RI, 1995), uji disolusi suatu sediaan tablet dapat dilakukan dengan menggunakan alat terdiri dari sebuah wadah tertutup yang terbuat dari kaca atau bahan transparan lain yang inert, suatu motor, suatu batang logam yang digerakkan oleh motor, dan keranjang yang berbentuk silinder (aparatus 1), atau batang logam dengan ujung yang berbentuk dayung (aparatus 2). Wadah tercelup sebagian dalam tangas air yang temperaturnya dipertahankan $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Media disolusi yang digunakan sesuai dengan yang tertera dalam masing-masing monografi.

Kriteria penerimaan uji disolusi untuk tablet lepas terkendali adalah sebagai berikut (Banakar, 1992):

1. Pada waktu yang setara dengan 0,25 D: 20-50% terlarut ($Q_{0,25}$)
2. Pada waktu yang setara dengan 0,5 D: 45-75% terlarut ($Q_{0,5}$)
3. Pada waktu hingga 1,0 D: tidak kurang dari 75% terlarut ($Q_{1,0}$)

Di mana D adalah frekuensi dosis lazim yang tertera pada label atau interval pemberian dosis.

2.9. Kinetika pelepasan obat

Kinetika pelepasan zat aktif dari suatu sediaan yang pelepasannya dimodifikasi dapat diperoleh dengan persamaan Higuchi, orde nol, dan orde satu (Koester, Ortega, Mayorga, dan Bassani, 2004). Rumus persamaan tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Perhitungan kinetika obat

	$y=bx+a$
Orde nol	$Q_t/Q_0=k_0t$
Orde satu	$\ln Q_t/Q_0=k_1t$
Persamaan Higuchi	$Q_t/Q_0=k_H t^{1/2}$
Korsmeyer-Peppas	$\ln Q_t/Q_0 = n \ln t + \ln k$

Keterangan :

Q_t/Q_0 = fraksi obat yang terlepas pada waktu t

k_0, k_1, k_H = konstanta pelepasan

n = eksponen pelepasan

[Sumber : Koester, Ortega, Mayorga, dan Bassani, 2004]

Kecepatan pelepasan zat aktif yang mengikuti persamaan orde nol konstan dari waktu ke waktu tanpa dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif dalam sediaan. Sebaliknya, pelepasan zat aktif yang mengikuti persamaan orde satu dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif dalam sediaan. Pada model Higuchi, pelepasan zat aktif dipengaruhi oleh waktu. Semakin lama, kecepatan pelepasan zat aktif akan menurun. Hal tersebut disebabkan oleh jarak difusi zat aktif semakin jauh (Banakar, 1992).

Pada persamaan Korsmeyyer-Peppas, terdapat nilai n (eksponen pelepasan) yang menggambarkan mekanisme pelepasan obat. Hubungan nilai n dengan mekanisme pelepasan obat dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Hubungan eksponen pelepasan (n) dengan mekanisme pelepasan obat menurut model persamaan Korsmeyyer-Peppas berdasarkan berbagai bentuk geometri sediaan (Siepmann dan Peppas, 2011)

n (eksponen pelepasan) untuk bentuk geometri sediaan			Mekanisme pelepasan obat
Film tipis	Silinder	Sferis	
$< 0,5$	$< 0,45$	$< 0,43$	Difusi Fickian
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	<i>Anomalous (non-Fickian) transport</i>
$> 1,0$	$> 0,89$	$> 0,85$	<i>Case II transport</i>

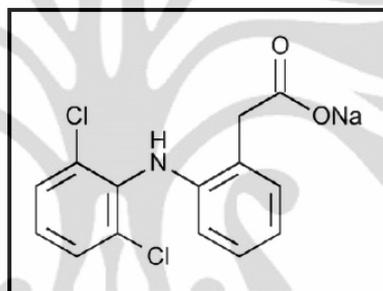
Pada mekanisme difusi Fickian, pelepasan obat dikendalikan oleh proses difusi, sedangkan pada mekanisme *Anomalous (non-Fickian) transport*, pelepasan obat berlangsung melalui dua fenomena, yaitu difusi dan relaksasi atau erosi dari polimer (Sahlin dan Peppas, 1989). Untuk sediaan dengan mekanisme pelepasan obat menurut model *Case II transport*, kecepatan pelepasan obat tidak tergantung terhadap waktu yang mengindikasikan bahwa pelepasan obat mengikuti kinetika persamaan orde nol (Ritger dan Peppas, 1987). Mekanisme *Case II transport* didominasi oleh proses erosi polimer (Khare dan Peppas, 1995). Sediaan granul memiliki bentuk geometri sferis.

2.10. Natrium diklofenak

Natrium diklofenak merupakan salah satu obat golongan anti inflamasi non-steroid (AINS). Seperti obat AINS lainnya, natrium diklofenak memiliki mekanisme kerja melalui penghambatan enzim siklooksigenase (COX) yang berdampak pada penghambatan sintesis prostaglandin (Katzung, 1994). Hal tersebut dapat menekan reaksi inflamasi. Namun, penurunan jumlah prostaglandin dapat menyebabkan beberapa efek samping, seperti iritasi saluran pencernaan

(lambung), gangguan hati dan ginjal, serta menyebabkan vasokonstriksi (Katzung, 1994).

Pemerian natrium diklofenak berupa serbuk kristal putih hingga kekuningan dan sedikit higroskopis (Sweetman (ed.), 2009). Natrium diklofenak larut sebagian dalam air, larut dalam alkohol, agak larut dalam aseton, dan praktis tidak larut dalam kloroform maupun eter (Sweetman (ed.), 2009).. Penetapan kadar natrium diklofenak dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri. Dalam pelarut asam, panjang gelombang maksimumnya 273 nm, sedangkan pada medium basa, 275 nm (Moffat, Osselton, dan Widdop, 2005). Rumus struktur natrium diklofenak dapat dilihat pada Gambar 2.8.



[Sumber : British Pharmacopoeia 2009, halaman 1893 (*e-book*)]

Gambar 2.8. Rumus struktur natrium diklofenak

Natrium diklofenak diabsorpsi secara cepat ketika diberikan melalui oral konvensional, dalam bentuk tablet salut gula, suppositoria, maupun injeksi intramuskular. Natrium diklofenak diabsorpsi secara lengkap di usus halus. Namun, natrium diklofenak mengalami metabolisme lintas pertama sehingga hanya 50% obat yang mencapai sirkulasi sistemik dalam bentuk utuh. Pada konsentrasi terapi, lebih dari 99% diklofenak terikat pada protein plasma. Waktu paruh eliminasinya 1-2 jam (Sweetman (ed.), 2009).. Diklofenak dimetabolisme menjadi 4'-hidroksidiklofenak, 5- hidroksidiklofenak, 3'- hidroksidiklofenak, dan 4',5-dihidroksidiklofenak. Ekskresi sebagian besar terjadi melalui urin (60%), empedu (35%), dan kurang dari 1% diekskresikan dalam bentuk utuh. Dosis lazim natrium diklofenak per oral yaitu 75-150 mg per hari (Sweetman (ed.), 2009).

2.11. Piridin (Safety Officer in Physical Chemistry at Oxford University, 2009)

Rumus Molekul : C_5H_5N

Nama Lain : azabenzen

Pemerian : cairan tidak berwarna, berbau menyengat

Kelarutan : larut dalam air

Titik Didih : $115^{\circ}C$

Stabilitas : relatif stabil, mudah terbakar

Inkompatibilitas : oksidator kuat

Toksisitas : Jika terhirup dapat menyebabkan sakit kepala, rasa mual, dan malaise. Akumulasi piridin dalam tubuh dapat membahayakan fungsi hati, ginjal, dan susunan saraf pusat. Jika terpapar pada kulit dan mata dapat menyebabkan iritasi. Diduga dapat mempengaruhi fertilitas, tetapi belum dapat dibuktikan secara ilmiah.

Identifikasi : Piridin memiliki gugus N-siklik yang dapat diidentifikasi menggunakan reaksi sebagai berikut :

a. Reaksi Mayer

Pereaksi Mayer : $HgCl_2 + KI + aquadest (1:4:5)$

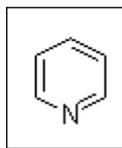
Zat + HCl 0,5N + pereaksi Mayer \rightarrow endapan kuning yang larut dalam alkohol

b. Reaksi Bouchardat

Pereaksi Bouchardat : $I_2 + KI + aquadest (2:4:100)$

Zat + HCl 0,5N + pereaksi Bouchardat \rightarrow endapan kuning yang larut dalam alkohol

Rumus Struktur :



Gambar 2.9. Rumus struktur piridin

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Formulasi Tablet, Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif, Laboratorium Farmasetika, dan Laboratorium Farmasi Fisika Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Waktu pelaksanaan dimulai dari bulan Februari hingga bulan Mei 2011.

3.2. Alat

Spektrofotometer UV-1800 (Shimadzu, Jepang); Fourier-Transform Infrared Spectrometer 8400 S (Shimadzu, Jepang); pHmeter (Eutech, Singapura); Flowmeter tipe GDT (Erweka, Jerman); Bulk Density Tester (Erweka, Jerman); pengaduk magnetik (IKA, Jerman); neraca analitik EB-330 (Shimadzu, Jepang); alat-alat gelas; oven; desikator; termometer; ayakan (8 mesh, 16 mesh, dan 45 mesh); moisture balance (Adam AMB50); Texture Analyser (TA.XT2); sentrifugator; viskometer Brookfield (Brookfield Synchroelectric, Amerika); Scanning Electron Microscope (LEO 420i, Inggris); Differential Scanning Calorimetri, lemari asam (Labconco, USA); Alat uji disintegrasi (Erweka, Jerman)

3.3. Bahan

Kitosan (Biotech Surindo, Indonesia); anhidrida suksinat (Merck, Jerman), asam klorida 37% pro analisis (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Merck, Jerman); kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman); piridin (Univar, Australia); kalium bromida (Merck, Jerman); aquadest, natrium diklofenak (Yung Zip Chemical, Taiwan); amilum jagung (Indonesia), kalium klorida (Merck, Jerman), kalium hidrogen ftalat (Merck, Jerman)

3.4. Cara kerja

3.4.1. Sintesis kitosan suksinat (Aiedeh dan Taha, 1999)

Kitosan seberat 1,00 g dilarutkan ke dalam 50 ml larutan HCl 0,37% pada suhu kamar. Kemudian, 5 ml larutan berisi 0,63 g anhidrida suksinat dalam piridin diteteskan perlahan ke dalam larutan kitosan dalam HCl disertai dengan pengadukan. Ditambahkan larutan NaOH 1,0 N yang dilakukan tetes demi tetes hingga pH larutan 7,0. Penambahan NaOH dilakukan terus menerus hingga akhir reaksi untuk menjaga pH larutan tetap netral (pH=7,0). Hasil sintesis tersebut kemudian dipanaskan dalam lemari asam untuk menguapkan pelarut-pelarut yang digunakan dalam sintesis selama ± 2 jam. Hasil yang diperoleh kemudian dioleskan pada kaca dan dikeringkan dalam oven bersuhu 40°C. Lapisan polimer yang terbentuk dipisahkan dari kaca, kemudian didialisis dengan membran dialisa menggunakan aqua demineralisata selama 8 jam. Air dialisis tersebut diuji menggunakan FeCl₃ dan NH₄OH untuk memastikan bahwa polimer hasil dialisis tidak lagi mengandung residu asam suksinat. Hasil dialisis dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 40°C. Hasil sintesis kemudian diserbukkan menggunakan blender, diayak dengan ayakan 45 mesh, dan dikarakterisasi secara analisis kimia.

3.4.2. Karakterisasi kitosan suksinat

3.4.2.1. Karakterisasi penampilan fisik

Penampilan fisik dari kitosan suksinat hasil sintesis dievaluasi, meliputi bentuk dan warna.

3.4.2.2. Pengenalan gugus suksinat dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectrometer*

Sejumlah serbuk sampel, yaitu kitosan dan kitosan suksinat, masing-masing dibentuk menjadi pelet untuk mengetahui adanya perubahan gugus fungsi pada kitosan menjadi kitosan suksinat. Sejumlah ± 2 mg sampel yang akan diuji (kitosan dan kitosan suksinat) masing-masing ditimbang bersama dengan 98 mg KBr. Bahan-bahan tersebut kemudian digerus hingga homogen. Pemeriksaan dilakukan menggunakan *Fourrier Transformation Infra Red*

(FTIR) pada bilangan gelombang 500 sampai 4000 cm^{-1} (Aiedeh dan Taha, 1999).

3.4.2.3. Penentuan derajat substitusi dengan titrasi asam basa

Penentuan derajat substitusi kitosan suksinat dilakukan dengan metode titrasi asam basa tidak langsung. Sebelum penetapan derajat substitusi, terlebih dahulu dilakukan pembakuan terhadap HCl 1,0 N dan NaOH 1,0 N yang digunakan.

a. Pembakuan NaOH 1,0 N

Pembakuan larutan NaOH 1,0 N dilakukan menggunakan kalium hidrogen ftalat (KHP) sebagai baku primer. KHP dikeringkan selama 2 jam pada oven bersuhu 120°C , kemudian didinginkan dan disimpan dalam desikator. KHP ditimbang seksama 500 - 600 mg dan dilarutkan dalam 50 ml air destilata bebas CO_2 . Kemudian ditambahkan 3 tetes indikator PP (fenolftalein) ke dalam larutan tersebut dan dikocok hingga homogen. Larutan kemudian dititrasi dengan NaOH 1,0 N hingga terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda.

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{\text{berat}_{\text{KHP}}}{\text{BE}_{\text{KHP}} \times V_{\text{NaOH}}} \quad (3.1)$$

$$\text{BE}_{\text{KHP}} = 204,2$$

b. Pembakuan HCl 1,0 N

Pembakuan larutan HCl 1,0 N dilakukan menggunakan natrium tetraborat (boraks) sebagai baku primer. Natrium tetraborat ditimbang seksama 600 mg dan dilarutkan dalam 50 ml air destilata. Larutan tersebut ditambah dengan 2 tetes indikator metil merah 1% dan dikocok hingga homogen. Larutan kemudian dititrasi dengan HCl 1,0 N hingga terjadi perubahan warna larutan menjadi jingga.

$$N_{\text{HCl}} = \frac{\text{berat}_{\text{boraks}}}{\text{BE}_{\text{boraks}} \times V_{\text{HCl}}} \quad (3.2)$$

$$\text{BE}_{\text{boraks}} = 190,72$$

c. Penentuan derajat substitusi kitosan suksinat

Kitosan suksinat ± 100,0 mg dilarutkan dalam 10,0 ml NaOH 1,0 N yang telah dibakukan. Larutan tersebut ditambah dengan indikator metil merah 1% sebanyak 2 tetes. Kelebihan NaOH yang tidak bereaksi dengan kitosan suksinat, dinetralkan dengan penambahan HCl 1,0 N yang telah dibakukan sebelumnya. Titik akhir titrasi ditandai dengan berubahnya warna larutan dari kuning menjadi jingga. Perhitungan derajat substitusi (DS) adalah :

$$DS \left(\frac{\text{mol}}{\text{gram}} \right) = \frac{(N \times V)_{\text{NaOH}} - (N \times V)_{\text{HCl}}}{\text{massa kitosan suksinat}} \quad (3.3)$$

dengan : N_{NaOH} : normalitas larutan NaOH berdasarkan hasil pembakuan

V_{NaOH} : volume larutan NaOH yang ditambahkan untuk melarutkan kitosan suksinat, yaitu 10,0 ml

N_{HCl} : normalitas larutan HCl berdasarkan hasil pembakuan

V_{HCl} : volume larutan HCl yang digunakan dalam titrasi asam basa untuk mencapai titik akhir

3.4.2.4. Uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut

Uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut dilakukan secara kualitatif dan semikuantitatif. Untuk uji secara kualitatif, ke dalam sejumlah kitosan dan kitosan suksinat ditambahkan lebih kurang 10 ml pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu aquadest dan beberapa medium dengan rentang pH 1-12. Hasil yang diperoleh diamati secara visual. Untuk uji secara semikuantitatif, kitosan suksinat ditimbang masing-masing sebanyak 50,0 mg dan dilarutkan ke dalam berbagai medium dengan volume 10 ml. Pelarut yang digunakan yaitu aquadest dan beberapa medium dengan rentang pH 1-12. Proses tersebut dilakukan pada suhu kamar dengan bantuan pengaduk (*shaker*) yang memiliki kecepatan putar 200 rpm selama 2 jam. Hasil yang diperoleh dari masing-masing medium disaring, kemudian dari masing-masing filtrat yang diperoleh dipipet 5,0 ml. Selanjutnya, pH masing-

masing larutan jenuh diatur dengan larutan NaOH 0,1 N hingga tercapai pH 13, kemudian diukur serapannya pada λ 228 nm. Sebagai standar digunakan larutan jenuh kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N pH 13. Kitosan suksinat yang ditimbang untuk larutan standar berjumlah 50,0 mg, kemudian dilarutkan dalam 10,0 ml NaOH 0,1 N pH 13. Serapan dari larutan standar diukur pada λ 228 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan dari larutan uji dibandingkan dengan larutan standar untuk mengetahui konsentrasi kitosan suksinat yang terlarut dalam setiap medium yang diuji, dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$\frac{A_1}{C_1} = \frac{A_2}{C_2} \quad (3.4)$$

Keterangan :

A_1 : serapan larutan uji

C_1 : konsentrasi larutan uji (ppm)

A_2 : serapan standar

C_2 : konsentrasi standar (ppm)

3.4.2.5. Pengukuran kekentalan (viskositas)

Kitosan suksinat didispersikan dalam larutan NH_4OH 0,037% dengan konsentrasi 6% (b/v). Volume larutan sampel yang dibutuhkan minimal 100 ml. Viskositas diukur menggunakan viskometer Brookfield dengan kecepatan putaran spindel diatur mulai dari 0,5; 1; 2; 2,5; 5; 10; dan 20 rpm, kemudian diputar kembali dari 20; 10; 5; 2,5; 2; 1; dan 0,5 rpm. Hasil pembacaan skala dicatat. Viskositas dihitung dan kurva sifat aliran dibuat.

3.4.2.6. Evaluasi daya mengembang (Tur dan Hung Seng, 1998)

Kitosan dan kitosan suksinat masing-masing dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 ml hingga volume sampel 1ml. Sampel tersebut kemudian ditambah dengan larutan HCl pH 1,2 dan dapar fosfat pH 7,4 masing-masing sebanyak 5 ml pada wadah yang berbeda. Sampel dibiarkan mengembang pada suhu kamar ($\pm 25^\circ\text{C}$). Volume sampel dihitung berdasarkan batas permukaan antara sampel dan larutan uji. Perhitungan volume dilakukan pada

interval waktu tertentu, yaitu 2 jam untuk sampel dalam medium HCl pH 1,2 dan 8 jam untuk sampel dalam dapar fosfat pH 7,4. Uji tersebut dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing sampel. Indeks mengembang dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Indeks mengembang (\% v/v)} = \frac{v_t - v_0}{v_0} \times 100\% \quad (3.5)$$

Keterangan :

v_t : volume sampel pada menit ke-t (ml)

v_0 : volume awal sampel (ml)

3.4.2.7. Pengukuran pH

Sejumlah kitosan suksinat ditimbang kemudian dilarutkan dalam aquadest dengan berbagai konsentrasi sebagai berikut, 0,5%; 1%; 2%; 3%; 4% 5% (b/v), kemudian pH dari masing-masing larutan tersebut diukur dengan pHmeter.

3.4.2.8. Uji kompresibilitas sampel

Sejumlah kitosan dan kitosan suksinat ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas ukur, kemudian dicatat volume yang terbaca (V_1). Alat uji kompresibilitas dinyalakan sehingga sampel dimampatkan sebanyak 300 ketukan, kemudian dicatat volume yang terbaca (V_2). Kompresibilitas dihitung dengan persamaan Neuman dan Carr :

$$I = [1 - (V_2/V_1)] \times 100\% \quad (3.6)$$

Keterangan :

I : indeks kompresibilitas

V_1 : volume granul sebelum dimampatkan (ml)

V_2 : volume granul setelah dimampatkan 300 ketukan (ml)

Kriteria (menurut Neuman dan Carr) :

- 5% – 15% : sangat baik
- 12% – 16% : baik
- 18% – 21% : cukup
- 23% – 35% : agak buruk
- 33% – 38% : buruk
- > 40% : sangat buruk

3.4.2.9. Pengamatan bentuk dan morfologi permukaan kitosan suksinat menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Kitosan dan kitosan suksinat diamati menggunakan *Scanning Electron Microscope* dengan perbesaran 200 x, 500 x, 1000 x, 5000 x, dan 10.000 x untuk dilihat bentuk partikel dan tekstur permukaan polimernya.

3.4.2.10. Analisis sifat termal (Turk; Hascicek; Gonul, 2009)

Sifat termal sampel ditentukan menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC). Kitosan dan kitosan suksinat, masing-masing sebanyak 5 mg, diletakkan pada silinder aluminium berdiameter 5 mm. Silinder tersebut ditutup dengan lempengan aluminium lalu sampel dimasukkan ke dalam alat DSC. Pengukuran dilakukan mulai dari suhu 30-250°C. Proses eksotermik dan endotermik yang terjadi pada sampel tercatat pada alat perekam (*recorder*).

3.4.3. Formulasi granul lepas lambat mukoadhesif

Metode yang digunakan untuk membuat granul lepas lambat mukoadhesif adalah granulasi basah. Mula-mula, kitosan suksinat hasil sintesis dan kitosan ditimbang sesuai dengan formula, kemudian masing-masing diaduk hingga menghasilkan massa matriks yang homogen. Setelah itu, natrium diklofenak ditimbang seksama dan diaduk bersama massa matriks sampai homogen. Setelah homogen, ditambahkan cairan pengikat, berupa pasta amilum 5%, kemudian diaduk hingga terbentuk massa yang dapat dikepal. Massa tersebut diayak menggunakan ayakan mesh 8 dan dikeringkan pada suhu 40°C. Granul hasil pengeringan diayak dengan ayakan mesh 8-16.

Granul yang digunakan dalam tahap evaluasi adalah granul yang berukuran 1,00-2,36 mm (berada di antara mesh 8- mesh 16). Formulasi granul lepas lambat mukoadhesif dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Formulasi granul lepas lambat mukoadhesif

	Formula 1 (g)	Formula 2 (g)	Formula 3 (g)	Formula 4 (g)
Natrium diklofenak	7,5	6	5	6
Kitosan	-	-	-	60
Kitosan suksinat	60	60	60	-
Pasta amilum 5%	6	6	6	6
Total	73,5	72	71	72

3.4.4. Evaluasi granul lepas lambat mukoadhesif

3.4.4.1. Uji perolehan kembali proses (UPK) (Harjadi, 2006)

Faktor perolehan kembali ditentukan dengan membandingkan bobot total granul yang diperoleh terhadap total bahan-bahan yang digunakan pada pembuatan granul, dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$W_p = \frac{w_m}{w_t} \quad (3.7)$$

w_p : faktor perolehan kembali (% b/b)

w_m : bobot granul yang dihasilkan (g)

w_t : bobot bahan pembentuk granul (g)

3.4.4.2. Pemeriksaan kadar air granul lepas lambat mukoadhesif (Soewandhi dan Sutrisni, 2006)

Untuk menentukan kadar air, digunakan alat berupa *moisture balance*. Mula-mula, alat dipanaskan selama lebih kurang 10 menit. Parameter suhu pada alat diatur menjadi 105°C. Granul lepas lambat mukoadhesif ditimbang kurang lebih 2 gram dan diletakkan di atas alumunium yang terletak dalam alat. Alat tersebut kemudian dinyalakan dan akan mati setelah tercapai kadar air yang konstan. Kadar air yang terbaca pada alat kemudian

dicatat. Syarat kadar air granul yang baik adalah 2-4% (Lieberman, Lachman, dan Kaning, 1994).

3.4.4.3. Uji kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif (Lieberman, Lachman, dan Kaning, 1994)

Sejumlah tertentu granul dimasukkan ke dalam gelas ukur, kemudian dicatat volume yang terbaca (V_1). Alat uji kompresibilitas dinyalakan sehingga granul dimampatkan sebanyak 300 ketukan dan dicatat volume yang terbaca (V_2). Kompresibilitas dihitung dengan persamaan Neuman dan Carr :

$$I = [1 - (V_2/V_1)] \times 100\% \quad (3.6)$$

Keterangan :

I : indeks kompresibilitas (% v/v)

V_1 : volume granul sebelum dimampatkan (ml)

V_2 : volume granul setelah dimampatkan 300 ketukan (ml)

3.4.4.4. Uji laju alir dan sudut reposa granul lepas lambat mukoadhesif (Lieberman, Lachman, dan Kaning, 1994)

Laju alir ditentukan dengan menggunakan alat *flowmeter*. Sejumlah tertentu granul dimasukkan ke dalam corong, lalu diratakan. Alat dinyalakan sehingga granul mengalir keluar dari corong dan ditampung di atas bidang datar pada kertas grafik milimeter. Waktu yang dibutuhkan oleh seluruh granul untuk mengalir dicatat. Laju alir dinyatakan dalam gram/detik. Granul yang keluar dari corong akan membentuk suatu massa berbentuk kerucut. Tinggi dan jari-jari dari kerucut tersebut kemudian diukur untuk menghitung sudut reposa atau sudut diam granul menurut persamaan :

$$\alpha = \text{Arc Tan } (h/r) \quad (3.8)$$

Keterangan :

α = sudut diam/sudut reposa

h = tinggi kerucut (cm)

r = jari-jari kerucut (cm)

Sudut diam antara 20-40° dan waktu alir sebesar > 10 g/detik menunjukkan potensial alir granul yang baik. Kriteria laju alir, sudut reposa, dan indeks kompresibilitas dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Skala flowabilitas

Karakteristik	Sudut Reposa (°)	Indeks Kompresibilitas (%) – Neuman dan Carr
Sangat baik	25-30	≤ 10
Baik	31-35	11-15
Cukup baik	36-40	16-20
Agak baik	41-45	21-25
Agak buruk	46-55	26-31
Buruk	56-65	32-37
Sangat buruk	>66	>38

3.4.4.5. Efisiensi penjerapan natrium diklofenak dalam granul lepas lambat mukoadhesif

Sejumlah massa granul ditimbang, kemudian digerus hingga halus dan homogen. Setelah homogen, sejumlah sampel yang setara dengan 25 mg natrium diklofenak ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml kemudian dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4 hingga mencapai volume 100,0 ml. Larutan tersebut diaduk dengan pengaduk ultrasonik selama ± 5 jam dan didiamkan pada suhu kamar selama ± 48 jam. Larutan tersebut kemudian diencerkan hingga diperoleh konsentrasi sebesar 20 ppm. Kadar natrium diklofenak dalam larutan diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari pembuatan spektrum serapan. Serapan yang terbaca kemudian digunakan untuk menghitung kadar natrium diklofenak dalam granul menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali.

Efisiensi penyerapan natrium diklofenak dalam granul dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ obat yang terjerap} = \frac{c_1}{c_2} \times 100\% \quad (3.9)$$

Keterangan:

c_1 : kadar natrium diklofenak dalam granul yang terukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis

c_2 : kadar natrium diklofenak teoritis dalam granul berdasarkan formulasi

3.4.4.6. Uji daya mengembang granul lepas lambat mukoadhesif (Tur dan Hung Seng, 1998)

Granul mukoadhesif dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 ml hingga volume sampel 1ml. Granul tersebut kemudian ditambah dengan larutan HCl pH 1,2 dan dapar fosfat pH 7,4 masing-masing sebanyak 5 ml pada wadah yang berbeda. Granul dibiarkan mengembang pada suhu kamar ($\pm 25^\circ\text{C}$). Volume granul dihitung berdasarkan batas permukaan antara granul dan larutan uji. Perhitungan volume dilakukan pada interval waktu tertentu, yaitu 2 jam untuk granul dalam medium HCl pH 1,2 dan 8 jam untuk granul dalam dapar fosfat pH 7,4. Uji tersebut dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing sampel. Indeks mengembang dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Indeks mengembang (\% v/v)} = \frac{v_t - v_0}{v_0} \times 100\% \quad (3.5)$$

Keterangan :

v_t : volume sampel pada menit ke-t (ml)

v_0 : volume awal sampel (ml)

3.4.4.7. Kekuatan perlekatan granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus berdasarkan uji pencucian granul (*wash off*) (Indrawati, Agoes, Yulinah, dan Sumirtapura, 2005)

Uji *wash off* dilakukan menggunakan alat disintegrasi yang dimodifikasi. Jaringan usus halus tikus dilekatkan pada kaca obyek menggunakan lem sianokrilat. Sejumlah 20 butir granul disebarkan di atas

mukosa usus secara merata dan dibiarkan terjadi kontak selama 10 menit, kemudian dimasukkan ke dalam alat disintegrasi termodifikasi. Alat tersebut digerakkan turun naik dengan kecepatan 30 kali/menit dalam dapar fosfat pH 7,4 pada suhu $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Jumlah granul yang masih menempel pada mukosa usus dihitung setiap 30 menit selama 8 jam.

3.4.4.8. Uji kekuatan mukoadhesif granul (Tur dan Hung Seng, 1998)

Uji kekuatan mukoadhesif granul dilakukan menggunakan alat *Texture Analyser* (TA.XT2). Alat tersebut dijalankan menggunakan *XTRA Dimension Software*. Jaringan usus tikus dibuka dan dibersihkan dengan larutan NaCl fisiologis. Sejumlah tertentu granul ditempelkan di atas jaringan tersebut dan dibiarkan terjadi kontak selama 20 menit, kemudian direndam dalam medium dapar fosfat pH 7,4 pada suhu $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Jaringan dilekatkan pada lempeng yang tersedia pada alat dengan posisi mukosa dan granul menghadap ke luar. Alat dinyalakan dan *probe* diatur agar memberikan tekanan terhadap granul sebesar 693 N/m^2 selama 1 menit. Setelah itu, *probe* diangkat dengan kecepatan 0,1 mm/detik. Kurva waktu vs besar gaya yang dibutuhkan akan terekam pada alat hingga granul terlepas dari permukaan jaringan.

3.4.4.9. Pembuatan spektrum serapan natrium diklofenak

Penentuan panjang gelombang maksimum natrium diklofenak standar dilakukan dalam dapar fosfat pH 7,4. Mula-mula, dibuat larutan natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 20 ppm. Serapan larutan natrium diklofenak 20 ppm tersebut kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm.

3.4.4.10. Pembuatan kurva kalibrasi natrium diklofenak

Dibuat larutan natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, dan 20 ppm. Selanjutnya, serapan dari masing-masing larutan tersebut diukur pada λ maksimum natrium diklofenak seperti yang diperoleh pada pembuatan spektrum serapan.

3.4.4.11. Uji pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif secara *in vitro*

Uji pelepasan natrium diklofenak secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan alat disolusi termodifikasi. Sejumlah granul yang telah diketahui berat kandungan natrium diklofenaknya (setara dengan 25,0 mg natrium diklofenak) diletakkan dalam kantong menyerupai kantong teh agar seluruh permukaan granul dapat terbasahi, tetapi tidak mengganggu pengamatan dan mempermudah proses penggantian medium.

Kondisi percobaan adalah pada suhu $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, disertai pengadukan yang kontinu dengan kecepatan 50 rpm. Medium disolusi yang digunakan berupa medium HCl pH 1,2 selama 2 jam, dilanjutkan dengan dapar fosfat pH 7,4 selama 8 jam. Medium HCl hasil disolusi diatur menggunakan larutan kalium dihidrogen fosfat 2,0 M dan larutan NaOH 2,0 N hingga tercapai pH 7,4, kemudian disaring dan diambil filtratnya. Selanjutnya, proses sampling dalam dapar fosfat dilakukan pada menit ke-5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Tiap 10 ml sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ maksimum natrium diklofenak seperti yang diperoleh dari hasil pembuatan spektrum serapan.

Medium HCl pH 1,2 dibuat dengan mencampurkan 50,0 ml kalium klorida 0,2 M dengan 85,0 ml asam klorida 0,2 M dalam labu ukur 200,0 ml, kemudian diencerkan dengan aquadest bebas CO_2 hingga 200,0 ml. Derajat keasaman larutan diukur menggunakan pHmeter dan harus berkisar antara $1,2 \pm 0,05$ (Depkes RI, 1979).

Dapar fosfat pH 7,4 dibuat dengan mencampurkan 50,0 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 39,1 ml NaOH 0,2 N, kemudian diencerkan dengan aquadest bebas CO_2 hingga 200,0 ml. Derajat keasaman larutan diukur menggunakan pHmeter dan harus berkisar antara $7,4 \pm 0,05$ (Depkes RI, 1979).

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Preparasi kitosan suksinat

Proses sintesis kitosan suksinat diawali dengan melarutkan kitosan dalam medium asam. Kitosan memiliki pKa sekitar 6,5 sehingga polimer tersebut dapat larut dalam medium yang memiliki pH kurang dari 6, seperti HCl, asam asetat, asam formiat, asam piruvat, asam sitrat, dan asam laktat (Champagne, 2008). Hal tersebut disebabkan gugus N-amino yang terkandung dalam kitosan dapat terprotonasi pada suasana asam membentuk ion NH_3^+ yang bersifat polar sehingga meningkatkan kelarutan kitosan dalam medium tersebut.

Prosedur sintesis kitosan suksinat mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Aiedeh dan Taha (1999) dengan beberapa modifikasi. Mula-mula, kitosan dilarutkan dalam HCl 0,37%. Proses melarutkan dilakukan pada suhu kamar dengan bantuan pengaduk bermagnet (*magnetic stirrer*). Larutan kitosan yang terbentuk berupa gel bening kekuningan dengan konsentrasi 2% (pH = 1,6 – 2). Selanjutnya, ke dalam larutan kitosan tersebut ditambahkan larutan anhidrida suksinat dalam piridin sambil terus dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Piridin digunakan karena anhidrida suksinat mudah larut dalam pelarut organik tersebut. Di samping itu, piridin juga diketahui berperan sebagai katalisator dalam reaksi asilasi. Kemudian, ke dalam campuran tersebut ditambahkan larutan NaOH 1N sedikit demi sedikit untuk menjaga agar reaksi dapat bergerak ke arah kanan dan menghasilkan produk. Reaksi N-asilasi yang terjadi akan melepaskan senyawa asam yang berasal dari residu asam suksinat dan dari ion H^+ yang terlepas akibat substitusi gugus suksinil, yang berasal dari anhidrida suksinat, pada gugus N-amino kitosan. Dengan demikian, penambahan larutan NaOH 1N yang bersifat basa diprediksi dapat mendorong reaksi bergerak ke arah kanan sehingga akan dihasilkan produk dalam jumlah yang lebih maksimal.

Jumlah anhidrida suksinat yang digunakan dalam reaksi mencapai 63% dari jumlah kitosan. Jumlah tersebut bukan didasarkan pada stoikiometri reaksi yang berlangsung. Agar dihasilkan produk modifikasi yang optimal, kitosan harus dibombardir dengan sejumlah anhidrida suksinat berlebih. Hal tersebut

disebabkan tidak seluruh gugus suksinil pada anhidrida suksinat dapat mensubstitusi gugus N-pada kitosan. Sebagian dari anhidrida suksinat tersebut dapat terdisosiasi melepaskan asam suksinat yang tidak ikut bereaksi.

Selama sintesis, terjadi beberapa perubahan visual pada campuran reaktan yang dipengaruhi oleh kondisi pH. Pada pH 4 – 5, terbentuk gumpalan-gumpalan putih yang melayang dalam gel kitosan akibat penambahan anhidrida suksinat dalam piridin dan NaOH. Namun, proses pengadukan dapat melarutkan gumpalan putih tersebut dalam gel kitosan. Pada pH 5 - 5,6, terbentuk larutan koloid keruh dengan konsistensi yang lebih cair. Pada pH 5,6 - 5,7, terbentuk suspensi putih susu. Pada tahap ini, penghentian pengadukan akan menyebabkan terbentuknya dua fase yang memisah. Lapisan atas berupa cairan bening, sedangkan lapisan bawah berupa endapan halus berwarna putih. Endapan tersebut diduga merupakan kitosan yang tidak larut dalam suasana pH mendekati atau di atas 6.

Pada pH 5 – 6,5, penambahan NaOH hanya menyebabkan kenaikan pH secara perlahan. Hal tersebut disebabkan reaksi yang terjadi cenderung melepaskan senyawa asam, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Pada pH 6,3 mulai terbentuk gel bening kekuningan, seperti yang terjadi pada awal reaksi. Penambahan larutan NaOH 1N tetap dilakukan hingga dicapai pH=7. Namun, setelah tercapai pH=6,3, penambahan NaOH dalam jumlah kecil dapat menyebabkan kenaikan pH yang bermakna. Hal tersebut diduga terjadi karena reaksi telah berakhir sehingga senyawa-senyawa asam tidak lagi dilepaskan oleh reaktan.

Setelah tercapai pH=7, hasil sintesis yang diperoleh dipanaskan selama beberapa jam dalam lemari asam untuk menguapkan piridin yang digunakan dalam reaksi. Selanjutnya, gel yang terbentuk dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Hasil yang diperoleh berupa lapisan film berwarna putih kekuningan. Film tersebut kemudian diserbukkan. Serbuk yang diperoleh didialisis menggunakan aqua demineralisata selama 8 jam. Air dialisa diuji menggunakan FeCl₃ dan NH₄OH untuk memastikan bahwa hasil sintesis telah bersih dari residu asam suksinat. Berdasarkan hasil pada uji orientasi, proses dialisis selama 8 jam cukup untuk membersihkan residu asam suksinat. Untuk membandingkan hasil reaksi, digunakan blanko positif dan blanko negatif. Hasil

dialisis, yang berupa gel kekuningan, kemudian dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 40°C . Hasil yang diperoleh diserbukkan dan diayak sehingga diperoleh serbuk kitosan suksinat berwarna kuning kecoklatan dengan ukuran 45 mesh.

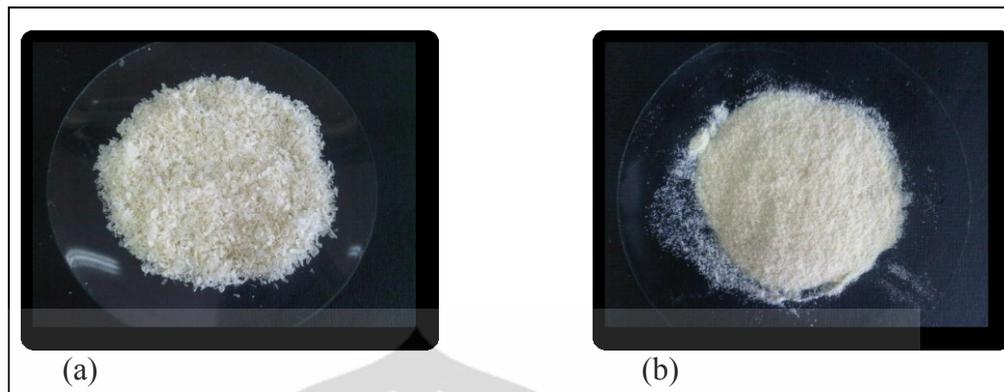
Pada prosedur sintesis kitosan suksinat dilakukan beberapa modifikasi terhadap metode dari literatur (Aiedeh dan Taha, 1999). Modifikasi tersebut meliputi :

1. Pada proses sintesis tidak ditambahkan larutan NaCl 20% karena penambahan larutan NaCl dalam jumlah besar, seperti dicantumkan dalam literatur, akan menyebabkan polimer hasil sintesis menjadi kurang murni. Hal tersebut disebabkan NaCl tidak ikut menguap ketika hasil sintesis dikeringkan dalam oven, tetapi membentuk endapan garam.
2. Polimer hasil sintesis tidak dicuci menggunakan aseton dan dietil eter untuk tujuan purifikasi karena penambahan aseton dan dietil eter justru menyebabkan gel hasil sintesis menjadi terlarut sehingga proses filtrasi tidak dapat dilakukan. Hal tersebut mungkin disebabkan dalam hasil sintesis terdapat residu asam suksinat yang larut dalam pelarut organik. Untuk memurnikan hasil sintesis dilakukan proses dialisis.

4.2. Karakterisasi kitosan suksinat

4.2.1. Karakterisasi penampilan fisik

Kitosan suksinat hasil sintesis berbentuk serbuk amorf, berwarna kuning kecoklatan, dan tidak berbau. Kitosan suksinat hasil sintesis dapat dilihat pada Gambar 4.1. Serbuk kitosan suksinat hasil sintesis memiliki ukuran 45 mesh. Serbuk kitosan suksinat tersebut berwarna kuning kecoklatan karena membawa sifat dari kitosan yang juga berwarna kekuningan. Adanya proses pengeringan polimer hasil sintesis menggunakan oven sebanyak dua kali diduga menyebabkan warna dari kitosan suksinat hasil sintesis relatif lebih kecoklatan dibandingkan dengan kitosan.



Gambar 4.1. Serbuk kitosan tanpa modifikasi (a) dan serbuk kitosan suksinat hasil sintesis (b)

4.2.2. Penentuan gugus fungsi pada kitosan suksinat dengan FTIR

Untuk mengetahui perbedaan gugus fungsional pada polimer sebelum dan setelah proses modifikasi, dilakukan pengujian menggunakan FTIR. Pengujian menggunakan FTIR relatif sulit dilakukan terhadap polimer karena polimer biasanya memiliki struktur yang cukup kompleks. Spektrum inframerah dari kitosan suksinat dan kitosan dapat dilihat pada Gambar 4.2.

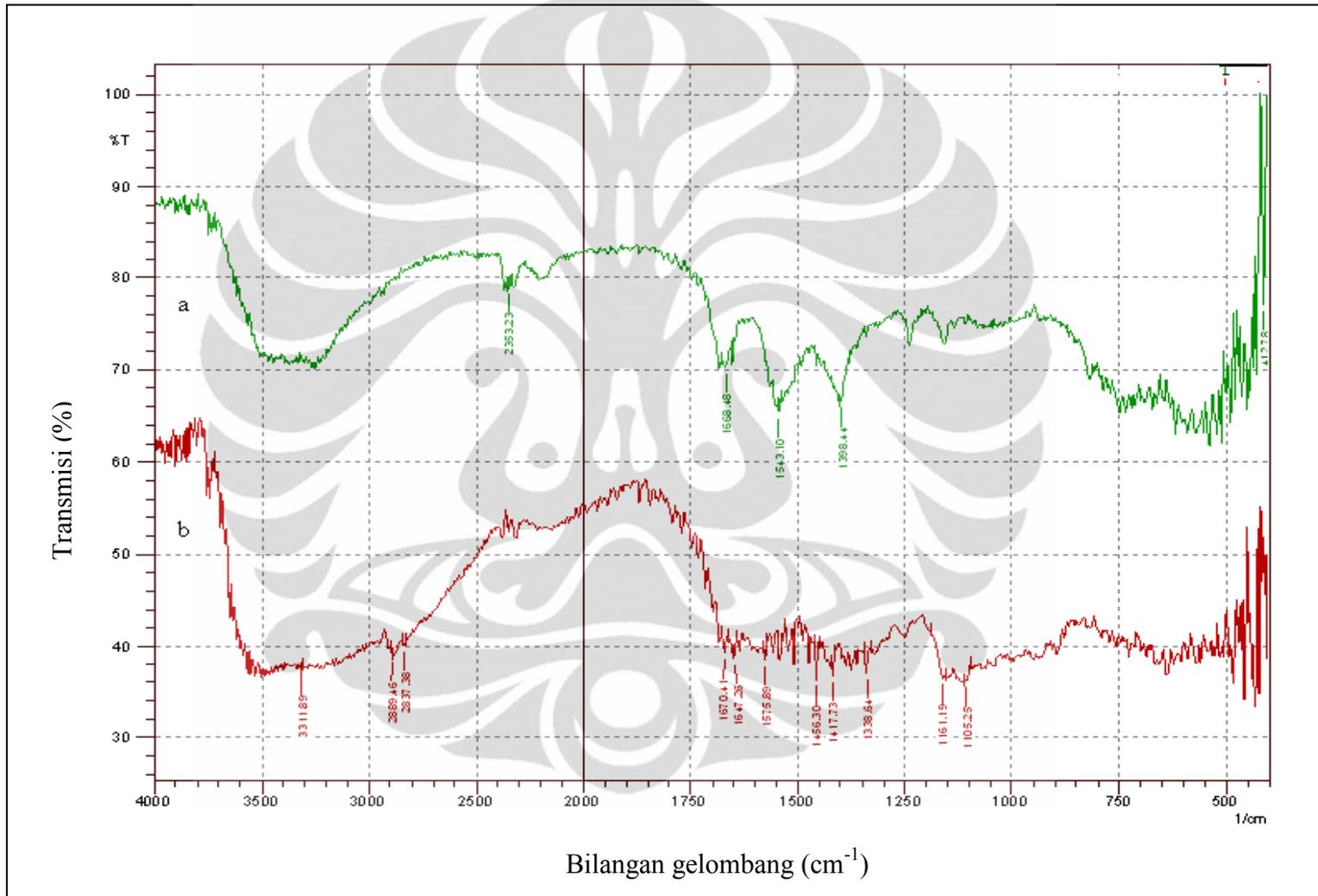
Berdasarkan spektrum inframerah tersebut, dapat dilihat bahwa kitosan dan kitosan suksinat hasil sintesis memberikan puncak yang berbeda. Kitosan suksinat memberikan puncak pada bilangan gelombang $1668,48 \text{ cm}^{-1}$ dan $3200\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$. Adapun puncak pada bilangan gelombang $1668,48 \text{ cm}^{-1}$ tersebut diduga mengindikasikan gugus karbonil amida sebagai hasil dari substitusi gugus suksinil dari anhidrida suksinat pada gugus N- kitosan. Puncak pada bilangan gelombang $3200\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$ dari kitosan suksinat hasil sintesis diduga mengindikasikan gugus hidroksil karboksilat yang juga merupakan komponen dari gugus suksinil yang mensubstitusi gugus N- kitosan. Kitosan suksinat memberikan puncak pada bilangan gelombang $1398,44 \text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan terbentuknya gugus C-N.

Terbentuknya gugus amida tersebut menunjukkan bahwa reaksi yang terjadi merupakan reaksi N-asilasi. Selektivitas terhadap gugus N-amino tersebut disebabkan gugus N- bersifat lebih nukleofil dibandingkan dengan gugus hidroksil yang terdapat di sekitarnya sehingga gugus suksinil cenderung lebih mudah mensubstitusi gugus N- dibandingkan gugus -OH pada kitosan (Aiedeh dan Taha, 1999).

Pada spektrum inframerah kitosan, terdapat pita serapan pada bilangan gelombang $1670,41\text{ cm}^{-1}$. Pita serapan tersebut diduga mengindikasikan gugus karbonil amida yang berasal dari gugus asetamida kitosan yang belum terdeasetilasi. Kitosan memberikan puncak pada bilangan gelombang $3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan gugus hidroksil dari glukosamin yang membentuk kitosan. Puncak tersebut diduga menutupi pita serapan dari gugus amin yang terdapat pada kitosan. Berdasarkan literatur, gugus amin memberikan puncak pada bilangan gelombang $3100\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ (Harmita, 2006). Pita serapan yang mengindikasikan gugus karbonil amida pada kitosan suksinat menunjukkan intensitas sedang, sementara pada kitosan memperlihatkan intensitas lemah. Hal tersebut disebabkan kitosan suksinat memiliki dua jenis gugus karbonil amida, yaitu berupa gugus asetamida dari kitosan yang belum terdeasetilasi dan gugus amida dari hasil reaksi N-suksinilasi kitosan. Spektrum inframerah kitosan maupun kitosan suksinat memberikan pita serapan pada rentang bilangan gelombang $1540\text{-}1575\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan terdapatnya gugus -NH pada polimer-polimer tersebut, baik berupa gugus -NH amida maupun sebagai gugus amin. Menurut hasil penelitian terdahulu, kitosan suksinat juga memberikan puncak pada daerah karbonil karboksilat, yaitu pada bilangan gelombang $1710\text{-}1720\text{ cm}^{-1}$ (Aiedeh dan Taha, 1999). Namun, hasil spektrum inframerah yang diperoleh tidak menunjukkan puncak tersebut. Hal ini mungkin disebabkan derajat substitusi dari kitosan suksinat hasil sintesis relatif kecil.

4.2.3. Penentuan derajat substitusi dengan metode titrasi asam basa

Penentuan derajat substitusi dari kitosan suksinat hasil sintesis dilakukan menggunakan metode titrasi asam basa secara tidak langsung. Pada penelitian terdahulu, Aiedeh dan Taha (1999) menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan derajat substitusi kitosan suksinat. Namun, dalam penelitian ini, metode tersebut tidak dipilih karena panjang gelombang yang digunakan dalam analisis ($\lambda = 215\text{-}228\text{ nm}$) berada pada daerah yang rawan pengotor sehingga hasil analisis dikhawatirkan menjadi kurang akurat.



Gambar 4.2. Spektrum inframerah dari : a) kitosan suksinat; b) kitosan (*overlay*)

Kitosan suksinat hasil sintesis mula-mula dilarutkan menggunakan larutan NaOH 1N. NaOH yang digunakan untuk melarutkan polimer kitosan suksinat berjumlah berlebih. Dengan demikian, dapat diasumsikan bahwa sebagian gugus Na^+ akan mensubstitusi gugus hidroksil pada N-suksinil kitosan dan membentuk garam. NaOH yang tidak bereaksi dengan kitosan suksinat akan dititrasi menggunakan larutan HCl 1N. Pada saat mol dari larutan HCl yang ditambahkan sebanding dengan mol dari NaOH yang bebas (NaOH yang tidak bereaksi dengan kitosan suksinat), akan tercapai titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi jingga. Dengan demikian, mol dari NaOH yang bebas dapat diketahui.

Mol NaOH yang bereaksi dengan kitosan suksinat diperoleh dari selisih antara mol NaOH yang ditambahkan saat proses pelarutan dengan mol NaOH yang diperoleh dari hasil titrasi (dalam hal ini setara dengan mol HCl). Mol NaOH yang bereaksi dengan kitosan suksinat tersebut diasumsikan menggambarkan jumlah gugus suksinil yang terdapat dalam kitosan suksinat. Dengan mengetahui mol NaOH yang bereaksi dengan kitosan suksinat, derajat substitusi kitosan suksinat dapat ditentukan.

Larutan NaOH dan HCl yang digunakan terlebih dahulu harus dibakukan. Larutan NaOH dibakukan dengan baku primer kalium hidrogen ftalat (KHP) dan indikator fenolftalein. Perubahan warna yang menandakan tercapainya titik akhir titrasi, yaitu dari tidak berwarna menjadi pink. Sedangkan, pembakuan larutan HCl menggunakan baku primer berupa boraks dengan indikator metil merah. Titik akhir titrasi pada pembakuan larutan HCl ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi jingga.

Hasil penentuan derajat substitusi kitosan suksinat hasil sintesis memberikan nilai 1,97 mol/g. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dalam 1 gram kitosan suksinat hasil sintesis terdapat 1,97 mol gugus suksinil dari hasil reaksi N-asilasi.

4.2.4. Uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut

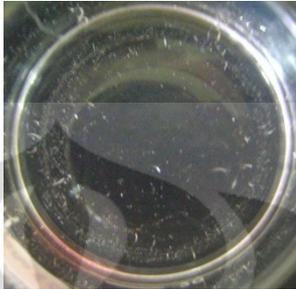
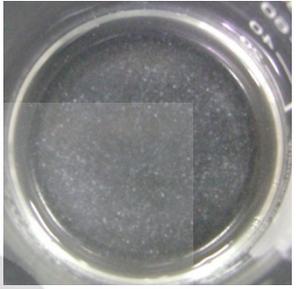
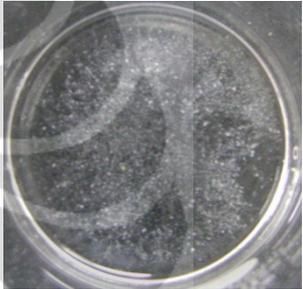
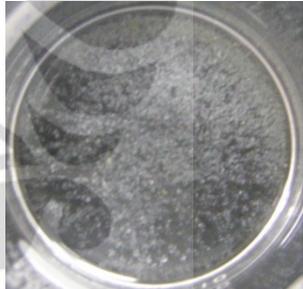
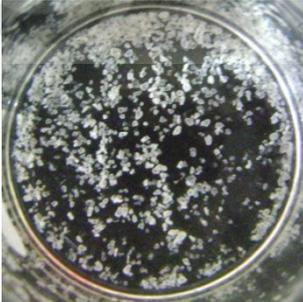
Uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut dilakukan secara kualitatif dan semikuantitatif. Pada pengujian secara kualitatif,

serbuk kitosan dan kitosan suksinat dilarutkan dalam berbagai medium yang memiliki pH yang berbeda-beda, yaitu 1,2; 3; 5; 6,8; 7,4; 12; dan aquadest. Proses pelarutan dilakukan pada suhu kamar dengan bantuan pengaduk (*shaker*) berkecepatan 200 rpm selama 2 jam. Hasil yang diperoleh diamati secara visual. Hasil uji kelarutan secara visual dapat dilihat pada Tabel 4.1. Berdasarkan data pada Tabel 4.1, dapat dilihat bahwa serbuk kitosan suksinat dapat larut dalam suasana basa yaitu pada pH 12, serta pada pH asam 1,2, sedangkan pada pH 6,8 dan 7,4 serbuk kitosan suksinat masih memiliki bagian yang mengembang dan tidak larut. Kelarutan kitosan suksinat berbanding terbalik dengan kitosan, dimana kitosan tidak dapat larut pada pH yang lebih besar dari 3.

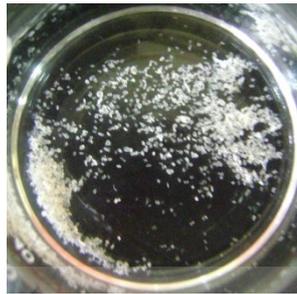
Uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif dilakukan dengan mengukur jumlah kitosan suksinat yang terlarut dalam berbagai medium dengan spektrofotometer UV – Vis pada panjang gelombang 228 nm (Aiedeh dan Taha, 1999). Mula-mula, sejumlah kitosan suksinat dilarutkan dalam medium-medium seperti yang digunakan pada pengamatan secara visual, kemudian disaring untuk memisahkan larutan jenuh dengan bagian yang tidak terlarut. Larutan jenuh dari masing-masing medium dipipet sebanyak 5,0 ml, dicukupkan dengan larutan NaOH 0,1 N hingga mencapai pH 13, kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil uji pendahuluan, jumlah NaOH 0,1 N yang dibutuhkan untuk mencapai pH 13 adalah sebanyak 15 ml untuk masing-masing medium. Sebagai larutan standar digunakan larutan jenuh kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N pH 13.

Hasil uji secara semikuantitatif dapat dilihat pada Tabel 4.2. Pada Tabel 4.2 tersebut dapat dilihat bahwa jumlah kitosan suksinat yang terlarut pada pH asam 1,2 lebih tinggi dibandingkan dalam medium lainnya. Jumlah kitosan suksinat yang terlarut dalam medium dengan pH 3, pH 5, dan aquadest menunjukkan penurunan. Jumlah kitosan suksinat yang terlarut meningkat seiring dengan peningkatan pH larutan mulai dari medium dengan pH 6,8 hingga NaOH pH 12. Data ini menunjang hasil uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara kualitatif (visual).

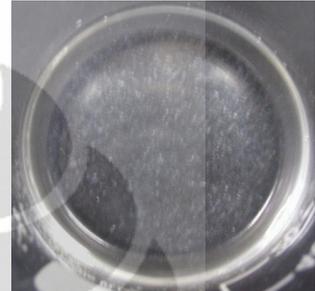
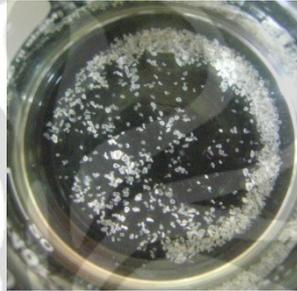
Tabel 4.1. Hasil uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut berdasarkan pengamatan visual (secara kualitatif)

No.	Medium	Kitosan	Kitosan suksinat
1.	HCl pH 1,2		
2.	HCl pH 3		
3.	HCl pH 5		
4.	Aquadest		

5. Dapar fosfat
pH 6,8



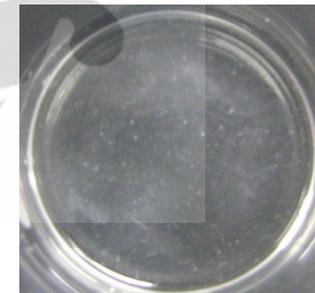
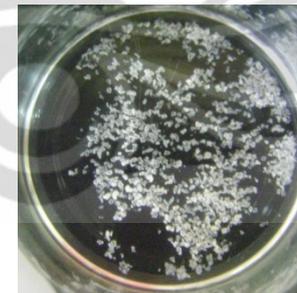
6. Dapar fosfat
pH 7,4



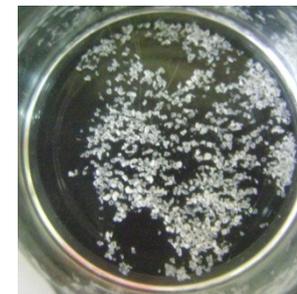
7. NaOH pH 10



8. NaOH pH 12



9. NaOH pH 13



Tabel 4.2. Hasil uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif

Medium	Serapan		Jumlah kitosan suksinat terlarut (g/100 ml)
	Standar	Larutan jenuh	
HCl pH 1,2	1,658	0,158	0,196
HCl pH 3	1,658	0,034	0,042
HCl pH 5	1,658	0,060	0,074
Aquadest	1,658	0,025	0,031
Dapar fosfat pH 6,8	1,658	0,091	0,113
Dapar fosfat pH 7,4	1,658	0,108	0,134
NaOH pH 12	1,658	0,144	0,179

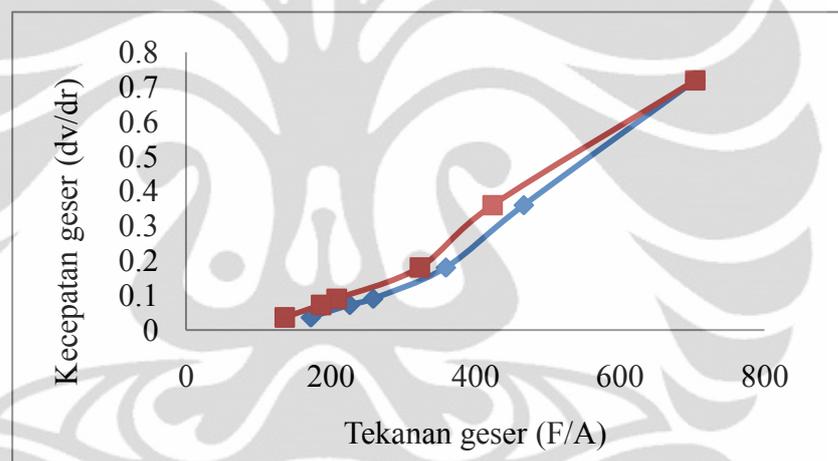
Jumlah kitosan suksinat yang terlarut dipengaruhi oleh adanya gugus karboksilat dan gugus amin. Jumlah kitosan suksinat yang terlarut dalam medium asam dengan pH 1,2 relatif tinggi karena terjadinya protonasi gugus amin dari $-NH_2$ menjadi $-NH_3^+$. Kitosan suksinat dapat larut dalam medium basa (pH > 6,8) disebabkan terjadinya ionisasi gugus karboksilat (COOH) menjadi ion karboksilat ($-COO^-$). Dalam medium dengan pH 3 – 6,8, jumlah kitosan suksinat yang terlarut relatif menurun. Hal ini disebabkan pada kisaran pH tersebut terdapat titik isoelektrik kitosan suksinat yang menyebabkan terjadinya keseimbangan ekuimolar dari $-NH_3^+$ dan $-COO^-$ dalam molekul (Yan, Chen, dan Gu, 2006; Champagne, 2008). Jumlah kitosan suksinat yang terlarut dalam aquadest relatif rendah. Hal ini dipengaruhi oleh kecilnya derajat substitusi yang diperoleh. Semakin besar derajat substitusi kitosan suksinat, kelarutannya di dalam aquadest akan meningkat (Noerati, Radiman, Achmad, dan Ariwahjoedi, 2007).

Pengukuran jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif mempunyai banyak kekurangan karena tidak dapat mengukur secara tepat jumlah kitosan suksinat yang terlarut di dalam medium yang digunakan. Hal ini disebabkan oleh pengukuran kelarutan dilakukan pada panjang gelombang yang didapatkan dari literatur dan bukan merupakan panjang gelombang isobestik. Pengukuran suatu sampel yang dipengaruhi oleh pH dilakukan pada titik isobestik, yaitu

panjang gelombang suatu senyawa dengan konsentrasi sama, namun mempunyai pH yang berbeda dan memberikan serapan yang sama. Akibat adanya perubahan pH pelarut, maka akan menyebabkan perubahan serapan dan panjang gelombang maksimum (Harmita, 2006). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan kelarutan kitosan suksinat secara kuantitatif.

4.2.5. Pengukuran viskositas kitosan suksinat

Kitosan suksinat hasil sintesis didispersikan dalam medium NH_4OH 0,037% dengan konsentrasi 6% (b/v). Hasil dispersi tersebut berupa gel. Untuk menentukan viskositas dari gel kitosan suksinat digunakan spindel nomor 1. Rheogram yang diperoleh disajikan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Rheogram dari gel kitosan suksinat dengan konsentrasi 6% : ◆ kurva menaik; ■ kurva menurun

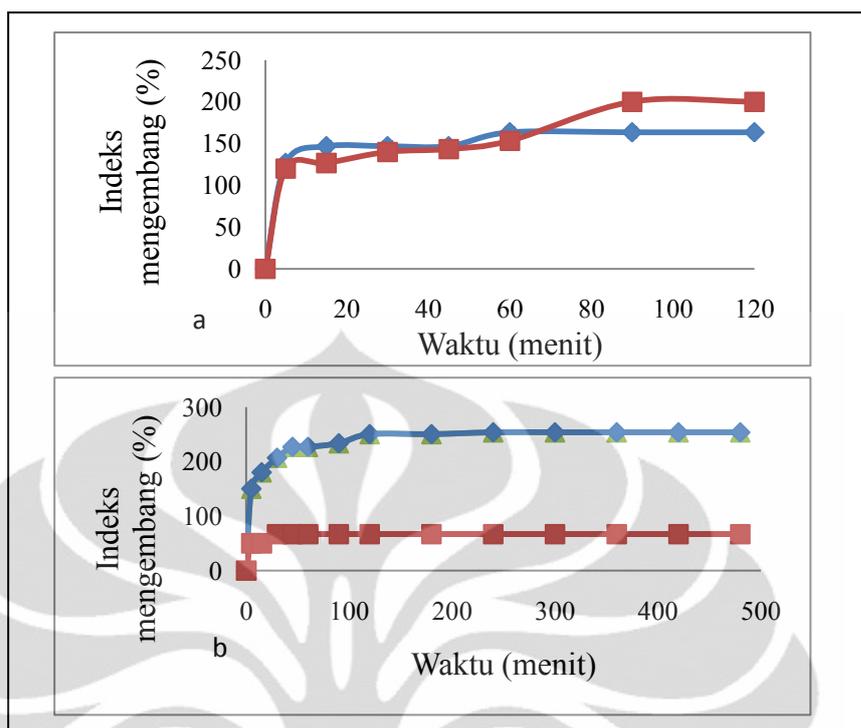
Berdasarkan rheogram pada Gambar 4.3, dapat dilihat bahwa gel kitosan suksinat yang terbentuk memiliki sifat alir tiksotropik-pseudoplastis. Menurut aliran tiksotropik, kurva menurun berada di sebelah kiri kurva menaik. Hal tersebut disebabkan oleh terjadinya perubahan struktur yang tidak segera kembali ke keadaan semula apabila tekanan dikurangi. Sifat aliran ini biasanya terjadi pada partikel yang asimetrik (polimer) yang tersusun sebagai suatu jaringan tiga dimensi. Hasil pengukuran viskositas menunjukkan bahwa kurva menaik dan kurva menurun dari rheogram gel kitosan suksinat nyaris berhimpit.

4.2.6. Karakterisasi daya mengembang kitosan suksinat

Pengamatan terhadap daya mengembang kitosan suksinat hasil sintesis bertujuan untuk mengetahui kemampuan penetrasi air ke dalam polimer. Daya mengembang polimer tersebut akan berpengaruh terhadap kemampuan polimer dalam melepaskan zat aktif dan berpengaruh pula terhadap daya mukoadhesifnya.

Berdasarkan profil indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat pada Gambar 4.4, tampak bahwa dalam medium HCl pH 1,2, kitosan memberikan indeks mengembang sebesar 200% atau 3 kali terhadap volume awal, sedangkan kitosan suksinat memberikan indeks mengembang sebesar 163% atau 2,6 kali volume awal. Indeks mengembang kitosan suksinat dalam medium asam lebih kecil dibandingkan dengan kitosan. Hal tersebut disebabkan kitosan memiliki gugus N-amino yang dapat terprotonasi dalam medium asam membentuk NH_3^+ sehingga meningkatkan hidrofilitas kitosan. Peningkatan hidrofilitas tersebut meningkatkan absorpsi air oleh kitosan. Di samping itu, daya mengembang kitosan dalam medium asam juga ditimbulkan oleh adanya gugus hidroksil yang bersifat hidrofilik. Di lain pihak, sebagian gugus NH_2 pada kitosan suksinat telah tersubstitusi oleh gugus suksinil sehingga mengurangi hidrofilitasnya dalam medium asam. Daya mengembang kitosan suksinat dalam medium asam disebabkan oleh adanya gugus hidroksil yang bersifat hidrofilik.

Dalam medium dapar fosfat pH 7,4, kitosan memberikan indeks mengembang sebesar 67% atau 1,7 kali volume awal, sedangkan kitosan suksinat memberikan indeks mengembang sebesar 253% atau 3,5 kali volume awal. Indeks mengembang kitosan suksinat dalam medium basa lebih besar dibandingkan dengan kitosan. Hal tersebut disebabkan kitosan suksinat mengandung gugus karboksilat yang dapat terionisasi dalam medium basa membentuk COO^- sehingga meningkatkan hidrofilitas kitosan suksinat. Peningkatan hidrofilitas tersebut meningkatkan absorpsi air. Gugus hidroksil, yang bersifat hidrofilik, juga lebih banyak terdapat dalam kitosan suksinat dibandingkan dengan kitosan sehingga kitosan suksinat relatif lebih hidrofilik dibandingkan kitosan. Polimer yang lebih hidrofil dapat menyerap lebih banyak air sehingga memiliki indeks mengembang lebih tinggi.



Gambar 4.4. Profil indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat dalam : a) medium HCl pH 1,2; b) medium dapar fosfat pH 7,4. Uji dilakukan pada suhu 37°C selama: a) 120 menit; b) 480 menit. Tiap titik menggambarkan nilai rata-rata (n=3) : ◆ kitosan suksinat, ■ kitosan

4.2.7. Pengukuran pH kitosan suksinat

Untuk mengukur pH kitosan suksinat hasil sintesis, mula-mula sampel didispersikan dalam aquadest dengan beberapa variasi konsentrasi, kemudian derajat keasaman sampel diukur menggunakan pHmeter. Hasil pengukuran pH larutan kitosan suksinat dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Pengukuran pH kitosan suksinat

No.	Larutan kitosan suksinat (%)	Berat kitosan suksinat (mg)	pH
1.	0,5	50,1	6,85
2.	1	100,8	6,81
3.	2	202,4	6,79
4.	3	302,4	6,80
5.	4	403	6,77
6.	5	501,2	6,79

Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa meskipun didispersikan dalam konsentrasi yang berbeda-beda, larutan kitosan suksinat dalam aquadest memiliki pH yang relatif sama, yaitu sekitar 6,8, mendekati pH aquadest yang digunakan (pH aquadest = 6,95).

4.2.8. Uji kompresibilitas kitosan suksinat

Kompresibilitas kitosan suksinat diukur menggunakan alat *Tapped Bulk Densitor*. Perhitungan indeks kompresibilitas sampel dilakukan menggunakan metode Neumann dan Carr. Di samping untuk mengukur indeks kompresibilitas, uji ini juga dilakukan untuk mengetahui densitas bulk dan densitas mampat dari kitosan suksinat. Adapun indeks kompresibilitas, densitas bulk, dan densitas mampat dari kitosan juga diukur untuk mengetahui pengaruh reaksi N-suksinilasi terhadap sifat fisika dan fungsional dari polimer tersebut.

Pengukuran indeks kompresibilitas dilakukan untuk mengetahui kekompakan polimer hasil sintesis. Hasil pengukuran kompresibilitas, densitas bulk, dan densitas mampat dari kitosan suksinat dan kitosan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Densitas dan kompresibilitas kitosan dan kitosan suksinat

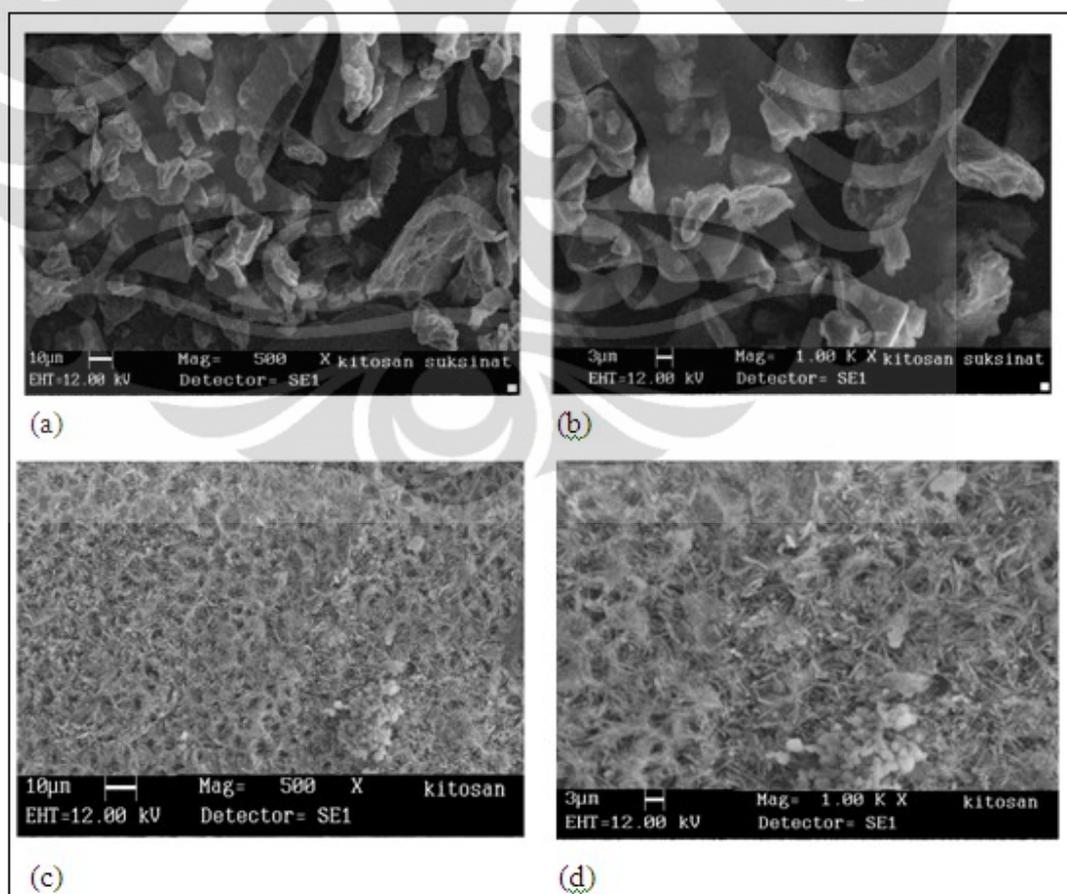
Parameter	Kitosan	Kitosan suksinat
Berat awal (g)	9,2470	8,5438
Berat akhir (g)	9,2120	8,4812
Volume sebelum sampel dimampatkan (cm ³)	50	50
Volume setelah sampel dimampatkan (cm ³)	41	38
Densitas bulk (g/cm ³)	0,1849	0,1709
Densitas mampat (g/cm ³)	0,2247	0,2232
Indeks kompresibilitas (%)	18	24

Berdasarkan data pada Tabel 4.4, dapat dilihat bahwa densitas bulk dan densitas mampat dari kitosan lebih besar dibandingkan kitosan suksinat. Hal tersebut menunjukkan bahwa kitosan merupakan polimer yang lebih *bulky*

dibandingkan kitosan suksinat. Hal tersebut disebabkan morfologi kitosan yang lebih berpori dibandingkan dengan kitosan suksinat. Adapun morfologi kitosan dan kitosan suksinat akan dibahas kemudian. Indeks kompresibilitas kitosan suksinat lebih buruk dibandingkan dengan kitosan. Hal tersebut disebabkan kitosan suksinat bersifat lebih higroskopis dibandingkan kitosan. Berdasarkan percobaan pendahuluan, kadar air kitosan adalah 9,3%; sedangkan untuk kitosan suksinat 23,9%. Higroskopisitas kitosan suksinat diduga dapat meningkatkan kohesi antar partikel polimer sehingga volume mampat kitosan suksinat lebih kecil daripada kitosan. Akibatnya, indeks kompresibilitas kitosan suksinat tergolong dalam kategori buruk, sedangkan untuk kitosan cukup baik.

4.2.9. Pengamatan bentuk dan morfologi permukaan kitosan suksinat

Berdasarkan Gambar 4.5, dapat dilihat bahwa bentuk dan morfologi kitosan tidak sama dengan kitosan suksinat.



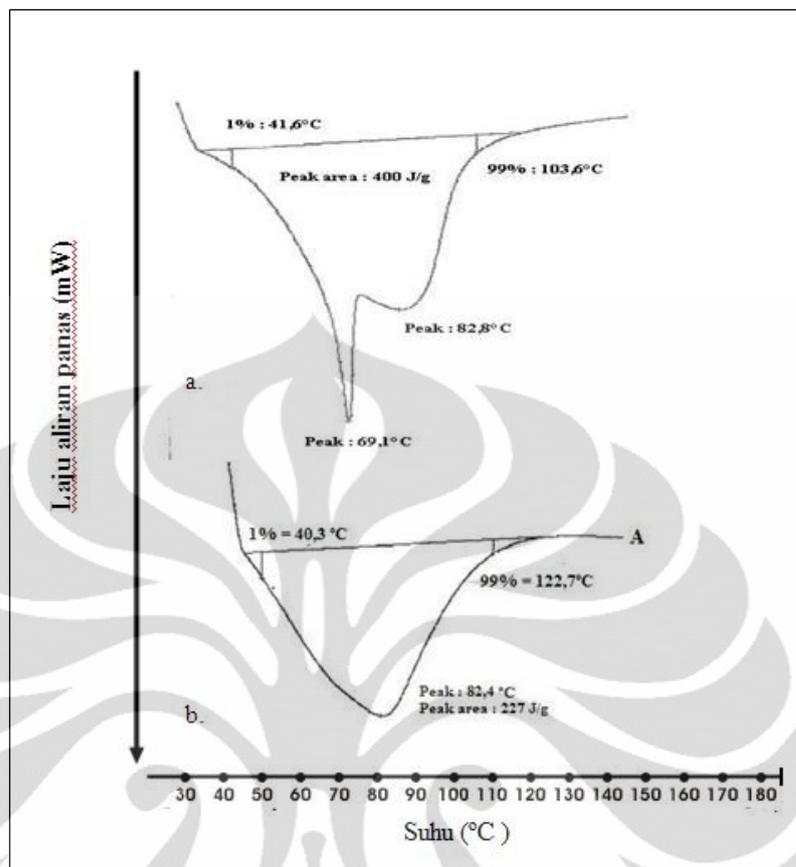
Gambar 4.5. Bentuk dan morfologi polimer menggunakan SEM : kitosan suksinat (a dan b); kitosan (c dan d). Perbesaran yang digunakan : 500x (a dan c); 1000x (b dan d)

Pengamatan bentuk dan morfologi permukaan kitosan dan kitosan suksinat dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pengujian dilakukan dengan beberapa perbesaran, yaitu 200x, 500x, 1000x, 5000x, dan 10000x. Namun, hasil yang menunjukkan ketajaman gambar terbaik adalah pada perbesaran 500x dan 1000x. Permukaan kitosan tampak tersusun atas pori-pori. Pori-pori tersebut tampak menyerupai lubang-lubang pada gambar dengan perbesaran 1000x. Di lain pihak, kitosan suksinat memiliki permukaan yang relatif rapat dan cukup halus.

4.2.10. Analisis sifat termal kitosan suksinat

Sifat termal sampel ditentukan menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC). Analisis sifat termal bertujuan untuk memahami kecenderungan suatu bahan ketika dipanaskan. Analisis ini dilakukan dengan mengukur suhu puncak yang terjadi saat energi (panas) diserap atau dibebaskan oleh bahan. Kurva hasil analisis dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Berdasarkan Gambar 4.6, dapat dilihat bahwa kitosan maupun kitosan suksinat memberikan puncak endotermik. Hal tersebut menunjukkan terjadinya proses peleburan polimer (Craig dan Reading (ed.), 2007). Puncak endotermik untuk kitosan terjadi pada suhu $82,4^{\circ}\text{C}$, sedangkan untuk kitosan suksinat pada suhu $69,1^{\circ}\text{C}$. Jarak peleburan kitosan adalah $40,3^{\circ}\text{C}$ - $122,7^{\circ}\text{C}$, sedangkan untuk kitosan suksinat $41,6^{\circ}\text{C}$ - $103,6^{\circ}\text{C}$. Perbedaan suhu puncak dan jarak peleburan tersebut menunjukkan adanya perbedaan struktur antara kitosan dan kitosan suksinat sebagai akibat dari proses modifikasi.



Keterangan :

- a). Puncak endotermik : 69,1 °C
Jarak peleburan : 41,6 °C-103,6 °C
- b). Puncak endotermik : 82,4 °C
Jarak peleburan : 40,3 °C-122,7 °C

Gambar 4.6. Kurva analisis sifat termal : a) kitosan suksinat; b) kitosan

4.3. Pembuatan granul lepas lambat mukoadhesif

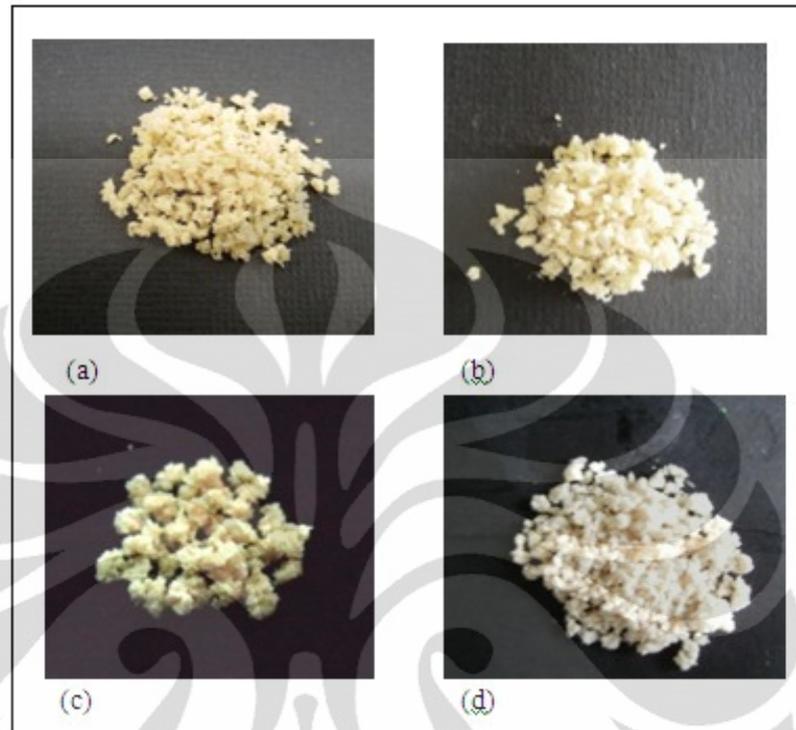
Proses granulasi dilakukan terhadap empat formula dengan komposisi yang dapat dilihat pada Tabel 3.1. Formula 1, 2, dan 3 menggunakan eksipien kitosan suksinat, baik sebagai polimer mukoadhesif maupun untuk tujuan memperlambat pelepasan obat. Pada formula 1, perbandingan antara polimer kitosan suksinat dengan zat aktif adalah 8:1. Pada formula 2, perbandingan antara polimer kitosan suksinat dengan zat aktif ditingkatkan menjadi 10:1, sedangkan pada formula 3 perbandingan tersebut kembali ditingkatkan menjadi 12:1. Peningkatan jumlah polimer yang digunakan bertujuan untuk meningkatkan kemampuan granul dalam memperlambat pelepasan zat aktif. Formula 4 menggunakan kitosan sebagai

polimer pembanding dengan kuantitas 10 kali zat aktif. Kitosan digunakan dalam formula pembanding karena polimer tersebut memiliki sifat mukoadhesif yang baik (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999). Oleh karena itu, dapat diteliti dampak modifikasi gugus kationik kitosan terhadap mukoadhesivitasnya. Granul yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4.7.

Granul mukoadhesif diperoleh dengan metode granulasi basah. Metode granulasi basah dipilih karena dapat menghasilkan granul yang lebih kompak (Abdelhady, Mortada, Awad, Zaki, dan Taha, 2003). Granul yang kompak dibutuhkan untuk menunjang tujuan pelepasan obat yang diperlambat. Keempat formula menggunakan pengikat berupa pasta amilum. Hal tersebut disebabkan oleh sifat kitosan dan kitosan suksinat yang cukup regas sehingga membutuhkan eksipien pengikat untuk membentuk massa granul yang lebih kompak. Selain karena memiliki daya ikat yang kuat, pasta amilum dipilih sebagai pengikat karena bahan tersebut tidak memiliki sifat mukoadhesif dan tidak menahan pelepasan obat sehingga tidak mengganggu pengamatan terhadap kitosan suksinat, baik sebagai polimer mukoadhesif maupun untuk tujuan lepas lambat. Polivinil pirolidon (PVP), pengikat yang lazim digunakan dalam metode granulasi basah, tidak dipilih karena PVP memiliki sifat mukoadhesif (Alur, Mitra, dan Johnstone, 2003). Berdasarkan percobaan pendahuluan, digunakan pasta amilum dengan konsentrasi 5%. Pasta amilum tersebut dibuat dengan melarutkan amilum jagung -sebanyak 10% dari jumlah kitosan atau kitosan suksinat yang digunakan- dalam air panas hingga terbentuk massa bening dan kental.

Model obat yang digunakan dalam formulasi adalah natrium diklofenak. Pemilihan model obat tersebut dilatarbelakangi oleh sifat farmakologis natrium diklofenak sebagai salah satu obat golongan anti inflamasi non steroid (AINS). Obat-obat AINS memiliki efek samping yaitu dapat menyebabkan iritasi lambung (Katzung, 1994). Oleh karena itu, pelepasan obat dari granul dirancang untuk terjadi pada usus. Untuk mencapai tujuan tersebut, digunakan polimer kitosan suksinat, sebagai hasil modifikasi dari kitosan, yang diprediksi mampu menahan pelepasan obat dalam pH asam, tetapi dapat melepaskan obat ketika memasuki pH basa. Alasan lain adalah natrium diklofenak memiliki waktu paruh yang singkat, yaitu 1-2 jam (Sweetman, (ed.), 2009). Oleh karena itu, formulasi granul

lepas lambat mukoadhesif diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas obat tersebut.



Gambar 4.7. Granul lepas lambat mukoadhesif : a) formula 1; b) formula 2; c) formula 3; d) formula 4

Proses granulasi diawali dengan pencampuran polimer dengan zat aktif. Setelah homogen, ke dalam campuran tersebut ditambahkan pasta amilum sambil diaduk hingga terbentuk massa yang dapat dikepal. Massa yang terbentuk kemudian diayak dengan ayakan mesh 8 untuk selanjutnya dioven pada suhu 40°C. Granul yang terbentuk kemudian diayak kembali menggunakan ayakan mesh 16. Granul yang digunakan untuk evaluasi adalah granul yang berukuran antara mesh 8 – mesh 16 (1,00 – 2,36 mm). Hal tersebut bertujuan untuk mempermudah pengamatan pada uji *wash off*. Granul yang dibentuk oleh kitosan suksinat berwarna kekuningan, sedangkan granul kitosan berwarna putih kekuningan.

4.4. Evaluasi granul lepas lambat mukoadhesif

4.4.1. Uji perolehan kembali proses (UPK)

Pada Tabel 4.5, dapat dilihat bahwa nilai UPK dari keempat formula granul berkisar antara 82-95%. Granul yang mengandung kitosan memiliki nilai UPK lebih besar dibandingkan dengan granul yang dibentuk oleh kitosan suksinat. Kitosan suksinat bersifat lebih higroskopis dibandingkan kitosan. Hal tersebut menyebabkan massa yang dibentuk oleh kitosan suksinat, zat aktif, dan pasta amilum lebih lembab sehingga lebih banyak massa yang menempel dan tertinggal pada ayakan. Hal tersebut menyebabkan nilai UPK granula kitosan suksinat lebih kecil daripada nilai UPK granula kitosan.

Tabel 4.5. Hasil evaluasi granula lepas lambat mukoadhesif dari keempat formula menurut berbagai parameter

Formula	UPK (%)	Kadar air (%)	Indeks kompresibilitas (%)	Laju alir (g/detik)	Sudut reposa (°)	Rata-rata efisiensi penjerapan SD (%)
1	82,54	3,58	10	3,6	26,6	94,11
2	85,70	2,21	10	3,1	29,5	92,52 2,21
3	88,34	2,00	10	2,8	29,7	96,11 0,59
4	95,83	2,91	8	2,7	28,6	97,34 0,81

Peningkatan jumlah kitosan suksinat yang digunakan pada formula 2 dan 3 menunjukkan peningkatan nilai UPK dibandingkan pada formula 1. Formula 2 dan 3 memiliki nilai UPK berturut-turut sebesar 85,70% dan 88,34%, sedangkan formula 1 memiliki nilai UPK sebesar 82,54%. Peningkatan nilai UPK pada formula yang mengandung polimer lebih banyak mungkin dipengaruhi oleh kelembaban massa granula yang terbentuk. Formula dengan jumlah polimer lebih sedikit cenderung lebih basah dan lembab dibandingkan dengan formula yang mengandung polimer lebih banyak. Peningkatan kelembaban tersebut menyebabkan massa granula lebih banyak yang menempel dan tertinggal pada ayakan sehingga menurunkan nilai UPK.

4.4.2. Pemeriksaan kadar air granul lepas lambat mukoadhesif

Pemeriksaan kadar air dilakukan untuk memperkirakan derajat kemudahan suatu granul ditembus oleh air. Granul dengan kadar air yang terlalu tinggi lebih mudah tercemar oleh mikroba. Di samping itu, kadar air yang tinggi dapat mengurangi kestabilan zat aktif baik secara fisika maupun kimia, misalnya adanya air dapat memicu terjadinya hidrolisis zat aktif. Kadar air yang tinggi juga berpotensi meningkatkan kohesi antar partikel granul sehingga dapat menurunkan laju alir dan kompresibilitas granul. Hal tersebut menyebabkan granul lebih sulit dicetak menjadi tablet. Selain itu, tablet yang dihasilkan akan bersifat rapuh.

Pada Tabel 4.5, dapat dilihat bahwa kadar air dari keempat formula berkisar antara 2-4%. Hasil tersebut sesuai dengan syarat kadar air yang baik dalam sediaan granul, yaitu 2-4% (Lieberman, Lachman, dan Kaning, 1994). Berdasarkan data pada Tabel 4.5, tampak bahwa terjadi penurunan kadar air pada formula yang mengandung polimer lebih banyak. Formula dengan jumlah polimer terkecil (formula 1) memiliki kadar air tertinggi, yaitu 3,58%. Formula dengan jumlah polimer 10 kali zat aktif (formula 2 dan 4) memiliki kadar air berturut-turut 2,21% dan 2,91%. Formula dengan jumlah polimer terbesar (formula 3) memiliki kadar air terkecil, yaitu 2,00%. Adanya peningkatan kadar air pada formula dengan jumlah polimer terkecil tersebut mungkin disebabkan oleh jumlah polimer yang lebih kecil menghasilkan massa granul yang lebih lembab sehingga meningkatkan kadar air granul yang dihasilkan. Jika granul-granul tersebut disimpan pada suhu kamar, kadar air yang terukur akan meningkat. Hal tersebut disebabkan oleh baik polimer maupun zat aktif penyusun granul tersebut memiliki sifat higroskopis sehingga dapat menyerap uap air pada saat disimpan.

4.4.3. Uji kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif

Kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif diukur menggunakan alat *Tapped Bulk Densitor*. Pengukuran dilakukan terhadap kerapatan nyata dan rongga (*tapped density* atau TD) dibandingkan dengan kerapatan nyata (*bulk density* atau BD). *Tapped density* diukur setelah granul diketuk sebanyak 300 kali. Perhitungan indeks kompresibilitas granul dilakukan menggunakan metode Neumann dan Carr.

Pengukuran indeks kompresibilitas granul dilakukan untuk mengetahui kekompakan granul hasil formulasi. Menurut rasio Neumann dan Carr, nilai yang berkisar antara 5-15% menunjukkan bahwa granul memiliki indeks kompresibilitas yang sangat baik. Berdasarkan data pada Tabel 4.5, tampak bahwa keempat formula granul memiliki indeks kompresibilitas yang berkisar antara 8-10%. Hal tersebut menunjukkan bahwa granul hasil formulasi memiliki kekompakan yang baik. Pada Tabel 4.5, tampak pula bahwa peningkatan jumlah polimer kitosan suksinat yang digunakan tidak mempengaruhi indeks kompresibilitas granul. Pada formula 4, yang menggunakan kitosan sebagai polimer pembentuk matriks, diperoleh indeks kompresibilitas yang lebih kecil. Penurunan kompresibilitas tersebut disebabkan oleh sifat kitosan yang lebih *bulky* dibandingkan kitosan suksinat. Kitosan memiliki permukaan yang lebih berpori dibandingkan dengan kitosan suksinat sehingga angka *tapped density* kitosan lebih besar dibandingkan dengan kitosan suksinat. Di samping itu, higroskopisitas kitosan suksinat lebih besar dibandingkan kitosan sehingga kohesi antar partikel pada kitosan suksinat lebih tinggi daripada kitosan. Akibatnya, volume mampat kitosan suksinat lebih kecil daripada kitosan dan indeks kompresibilitasnya menjadi lebih besar.

4.4.4. Uji laju alir dan sudut reposa granul lepas lambat mukoadhesif

Laju alir granul ditentukan menggunakan alat *flowmeter*. Laju alir dihitung berdasarkan waktu yang dibutuhkan oleh sejumlah granul untuk mengalir melalui corong pada alat. Granul yang baik memiliki laju alir lebih besar dari 10 g/detik. Untuk memenuhi corong *flowmeter* dibutuhkan 10 gram granul. Berdasarkan hasil pada Tabel 4.5, dapat disimpulkan bahwa laju alir granul dari keempat formula berkisar antara 2,7-3,6 g/detik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keempat granul hasil formulasi memiliki laju alir yang cukup buruk. Hal tersebut diduga disebabkan oleh ukuran granul yang cukup besar, yaitu 1,00-2,36 mm sehingga aliran granul melalui saluran pada alat menjadi kurang lancar. Selain itu, keempat formula granul tersebut mengandung bahan-bahan yang bersifat higroskopis, seperti natrium diklofenak, kitosan, maupun kitosan suksinat. Setelah disimpan, granul-granul tersebut cenderung memiliki kadar air yang lebih tinggi.

Higroskopisitas granul tersebut meningkatkan kohesi antar partikel granul sehingga laju alir menjadi kurang baik.

Laju alir granul dapat diperbaiki dengan beberapa cara. Pertama, melalui proses pengeringan yang bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam granul. Kadar air yang lebih rendah akan meminimalkan kohesi antar partikel granul sehingga dapat meningkatkan laju alir. Kedua, dengan mengurangi jumlah partikel kecil (*finer*) untuk menghilangkan pengaruh negatif dari gaya adhesif dan muatan elektrik.

Di samping laju alir, dilakukan pula pengukuran terhadap sudut reposit granula. Granula yang keluar dari corong *flowmeter* akan membentuk massa menyerupai sebuah kerucut. Tinggi dan jari-jari kerucut tersebut diukur untuk menghitung sudut istirahat granula berdasarkan persamaan trigonometri. Pada Tabel 4.5, tampak bahwa sudut reposit dari keempat formula granula berkisar antara $26,6^{\circ}$ - $29,7^{\circ}$. Sudut reposit tersebut termasuk dalam kategori sangat baik menurut metode Neumann dan Carr.

4.4.5. Efisiensi penyerapan natrium diklofenak dalam granula lepas lambat mukoadhesif

Evaluasi terhadap efisiensi penyerapan dilakukan untuk mengetahui jumlah obat yang dapat diserap oleh granula dan untuk mengetahui efisiensi dari metode yang digunakan. Berdasarkan data pada Tabel 4.5, dapat dilihat bahwa efisiensi penyerapan dari keempat formula granula cukup tinggi, yaitu berkisar antara 90-98%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa granulasi basah merupakan salah satu metode yang baik dalam pembuatan sediaan granula. Efisiensi penyerapan yang diperoleh dari keempat formula granula relatif tinggi karena metode granulasi basah cenderung tidak menyebabkan banyak zat aktif terbuang.

Untuk menentukan efisiensi penyerapan dari keempat formula granula, sejumlah granula yang ditimbang dilarutkan dalam medium dapar fosfat pH 7,4 selama 48 jam, disertai dengan pengocokan menggunakan pengaduk ultrasonik selama 5 jam. Hal tersebut dimaksudkan untuk memastikan bahwa granula telah mengembang secara maksimal dan seluruh zat aktif yang terjerap dalam granula

telah berdifusi keluar dari granul untuk kemudian larut dalam medium dapar fosfat pH 7,4.

4.4.6. Uji daya mengembang granul lepas lambat mukoadhesif

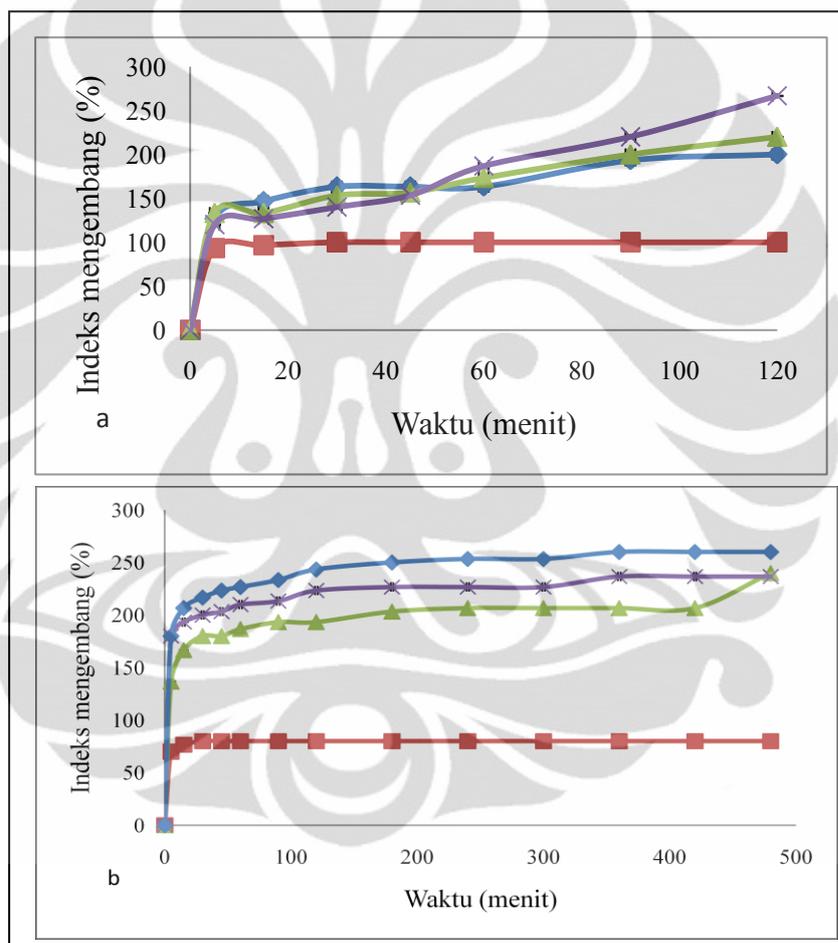
Kitosan dan kitosan suksinat merupakan polimer hidrofilik. Sifat hidrofilik tersebut disebabkan oleh struktur kimia kitosan dan kitosan suksinat tersusun atas gugus-gugus hidroksil. Oleh karena itu, polimer tersebut memiliki kemampuan menyerap air dari lingkungan sekitarnya sehingga memiliki daya mengembang yang baik.

Kemampuan suatu bahan untuk mengembang mempengaruhi sifat mukoadhesif (Tur dan Hung Seng, 1998) dan kemampuan bahan tersebut dalam mengendalikan pelepasan obat (Colombo, Bettini, Santi, dan Peppas, 2000). Daya adhesif akan muncul segera setelah suatu bahan mengembang (Mortazavi, 1995). Ketika suatu bahan mengembang, bahan tersebut akan membentuk massa gel yang berperan sebagai penghalang (*barrier*) untuk menahan pelepasan obat (Colombo, Bettini, Santi, dan Peppas, 2000).

Untuk mengetahui daya mengembang granul yang dibentuk oleh kitosan maupun kitosan suksinat digunakan metode perbandingan volume. Menurut metode tersebut, daya mengembang granul diukur berdasarkan peningkatan volume granul terhadap waktu yang terjadi akibat absorpsi medium oleh granul. Medium yang digunakan berupa HCl pH 1,2 dan dapar fosfat pH 7,4. Namun, pengamatan terhadap kedua medium tersebut dilakukan pada wadah yang berbeda, bukan secara berkelanjutan seperti pada prosedur uji pelepasan natrium diklofenak dari granul. Indeks mengembang granul dalam medium HCl pH 1,2 diamati selama 2 jam, sedangkan dalam medium dapar fosfat pH 7,4 selama 8 jam. Hal tersebut disesuaikan dengan durasi obat dalam lambung (2 jam) dan dalam usus halus (8 jam).

Profil indeks mengembang granul dari keempat formula dalam medium HCl pH 1,2 dan dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dapat dilihat pada Gambar 4.8. Berdasarkan data pada gambar, indeks mengembang granul kitosan suksinat (formula 1, 2, dan 3) berkisar antara 3-4 kali lipat semula, baik dalam medium HCl maupun dapar fosfat. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan daya

mengembang granul kitosan (formula 4), yaitu 2 kali lipat semula, dalam kedua medium tersebut. Hal ini mungkin disebabkan kitosan suksinat memiliki gugus hidroksil lebih banyak daripada kitosan sebagai hasil dari reaksi N-asilasi kitosan oleh gugus suksinil dari anhidrida suksinat. Penambahan gugus hidroksil pada struktur kitosan suksinat tersebut diduga meningkatkan hidrofilisitas kitosan suksinat sehingga daya absorpsinya terhadap air menjadi lebih tinggi. Oleh karena itu, daya mengembang kitosan suksinat dalam kedua medium tersebut lebih tinggi daripada kitosan.



Gambar 4.8. Profil indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif dalam : a) medium HCl pH 1,2; b) medium dapar fosfat pH 7,4. Uji dilakukan pada suhu 37°C selama : a) 120 menit; b) 480 menit. Tiap titik menggambarkan nilai rata-rata (n=3) : ◆ formula 1, ▲ formula 2, ✕ formula 3, ■ formula 4

Indeks mengembang granul kitosan suksinat dari formula 1, 2, dan 3 dalam medium HCl mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya jumlah polimer yang digunakan. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak

polimer yang digunakan, semakin banyak juga gugus hidroksil yang terdapat pada granul sehingga kemampuan granul mengabsorpsi cairan akan meningkat. Selain gugus hidroksil, kemampuan mengembang granul kitosan suksinat juga disebabkan oleh adanya gugus karboksilat. Pada medium basa, gugus karboksilat dapat terionisasi sehingga meningkatkan hidrofilisitas granul.

Indeks mengembang granul untuk formula yang sama dalam medium HCl tidak berbeda jauh dengan dalam medium dapar fosfat. Hal tersebut menunjukkan bahwa meskipun kitosan dan kitosan suksinat memiliki kelarutan yang sangat bergantung pada pH, kedua polimer hidrogel tersebut tetap memiliki daya mengembang yang baik dalam medium berair.

4.4.7. Kekuatan perlekatan granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus berdasarkan uji pencucian granul (*wash off*)

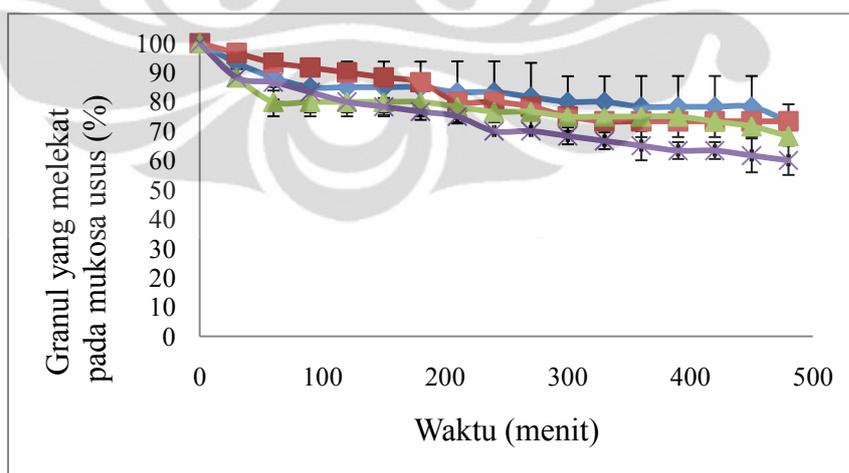
Uji *wash off* dilakukan untuk mengetahui kemampuan granul dari masing-masing formula untuk melekat pada mukosa usus tikus. Tikus yang akan digunakan untuk uji *wash off* terlebih dahulu dipuasakan selama 24 jam dengan tujuan membersihkan usus tikus sehingga dapat meminimalkan pengaruh makanan terhadap kekuatan perlekatan granul yang akan diuji. Di samping itu, usus dari tikus yang dipuasakan relatif cukup bersih sehingga meminimalkan proses pembersihan usus menggunakan larutan NaCl fisiologis dan dapat mencegah terlarutnya lapisan glikoprotein pada mukosa usus oleh larutan NaCl. Lapisan glikoprotein memiliki peranan penting terhadap kemampuan granul untuk melekat pada mukosa usus.

Uji *wash off* dilakukan menggunakan alat uji disintegrasi tablet yang dimodifikasi. Medium yang digunakan adalah dapar fosfat pH 7,4 pada suhu 37°C. Uji dilakukan terhadap 20 granul dari masing-masing formula yang dilekatkan pada mukosa usus tikus. Jumlah granul yang masih melekat pada mukosa usus dihitung setiap 30 menit selama 8 jam.

Berdasarkan profil uji *wash off* dari keempat formula granul pada Gambar 4.9, rata-rata jumlah granul yang masih melekat pada mukosa usus tikus dari formula 1, 2, 3, dan 4 setelah 8 jam (dalam %) berturut-turut yaitu 73,33 5,77; 68,33 2,89; 60,00 5,00; dan 73,33 2,89. Persentase jumlah granul yang masih

melekat dari formula 2 lebih kecil dibandingkan formula 4. Adapun formula 2 mengandung kitosan suksinat, sedangkan formula 4 mengandung kitosan. Namun, jumlah polimer dalam kedua formula tersebut sama. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa granul kitosan memiliki daya mukoadhesif yang relatif lebih kuat dibandingkan dengan granul kitosan suksinat. Hal tersebut mungkin disebabkan pada kondisi pH usus ($\text{pH} = 7,4$), gugus hidroksil dan gugus ester dari kitosan suksinat mengalami ionisasi sehingga meningkatkan penyerapan air. Akibatnya, kitosan suksinat mengalami hidrasi berlebihan (*overhydrated*) sehingga terbentuk massa yang licin (*slippery mucilage*) (Mortazavi, 2002). Oleh karena itu, jumlah granul kitosan suksinat yang melekat pada mukosa usus setelah 8 jam relatif lebih sedikit dibandingkan dengan granul kitosan. Pada granul kitosan, tidak terdapat gugus ester dan gugus hidroksil berjumlah lebih sedikit sehingga hidrasi yang berlebihan dapat dihindari.

Berdasarkan hasil riset terdahulu, kitosan memiliki daya mukoadhesif yang baik (Harding, Davis, Deacon, dan Fiebrig, 1999). Hal tersebut disebabkan kitosan tersusun dari gugus N-amino yang bersifat kationik. Di lain pihak, epitel membran mukosa mengandung musin yang tersusun oleh glikoprotein yang bermuatan negatif. Dengan demikian, adhesi timbul akibat adanya gaya tarik-menarik elektrostatis antara gugus kationik pada kitosan dengan glikoprotein.



Gambar 4.9. Profil *wash off* granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus. Uji dilakukan dalam medium dapar fosfat pH 7,4 pada suhu 37°C selama 8 jam. Tiap titik menggambarkan nilai rata-rata ($n=3$): \blacklozenge formula 1, \blacktriangle formula 2, \times formula 3, \blacksquare formula 4

Pada kitosan suksinat, gugus N-amino telah tersubstitusi oleh gugus suksinil sehingga muatan kitosan suksinat kurang positif dibandingkan kitosan. Namun, kitosan suksinat tetap memiliki daya adhesi terhadap mukosa usus. Hal tersebut dilatarbelakangi oleh dua alasan. Pertama, derajat substitusi gugus suksinil pada kitosan suksinat relatif kecil sehingga tetap terdapat gugus N-amino bebas yang bermuatan positif dan mampu membentuk ikatan ionik dengan glikoprotein pada mukosa usus. Kedua, daya adhesi diduga terjadi melalui pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil pada kitosan suksinat dengan glikoprotein.

Peningkatan jumlah polimer pada granul kitosan suksinat menurunkan daya mukoadhesif granul. Hal tersebut disebabkan uji *wash off* dilakukan dalam posisi vertikal sehingga dipengaruhi oleh gaya gravitasi. Granul yang mengandung polimer lebih banyak akan lebih berat sehingga lebih mudah jatuh.

4.4.8. Uji kekuatan mukoadhesif granul

Untuk mengetahui daya adhesif dari keempat formula granul, dilakukan uji kekuatan perlekatan granul menggunakan alat *texture analyser*. Kekuatan mukoadhesif ditentukan berdasarkan gaya maksimum yang dibutuhkan untuk melepaskan perlekatan granul dari mukosa usus tikus melalui pemberian tekanan dengan nilai tertentu. Semakin besar gaya yang dibutuhkan untuk melepaskan perlekatan granul terhadap mukosa usus, semakin besar pula daya mukoadhesif granul tersebut. Pada uji ini, digunakan tekanan sebesar 693 N/m^2 agar tidak terjadi perubahan yang signifikan pada bentuk mukosa usus. Namun, tekanan tersebut diperkirakan masih dapat memberikan daerah kontak yang cukup antara partikel polimer yang terhidrasi dengan lapisan mukosa.

Hasil uji kekuatan mukoadhesif granul menggunakan *texture analyser* dapat dilihat pada Tabel 4.6. Berdasarkan data pada tabel, dapat dilihat bahwa pada formula 1, 2, dan 3, terjadi peningkatan kekuatan perlekatan granul seiring dengan bertambahnya jumlah polimer kitosan suksinat yang digunakan. Peningkatan jumlah polimer kitosan suksinat yang digunakan menyebabkan semakin banyak gugus karboksilat yang terdapat dalam granul. Pada kondisi pH mukosa usus ($\text{pH} = 7,4$), gugus karboksilat tersebut mengalami ionisasi yang

menyebabkan polimer mengembang. Di samping itu, rantai musin pada mukosa yang mengandung glikoprotein ($pK_a = 2,6$) juga mengalami ionisasi pada kondisi pH usus. Hal tersebut meningkatkan fleksibilitas dan mobilitas rantai polimer untuk melakukan pembelitan dan penetrasi terhadap rantai musin (Smart, 2005). Ionisasi gugus karboksilat juga meningkatkan kemampuan polimer untuk menarik air sehingga air yang terkandung pada mukus ikut terserap dan mengakibatkan dehidrasi pada mukosa. Dehidrasi mukosa dapat meningkatkan daya adhesif polimer pada mukus (Mathiowitz, 1999).

Tabel 4.6. Hasil uji kekuatan perlekatan granul mukoadhesif pada mukosa usus tikus menggunakan *texture analyser*

Formula	Gaya (gF)	
	Rata-rata	SD (gF)
1	6,17	0,70
2	6,47	0,25
3	7,73	0,91
4	7,17	0,84

Jika formula 2 dibandingkan dengan formula 4, tampak bahwa untuk jumlah polimer yang sama, kitosan memiliki kekuatan mukoadhesif yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kitosan suksinat. Hal tersebut mungkin disebabkan kitosan suksinat tersusun dari gugus ester yang dapat mengalami hidrasi berlebihan pada kondisi pH usus ($pH = 7,4$). Hidrasi yang berlebihan tersebut menyebabkan terbentuknya massa yang licin (*slippery mucilage*) sehingga mengurangi kekuatan perlekatan granul kitosan suksinat dibandingkan granul kitosan (Mortazavi, 2002).

Berdasarkan hasil uji *wash off* dan hasil uji menggunakan *texture analyser*, dapat dilihat bahwa kitosan memiliki daya mukoadhesif yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kitosan suksinat. Namun, hasil yang didapatkan dari uji menggunakan *texture analyser* belum tentu berbanding lurus dengan hasil uji *wash off*. Hal tersebut menunjukkan bahwa formula yang memiliki kekuatan mukoadhesif tinggi (hasil uji menggunakan *texture analyser*), belum tentu

memiliki durasi perlekatan yang lama pada mukosa usus, sebagai hasil dari uji *wash off*.

Menurut hasil dari uji menggunakan *texture analyser*, granul dari formula 3 memiliki kekuatan mukoadhesif yang tertinggi dibandingkan granul kitosan suksinat dari formula 1 dan 2. Namun, menurut hasil uji *wash off*, granul kitosan suksinat yang memiliki durasi perlekatan terlama adalah granul formula 1. Perbedaan hasil tersebut mungkin disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, *texture analyser* hanya menguji kekuatan perlekatan granul pada mukosa usus tetapi tidak menentukan durasi perlekatannya. Polimer mukoadhesif, yang merupakan makromolekul hidrofilik, harus terhidrasi terlebih dahulu agar dapat melekat kuat pada mukosa. Namun, hidrasi yang berlebihan dapat menyebabkan terbentuknya massa yang licin sehingga menurunkan durasi perlekatan polimer tersebut (Mortazavi, 2002).

Kitosan suksinat merupakan polimer yang memiliki struktur linear sehingga ketahanan polimer tersebut terhadap hidrasi yang berlebihan relatif kurang baik. Oleh karena itu, semakin banyak jumlah polimer kitosan suksinat yang digunakan, hidrasi yang terjadi semakin tinggi sehingga kekuatan perlekatan granul menjadi lebih maksimal. Namun, semakin kecil jumlah polimer kitosan suksinat yang digunakan, massa licin yang terbentuk akibat hidrasi berlebihan lebih sedikit sehingga durasi perlekatan granul semakin lama. Kedua, hasil uji *wash off* dipengaruhi oleh gaya gravitasi, di samping interaksi kimia. Sediaan yang lebih berat cenderung memiliki durasi perlekatan lebih singkat. Uji *wash off* dilakukan dalam posisi vertikal sehingga ketika granul mengembang, berat granul akan meningkat dan granul lebih mudah terlepas dari mukosa usus. Pada metode *texture analyser*, pengujian dilakukan pada posisi horizontal sehingga gaya gravitasi tidak berpengaruh terhadap hasil pengujian. Berdasarkan analisis tersebut, menjadi jelas bahwa granul kitosan suksinat dari formula 1 memiliki durasi perlekatan yang terlama dibandingkan granul kitosan suksinat dari formula 2 dan 3 karena ukuran granul formula 1 lebih kecil dibandingkan formula 2 dan 3.

Pada sistem mukoadhesif, polimer harus dapat terhidrasi dan mengembang dengan baik agar dapat melekat pada mukus. Namun, untuk mempertahankan durasi perlekatan, polimer harus memiliki hidrasi yang terbatas dan struktur gel

yang cukup kaku (*rigid*). Cara yang dapat dilakukan untuk memperpanjang durasi perlekatan polimer yaitu dengan mengkombinasikan polimer hidrofilik dan hidrofobik, serta melalui modifikasi sambung silang (*crosslinking*) pada polimer (Smart dan Mortazavi, 1993).

4.4.9. Pembuatan spektrum serapan dan kurva kalibrasi natrium diklofenak

Pembuatan spektrum serapan dan kurva kalibrasi natrium diklofenak dilakukan dalam medium dapar fosfat pH 7,4. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 275,8 nm. Hasil tersebut sesuai dengan panjang gelombang maksimum yang tertera pada literatur yaitu 275 nm pada medium basa (Moffat, Osselton, dan Widdop, 2005). Persamaan regresi linear yang diperoleh pada pembuatan kurva kalibrasi yaitu $Y = -0.002059 + 0.032X$ ($r = 0,9997$). Kurva yang diperoleh berbentuk linear sehingga dapat digunakan untuk perhitungan konsentrasi natrium diklofenak baik dalam uji pelepasan maupun efisiensi penyerapan zat aktif.

4.4.10. Profil pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif secara *in vitro*

Pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif ditentukan menggunakan uji disolusi termodifikasi. Uji disolusi termodifikasi menggunakan pengaduk bermagnet (*magnetic stirrer*) untuk menghasilkan putaran dan mengontrol suhu pada beaker. Pada uji pelepasan natrium diklofenak dari sediaan granul lepas lambat mukoadhesif digunakan kecepatan putaran 50 rpm dan suhu 37°C (The United States Pharmacopeial Convention, 2007 *e-book*). Adapun beaker digunakan sebagai pengganti tabung disolusi.

Metode uji pelepasan obat termodifikasi digunakan karena kadar zat aktif dalam granul yang diuji relatif kecil, yaitu setara dengan 25 mg natrium diklofenak. Di samping itu, granul yang diformulasikan dirancang untuk tujuan pelepasan obat diperlambat sehingga konsentrasi natrium diklofenak yang dilepaskan dalam medium diprediksi hanya mencapai 30-50% dari jumlah natrium diklofenak dalam granul. Penggunaan alat disolusi konvensional yang membutuhkan medium 900 ml untuk setiap tabung disolusi dikhawatirkan

menyebabkan serapan natrium diklofenak yang dilepaskan dalam medium terlalu kecil. Selain itu, penggunaan metode uji pelepasan obat termodifikasi juga bertujuan untuk menghemat penggunaan medium disolusi.

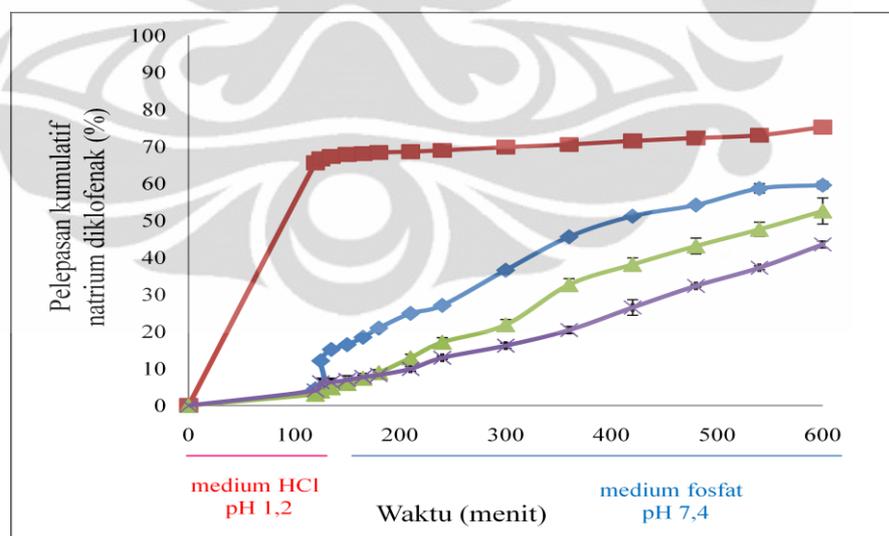
Medium disolusi yang digunakan berupa medium HCl pH 1,2 selama 2 jam, dilanjutkan dengan medium dapar fosfat pH 7,4 selama 8 jam. Penggantian medium dilakukan menggunakan beaker yang berbeda karena metode tersebut dianggap lebih mudah dilakukan dibandingkan dengan mengatur pH medium HCl hingga tercapai pH 7,4. Volume medium yang digunakan adalah 150 ml karena disesuaikan dengan jumlah natrium diklofenak dalam granul yang tidak terlalu besar.

Berdasarkan profil pelepasan natrium diklofenak dari keempat formula granul pada Gambar 4.10, tampak bahwa pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul formula 1, 2, 3, dan 4 dalam medium HCl setelah 2 jam berturut-turut 4,49%; 3,03%; 4,08%; dan 65,54%. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa pelepasan natrium diklofenak dari granul kitosan dalam medium asam lebih tinggi dibandingkan dengan granul kitosan suksinat. Hal tersebut disebabkan adanya perbedaan sifat kelarutan antara kitosan dengan kitosan suksinat, yaitu kitosan lebih mudah terlarut dalam medium asam dibandingkan kitosan suksinat. Di samping itu, kitosan merupakan polimer yang regas dan memiliki permukaan berpori sehingga proses difusi medium disolusi ke dalam granul kitosan terjadi dengan cepat. Medium disolusi yang berdifusi ke dalam granul kitosan menyebabkan granul mengembang dan melepaskan zat aktif dengan cepat. Di lain pihak, kitosan suksinat memiliki permukaan yang lebih rapat. Dengan demikian, kitosan suksinat dapat digunakan sebagai polimer untuk tujuan enterik karena mampu mengurangi pelepasan obat dalam medium asam, sedangkan kitosan tidak. Di samping itu, kitosan tidak dapat digunakan untuk tujuan lepas lambat karena jumlah obat yang dilepaskan setelah 10 jam mencapai lebih dari 75%. Keregasan dan permukaan berpori yang dimiliki oleh kitosan diduga menjadi penyebab ketidakmampuan kitosan dalam menahan pelepasan obat.

Pada granul kitosan suksinat (formula 1, 2, dan 3), obat dilepaskan secara perlahan dalam medium dapar fosfat pH 7,4 sehingga dapat digunakan untuk sediaan lepas lambat. Hal tersebut dapat tercapai karena jumlah polimer penyusun

granul cukup besar yaitu 8 kali zat aktif (formula 1), 10 kali zat aktif (formula 2), dan 12 kali zat aktif (formula 3). Kemampuan suatu bahan dalam menahan pelepasan obat dipengaruhi oleh kemampuan bahan tersebut untuk mengembang. Ketika suatu bahan mengembang, bahan tersebut akan membentuk massa gel yang berperan sebagai penghalang (*barrier*) penahan pelepasan obat (Colombo, Bettini, Santi, dan Peppas, 2000).

Pelepasan kumulatif natrium diklofenak setelah 10 jam pada formula 1, 2, dan 3 berturut-turut adalah $59,54 \pm 1,01\%$; $52,51 \pm 3,53\%$; dan $43,50 \pm 0,45\%$. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah polimer yang digunakan, pelepasan obat semakin tertahan. Hal ini disebabkan oleh semakin banyak polimer kitosan suksinat yang digunakan dalam formula, massa gel yang terbentuk ketika granul mengembang akan semakin tebal. Massa gel tersebut dapat berperan sebagai *barrier* yang menahan pelepasan obat. Semakin tebal *barrier* yang terbentuk, pelepasan obat semakin diperlambat. Pada percobaan pendahuluan, diformulasikan granul kitosan suksinat dengan jumlah polimer 5 kali zat aktif. Namun, granul tersebut tidak mampu menahan pelepasan obat selama 10 jam karena kadar obat yang terdisolusi mencapai lebih dari 75%.



Gambar 4.10. Profil pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium HCl pH 1,2 (120 menit) dilanjutkan dengan medium dapar fosfat pH 7,4 (480 menit). Uji dilakukan pada suhu 37°C . Tiap titik menggambarkan nilai rata-rata ($n=3$): ◆ formula 1, ▲ formula 2, × formula 3, ■ formula 4

Granul kitosan suksinat dari formula 1, 2, dan 3 dapat digunakan sebagai sediaan lepas lambat. Menurut kriteria penerimaan uji disolusi untuk sediaan lepas terkendali (Banakar, 1992), pada waktu yang setara dengan 0,25 D : 20-50% obat terlarut (Q0,25) atau pada waktu yang setara dengan 0,5 D : 45-75% obat terlarut (Q0,5). D melambangkan interval pemberian dosis.

Berdasarkan kriteria tersebut, dapat disimpulkan bahwa pada formula 1 dan 2, di mana kadar obat yang terdisolusi dalam medium dapar fosfat mencapai 45-75%, interval pemberian dosis menjadi 2 kali 8 jam. Namun, pada formula 3, di mana kadar obat yang terdisolusi dalam medium dapar fosfat mencapai 20-50%, interval pemberian obat menjadi 4 kali 8 jam. Dengan demikian, granul kitosan suksinat dari formula 1 dan 2 dapat diaplikasikan sebagai sediaan lepas lambat untuk interval pemberian 16 jam sekali, sedangkan granul formula 3 untuk interval pemberian 32 jam sekali. Adapun, jumlah obat yang dilepaskan dalam medium HCl tidak diperhitungkan karena jumlahnya relatif kecil. Jumlah obat yang dilepaskan dalam masing-masing medium disolusi dapat dilihat pada Tabel 4.7. Hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu paruh eliminasi yang singkat dari natrium diklofenak dapat diperbaiki melalui teknologi formulasi menggunakan polimer kitosan suksinat yang memiliki kemampuan memperlambat pelepasan obat.

Tabel 4.7. Persentase pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	Pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif (% b/b) dalam medium		
	HCl pH 1,2 (2 jam)	Dapar fosfat pH 7,4 (8 jam)	Total
1	4,49	55,05	59,54
2	3,03	49,48	52,51
3	4,08	39,42	43,50
4	65,54	9,65	75,19

Kendala yang dihadapi dalam uji pelepasan zat aktif dari keempat formula granul terletak pada kelarutan natrium diklofenak. Natrium diklofenak, yang

memiliki $pK_a = 4$, tidak larut dalam medium dengan pH lebih dari 1 unit di bawah pK_a -nya. Oleh karena itu, natrium diklofenak tidak larut dalam medium HCl pH 1,2. Pembuatan spektrum serapan dan kurva kalibrasi natrium diklofenak dalam medium HCl tidak dapat dilakukan. Beberapa jenis medium peningkat kelarutan, seperti twen 20 (surfaktan) dan etanol (kosolven) telah ditambahkan pada saat orientasi. Namun, tidak diperoleh hasil yang diharapkan.

Untuk menyasati kendala tersebut, dilakukan metode seperti pada uji kelarutan kitosan suksinat secara semi kuantitatif. Setelah uji pelepasan zat aktif dalam medium asam selesai dilakukan, ke dalam medium HCl hasil uji tersebut ditambahkan larutan kalium dihidrogen fosfat 2,0 M dan larutan NaOH 2,0 N hingga tercapai pH 7,4 \pm 0,05. Dengan demikian, dapat diasumsikan bahwa natrium diklofenak yang terlepas dari granul akan terlarut dalam medium hasil pengaturan pH tersebut. Selanjutnya, serapan natrium diklofenak dalam medium tersebut diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum yang digunakan adalah 275,8 nm, seperti panjang gelombang maksimum natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4. Serapan yang terukur digunakan untuk menghitung kadar natrium diklofenak yang dilepaskan dari granul menggunakan persamaan kurva kalibrasi natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4.

Untuk mengetahui kinetika pelepasan obat dari keempat formula granul, dibuat kurva yang menggambarkan hubungan antara jumlah kumulatif pelepasan natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4 terhadap waktu. Selanjutnya, hasil pelepasan obat dihubungkan dengan persamaan Higuchi, Orde nol, Orde satu, dan Korsmeyer – Peppas, seperti dapat dilihat pada Tabel 4.8. Berdasarkan linearitas, yaitu nilai r yang paling mendekati satu, dapat diketahui kinetika pelepasan natrium diklofenak dari masing-masing formula granul.

Berdasarkan data pada Tabel 4.8, dapat diketahui bahwa granul kitosan suksinat formula 1 memiliki kinetika pelepasan obat yang mengikuti persamaan Higuchi. Pelepasan zat aktif menurut persamaan Higuchi dipengaruhi oleh waktu. Semakin lama, kecepatan pelepasan zat aktif akan menurun. Hal tersebut disebabkan oleh jarak difusi zat aktif semakin jauh (Banakar, 1992). Granul formula 2 dan 3 cenderung mengikuti pelepasan obat orde nol. Kecepatan

pelepasan obat menurut orde nol bersifat konstan terhadap waktu dan tidak dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif. Pelepasan obat yang mengikuti persamaan orde nol memiliki kecepatan yang konstan terhadap waktu sehingga diprediksi mampu mempertahankan kadar obat dalam darah untuk jangka waktu tertentu. Hasil tersebut sesuai dengan tujuan formulasi granul sebagai sediaan lepas lambat. Di lain pihak, kinetika pelepasan obat dari granul kitosan (formula 4) cenderung mengikuti persamaan orde satu, di mana pelepasan obat dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif dalam sediaan. Semakin tinggi konsentrasi zat aktif, jumlah obat yang dilepaskan semakin banyak.

Mekanisme pelepasan obat dapat diketahui berdasarkan persamaan Korsmeyer-Peppas. Analisis mengenai mekanisme pelepasan obat tersebut didasarkan pada nilai n atau eksponen pelepasan. Untuk sediaan dengan geometri sferis seperti granul, jika nilai $n < 0,43$, pelepasan zat aktif mengikuti mekanisme difusi Fickian. Jika nilai n berada dalam rentang $0,43 < n < 0,85$, pelepasan zat aktif mengikuti mekanisme difusi non-Fickian. Sedangkan, untuk nilai $n > 0,85$, pelepasan zat aktif mengikuti mekanisme *Case II transport* (Siepmann dan Peppas, 2011).

Berdasarkan data pada Tabel 4.8, dapat dilihat bahwa granul formula 1 memiliki nilai $n < 0,43$ sehingga mekanisme pelepasan obat pada granul tersebut mengikuti difusi Fickian. Dengan demikian, pelepasan obat terjadi melalui difusi medium disolusi ke dalam granul. Difusi medium disolusi tersebut menyebabkan granul mengembang sehingga medium yang masuk ke dalam granul dapat membawa zat aktif keluar secara difusi. Semakin lama, jarak yang harus ditempuh oleh zat aktif untuk berdifusi keluar dari granul semakin jauh sehingga pelepasan obat menurun. Hal ini sesuai dengan mekanisme pelepasan obat Higuchi. Granul formula 2 dan 3 memiliki nilai n di antara 0,43 dan 0,85. Dengan demikian, mekanisme pelepasan zat aktif dari granul tersebut mengikuti model difusi non-Fickian. Menurut difusi non-Fickian, pelepasan obat terjadi melalui proses difusi dan erosi (relaksasi) polimer. Ketika polimer mengalami erosi, obat yang terperap di dalamnya dapat keluar dari matriks granul.

Granul kitosan (formula 4) memiliki nilai $n < 0,43$ sehingga memiliki mekanisme pelepasan obat yang mengikuti difusi Fickian. Kitosan tidak larut

dalam medium dapar fosfat pH 7,4. Kitosan hanya mengembang karena gugus hidroksil yang terkandung di dalamnya bersifat hidrofilik. Oleh karena itu, mekanisme pelepasan obat dari granul kitosan cenderung mengikuti difusi Fickian. Ketika medium disolusi berpenetrasi ke dalam matriks polimer, jaringan polimer mengalami platisasi yang diikuti dengan ekspansi medium disolusi ke dalam jaringan polimer. Selanjutnya, matriks polimer akan mengembang sehingga medium yang masuk ke dalam matriks dapat membawa zat aktif keluar dari pori-pori matriks secara difusi.

Tabel 4.8. Kinetika pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	Parameter	Higuchi		Orde 0	Orde 1	Peppas
		r	r ²			
1	r	0,9901	0,9803	0,9853	0,9498	0,9683
	a	2,1858		14,652	2,7934	1,5956
	b	2,6762		0,1067	0,0033	n = 0,3914
2	r	0,9823	0,965	0,9961	0,9453	0,9704
	a	-8,5684		3,397	1,8091	-0,1725
	b	2,6473		0,1076	0,0054	n = 0,6453
3	r	0,9537	0,9096	0,9947	0,9897	0,9170
	a	-4,1491		3,9121	1,8846	0,5291
	b	1,8703		0,0782	0,0043	n = 0,4659
4	r	0,9694	0,9398	0,9892	0,9900	0,8926
	a	65,402		67,071	4,2064	4,1409
	b	0,373		0,0153	0,0002	n = 0,0229

Pada penelitian ini, telah dilakukan modifikasi kitosan menjadi kitosan suksinat melalui reaksi N-asilasi dengan pelarut organik piridin. Modifikasi tersebut dapat memperluas kelarutan polimer sehingga kitosan suksinat dapat larut dalam medium dengan pH > 6,8. Kitosan suksinat hasil sintesis digunakan sebagai matriks penyusun granul dengan metode granulasi basah. Granul kitosan suksinat dapat memperlambat pelepasan obat dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dan mengurangi pelepasan obat dalam medium HCl pH 1,2. Granul kitosan suksinat

memiliki daya mukoadhesif meskipun tidak sebaik granul kitosan sehingga dapat disimpulkan bahwa proses modifikasi tidak menghilangkan sifat mukoadhesif polimer tersebut. Granul kitosan suksinat dapat diaplikasikan sebagai granul lepas lambat mukoadhesif.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Pada penelitian ini telah dilakukan modifikasi kitosan menjadi kitosan suksinat melalui penambahan anhidrida suksinat dalam pelarut piridin.
2. Hasil modifikasi kitosan tersebut memiliki derajat substitusi 1,97 mol/g dan menunjukkan perubahan sifat fungsional, yaitu dapat larut dalam medium basa ($\text{pH} > 6,8$) sehingga dapat memperluas kelarutan kitosan.
3. Kitosan suksinat dapat diaplikasikan dalam formulasi granul dengan metode granulasi basah.
4. Granul kitosan suksinat dapat diaplikasikan sebagai sediaan lepas lambat mukoadhesif. Formula 3, yang mengandung kitosan suksinat sebanyak 12 kali zat aktif, mampu memperlambat pelepasan obat hingga 32 jam. Granul hasil formulasi memberikan daya mukoadhesif terhadap mukosa usus tikus. Granul kitosan suksinat mampu mengurangi pelepasan obat dalam medium HCl pH 1,2 sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai sediaan enterik.

5.2. Saran

Untuk meningkatkan derajat substitusi kitosan suksinat, dapat dilakukan sintesis lanjutan menggunakan anhidrida asam lainnya. Pada uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut, pengukuran serapan sebaiknya dilakukan pada panjang gelombang isobestis agar diperoleh data kuantitatif. Uji pelepasan obat dalam medium asam dan basa sebaiknya menggunakan model obat yang kelarutannya tidak dipengaruhi oleh pH medium. Daya mukoadhesif sediaan yang mengandung kitosan suksinat dapat ditingkatkan melalui penggunaan kombinasi polimer yang memiliki sifat mukoadhesif.

DAFTAR ACUAN

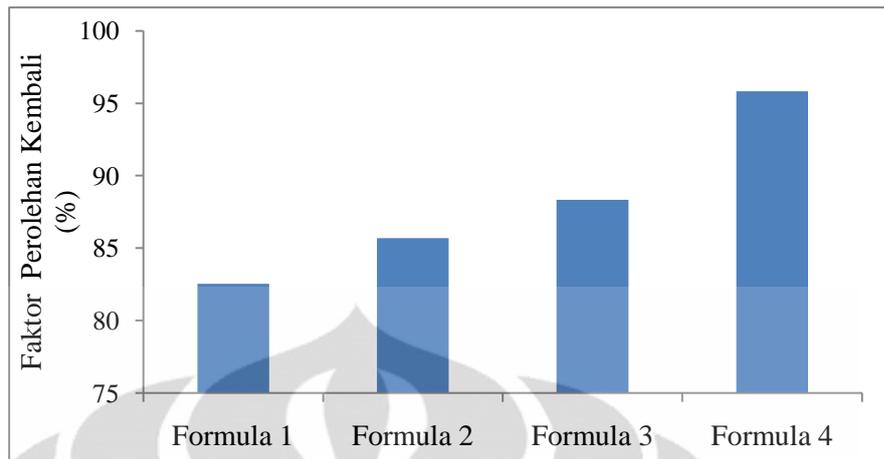
- Abdelhady, S., Mortada, N. D., Awad, G. A. S., Zaki, N. M., dan Taha, R. A. (2003). Development of in situ gelling and mucoadhesive mebeverine hydrochloride solution for rectal administration. *Saudi Pharmaceutical Journal (SPJ)* 11(4) : 159-171.
- Aiedeh, K. dan Taha, M. O. (1999). Synthesis of chitosan succinate and chitosan phthalate and their evaluation as suggested matrices in orally administered, colon-specific drug delivery systems. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 332: 103–107.
- Alur, H. H., Mitra, A. K., dan Johnston, T. P. (2003). Polysaccharide-based mucoadhesive buccal tablets. Dalam M. J. Rathbone, J. Hadgraft, dan M. S. Roberts (ed.). *Modified-Release Drug Delivery Technology* (halaman 401-418). New York : Marcel Dekker.
- Ansel, H. C., Allen, L. V., dan Popovich, N. G. (1999). *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems 7th Edition*. Amerika Serikat : Lippincott Williams and Wilkins, halaman 229-243.
- Asane, G. S. (Tanpa tahun). *Mucoadhesive gastrointestinal drug delivery system : an overview*. <http://www.pharmainfo.net>. Diunduh pada tanggal 10 Januari 2011 pukul 22.00 WIB.
- Banakar, U. V. (1992). *Pharmaceutical Dissolution Testing*. New York : Marcel Dekker.
- Berner, B. dan Shojaei, H. A. (2006). Gastric retentive dosage forms. Dalam : Xiaoling Li dan R. J. Bhaskara (ed.). *Design of Controlled Release Drug Delivery Systems*. Amerika Serikat : The McGraw Hill, halaman 173-174.
- Bertocchi, P., Antoniella, E., Valvo, L., Alimonti, S., dan Memoli, A. (2005). Diclofenac sodium multisource prolonged release tablets – A comparative study on the dissolution profiles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (JPBA)* 37 : 679-685.
- Champagne, L. M. (2008). *The synthesis of water soluble N-acyl chitosan derivatives for characterization as antibacterial agent*. A Dissertation of The Louisiana State University.

- Colombo, P., Bettini, R., Santi, P., dan Peppas, N. A. (2000). Swellable matrices for controlled drug delivery : gel-layer behavior, mechanisms, and optimal performance. *Pharmaceutical Science and Technology Today* 3(2) : 198-204.
- Craig, D.Q.M. dan Reading, M. (ed.). (2007). *Thermal analysis of pharmaceuticals*. Boca Raton: CRC Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Dirjen POM.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Dirjen POM.
- Duchene, D., Touchard, F., dan Peppas, N. A. (1988). Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 14: 283-381.
- Duck Weon Lee, Hosun Lim, Ha Na Chong, dan Woo Sub Shim. (2009). Advances in chitosan material and its hybrid derivatives: a review. *The Open Biomaterials Journal* 1: 10-20.
- Grass, G. M. dan Robinson, J. R. (1990). Sustained and controlled release drug delivery systems. Dalam : S. B. Gylbert dan T. R. Christopher. *Modern Pharmaceutics 2nd Edition*. New York : Marcel Dekker, halaman 647-650.
- Harding, S. E., Davis, S. S. B., Deacon, M. P., dan Fiebrig, I. (1999). *Biopolymer Mucoadhesives*. Vol. 16. Hampshire : Intercept.
- Harjadi, A. S. (2006). *Pembuatan dan uji in vitro mikrokapsul ibuprofen menggunakan teknik koaservasi kompleks gelatin kulit ikan tuna (Thunnus alalunga) dan gom akasia*. Tesis Universitas Indonesia.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Indrawati, T., Agoes, G., Yulinah, E., dan Sumirtapura, Y. C. (2005). Uji daya lekat mukoadhesif secara *in vitro* beberapa eksipien polimer tunggal dan kombinasinya pada lambung dan usus tikus. *Jurnal Matematika dan Sains (JMS)* 10 (2) : 41-45.
- Katzung, B. G. (1994). *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi IV* (Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

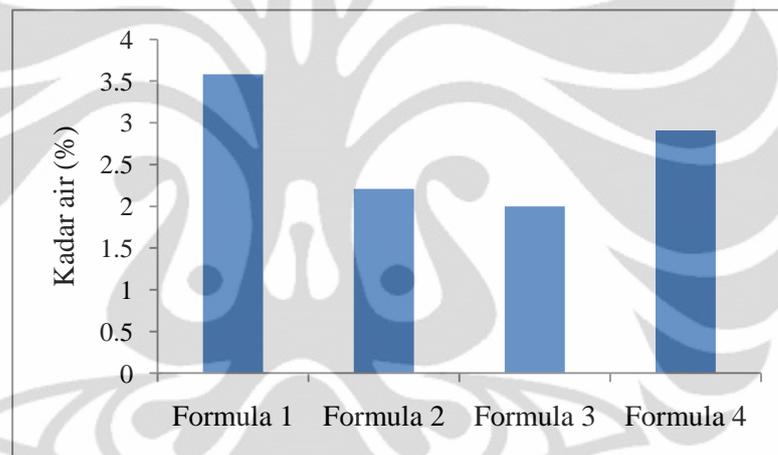
- Khare, A. R. dan Peppas, N. A. (1995). Swelling/deswelling of anionic copolymer gels. *Biomaterials* 16: 559-567.
- Koester, L. S., Ortega, G. G., Mayorga, P., dan Bassani, V. L. (2004). Mathematical evaluation of *in vitro* release profiles of HPMC matrix tablets containing carbamazepin associated to β -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics (EJPB)* 58 (1) : 177-179.
- Lieberman, H. A., Lachman, L., dan Kaning, J. L. (1994). *Teori dan Praktik Farmasi Industri Edisi III*. (S. Suyatmi, Penerjemah). Jakarta : UI Press.
- Mathiowitz, E. (ed.). (1999). *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*, Volume 1 dan 2. New York: John Wiley dan Sons, halaman 881-882.
- Mclean, A. dan Adams, R. (1936). Acid and its derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 58: 804–810.
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., dan Widdop, B. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons 3rd Edition*. London : Pharmaceutical Press.
- Mortazavi, S. A. (1995). An *in vitro* assessment of mucus/mucoadhesive interactions. *International Journal of Pharmaceutics (IJPharm)* 124: 173-182.
- Mortazavi, S. A. (2002). A comparative study between the strength and duration of mucosa adhesion of transbuccal carbomer based aqueous gels. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research (IJPR)* 1: 7-13.
- Noerati, Radiman, C. L., Achmad, S., dan Ariwahjoedi, B. (2007). Sintesis kitosan suksinat larut air. *Akta Kimindo Vol. 2 No. 2*, 113-116.
- Parikh, D. M. (ed.). (2005). *Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology 2nd Edition*. Boca Raton : Taylor and Francis Group.
- Peppas, N. A. dan Buri, P. A. (1985). Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. *Journal of Controlled Release (JConRel)* 2: 257 -275.
- Prahasiwi, M. S., Sarmoko, R. S., Nugrahani, A. W., dan Khumaidi, A. (2010). *Senyawa derivat asam karboksilat [reaksi substitusi asil nukleofilik]*. Sekolah Pasca Sarjana Pharmaceutical Sciences and Technology Universitas Gadjah Mada.

- Rekha, M. R. dan Sharma, C. P. (2008). pH sensitive succinyl chitosan microparticles : a preliminary investigation toward oral insulin delivery. *Trends Biomaterial Artificial Organs Vol 21 (2)*: 107-115.
- Ritger, P. L. dan Peppas, N. A. (1987). A simple equation for description of solute release II: Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release (JConRel)* 5: 42-47.
- Robinson, J. R. dan Wai-Yip Lee, T. (2001). Controlled release drug delivery systems. Dalam : A. R. Gennaro (ed.). *Remington : The Science and Practice of Pharmacy Volume I*. Amerika Serikat : Lippincott Williams and Wilkins, halaman 902-928.
- Safety Officer in Physical Chemistry at Oxford University (2009, November 7). *Safety data for pyridine*. <http://msds.chem.ox.ac.uk>. Diunduh pada 8 Juni 2011 pukul 16.00 WIB.
- Sahlin, J. L. dan Peppas, N. A. (1989). A simple equation for description of solute release III: Coupling of diffusion and relaxation. *International Journal of Pharmaceutics (IJPharm)* 57: 169-172.
- Säkkinen, M. (2003). *Biopharmaceutical evaluation of microcrystalline chitosan as release-rate-controlling hydrophilic polymer in granules for gastro-retentive drug delivery*. Academic Dissertation Faculty of Science of The University of Helsinki.
- Sandford, P. A. (1988). *Chitosan : Commercial Uses and Potential Application*. Amerika Serikat : Protan.
- Shargel, L., Wu-Pong, dan A. B. C. Yu. (2005). *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 5th Edition*. Amerika Serikat: Mc Graw Hill.
- Siepmann, J. dan Peppas, N. A. (2011). Higuchi equation : derivation, applications, use, and misuse. *International Journal of Pharmaceutics (IJPharm)* (article in press).
- Smart, J. D. (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advance Drug Delivery Reviews* 57: 1556-1568.
- Smart, J. D. dan Mortazavi, S. A. (1993). An investigation into the role of water movement and mucus gel dehydration in mucoadhesion. *Journal of Controlled Release (JConRel)* 25: 197-203.

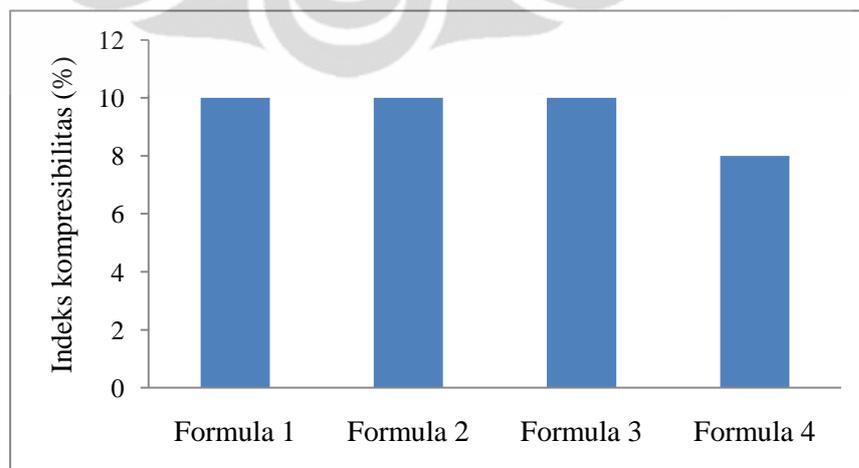
- Soewandhi, S. N. dan Sutrisni, N. N. W. (2006). Formulasi pelet ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) yang disalut dengan etermanan dan uji mukoadhesifnya. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi (JSTF)* 11 (2) : 48-56.
- Sonone, S. B., Malve, S. S., Naikwade, N. S., dan Shirote, P. J. (2010). Synthesis of water soluble crosslinked N- acyl derivative of chitosan and its assessment for antimicrobial activities *in vitro*. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research (IJPSR)* Vol. 1, Issue 8 (Suppl.).
- Sugita, P., Wukirsari, T., Sjahriza, A., dan Wahyono, D. (2009). *Kitosan Sumber Biomaterial Masa Depan*. Bogor : IPB Press.
- Sweetman, S. C. (ed.). (2009). *Martindale the Extra Pharmacopoeia 36th Edition*. London : Pharmaceutical Press.
- Teruo Miyata, Kazuhiko Kodaira, Hitoshi Higashijima, Takashi Kimura, dan Yasuharu Noishiki. (1992). *Biomaterial comprising a composite material of a chitosan derivative and collagen derivative*. US patent number : 5.116.824.
- The United States Pharmacopeial Convention. (2007). *US Pharmacopoeia 30-NF 25 (e-book)*.
- Tur, K. M. dan Hung Seng. (1998). Evaluation of possible mechanism(s) of bioadhesion. *International Journal of Pharmaceutics (IJPharm)* 160 : 61-74.
- Turk, C. T., Hascicek, dan Gonul, N. (2009). Evaluation of drug-polymer interaction in polymeric microsphere containing diltiazem hydrochloride. *J. Thermal Analysis and Calorimetry (JTAC)* 95 (3) : 856-869.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (Soendani dan M. B. Widiyanto, Penerjemah). Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Yan, C., Chen, D., dan Gu, J. (2006). Preparation of N-succinyl –chitosan and their physical chemical properties as a novel excipient. *Yakugaku Zasshi* 126 (9), 789-793.



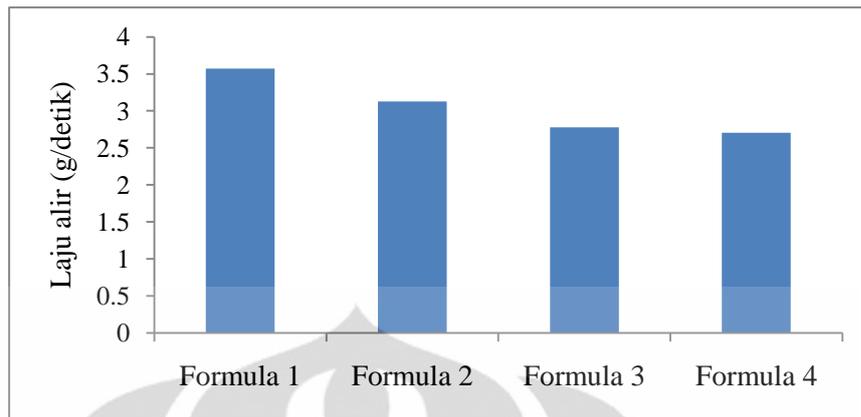
Gambar 1. Diagram faktor perolehan kembali granul lepas lambat mukoadhesif



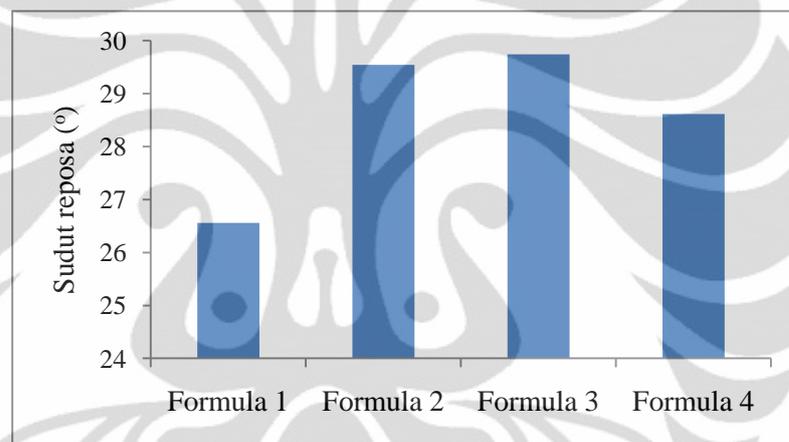
Gambar 2. Diagram kadar air granul lepas lambat mukoadhesif



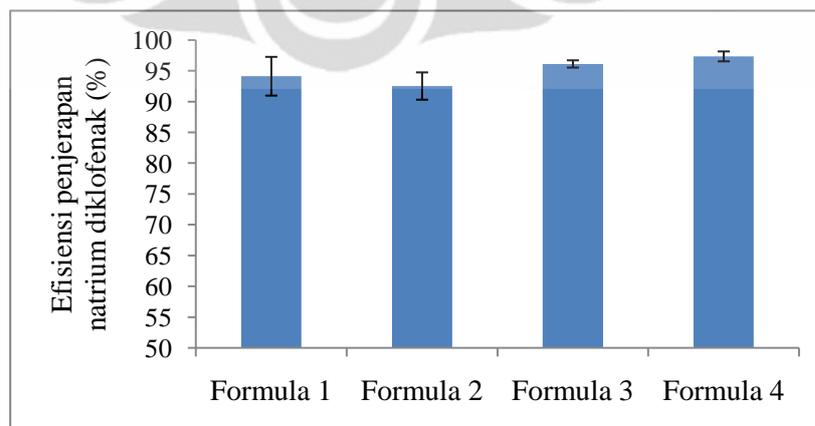
Gambar 3. Diagram indeks kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif



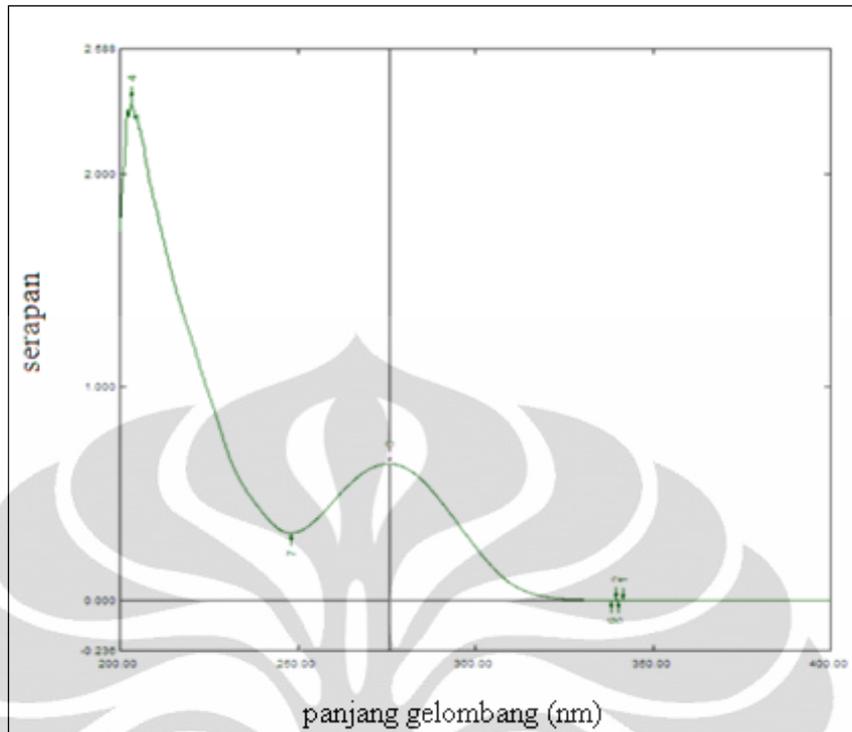
Gambar 4. Diagram laju alir granul lepas lambat mukoadhesif



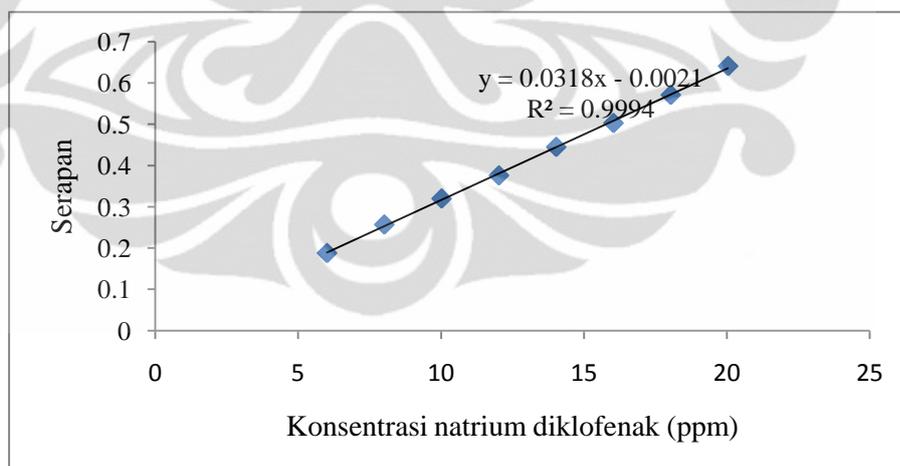
Gambar 5. Diagram sudut reposa dari granul lepas lambat mukoadhesif



Gambar 6. Diagram efisiensi penyerapan natrium diklofenak dalam granul lepas lambat mukoadhesif. Nilai pada diagram merupakan hasil rata-rata \pm SD (n=3)



Gambar 7. Spektrum serapan natrium diklofenak (20 ppm) dalam medium dapar fosfat pH 7,4. Panjang gelombang maksimum : 275,8 nm



Gambar 8. Kurva kalibrasi natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4. Persamaan regresi linear : $y=0,0318x-0,0021$ ($r=0,9997$)



(a)



(b)

Gambar 9. Hasil uji pencucian granul (*wash off*) dari formula 2 : a) sebelum uji dilakukan; b) setelah uji dilakukan selama 8 jam dalam medium dapar fosfat pH 7,4



(a)

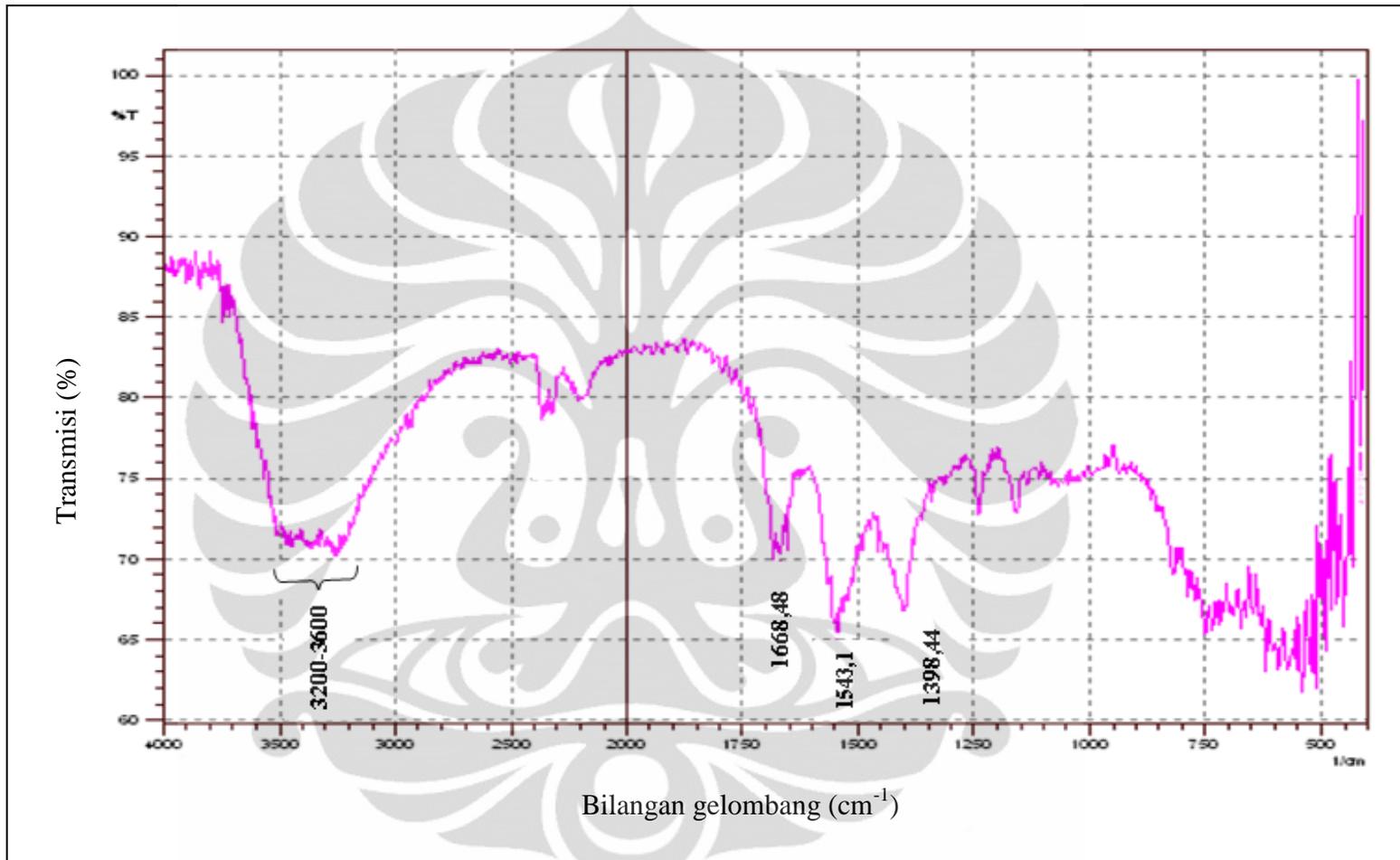


(b)

Gambar 10. Hasil uji pencucian granul (*wash off*) dari formula 4 : a) sebelum uji dilakukan; b) setelah uji dilakukan selama 8 jam dalam medium dapar fosfat pH 7,4

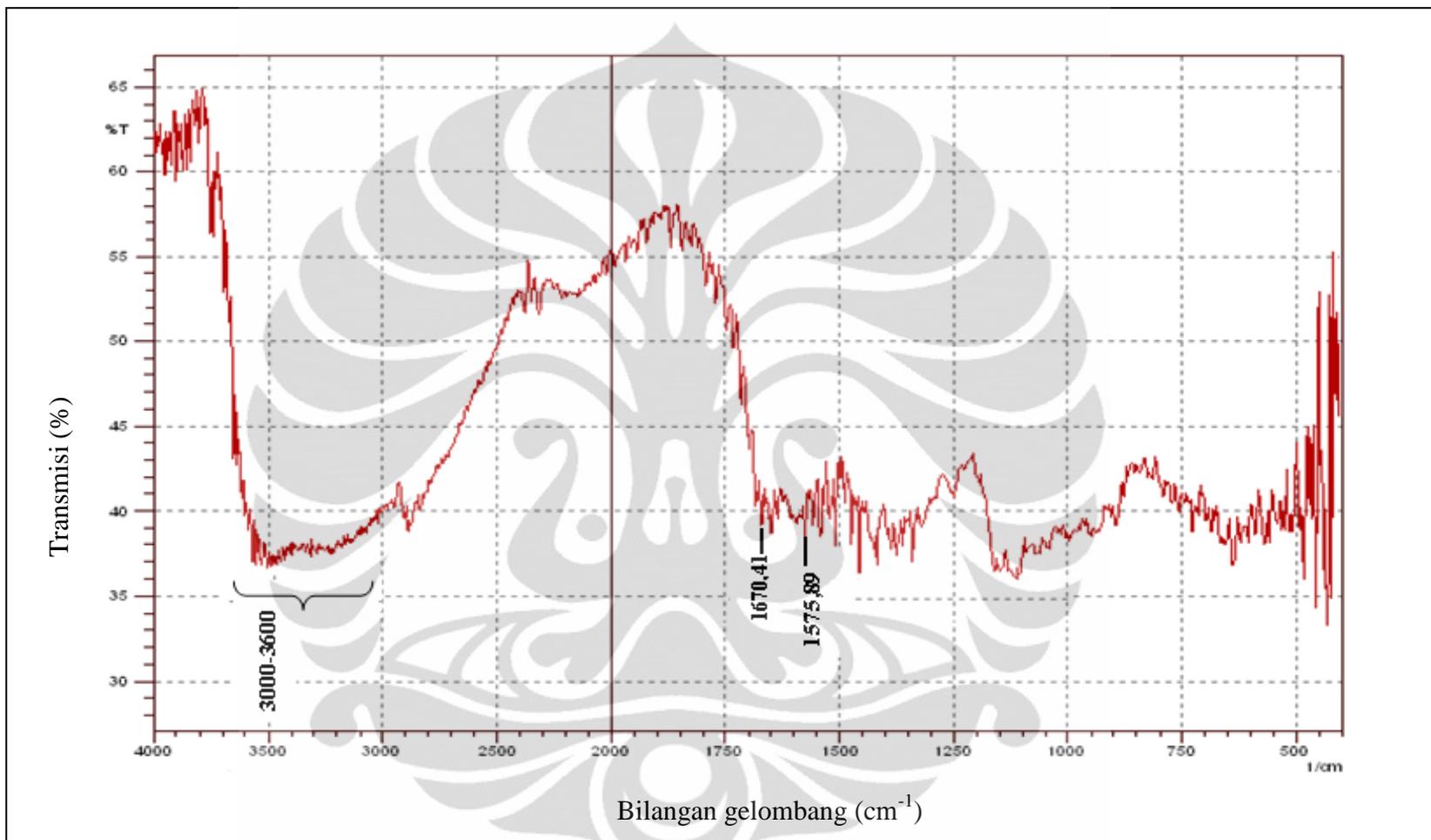


Gambar 11. Alat uji disolusi termodifikasi



Keterangan :
 3200-3600 cm⁻¹ (*broad*) : gugus OH karboksilat
 1668,48 cm⁻¹ (intensitas sedang) : gugus C=O amida
 1543,1 cm⁻¹ : gugus NH

Gambar 12. Spektrum inframerah kitosan suksinat



Keterangan :
 3000-3600 cm⁻¹ (*broad*) : gugus OH
 1670,41 cm⁻¹ (intensitas rendah) : gugus C=O amida
 1575,89 cm⁻¹ : gugus NH

Gambar 13. Spektrum inframerah kitosan

Tabel 1. Perubahan visual yang terjadi pada sintesis kitosan suksinat

No.	Perlakuan	pH	Gambar	Keterangan
1.	Dilartukan 10 g kitosan dalam 500 ml HCl 0,37% (pH HCl 0,37% : $\pm 0,8$)	pH larutan kitosan -HCl : 1,6 - 2		Terbentuk gel bening kekuningan
2.	Ditambahkan 5 ml larutan suksinat anhidrida dalam piridin, distirer $\pm 1'$, kemudian ditambahkan 3 ml NaOH 1N, distirer $\pm 3-5'$ Prosedur dilakukan 2 kali	4,4 – 4,8		Terbentuk gel bening kekuningan dengan gumpalan-gumpalan putih yang melayang dalam gel. Jika distirer cukup lama, gumpalan putih terlarut kembali dalam gel.
3.	Ditambahkan 5 ml larutan suksinat anhidrida dalam piridin, distirer $\pm 1'$, kemudian ditambahkan 3 ml NaOH 1N, distirer $\pm 3-5'$ Prosedur dilakukan 3 kali	4,9 – 5,6		Terbentuk koloid keruh di mana konsistensi koloid lebih cair dibanding tahap sebelumnya
4.	Ditambahkan 5 ml larutan suksinat anhidrida dalam piridin, distirer $\pm 1'$, kemudian ditambahkan 3 ml NaOH 1N, distirer $\pm 3-5'$ Prosedur dilakukan 5 kali (s/d larutan suksinat anhidrida dalam piridin habis)	5,64 – 5,68		Terbentuk suspensi putih susu. Konsistensi suspensi cair. Jika tidak distirer, terjadi pemisahan fase yang jelas (lapisan atas berupa cairan bening, lapisan bawah berupa endapan halus putih).
5.	Ditambahkan 10 ml NaOH 1N, distirer $\pm 10'$ Prosedur dilakukan 5 kali.	5,7-6	Sama dengan nomor 4	Sama dengan nomor 4

6.	Ditambahkan 10 ml NaOH 1N, distirer $\pm 10'$ Prosedur dilakukan 3 kali.	6,10- 6,30	Sama dengan nomor 3	Terbentuk koloid keruh di mana konsistensi koloid masih cair. Pemisahan fase sudah tidak terjadi
7.	Ditambahkan 10 ml NaOH 1N, distirer $\pm 10'$ Prosedur dilakukan 3 kali.	6,33- 6,7		Terbentuk gel bening kekuningan dengan konsistensi lebih kental dibandingkan tahap sebelumnya.
8.	Ditambahkan 3 ml NaOH 1N, distirer 3-5' Prosedur dilakukan 4 kali.	6,8- 6,98	Sama dengan nomor 7	Sama dengan nomor 7
9.	Gel kitosan suksinat nomor 8 dioven	-		Hasil oven seperti film berwarna putih kekuningan, diserbukkan dengan blender
10.	Serbuk kitosan suksinat kemudian didialisis selama 8 jam	-		Hasil dialisa berupa gel kekuningan kemudian dioven kembali.

Tabel 2. Ringkasan karakterisasi kitosan suksinat hasil sintesis

No.	Karakter yang dibandingkan	Kitosan	Kitosan suksinat
1	Bentuk fisik	Serbuk (serpihan), putih kekuningan, tidak berbau	Serbuk amorf, kuning kecoklatan, tidak berbau
2	Spektrum inframerah	3000-3600 cm^{-1} (<i>broad</i>) : gugus OH 1670,41 cm^{-1} (lemah) : gugus C=O amida 1575,89 cm^{-1} : gugus NH	3200-3600 cm^{-1} (<i>broad</i>) : gugus OH karboksilat 1668,48 cm^{-1} (sedang) : gugus C=O amida 1543,1 cm^{-1} : gugus NH
3	Derajat substitusi	-	1,97 mol/gram
4	Analisis sifat termal	Puncak endotermik = 82,4 °C Jarak lebur = 40,3-122,7 °C	Puncak endotermik = 69,1 °C Jarak lebur = 41,6-103,6 °C
5	Bentuk & morfologi (SEM)	Tersusun atas pori-pori	Permukaan lebih halus & rapat
6	Kelarutan	Larut dalam medium dengan $\text{pH} \leq 3$	Larut dalam medium dengan $\text{pH} 1,2$ dan $\text{pH} \geq 6,8$
7	Viskositas	-	6 % = 2327,5 cps
8	Indeks mengembang	HCl pH 1,2 : 200% Dapar fosfat pH 7,4 : 67%	HCl pH 1,2 : 163% Dapar fosfat pH 7,4 : 253%
9	pH dalam aquadestilata	-	$\pm 6,8$
10	Indeks kompresibilitas	18 %	24 %

Tabel 3. Pembakuan HCl 1N

No.	Berat natrium tetraborat (mg)	HCl	
		Volume (ml)	Normalitas
1.	602,1	0,00 – 3,16	0,9992
2.	601,4	0,00 -3,18	0,9918
3.	601,9	0,00 – 3,18	0,9926

Keterangan : Rata-rata dari data ke-2 dan ke-3 = $\frac{0,9918+0,9926}{2} = 0,9922 \text{ N}$

Tabel 4. Pembakuan NaOH 1N

No.	Berat kalium hidrogen ftalat (KHP) (mg)	NaOH	
		Volume (ml)	Normalitas
1.	501,4	0,00 – 2,48	0,9899
2.	501,1	0,00 – 2,40	1,022
3.	500,5	0,00 – 2,40	1,021

Keterangan : Rata-rata dari data ke-2 dan ke-3 = $\frac{1,022+1,021}{2} = 1,0215 \text{ N}$

Tabel 5. Penentuan derajat substitusi kitosan suksinat

No.	Volume HCl (ml)	Kitosan Suksinat	
		Berat (mg)	Derajat Substitusi (mol/g)
1.	0,00 – 10,10	101,2	1,96
2.	0,00 - 10,10	100,7	1,97
3.	0,00 - 10,10	100,2	1,98
4.	0,00 - 10,10	101,4	1,96
		Rata-rata ± SD	1,97 ± 0,01

Tabel 6. Viskositas kitosan suksinat dalam larutan 0,037% NH₄OH

Sampel	Spindel	Kecepatan (rpm)	Skala yang terbaca (<i>dial reading</i>)	Faktor koreksi (f)	Viskositas (cps)
Larutan kitosan suksinat 6%	1	1	24	200	4800
		2	31,5	100	3150
		2,5	36	80	2880
		5	50	40	2000
		10	65	20	1300
		20	98	10	980
		20	98	10	980
		10	59	20	1180
		5	45	40	1940
		2,5	29	80	2320
		2	26	100	2600
1	19	200	3800		

Tabel 7. Indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat dalam medium HCl pH 1,2

Waktu (menit)	Rata-rata indeks mengembang \pm SD (% v/v)	
	Kitosan	Kitosan suksinat
0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
5	120,00 \pm 0,20	126,67 \pm 0,12
15	126,67 \pm 0,12	146,67 \pm 0,12
30	140,00 \pm 0,20	146,67 \pm 0,15
45	143,33 \pm 0,12	146,67 \pm 0,15
60	153,33 \pm 0,12	163,33 \pm 0,15
90	200,00 \pm 0,20	163,33 \pm 0,12
120	200,00 \pm 0,30	163,33 \pm 0,00

Tabel 8. Indeks mengembang kitosan dan kitosan suksinat dalam medium dapar fosfat pH 7,4

Waktu (menit)	Rata-rata indeks mengembang \pm SD (% v/v)	
	Kitosan	Kitosan suksinat
0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
5	50,00 \pm 0,10	150,00 \pm 0,20
15	50,00 \pm 0,06	180,00 \pm 0,15
30	66,67 \pm 0,00	206,67 \pm 0,15
45	66,67 \pm 0,00	226,67 \pm 0,15
60	66,67 \pm 0,00	226,67 \pm 0,15
90	66,67 \pm 0,00	233,33 \pm 0,12
120	66,67 \pm 0,00	250,00 \pm 0,15
180	66,67 \pm 0,00	250,00 \pm 0,20
240	66,67 \pm 0,00	253,33 \pm 0,15
300	66,67 \pm 0,00	253,33 \pm 0,15
360	66,67 \pm 0,00	253,33 \pm 0,20
420	66,67 \pm 0,00	253,33 \pm 0,20
480	66,67 \pm 0,00	253,33 \pm 0,20

Tabel 9. Data uji pengaruh perubahan pH terhadap jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif

Medium	Berat kitosan suksinat (mg)	Serapan (228 nm)	C (ppm)	C x faktor pengenceran (ppm)	Jumlah kitosan suksinat yang terlarut (g/100ml)
HCl pH 1,2	51,0	0,158	490,772	1963,088	0,196
HCl pH 3	50,5	0,034	105,609	422,437	0,042
HCl pH 5	52,5	0,060	186,369	745,476	0,074
Aquadest	50,5	0,025	77,6538	310,615	0,031
Dapar fosfat pH 6,8	51,6	0,091	282,66	1130,639	0,113
Dapar fosfat pH 7,4	51,0	0,108	335,464	1341,858	0,134
NaOH pH 12	49,9	0,144	447,286	1789,144	0,179

Keterangan : Standar berupa larutan jenuh kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N pH 13.

Berat kitosan suksinat : 51,5 mg

Konsentrasi : 5150 ppm

Serapan pada 228 nm : 1,658

Faktor pengenceran : 4

Tabel 10. Hasil uji perolehan kembali (UPK) granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	W_t (g)	W_m (g)	W_p (% b/b)
Formula 1	24,5	20,22	82,54
Formula 2	24	20,57	85,7
Formula 3	21,3	18,82	88,34
Formula 4	24	23	95,83

Keterangan :

W_p : faktor perolehan kembali

W_m : bobot granul yang dihasilkan

W_t : bobot bahan pembentuk granul

Tabel 11. Hasil uji kadar air granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	Kadar air (%)
Formula 1	3,58
Formula 2	2,21
Formula 3	2
Formula 4	2,91

Tabel 12. Hasil uji kompresibilitas granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	V_o (ml)	V_t (ml)	Indeks Kompresibilitas (% v/v)
Formula 1	50	45	10
Formula 2	50	45	10
Formula 3	50	45	10
Formula 4	50	46	8

Keterangan :

V_o : volume awal

V_t : volume setelah dimampatkan sebanyak 300 ketukan

Tabel 13. Hasil uji laju alir dan sudut reposa granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	Jumlah granul yang ditimbang (g)	Waktu (detik)	Laju alir (g/detik)	Tinggi kerucut (cm)	Jari-jari kerucut (cm)	Sudut reposa
Formula 1	10	2,8	3,57	3	6	26,56°
Formula 2	10	3,2	3,12	3,4	6	29,54°
Formula 3	10	3,6	2,78	3,6	6,3	29,74°
Formula 4	10	3,7	2,70	2,4	4,4	28,61°

Tabel 14. Efisiensi penyerapan natrium diklofenak dalam granul lepas lambat mukoadhesif

Formula	Jumlah granul yang ditimbang (mg)	Jumlah natrium diklofenak dalam granul (mg)	Jumlah natrium diklofenak teoritis (mg)	Efisiensi penyerapan natrium diklofenak (% b/b)	Rata-rata \pm SD (%)
1	251,4	23,24	25,65	90,6	94,11 \pm 3,14
	252,2	24,88	25,73	96,66	
	253,1	24,56	25,83	95,08	
2	308,3	24,34	25,69	94,75	92,52 \pm 2,21
	306,6	23,64	25,55	92,5	
	305,7	23,01	25,475	90,32	

	358,3	24,42	25,23	96,79	
3	357,5	24,11	25,18	95,74	96,11 ± 0,59
	355,6	23,99	25,04	95,8	
	306,3	24,92	25,525	97,65	
4	306,3	25	25,525	97,94	97,34 ± 0,81
	307,7	24,72	25,64	96,42	

Tabel 15. Indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium HCl pH 1,2

Waktu (menit)	Rata-rata indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif ± SD (% v/v)			
	Formula			
	1	2	3	4
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
5	126,67 ± 0,12	133,33 ± 0,23	120,00 ± 0,20	93,33 ± 0,10
15	146,67 ± 0,12	133,33 ± 0,23	126,67 ± 0,12	96,67 ± 0,06
30	163,33 ± 0,15	153,33 ± 0,23	140,00 ± 0,20	100,00 ± 0,00
45	163,33 ± 0,15	156,67 ± 0,21	153,33 ± 0,12	100,00 ± 0,00
60	163,33 ± 0,15	173,33 ± 0,23	186,67 ± 0,12	100,00 ± 0,00
90	193,33 ± 0,12	200,00 ± 0,20	220,00 ± 0,20	100,00 ± 0,00
120	200,00 ± 0,00	220,00 ± 0,20	266,67 ± 0,30	100,00 ± 0,00

Tabel 16. Indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif dalam medium dapar fosfat pH 7,4

Waktu (menit)	Rata-rata indeks mengembang granul lepas lambat mukoadhesif \pm SD (% v/v)			
	Formula			
	1	2	3	4
0	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
5	180,00 \pm 0,20	136,67 \pm 0,25	180,00 \pm 0,00	70,00 \pm 0,12
15	206,67 \pm 0,15	166,67 \pm 0,21	193,33 \pm 0,06	76,67 \pm 0,06
30	216,67 \pm 0,15	180,00 \pm 0,20	200,00 \pm 0,10	80,00 \pm 0,00
45	223,33 \pm 0,15	180,00 \pm 0,20	203,33 \pm 0,06	80,00 \pm 0,00
60	226,67 \pm 0,15	186,67 \pm 0,25	210,00 \pm 0,10	80,00 \pm 0,00
90	233,33 \pm 0,12	193,33 \pm 0,25	213,33 \pm 0,06	80,00 \pm 0,00
120	243,33 \pm 0,15	193,33 \pm 0,25	223,33 \pm 0,06	80,00 \pm 0,00
180	250,00 \pm 0,20	203,33 \pm 0,25	226,67 \pm 0,12	80,00 \pm 0,00
240	253,33 \pm 0,15	206,67 \pm 0,30	226,67 \pm 0,12	80,00 \pm 0,00
300	253,33 \pm 0,15	206,67 \pm 0,30	226,67 \pm 0,12	80,00 \pm 0,00
360	260,00 \pm 0,20	206,67 \pm 0,30	236,67 \pm 0,06	80,00 \pm 0,00
420	260,00 \pm 0,20	206,67 \pm 0,30	236,67 \pm 0,06	80,00 \pm 0,00
480	260,00 \pm 0,20	240,00 \pm 0,20	236,67 \pm 0,06	80,00 \pm 0,00

Tabel 17. Data serapan natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4

No.	Konsentrasi natrium diklofenak (ppm)	Serapan
1	6,012	0,188
2	8,016	0,257
3	10,020	0,320
4	12,024	0,376
5	14,028	0,445
6	16,032	0,503
7	18,036	0,571
8	20,040	0,641

Keterangan :

$$a = - 0,0021$$

$$b = 0,0318$$

$$r = 0,9997$$

$$y = 0,0318x - 0,0021$$

Tabel 18. Data pelepasan kumulatif natrium diklofenak secara *in vitro* dari granul lepas lambat mukoadhesif

Medium	Waktu (menit)	Pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif (% b/b)			
		Formula			
		1	2	3	4
HCl pH 1,2	0	0,00	0,00	0,00	0,00
	120	4,49 ± 0,18	3,03 ± 0,39	4,08 ± 1,23	65,54 ± 0,24
Dapar fosfat pH 7,4	5	12,09 ± 0,48	3,90 ± 0,57	6,26 ± 1,06	66,60 ± 0,30
	15	15,16 ± 0,40	4,79 ± 0,73	6,31 ± 1,05	67,27 ± 0,40
	30	16,45 ± 0,24	5,95 ± 0,81	6,90 ± 1,11	67,80 ± 0,27
	45	18,45 ± 0,75	7,36 ± 0,79	7,69 ± 0,95	68,02 ± 0,26
	60	20,94 ± 0,30	8,88 ± 0,81	8,26 ± 0,80	68,33 ± 0,30
	90	24,91 ± 0,38	12,89 ± 0,92	9,91 ± 0,61	68,56 ± 0,29
	120	27,07 ± 0,77	17,08 ± 1,21	12,89 ± 0,43	68,92 ± 0,26
	180	36,58 ± 0,50	21,81 ± 1,41	16,17 ± 0,68	69,78 ± 0,43
	240	45,60 ± 0,49	32,63 ± 1,62	20,38 ± 0,92	70,51 ± 0,54
	300	51,17 ± 0,71	38,08 ± 1,76	26,46 ± 2,11	71,46 ± 0,35
360	54,18 ± 0,64	43,07 ± 2,15	32,30 ± 0,31	72,24 ± 0,68	
420	58,64 ± 1,27	47,56 ± 1,91	37,20 ± 0,51	72,99 ± 0,78	
480	59,54 ± 1,01	52,51 ± 3,53	43,50 ± 0,92	75,19 ± 0,45	

Tabel 19. Data perlekatan granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dengan metode pencucian granul (*wash off*)

Formula	Jumlah granul yang melekat pada menit ke-						Persentase granul yang melekat pada menit ke- (%)					
	0	30	60	90	120	150	0	30	60	90	120	150
1	20	18	18	16	16	16	100,00	90,00	90,00	80,00	80,00	80,00
	20	20	19	19	19	19	100,00	100,00	95,00	95,00	95,00	95,00
	20	18	16	16	16	16	100,00	90,00	80,00	80,00	80,00	80,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	-	100,00 ± 0,00	93,33 ± 5,77	88,33 ± 7,64	85,00 ± 8,66	85,00 ± 8,66	85,00 ± 8,66
2	20	17	15	15	15	15	100,00	85,00	75,00	75,00	75,00	75,00
	20	18	17	17	17	17	100,00	90,00	85,00	85,00	85,00	85,00
	20	18	16	16	16	16	100,00	90,00	80,00	80,00	80,00	80,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	-	100,00 ± 0,00	88,33 ± 2,89	80,00 ± 5,00	80,00 ± 5,00	80,00 ± 5,00	80,00 ± 5,00
3	20	18	18	17	16	16	100,00	90,00	90,00	85,00	80,00	80,00
	20	18	17	17	16	16	100,00	90,00	85,00	85,00	80,00	80,00
	20	17	17	16	16	15	100,00	85,00	85,00	80,00	80,00	75,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	-	100,00 ± 0,00	88,33 ± 2,89	86,67 ± 2,89	83,33 ± 2,89	80,00 ± 0,00	78,33 ± 2,89

	20	20	19	19	18	18	100,00	100,00	95,00	95,00	90,00	90,00
4	20	19	19	18	18	18	100,00	95,00	95,00	90,00	90,00	90,00
	20	19	18	18	18	17	100,00	95,00	90,00	90,00	90,00	85,00
Rata-rata	-	-	-	-	-	-	100,00±0,00	96,67±2,89	93,33±2,89	91,67±2,89	90,00±0,00	88,33±2,89
± SD (%)	-	-	-	-	-	-						

Tabel 19. Data perlekatan granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dengan metode pencucian granul (*wash off*) (lanjutan)

Formula	Jumlah granul yang melekat pada menit ke-						Persentase granul yang melekat pada menit ke- (%)					
	180	210	240	270	300	330	180	210	240	270	300	330
1	16	16	16	15	15	15	80,00	80,00	80,00	75,00	75,00	75,00
	19	19	19	19	18	18	95,00	95,00	95,00	95,00	90,00	90,00
	16	15	15	15	15	15	80,00	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
Rata-rata± SD (%)	-	-	-	-	-	-	85,00±8,66	83,33±10,41	83,33±10,41	81,67±11,55	80,00±8,66	80,00±8,66
2	15	15	15	15	15	15	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
	17	17	16	16	15	15	85,00	85,00	80,00	80,00	75,00	75,00
	16	15	15	15	15	15	80,00	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	-	80,00 ±5,00	78,33 ±5,77	76,67 ±2,89	76,67 ± 2,89	75,00 ±0,00	75,00 ±0,00

	15	15	14	14	14	14	75,00	75,00	70,00	70,00	70,00	70,00
3	16	15	14	14	14	13	80,00	75,00	70,00	70,00	70,00	65,00
	15	15	14	14	13	13	75,00	75,00	70,00	70,00	65,00	65,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	-	76,67 ±2,89	75,00 ±0,00	70,00 ±0,00	70,00 ±0,00	68,33 ±2,89	66,67 ±2,89
	17	16	16	16	16	15	85,00	80,00	80,00	80,00	80,00	75,00
4	18	16	16	16	14	14	90,00	80,00	80,00	80,00	70,00	70,00
	17	16	16	15	15	15	85,00	80,00	80,00	75,00	75,00	75,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	-	86,67 ±2,89	80,00 ±0,00	80,00 ±0,00	78,33 ±2,89	75,00 ±5,00	73,33 ±2,89

Tabel 19. Data perlekatan granul lepas lambat mukoadhesif pada mukosa usus tikus dalam medium dapar fosfat pH 7,4 dengan metode pencucian granul (*wash off*) (lanjutan)

Formula	Jumlah granul yang melekat pada menit ke-					Persentase granul yang melekat pada menit ke- (%)				
	360	390	420	450	480	360	390	420	450	480
	1	14	14	14	14	14	70,00	70,00	70,00	70,00
	18	18	18	18	16	90,00	90,00	90,00	90,00	80,00
	15	15	15	15	14	75,00	75,00	75,00	75,00	70,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	78,33 ±10,41	78,33 ±10,41	78,33 ±10,41	78,33 ±10,41	73,33 ±5,77

Formula	Jumlah granul yang melekat pada menit ke-					Persentase granul yang melekat pada menit ke- (%)				
	360	390	420	450	480	360	390	420	450	480
2	15	15	15	14	14	75,00	75,00	75,00	70,00	70,00
	15	15	14	14	13	75,00	75,00	70,00	70,00	65,00
	15	15	15	15	14	75,00	75,00	75,00	75,00	70,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	75,00 ± 0,00	75,00 ± 0,00	73,33 ± 2,89	71,67 ± 2,89	68,33 ± 2,89
3	14	13	13	13	12	70,00	65,00	65,00	65,00	60,00
	13	13	13	13	13	65,00	65,00	65,00	65,00	65,00
	12	12	12	11	11	60,00	60,00	60,00	55,00	55,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	65,00 ± 5,00	63,33 ± 2,89	63,33 ± 2,89	61,67 ± 5,77	60,00 ± 5,00
4	15	15	15	15	15	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
	14	14	14	14	14	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00
	15	15	15	15	15	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
Rata-rata ± SD (%)	-	-	-	-	-	73,33 ± 2,89	73,33 ± 2,89	73,33 ± 2,89	73,33 ± 2,89	73,33 ± 2,89

Lampiran 1

Perhitungan pelepasan natrium diklofenak dari granul lepas lambat mukoadhesif

Jumlah pelepasan natrium diklofenak dari granul (mg) :

$$\text{a. menit ke-15} = \frac{(Y_{15} - a) \times fp \times M}{b \times 1000}$$

$$\text{b. menit ke-30} = \frac{(Y_{30} - a) \times fp \times M}{b \times 1000} + \frac{(Y_{15} - a) \times fp \times S}{b \times 1000}$$

$$\text{c. menit ke-45} = \frac{(Y_{45} - a) \times fp \times M}{b \times 1000} + \frac{(Y_{30} - a) \times fp \times S}{b \times 1000} + \frac{(Y_{15} - a) \times fp \times S}{b \times 1000}$$

$$\text{d. menit ke-480} = \frac{(Y_{480} - a) \times fp \times M}{b \times 1000} + \dots + \frac{(Y_{15} - a) \times fp \times S}{b \times 1000}$$

Keterangan :

Y = serapan natrium diklofenak

Y_z = serapan natrium diklofenak pada menit ke-z

fp = faktor pengenceran

M = volume medium yang digunakan (150 ml)

S = volume pengambilan sampel (10 ml)

a = koefisien intersep

b = slope

Lampiran 2

Contoh perhitungan jumlah kitosan suksinat yang terlarut secara semikuantitatif

Pada medium HCl pH 1,2 :

$$\frac{A_1}{C_1} = \frac{A_2}{C_2}$$

$$\frac{0,158}{C_1} = \frac{1,658}{5150}$$

$$C_1 = 490,772 \text{ ppm}$$

$$C_1 \times \text{fp} = 490,772 \times (20:5) = 1963,088 \mu\text{g/ml} = 0,196 \text{ g/100ml}$$

Lampiran 3
Sertifikat analisis kitosan



Invoice No. : -
Batch No. : 07A0111.M.HM.CHC
Quantity : 2 Kg
Analysis Date : February 02nd, 2011

CHITOSAN – MEDICAL/FOOD GRADE		
Items	Specification Standard	Test Result
Appearance	Off White - Pure White	Off White
Particle Size	Flake - Powder (User Requirement)	#80
Degree of Deacetylation	≥ 85 %	94.2 %
Viscosity	10 - 500 cps (User Requirement)	36.1 cps
Moisture Content	≤ 10 %	8.64 %
Ash Content	≤ 1.5 %	1.05 %
Protein Content	≤ 0.5 %	complies
pH (1%)	7 - 8	complies
Insoluble	< 1 %	complies
Total Plate Count	< 1000 cfu/g	complies
Yeast and Mold	< 40 cfu/g	complies
Pathogenic Bacteria	Absent	complies
Heavy Metals	< 10 ppm	complies

Cirebon, February 04th, 2011


QA&QC Manager

Lampiran 4
Sertifikat analisis anhidrida suksinat



Certificate of Analysis

<http://certificates.merck.de>

Date of print: 13.01.2011

8.00683.0500 Succinic anhydride for synthesis
Batch S4949283

Batch Values

Assay (morpholine method)	99.2	%
Melting range		
lower value	116.3	°C
upper value	118.3	°C
Identity (IR)	passes test	

Date of examination (DD.MM.YYYY): 23.11.2007
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 30.11.2012

Dr. Wolfgang Bolkart

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Lampiran 5
Sertifikat analisis natrium diklofenak

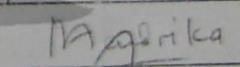
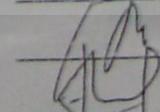
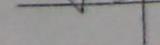
24 JAN 2011

KF Plant Jakarta J. Rawasari V No.1 Kawasan Industri Pulogadung Jakarta Timur
Phone : 021-4609354 Fax : 021-4603143

Hasil Pemeriksaan Laboratorium

BAHAN BAKU			
No. BTBS	: GRA1-11000026	No. LA / HPL	: QAJ1-11000026
Tgl. BTBS	: 05/01/2011	Tgl. Sampling	: 06/01/2011
Gudang / Lokasi	: Plant Jakarta Bahan	Tgl. Mulai Periksa	: 18/01/2011
Nama Barang	: 1000203 NATRII DICLOFENAC	Tgl. Selesai Periksa	: 18/01/2011
		Diperiksa Oleh	: Putri
		Tgl. Periksa Ulang	: 18/01/2012
Merek/Produsen	: Yung Zip Chemical Ind-Taiwan	MFD	: 20/07/2010
Jumlah Barang	: 3 dus @ 10 kg = 30 kg	ED	: 20/07/2015
Jumlah Sample	: 30 Gram	Pemasok	: PT. GLOBAL CHEMINDO
	: 3 x 10 g (1 - 3)		
Diambil Oleh	: Andi BP	No. Batch/lot	: DCS 0010018

Pemeriksaan	Hasil	Syarat	Unit	Metode
Pemerian	1 - 3 = Serbuk kristal berwarna putih, tidak berbau	Serbuk kristal berwarna putih atau hampir putih, higroskopik		USP 32
Identifikasi pH (1 % b/v dalam air)	1 - 3 = Memenuhi Pengujian 7.24	Memenuhi Pengujian	7 - 8.5	USP 32 (MPF008)
Stabilitas Pengeringan (105 derajat C, 3 Jam)	0.14	<	0.5	% USP 32
Kadar	99.66			% USP 32
K. Kadar Terhadap Zat Kering	99.82	99 -	101	% USP 32
Kesimpulan	Dibakukan			
Note	Analisa @			

Authorization	In Charge / Position	Signature	Date Time	Notes
Prepared by	<u>Lucia Hendrika</u> Supervisor Pemeriksaan Bahan Baku		18/1/11	
Verified by	<u>Drs. Hadi Kardoko</u> Asman Pengawasan Mutu		20/1/11	
Approved by	<u>Drs. Tis Mutiainingsih</u> Manager Pemastian Mutu		29/1	

Lampiran 6
Sertifikat analisis tikus untuk uji daya mukoadhesif



BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS
Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja Dan Aneka Ternak
Alamat : Jl. Agatis kampus IPB Darmaga-Bogor
Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Non Ruminansia dan Satwa Harapan, Fakultas Peternakan IPB, telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Kepala,

Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS
NIP. 19460825 197711 1 001