



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI KITOSAN SUKSINAT
SEBAGAI POLIMER DALAM SEDIAAN MIKROSFER
MUKOADHESIF**

SKRIPSI

CHRISTY CECILIA SN

0706264526

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

JULI 2011



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI KITOSAN SUKSINAT
SEBAGAI POLIMER DALAM SEDIAAN MIKROSFER
MUKOADHESIF**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

CHRISTY CECILIA SN

0706264526

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

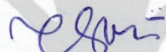
JULI 2011

HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS

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

Nama : Christy Cecilia SN

NPM : 0706264526

Tanda Tangan : 

Tanggal : 07 Juli 2011


HALAMAN PENGESAHAN

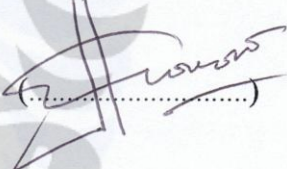
Skripsi ini diajukan oleh :


Nama : Christy Cecilia SN
NPM : 0706264526
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Preparasi dan Karakterisasi Kitosan Suksinat Sebagai Polimer dalam Sediaan Mikrosfer Mukoadhesif

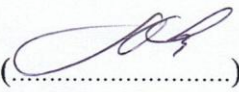
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

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

Pembimbing II : Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., Apt.  (.....)

Penguji I : Pharm. Dr. Joshita D., MS., Ph.D., Apt.  (.....)

Penguji II : Prof. Dr. Atiek Soemiati, MS., Apt.  (.....)

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

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 07 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, karena atas berkat dan kasih-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya pribadi untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu saya ingin mengucapkan terimakasih kepada :

- (1) Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian tepat waktu.
- (2) Ibu Dr. Joshita Djajadisastra, MS., Apt. selaku pembimbing akademis, yang memantau setiap aktivitas akademik dan nilai-nilai saya selama perkuliahan.
- (3) Ibu Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt. selaku pembimbing I dan Ibu Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., Apt. selaku pembimbing II, atas waktu dan kesabarannya membimbing, menasehati, dan menyemangati saya selama penelitian berlangsung.
- (4) Kedua orangtua, adik, dan keluarga terdekat saya yang telah memberikan kasih sayang, doa, serta dukungan material dan moral. Juga kepada Timothy Sihombing dan keluarga, yang senantiasa mendukung dan mendoakan saya selama penelitian berlangsung
- (5) Teman-teman Pentas Remaja Kaum Muda juga keluarga besar GSJA Mercy For All, untuk dukungan doa dan kebersamaan yang senantiasa menghibur juga memberikan saya semangat dalam menyelesaikan skripsi ini; dan
- (6) Teman-teman Farmasi, khususnya angkatan 2007 yang telah sama-sama berjuang dan saling menyemangati untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi tepat waktu. Para laboran, kakak dan adik kelas, bapak Satpam,

juga setiap petugas kebersihan Farmasi UI atas bantuannya selama saya melaksanakan penelitian ini.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu, khususnya bidang kefarmasian.

Christy Cecilia SN

2011



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

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

Nama : Christy Cecilia SN
NPM : 0706264526
Program Studi : Farmasi
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 Polimer dalam Sediaan
Mikrosfer Mukoadhesif.

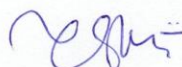
Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 07 Juli 2011

Yang menyatakan



(Christy Cecilia S.N)

ABSTRAK

Nama : Christy Cecilia SN
Program Studi : Farmasi
Judul : Preparasi dan Karakterisasi Kitosan Suksinat sebagai Polimer dalam Sediaan Mikrosfer Mukoadhesif.

Kitosan, polimer alam yang berasal dari deasetilasi kitin adalah polimer yang memiliki sifat mukoadhesif yang baik, namun kelarutannya terbatas hanya dalam asam. Salah satu derivat kitosan, yaitu kitosan suksinat (KS) telah berhasil disintesis dengan tujuan meningkatkan kelarutan dan adhesifitasnya dalam suasana basa. KS hasil sintesis dikarakterisasi antara lain spektrum serapan inframerahnya, derajat substitusi dan kelarutannya dalam medium berbagai pH. KS kemudian digunakan sebagai polimer dalam sediaan mikrosfer mukoadhesif yang dibuat dengan teknik semprot kering. Mikrosfer yang diperoleh dari teknik semprot kering kemudian dievaluasi daya adhesifitasnya, ukuran partikel, bentuk permukaan, juga kemampuan penahanan obat secara *in vitro*. Dari hasil penelitian derajat substitusi sebesar 1,97 mol/gram, dan kelarutannya meningkat dalam suasana basa pH > 6,8. Saat digunakan sebagai polimer dalam sediaan mikrosfer mukoadhesif, substitusi gugus suksinil pada kitosan tidak menghilangkan sifat adhesifitas dari kitosan. Ukuran mikrosfer yang dihasilkan berkisar antara 15-26 μm dengan permukaan halus dan memiliki bagian yang mencekung pada sisinya. KS dalam mikrosfer dapat mengurangi pelepasan obat dalam suasana asam, namun jumlah yang terlepas dalam suasana basa mencapai > 90% pada akhir jam ke-8. Hal ini menunjukkan bahwa KS hasil sintesis telah berhasil meningkatkan kelarutan kitosan dalam suasana basa, dan dapat digunakan sebagai polimer dalam sediaan mikrosfer mukadhesif.

Kata kunci : polimer, kitosan, kitosan suksinat, mikrosfer, mukoadhesif, semprot kering.
xiv + 99 halaman : 14 gambar; 8 tabel
Daftar Pustaka : 37 (1984 – 2011)

ABSTRACT

Name : Christy Cecilia SN
Program Study: Pharmacy
Title : Preparation and Characterization of Succinyl Chitosan as Polymer in Mucoadhesive Microsphere.

Chitosan, a natural polymer which originated from a deacetylation of Chitin is a polymer. Chitosan has a good mucoadhesive character but it has limited solubility where its only soluble in acidic solution. One of the derivate, Chitosan Succinate (CS), has successfully been synthesized in order to increase the solubility and to achieve the adhesive properties of chitosan in alkaline situation. The synthesized CS, was characterized chemically by determine its FT-IR spectra, the substitution degrees and by comparing its solubility in mediums with variety of pH. Thereafter, the CS was produced in mucoadhesive microsphere using spray dry technique. Thereafter, the obtained microsphere was evaluated by the adhesive properties, size of the particle, the form of the surface, and also the ability to hold drug release in vitro. From the result of the research, the substitution degrees is 1,97 mol/gram, and the solubility increased in a alkaline situation with $\text{pH} > 6.8$. When it is used as a polymer in mucoadhesive microsphere, substitution of succinyl group in the chitosan didn't eliminate the adhesive character from the chitosan. The size of the microsphere achieved was approximately between 15-26 μm with smooth surfaces and concave parts on its side. CS microsphere can decrease the release of drug in acidic situation, but the amount that is released in alkaline situation can go up to $> 90\%$ within 8 hour. This study showed that the synthesized CS has succeeded in increasing the solubility of chitosan in alkaline situation, and can be used as polymer in mucoadhesive microsphere.

Keywords : polymer, chitosan, chitosan succinate, microsphere, mucoadhesive, spray dry.

xiv + 99 pages: 14 pictures; 8 tables.

Bibliography : 37 (1984 – 2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
LAMPIRAN	xiii
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	5
2.3 Reaksi N-Asilasi	6
2.4 Kitosan Suksinat	7
2.5 Mikroenkapsulasi dan Mikrosfer	7
2.6 Bionadhesif dan Mukoadhesif	9
2.7 Penghantaran Obat Lepas Terkendali	11
2.8 Kinetika Pelepasan Obat	12
2.9 Natrium diklofenak	13
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1 TEMPAT DAN WAKTU	15
3.2 ALAT	15
3.3 BAHAN	15
3.4. METODE PELAKSANAAN	16
3.4.1. Preparasi Kitosan Suksinat	16
3.4.2. Karakterisasi Kitosan Suksinat	16
3.4.3. Pembuatan Mikrosfer Mukoadhesif... ..	20
3.4.4. Evaluasi Mikrosfer Mukoadhesif	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Preparasi Kitosan Suksinat	25
4.2 Karakterisasi Kitosan Suksinat	27
4.3 Pembuatan Mikrosfer Mukoadhesif	40
4.4Evaluasi Mikrosfer Mukoadhesif	42
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	58
DAFTAR REFERENSI	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur molekul kitin dan kitosan	4
Gambar 2.2	Struktur molekul anhidrida suksinat	6
Gambar 2.3	Reaksi N-asilasi pada kitosan	6
Gambar 2.4	Alat semprot kering	9
Gambar 2.5	Rumus bangun natrium diklofenak.....	14
Gambar 4.1	Kitosan dan kitosan suksinat hasil sintesis	28
Gambar 4.2	Spektrum inframerah kitosan dan kitosan suksinat	31
Gambar 4.3	Kurva analisis sifat termal kitosan dan kitosan suksinat	32
Gambar 4.4	Mikrograf kitosan suksinat dan kitosan	33
Gambar 4.5	Rheogram dispersi 6% kitosan suksinat dalam 0,037% NH ₄ OH	39
Gambar 4.6	Mikrosfer mukoadhesif dari keempat formula	41
Gambar 4.7	Mikrograf mikrosfer mukoadhesif keempat formula dengan perbesaran 3000 x	42
Gambar 4.8	Kurva distribusi ukuran partikel berdasarkan % volume	44
Gambar 4.9	Pelepasan kumulatif natrium diklofenak secara <i>in vitro</i> dari keempat formula dalam medium asam klorida pH 1,2 dan medium fosfat pH 7,4	52

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Formulasi mikrosfer mukoadhesif	21
Tabel 4.1.	Ringkasan karakterisasi kitosan suksinat	30
Tabel 4.2	Kelarutan kitosan dan kitosan suksinat hasil sintesis dalam medium berbagai pH (visual)	34
Tabel 4.3.	Kelarutan kitosan suksinat dalam medium berbagai pH (semi kuantitatif)	37
Tabel 4.4	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif dari keempat formula	43
Tabel 4.5	Ringkasan evaluasi mikrosfer mukoadhesif dari keempat formula	46
Tabel 4.6	Kekuatan perlekatan mikrosfer mukoadhesif pada mukosa usus tikus menggunakan texture analyzer	50
Tabel 4.7	Kinetika pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer mukoadhesif keempat formula	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Perubahan visual larutan selama proses sintesis kitosan suksinat berlangsung	63
Lampiran 2	Distribusi ukuran partikel dari keempat formula mikrosfer mukoadhesif	64
Lampiran 3	Grafik perlekatan mukoadhesif masing-masing formula mikrosfer pada usus tikus	64
Lampiran 4	Kurva serapan natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4	65
Lampiran 5	Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula A	66
Lampiran 6	Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula B	67
Lampiran 7	Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula C	68
Lampiran 8	Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula D	69
Lampiran 9	Kurva kalibrasi natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4 ..	70
Lampiran 10	Alat-alat yang digunakan selama penelitian	71
Lampiran 11	Tabel pembakuan HCl 1 N dengan boraks	72
Lampiran 12	Tabel pembakuan NaOH 1N dengan KHP	72
Lampiran 13	Tabel penetapan derajat substitusi secara titrasi asam basa ..	72
Lampiran 14	Tabel viskositas kitosan suksinat dalam 0,037% NH ₄ OH	72
Lampiran 15	Tabel pH kitosan suksinat dalam berbagai konsentrasi	74
Lampiran 16.	Tabel indeks mengembang kitosan suksinat dalam larutan HCl pH 1,2	74
Lampiran 17	Tabel indeks mengembang kitosan suksinat dalam larutan fosfat pH 7,4	74
Lampiran 18	Tabel kompresibilitas serbuk kitosan suksinat dan kitosan ..	75
Lampiran 19	Tabel viskositas formula mikrosfer mukoadhesif	75
Lampiran 20	Tabel uji perolehan kembali mikrosfer mukoadhesif	77
Lampiran 21	Tabel indeks mengembang mikrosfer mukoadhesif dalam larutan HCl pH 1,2	77
Lampiran 22	Tabel indeks mengembang mikrosfer mukoadhesif dalam larutan fosfat pH 7,4	78
Lampiran 23	Tabel kekuatan perlekatan mikrosfer mukoadhesif pada mukosa usus tikus	78
Lampiran 24	Kurva serapan natrium diklofenak	79
Lampiran 25	Tabel efisiensi penjerapan mikrosfer mukoadhesif	80

Lampiran 26.	Tabel pelepasan kumulatif natrium diklofenak secara <i>in vitro</i> dalam medium asam (dapar klorida pH 1,2) dan medium basa (dapar fosfat pH 7,4)	81
Lampiran 27.	Tabel data kelarutan kitosan suksinat semikuantitatif	82
Lampiran 28.	Perhitungan pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer mukoadhesif	83
Lampiran 29.	Sertifikat analisis kitosan	84
Lampiran 30.	Sertifikat analisis anhidrida suksinat	85
Lampiran 31.	Sertifikat analisis natrium diklofenak (1 dari 3)	86
Lampiran 32.	Sertifikat analisis natrium diklofenak (2 dari 3)	87
Lampiran 33.	Sertifikat analisis natrium diklofenak (3 dari 3)	88
Lampiran 34.	Sertifikat tikus putih yang ususnya digunakan untuk uji kemampuan perlekatan	89
Lampiran 35.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (1 dari 3)	90
Lampiran 36.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (2 dari 3).....	91
Lampiran 37.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (3 dari 3)	92
Lampiran 38.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula B (1 dari 3)	93
Lampiran 39.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula B (2 dari 3)	94
Lampiran 40.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula B (3 dari 3)	95
Lampiran 41.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula C (1 dari 3)	96
Lampiran 42.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula C (2 dari 3)	97
Lampiran 43.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula C (3 dari 3)	98
Lampiran 44.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula D (1 dari 3)	99
Lampiran 45.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula D (2 dari 3)	100
Lampiran 46.	Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula D (3 dari 3)	101

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Eksplorasi bahan alam saat ini telah banyak dilakukan untuk berbagai keperluan, salah satunya dalam bidang farmasi. Dalam bidang farmasi, bahan alam berguna sebagai bahan obat maupun sebagai bahan baku pembuatan sediaan obat (ekspien). Salah satu bahan alam yang banyak terdapat di Indonesia dan dapat digunakan sebagai ekspien farmasi adalah kitosan.

Kitosan merupakan polisakarida kedua terbanyak yang mudah diperoleh setelah selulosa. Kitosan diperoleh dari deasetilasi kitin, senyawa yang terkandung pada kulit udang dan kepiting. Indonesia banyak menghasilkan sumber daya alam laut, karena $\frac{2}{3}$ luas wilayahnya adalah perairan. Kepiting dan udang ini seringkali meninggalkan limbah berupa kulit cangkang yang biasanya tidak digunakan. Kitin yang terkandung pada cangkang kulit udang/kepiting dapat diolah menjadi kitosan yang dapat digunakan sebagai ekspien farmasi sehingga dapat mengurangi jumlah limbah.

Kitosan bersifat inert, *swellable*, dan *biodegradable*. Selain itu kitosan juga diketahui memiliki sifat mukoadhesif yang baik yang terlihat pada penggunaannya sebagai polimer dalam sediaan tablet buccal juga mikrosfer mukoadhesif (Pignatello et al, 2007).

Penggunaan kitosan belum maksimal dan masih terbatas, walaupun jumlahnya sangat banyak. Hal ini disebabkan sifat kitosan yang hanya larut pada lingkungan ber-pH asam dan sukar larut dalam air dan pelarut organik (Alamsyah, 2006). Untuk mengatasi permasalahan mengenai sifat kelarutan kitosan, cara yang dapat ditempuh adalah dengan membuat turunan kitosan melalui modifikasi kimia. Salah satu hasil modifikasi itu ialah kitosan suksinat, yang diperoleh dengan memasukkan gugus suksinil dari anhidrida suksinat pada gugus amina kitosan. Aiedeh dan Taha (1999) telah berhasil memodifikasi kitosan dengan cara ini, dan menghasilkan turunan kitosan yang sedikit larut dalam asam, mudah larut dalam air dan larutan ber-pH basa.

Penelitian sebelumnya menyatakan kitosan suksinat memiliki sifat mukoadhesif seperti kitosan (Rekha & Sharma, 2008). Modifikasi kitosan menjadi kitosan suksinat selain bertujuan untuk meningkatkan kelarutan polimer tersebut dalam air, juga bertujuan untuk memperoleh sifat mukoadhesif dari senyawa kitosan yang hanya spesifik pada usus.

Mukoadhesif adalah fenomena adhesif, yaitu suatu substrat menempel pada permukaan membran mukosa, dan sifat ini diperantarai oleh polimer yang menghasilkan belitan atau ikatan dengan lapisan mukus (Bernkop-Schnurch, 2005). Pembuatan sediaan ini dimaksudkan untuk meningkatkan waktu kontak obat dengan jaringan tempat obat diabsorpsi. Sifat mukoadhesif yang baik dapat diperoleh dengan pemilihan polimer yang tepat, dan pelepasannya ditentukan oleh *device* penghantaran yang digunakan.

Penghantaran obat melalui sediaan mikrosfer telah banyak digunakan, yang merupakan partikel berbentuk sferis dengan ukuran mikrometer yang mengandung zat aktif dan terdispersi dalam matriks yang tidak aktif. Matriks yang digunakan biasanya bersifat *biodegradable* dan laju pelepasan obat melalui matriks ini biasanya diperantarai oleh proses degradasi matriks (Mathiowitz, 1999).

Mikrosfer mukoadhesif adalah mikropartikel yang sebagian maupun keseluruhannya dibentuk dari polimer dengan sifat mukoadhesif yang mendispersi senyawa obat. Menggunakan pelepasan dari mikrosfer dan sifat mukoadhesif diharapkan dapat memberi luas permukaan yang lebih besar untuk berkontak dengan jaringan pengabsorpsi, mengingat ukuran partikel mikrosfer yang kecil. Selain itu, mikrosfer mukoadhesif dapat menyelipkan dirinya pada dinding saluran cerna sehingga waktu penempelannya dapat diperpanjang, sehingga meningkatkan bioavailabilitas obat (Rekha & Sharma, 2008)

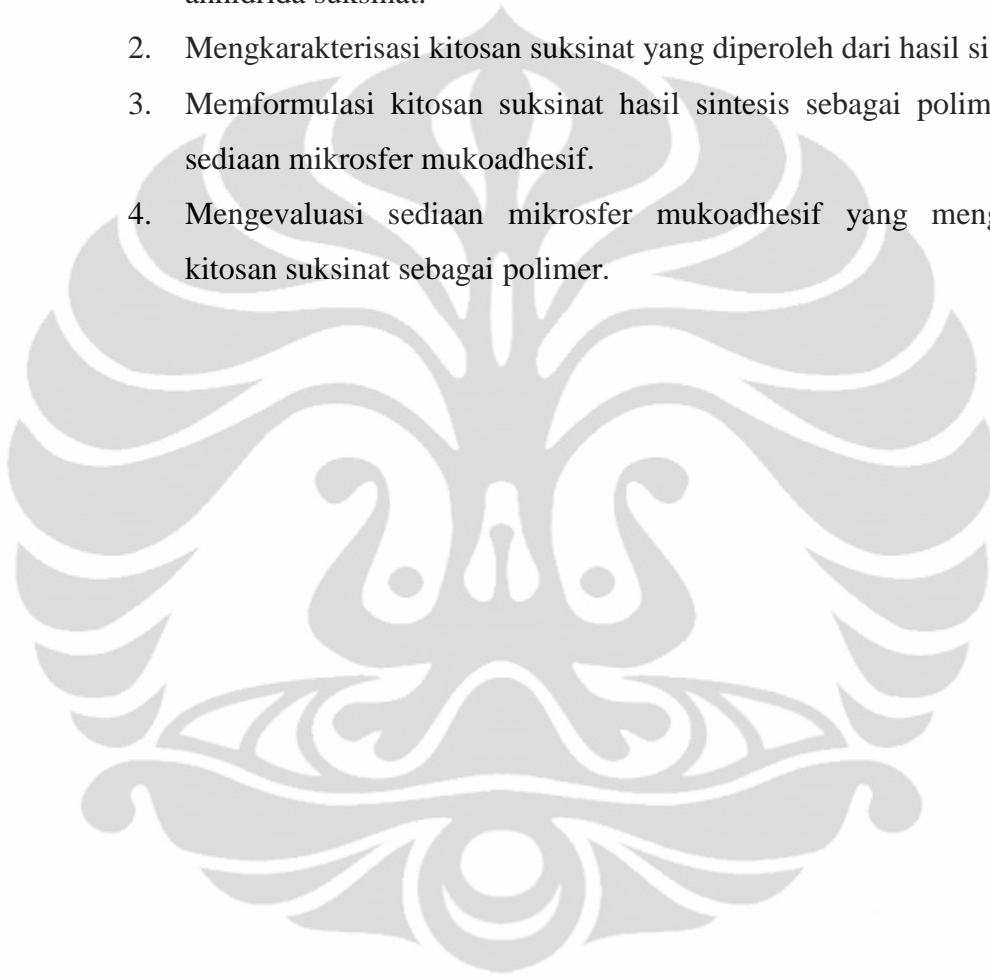
Pada penelitian ini, akan dilakukan sintesis kitosan suksinat dengan reaksi N-asilasi. Selanjutnya polimer hasil sintesis dikarakterisasi yang meliputi bentuk & morfologi, pengenalan gugus fungsi dengan spektrum inframerah, penentuan derajat substitusi, kelarutan, pH dalam berbagai konsentrasi, viskositas, kemampuan mengembang, kompresibilitas dan sifat termal. Kitosan suksinat hasil sintesis yang telah dikarakterisasi digunakan sebagai polimer dalam formulasi

Universitas Indonesia

sediaan mikrosfer mukoadhesif. Sediaan ini dibuat dengan teknik semprot kering, dan menggunakan natrium diklofenak sebagai model obat.

1.2 Tujuan penelitian

1. Mensintesis kitosan suksinat dengan reaksi N-asilasi antara kitosan dan anhidrida suksinat.
2. Mengkarakterisasi kitosan suksinat yang diperoleh dari hasil sintesis.
3. Memformulasi kitosan suksinat hasil sintesis sebagai polimer dalam sediaan mikrosfer mukoadhesif.
4. Mengevaluasi sediaan mikrosfer mukoadhesif yang menggunakan kitosan suksinat sebagai polimer.



BAB 2

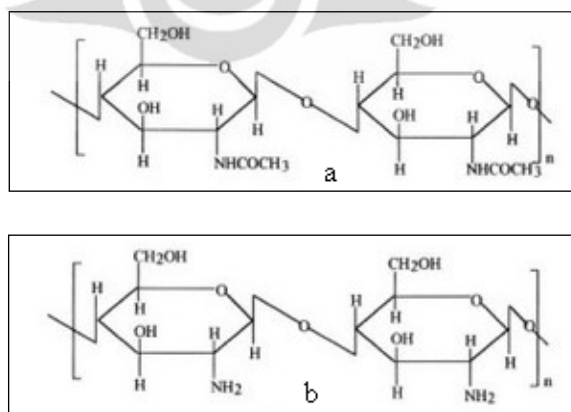
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kitosan

Kitosan merupakan polimer alami yang diperoleh dari limbah cangkang udang maupun kepiting (avertebrata laut) yang mengandung kitin. Kitosan sendiri dihasilkan dari proses deasetilasi kitin, yang dapat terjadi secara enzimatik maupun kimiawi (Sugita et al, 2009). Proses secara kimia dihasilkan dengan mereaksikan kitin dengan alkali sehingga terjadi proses penghilangan gugus asetil (deasetilasi) dari gugus asetamido menjadi gugus amina (Noeriati et al, 2007).

Polimer ini larut dalam asam, tidak larut dalam pelarut organik, air, larutan ber-pH netral maupun larutan alkali. Namun, bentuk garamnya larut dalam air, dan kelarutan tersebut bergantung pada derajat diasetilasi dan pHnya. Nilai pKa dari gugus N-amino pada kitosan adalah 6,5, oleh karena itu, kitosan larut pada larutan asam organik dengan pH < 6,5.

Kitosan merupakan polisakarida alami, yang terdiri dari kopolimer glukosamin dan N-asetilglukosamin. Sebagai polimer alam, kitosan memiliki beberapa sifat baik dan menguntungkan yaitu tidak toksik, *biodegradable*, bersifat bioadesif, dan juga telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri (Sugita et al, 2009). Senyawa ini larut dalam asam-asam organik encer, tidak beracun, dan aman bila dikonsumsi manusia.



[Sumber : Champagne, 2008, halaman 3]

Gambar 2.1. Struktur molekul kitin (atas) dan kitosan (bawah)

Penggunaan kitosan sangat luas dalam bidang industri, medis, farmasi, dan lingkungan. Dalam bidang farmasi, kitosan dimanfaatkan sebagai eksipien pembuatan sediaan obat yaitu sebagai bahan pengikat sediaan tablet juga sebagai polimer dalam sediaan mukoadhesif.

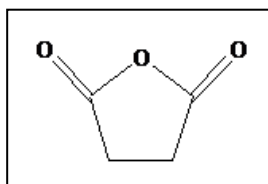
Kitosan dapat digunakan sebagai polimer untuk tujuan mukoadhesif karena memiliki gugus amino bebas yang memberikan muatan positifnya untuk bereaksi dengan muatan negatif dari permukaan mukosa. Komponen utama dari mukus adalah glikoprotein mucin, yang membentuk lapisan gel statis disekeliling sel epitel mukosa. Peristiwa adhesi ini dapat terjadi karena gugus glukosamin pada kitosan berinteraksi dengan gugus asam sialat pada mucin (Gandhi, 2010).

Namun, penggunaan kitosan belum sepenuhnya maksimal. Hal ini dikarenakan kelarutannya yang buruk dalam air dan dalam banyak pelarut organik. Selain itu, kitosan yang larut dalam asam seringkali tidak diinginkan dalam produk akhir kosmetik, makanan, maupun biomedis. Untuk mengembangkan fungsi kitosan, dapat dilakukan perubahan dan perbaikan sifat dari kitosan, contohnya dengan membuatnya larut dalam air. Proses modifikasi ini dapat dilakukan, karena pada strukturnya, kitosan memiliki gugus amin yang dapat dimodifikasi, selain itu kitosan juga mengandung gugus polar dan nonpolar dan bersifat hidrofilik (Alamsyah, 2006).

2.2 Anhidrida suksinat

Anhidrida suksinat disebut juga dihidro-2,5-furandion, adalah senyawa organik yang memiliki rumus molekul $C_4H_4O_3$. Senyawa ini merupakan bentuk anhidrat dari asam suksinat.

Nama IUPAC	: Oxolane-2,5-dione
Nama lain	: Anhidrida Asam Suksinat, Succinyl Oxide.
Berat Molekul	: $100,07 \text{ g mol}^{-1}$
Pemerian	: Kristal jarum tidak berwarna
Titik leleh	: $119-120^\circ\text{C}$
Titik didih	: 261°C
Berat Jenis	: $4,16 \text{ g cm}^{-3}$



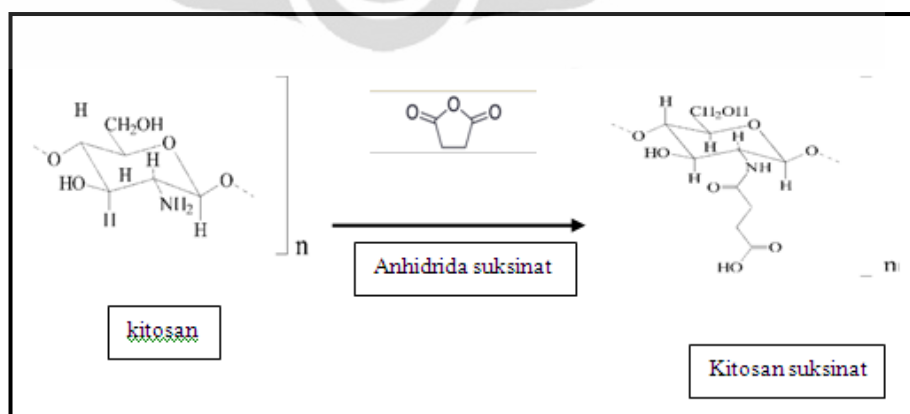
Gambar 2.2. Struktur molekul anhidrida suksinat.

2.3 Reaksi N-asilasi

Asilasi adalah reaksi yang memindahkan gugus asil ($R-C=O$) kepada molekul lain. Jika gugus asil dialihkan ke air, reaksi ini disebut hidrolisis. Anhidrida asam adalah senyawa pemberi asil yang sangat reaktif, dan produk hidrolisis suatu anhidrida asam adalah 2 molekul asam.

N-asilasi pada kitosan, merupakan peristiwa asilasi yang terjadi pada gugus amina. Penelitian terhadap kitosan paling banyak menggunakan reaksi ini untuk memodifikasi struktur kitosan. Prosesnya melibatkan reaksi antara kitosan dengan anhidrida asam atau asil halida. Proses reaksi melalui mekanisme penambahan maupun pengeliminasian, yang mengubah fungsionalitas amida dari gugus N-amino. Reaksi ini berjalan ke arah gugus amida, karena gugus ini lebih stabil dibandingkan gugus asil karbonil seperti yang dapat diterangkan pada lokalisasi resonansi pasangan elektron bebas dari nitrogen ke karbonil (Sonone et al, 2010).

Reaksi N-asilasi pada pembentukan kitosan suksinat dapat dilihat pada gambar berikut ini :



[sumber : Alkhatib, 2008] Telah diolah kembali.

Gambar 2.3. Reaksi pembentukan kitosan suksinat

2.4 Kitosan suksinat

Kitosan suksinat merupakan hasil modifikasi kitosan dengan mensubstitusi gugus amino pada kerangka dasar struktur kitosan dengan residu asam karboksilat (Noeriati et al, 2007). Peneliti lain (Aiedeh & Taha, 1999) berhasil mensintesis kitosan suksinat dari kitosan dan anhidrida suksinat menggunakan pelarut organik. Reaksi yang terjadi pada sintesis kitosan suksinat ini adalah reaksi asilasi, dimana turunan karboksilat yang disubstitusikan pada kitosan akan lebih dulu menyerang gugus amin kemudian menyerang gugus hidroksil. Hal ini terjadi karena gugus amina merupakan gugus yang lebih stabil dan bersifat nukleofilik dibanding gugus hidroksil (Alkhatib, 2008).

Kitosan suksinat memiliki banyak gugus reaktif, yaitu gugus amino, karboksil, dan gugus hidroksil primer dan sekunder. Gugus-gugus reaktif ini berfungsi dalam memperantarai ikatan mukoadhesif pada mukosa usus, seperti yang dilaporkan oleh Rekha dan Sharma pada tahun 2008. Dengan menggunakan kitosan suksinat sebagai polimer dalam mikrosfer mukoadhesif, dihasilkan sifat mukoadhesif kitosan suksinat yang optimal pada pH 6,8. Hal ini disebabkan pada pH 6,8 gugus karboksil yang tersubstitusi pada kitosan suksinat terdapat dalam bentuk bebas, sehingga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksi pada asam sialat yang terdapat dari glikoprotein mukosa.

2.5 Mikroenkapsulasi dan mikrosfer

Mikropartikel diartikan sebagai dispersi partikulat atau partikel padat dengan ukuran 5-5000 μm . Didalam mikropartikel, obat dapat terdispersi, terjerap maupun disisipkan pada matriks polimer. Mikropartikel terdiri dari dua komponen penyusun utama yaitu partikel inti dan cangkang pembungkus partikel. Berdasarkan perbedaan pada morfologi dan letak obat didalam matriks, dikenal dua bentuk utama mikropartikel, yaitu mikrokapsul dan mikrosfer.

Mikrokapsul adalah sistem dimana inti obat terkurung dalam rongga yang dikelilingi polimer membran, sedangkan mikrosfer adalah sistem matriks dimana obat secara fisik dan merata terdispersi didalamnya. Tujuan utama dalam mendesain mikropartikel sebagai sistem penghantaran obat adalah untuk

mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan, dan pelepasan obat untuk mencapai loka aksi spesifiknya pada laju terapi optimal dan rejimen dosis.

Beberapa keuntungan menggunakan mikropartikel sebagai sistem penghantaran obat dan *drug targetting* adalah: untuk meningkatkan bioavaibilitas obat, mengubah pelepasan obat, dan juga meningkatkan kenyamanan pasien (Benita, 1996).

2.5.1 Teknik mikroenkapsulasi

Teknik pembuatan mikropartikel dapat bervariasi diantaranya penguapan pelarut, koaservasi - pemisahan fasa, semprot kering (*spray drying*), dan gelasi ion (*ionic gelation*).

2.5.1.1 Penguapan pelarut

Bahan penyalut dilarutkan dalam pelarut mudah menguap yang tidak bercampur dengan larutan pembawa. Bahan inti akan dienkapsulasi atau terdispersi di dalam larutan polimer penyalut. Campuran ini kemudian ditambahkan ke fase cairan pembawa, disertai dengan pengadukan lalu dipanaskan untuk menguapkan pelarutnya dan mikropartikel terbentuk.

2.5.1.2 Koaservasi - pemisahan fasa

Proses koaservasi pada dasarnya meliputi tiga tahap yaitu: (i) pembentukan tiga fasa yang tidak saling bercampur (larutan pembawa, bahan inti dan bahan penyalut), (ii) fase penempatan (*deposisi*) penyalut, dan (iii) pengerasan penyalut.

Tahap pertama termasuk pembentukkan tiga fase yang tak tercampurkan; larutan pembawa, bahan inti, dan bahan penyalut. Bahan inti didispersikan dalam larutan polimer penyalut. Fase bahan penyalut, polimer yang tidak bercampur dalam larutan dapat dibentuk dengan mengubah temperatur larutan polimer juga dengan penambahan garam.

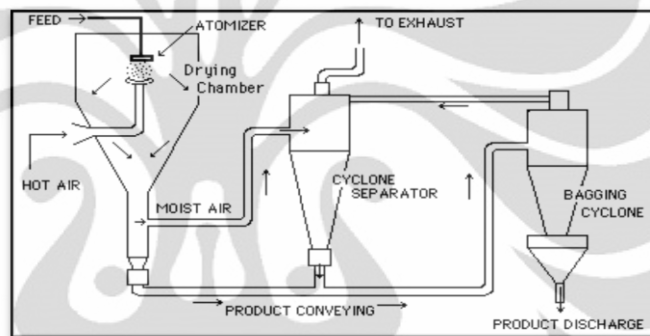
Tahap kedua termasuk penempatan cairan polimer diatas bahan inti. Kemudian pada tahap akhir, dilakukan stabilisasi dengan *crosslinking*, atau teknik desolvasi untuk menghasilkan suatu mikrokapsul.

2.5.1.3 Gelasi ion

Metode ini melibatkan campuran dua fase aqueous yang akan menghasilkan interaksi ionik antara muatan yang berbeda dari kedua fase. Gelasi ion melibatkan bahan yang mengalami transisi dari cairan menjadi gel tergantung pada kondisi interaksi ionik pada temperatur ruangan.

2.5.1.4 Semprot kering

Teknik semprot kering menggunakan prinsip yang terletak pada atomisasi larutan yang mengandung partikel yang ingin dikeringkan dengan memompa udara atau nitrogen melalui sebuah *esiccating chamber* dan dikeringkan dengan melewatkannya pada udara hangat (Mathiowitz, 1999).



Gambar 2.4. Alat semprot kering

2.6 Bioadesif dan mukoadhesif

Adhesi secara ilmu fisika dapat diartikan sebagai gaya tarik menarik antara zat yang berlainan jenis. Gaya ini menyebabkan antara zat yang satu dengan yang lain dapat menempel dengan baik karena molekulnya saling tarik menarik atau merekat. Sedangkan bioadesif adalah fenomena adesif dimana salah satu bagian yang berinteraksi merupakan senyawa biologis. Bahan disisipkan pada bahan lainnya dengan gaya *interfacial* untuk jangka waktu yang diperpanjang (Patel et al, 2009). Oleh karena itu, peristiwa bioadesif dimana substrat biologisnya adalah permukaan membran mukosa, seperti pada mukosa saluran cerna, saluran urin, mata, vagina dan telinga disebut peristiwa mukoadhesif.

Sediaan mukoadhesif biasa digunakan untuk obat-obat yang diharapkan melekat pada tempat absorpsinya lebih lama. Hal ini akan memperpanjang waktu

kontak obat dengan jaringan dan menghasilkan pelepasan obat yang tertahan pada jaringan target untuk memaksimalkan efek terapinya (Bernkop-Schnurch, 2005). Penghantaran obat secara mukoadhesif dapat bertindak sebagai agen peningkat waktu kontak obat dengan jaringan pengabsorpsi, peningkat konsentrasi lokal obat pada jaringan absorpsi, dan pelindung obat dari kemungkinan perusakan.

Beberapa mekanisme penempelan mukoadhesif pada permukaan biologis telah diketahui, meliputi mekanisme elektronik, adsorpsi, pembasahan, difusi, dan teori fraktur (Carvalho et al, 2010). Kemungkinan besar, perpindahan air dari mukosa kepada polimer dan penjerapan fisik dari polimer adhesif pada rantai glikoprotein mucus adalah penting dalam menghasilkan penempelan.

Pada penelitian ini yang dibahas adalah sifat mukoadhesif polimer pada saluran pencernaan (gastrointestinal). Polimer mukoadhesif adalah polimer alami maupun polimer sintetis yang dapat menghasilkan interaksi adesif dengan membran biologis.

Karakteristik utama polimer yang dapat menghasilkan sifat mukoadhesif yaitu tidak toksik, tidak menghasilkan efek farmakologi yang tidak diinginkan, sifat pembasahannya baik, dapat memuat obat dalam jumlah besar, molekulnya fleksibel, memiliki gugus hidrofilik, memiliki berat molekul, panjang rantai, dan konformasi yang spesifik (Harding et al, 1999). Terdapat dua kelas utama polimer yang dapat menghasilkan sifat mukoadhesif, yaitu polimer hidrofilik yang pada strukturnya tersusun dari gugus karboksilat, dan polimer yang dapat membentuk hidrogel. Sifat mukoadhesif sendiri dihasilkan oleh pembentukan ikatan non-kovalen seperti ikatan hidrogen dan interaksi ionik, atau belitan secara fisik antara lapisan mukus dan polimer (Bernkop-Schnurch, 2005).

2.6.1 Mikrosfer mukoadhesif

Mikrosfer mukoadhesif merupakan sediaan mikrosfer yang seluruhnya dibentuk oleh polimer bersifat mukoadhesif (Rasala et al, 2010). Mikrosfer telah menjadi bagian penting dalam sistem penghantaran obat, karena ukurannya yang kecil dan karakteristik pembawanya yang efisien. Mikrosfer mukoadhesif termasuk dalam sediaan yang lepasnya dikendalikan oleh polimer matriks, dan laju pelepasannya diperpanjang (*sustained release*).

Sifat pelepasan yang diperpanjang ini adalah akibat dari penggabungan sifat mukoadhesif pada mikrosfer. Hal tersebut menjadikan sediaan mikrosfer mukoadhesif dapat melekat pada membran mukosa, sehingga waktu tinggalnya di dalam saluran pencernaan menjadi lebih panjang. Dengan cara demikian peningkatan bioavailabilitas obat dapat dicapai (Rekha dan Sharma, 2008).

Mikrosfer mukoadhesif meningkatkan bioavailabilitas obat dengan meminimalisasi *diffusion barrier* dan peningkatan waktu tinggal dengan memperbaiki kontak obat dengan mukosa saluran cerna. Mikrosfer menghantarkan obat secara langsung ke mukosa dan kemudian meminimalisasi degradasi enzimatis yang dapat terjadi.

2.7 Sistem penghantaran obat lepas terkendali

Penghantaran obat lepas terkendali telah banyak dikembangkan saat ini dan digunakan untuk menjamin jumlah obat yang dilepaskan di dalam tubuh, sesuai keinginan formulator. Sistem ini menghasilkan penghantaran obat secara kontinu untuk periode waktu yang sudah ditetapkan dengan kinetika yang dapat diprediksi, bersifat reproduibel dan mekanisme pelepasan sudah diketahui. Penghantaran obat secara lepas terkendali contohnya yaitu : pelepasan obat yang diperpanjang/lepas lambat, pelepasan obat yang mengikuti orde nol, pelepasan obat yang mengikuti respons biologis tubuh, pelepasan yang lajunya dikontrol, dan pelepasan yang ditujukan langsung pada target (Anya et al, 2001).

Beberapa keuntungan pengaplikasian sistem ini dalam suatu sediaan yaitu untuk memperbaiki avabilitas beberapa obat, menghindari fluktuasi obat dalam darah, mengurangi frekuensi pemberian obat yang juga meningkatkan kenyamanan dan kepatuhan pasien (Ansel et al, 1999).

Dalam penghantaran obat secara lepas terkendali, penggunaan polimer sangat menentukan sifat atau karakter pelepasan yang diinginkan. Polimer yang digunakan dapat bersifat *biodegradable* maupun *non-degradable* sesuai kebutuhannya dalam tubuh. Selain itu, penggunaan polimer dapat pula dibentuk menjadi sistem matriks atau reservoir, hal ini akan menghasilkan karakter dan mekanisme pelepasan yang berbeda. Pada sistem matriks, obat terdistribusi diseluruh sebuah fase kontinyu yang tersusun dari polimer maupun lipid,

Universitas Indonesia

sedangkan pada sistem reservoir obat dikelilingi oleh membran polimer yang mengontrol pelepasannya.

Pelepasan obat dari sediaan lepas terkendali yang lajunya dikontrol, dapat terjadi karena peristiwa difusi, disolusi, osmosis, mekanis, maupun secara bio-responsif.

2.8 Kinetika pelepasan obat

Kinetika pelepasan obat dari sediaan lepas terkendali dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan Higuchi, orde nol, orde satu, dan Korsmeyer-Peppas (Martin et al, 1993)

2.8.1 Pelepasan orde nol

Pada pelepasan obat yang mengikuti reaksi orde nol, kecepatan reaksi ditunjukkan sebagai:

$$r = -\frac{d[A]}{dt} = k_0$$

Dimana k_0 adalah laju konstan orde nol dan t adalah waktu. Laju reaksi tidak bergantung pada konsentrasi obat (reaktan) dan sifatnya konstan. Tidak seperti kinetika reaksi lainnya, pada laju orde nol dapat ditentukan waktu yang dibutuhkan suatu sediaan untuk melepaskan obat secara menyeluruh. Hal ini yang membuat, banyak obat-obat diformulasikan untuk mencapai kinetika pelepasan orde ini.

2.8.2 Pelepasan orde satu

Pada pelepasan obat yang mengikuti reaksi orde satu konsentrasi obat sangat mempengaruhi waktu paruh dan *shelf-lifanya*. Jumlah obat A akan berkurang dengan laju yang sebanding dengan jumlah obat A yang tersisa, maka laju pelepasan obat A dinyatakan sebagai :

$$\frac{dA}{dt} = -kA$$

Dengan k adalah tetapan laju reaksi orde satu.

2.8.3 Pelepasan menurut teori Higuchi

Higuchi menjelaskan pelepasan obat dari matriks tidak terlarut sebagai akar kuadrat dari waktu yang bergantung pada proses yang didasari difusi Fickian. Artinya, pelepasan zat aktif dipengaruhi oleh waktu dimana seiring meningkatnya waktu, zat aktif akan dilepaskan dengan kecepatan yang makin rendah. Hal ini disebabkan oleh jarak difusi polimer yang harus ditempuh zat aktif semakin panjang.

$$\text{Rumus : } Q = kt^{\frac{1}{2}}$$

Dengan k adalah tetapan yang mencerminkan variabel desain dari sistem.

2.8.4 Persamaan Korsmeyer-Peppas

Korsmeyer et al pada tahun 1983 mendapatkan hubungan sederhana yang menjelaskan pelepasan obat dari sistem polimer yang membutuhkan nilai n tertentu untuk mengkarakterisasi mekanisme pelepasan yang berbeda. Pelepasan obat menurut persamaan ini dirumuskan sebagai :

$$M_t / M^\infty = K_t^n .$$

(M_t / M^∞) adalah fraksi dari obat yang terlepas pada waktu t, (k) adalah laju konstan dan (n) adalah eksponen pelepasan.

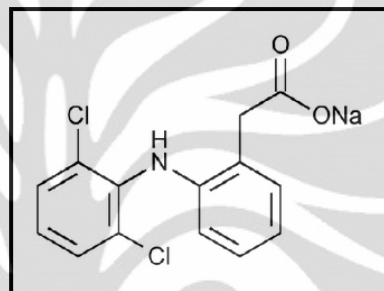
2.9 Natrium diklofenak

Natrium diklofenak dengan rumus molekul $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ adalah obat golongan AINS yang bersifat anti-inflamasi, analgesik dan antipiretik. Natrium diklofenak larut dalam air, metanol, aseton, asetonitril dan dikloheksan. Absorpsi obat ini melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dan mengalami efek metabolisme lintas pertama (*first pass*) sebesar 40-50%. Walaupun waktu paruh singkat yakni 1-3 jam, natrium diklofenak diakumulasi di cairan sinovial yang menjelaskan efek terapi di sendi lebih panjang dari waktu paruh obat tersebut.

Efek samping yang lazim dari penggunaan natrium diklofenak adalah mual, gastritis, eritema kulit, dan sakit kepala. Pemakaian obat ini harus berhati-hati pada pasien tukak lambung, dan tidak dianjurkan pemakaian saat kehamilan.

Dosis lazim 25 – 50 mg, 3 kali sehari sebelum maupun sesudah makan (Tan Hoan Tjay, 2008).

Natrium diklofenak dipilih sebagai model obat dalam mikrosfer mukoadhesif, karena penyerapannya di usus berlangsung cepat dan bioavailabilitasnya hanya 55% akibat metabolisme lintas pertama yang besar. Dengan dijadikan sediaan mukoadhesif, obat akan kontak dengan mukosa usus yang merupakan tempat absorpsinya lebih lama, dan diharapkan jumlah obat yang dapat diabsorpsi lebih banyak.



[Sumber : US Pharmacopoeia 32 (*e-book*)]

Gambar 2.5. Struktur molekul natrium diklofenak

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Formulasi Tablet dan Laboratorium Kimia Analisis Kuantitatif Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Waktu penelitian dimulai pada bulan Februari hingga Mei 2011.

3.2 Alat

Timbangan analitik EB 330 (Shimadzu, Jepang), pH meter (Eutech, Singapura), particle size analyzer LQ 100 (Beckman Coulter, Amerika Serikat), pengaduk magnetik (IKA, Jerman), scanning electron microscope (LEO 420i, Inggris), viskometer Brookfield (Brookfield Synchroelectric, Amerika Serikat), sentrifuge (Kubota, Jepang), homogenizer EH2012 (CKL Machinery, Malaysia), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Jepang), fourier transform infrared spectrometer 8400 S (Shimadzu, Jepang), mini spray dryer B-290 (Buchi, Switzerland), texture analyzer (TA-TX2, Amerika Serikat), pengaduk ultrasonik (Branson 3200, Jepang), differential scanning calorimeter, desikator, lemari asam (Labconco, Amerika Serikat), oven, termometer, ayakan 45 mesh, dan alat-alat gelas lain.

3.3 Bahan

Kitosan (Biotech Surindo, Indonesia), anhidrida suksinat (Merck, Jerman), piridin (Univar, Australia), asam klorida 37% pro analisis (Merck, Jerman), NaOH erck, Jerman), NH₄OH (Merck, Jerman), HPMCP (ShinEtsu, Jepang), natrium diklofenak (Dipharma Francis, Italia), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), serbuk KCl (Merck, Jerman), serbuk KBr (Merck, Jerman), indikator PP, indikator metil merah, kalium hidrogen ptalat (Merck, Jerman), natrium tetra borat (Wako, Jepang) dan air destilata .

3.4 Metode Pelaksanaan

3.4.1 Preparasi kitosan suksinat (Aiedeh & Taha, 1999)

Sebanyak 1 g kitosan dilarutkan dalam 50 ml larutan HCl encer (0,37%) pada suhu kamar. Kemudian larutan anhidrida suksinat 630 mg yang dilarutkan dalam 5 ml piridin ditambahkan sedikit demi sedikit, disertai dengan pengadukan kuat. NaOH 1 N ditambahkan sedikit demi sedikit hingga pH larutan 7. Penambahan NaOH terus dilakukan hingga pH stabil. Setelah pH stabil, dan diperoleh pH larutan = 7 pada akhir reaksi, larutan polimer didiamkan selama 24 jam.

3.4.2 Karakterisasi kitosan suksinat

3.4.2.1 Penampilan fisik

Serbuk kitosan suksinat yang diperoleh, diamati penampilan fisiknya secara visual, meliputi bentuk, warna, dan bau.

3.4.2.2 Spektrum infra merah

Analisis menggunakan spektrofotometer infra merah dilakukan dengan metode lempeng KBr. Sebanyak kurang lebih 2 mg kitosan suksinat hasil sintesis, dicampur dengan 98 mg kalium bromida dan dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer. Campuran dianalisis pada bilangan gelombang 4000 cm^{-1} hingga 500 cm^{-1} (Aiedeh & Taha, 1999) untuk mengetahui adanya substitusi suksinat pada kitosan yang mengubahnya menjadi kitosan suksinat.

3.4.2.3 Derajat substitusi

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

a. Pembakuan NaOH 1,0 N

Pembakuan NaOH 1,0 N dilakukan dengan menggunakan kalium hidrogen phtalat (KHP) sebagai baku primer. KHP dikeringkan selama 2 jam pada oven suhu 120°C , kemudian didinginkan dan disimpan dalam desikator. KHP

ditimbang seksama 500 - 600 mg dan dilarutkan dalam 50 ml air destilata bebas CO₂. Larutan kemudian ditambahkan 3 tetes indikator PP (phenolphthalein) dan dikocok hingga homogen. Larutan kemudian dititrasi dengan NaOH 1,0 N hingga terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda.

$$N_{\text{NaOH}} = \frac{\text{berat KHP}}{\text{BE} \times V_{\text{NaOH}}} \quad \text{BE KHP} = 204,22 \quad (3.1)$$

b. Pembakuan HCl 1,0 N

Pembakuan HCl 1,0 N dilakukan dengan menggunakan natrium tetraborat (boraks). Natrium tetraborat ditimbang seksama 600 mg dan dilarutkan dalam 50 ml air destilata. Larutan ditambahkan 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.

$$N_{\text{HCl}} = \frac{\text{berat boraks}}{\text{BE} \times V_{\text{HCl}}} \cdot \text{BE boraks} = 190,72 \quad (3.2)$$

c. Penetapan derajat substitusi

Kitosan suksinat ± 100 mg dilarutkan dalam 10 ml NaOH 1,0 N yang telah dibakukan. Larutan ini ditambahkan indikator metil merah 1% sebanyak 2 tetes. Kelebihan NaOH yang tidak bereaksi dengan suksinat, dinetralkan dengan penambahan HCl 1,0 N yang juga telah dibakukan sebelumnya. Titik akhir titrasi ditandai dengan berubahnya larutan dari kuning menjadi jingga.

Perhitungan derajat substitusi (DS) adalah :

$$DS \left(\frac{\text{mol}}{\text{gram}} \right) = \frac{(\text{NxV}) \text{ NaOH} - (\text{NxV}) \text{ HCl}}{\text{massa sampel}} \quad (3.3)$$

3.4.2.4 Analisis sifat termal (Turk et al, 2009)

Sifat termal sampel ditentukan menggunakan alat *Differential Scanning Calorimetry* (DSC). Kitosan dan kitosan suksinat ditimbang masing-masing 5 mg

dan diletakkan pada silinder aluminium berdiameter 5 mm. Silinder tersebut kemudian ditutup dengan lempeng aluminium dan sampel dimasukkan ke dalam alat DSC. Pengukuran dilakukan pada suhu 30 hingga 250°C. Proses eksotermik dan endotermik yang terjadi pada sampel tercatat pada *recorder*.

3.4.2.5 Pengamatan bentuk dan morfologi menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

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

3.4.2.6 Kelarutan

Kitosan dan kitosan suksinat ditimbang masing-masing sebanyak 50 mg dan dilarutkan ke dalam berbagai pelarut, dimana volume masing-masing pelarut adalah 10 ml. Pelarut yang digunakan yaitu air destilata; medium asam berupa HCl 0,1% dengan pH 1,2 dan medium HCl pH 3 dan pH 5; medium basa berupa medium fosfat dengan pH 6,8 dan 7,4; larutan NaOH pH 10, pH 12 dan pH 14. Masing-masing campuran dikocok dengan kecepatan 200 rpm selama 2 jam dengan bantuan pengaduk otomatis. Kelarutan kitosan dan kitosan suksinat diamati secara visual.

Uji kelarutan kitosan suksinat juga dilakukan secara kuantitatif dengan cara larutan kitosan suksinat dalam berbagai medium dengan kisaran pH 1-12 tersebut disaring dan filtratnya dipipet 5,0 ml. pH larutan diatur hingga mencapai pH 14 dengan penambahan NaOH 0,1 N. Jumlah NaOH 0,1 yang digunakan untuk menaikkan pH larutan sampel dicatat. Serapan masing-masing sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 228 nm (Aiedeh & Taha, 1999). Sebagai pembanding, digunakan larutan kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N. Serapan dari larutan sampel dibandingkan dengan larutan standar untuk mengetahui konsentrasi kitosan suksinat yang terlarut dalam masing-masing medium.

Konsentrasi diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan :

A1 : serapan sampel

A2 : serapan standar kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N

C1 : konsentrasi sampel (ppm)

C2 : konsentrasi standar kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N (ppm)

3.4.2.7 Kekentalan / Viskositas

Kitosan suksinat didispersikan dalam NH_4OH 0,037% dengan konsentrasi 4%, 6% dan 8%, (b/v) dalam *beaker glass* 250 ml. Viskositas diukur dengan viskometer Brookfield dengan kecepatan putaran spindel diatur mulai dari 1; 2; 2,5; 5; 10; dan 20 rpm, kemudian diputar kembali dari 20; 10; 5; 2,5; 2; dan 1 rpm. Hasil pembacaan skala dicatat. Viskositas dihitung dan kurva sifat aliran dibuat.

3.4.2.8 pH

Sejumlah kitosan suksinat ditimbang kemudian dilarutkan dalam air destilata dengan berbagai konsentrasi sebagai berikut, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% (b/v), kemudian pH dari masing-masing larutan tersebut diukur dengan pH-meter.

3.4.2.9 Daya mengembang

Sebanyak 500 mg sampel kitosan suksinat dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 ml yang telah ditimbang sebelumnya. Sampel tersebut kemudian ditambah dengan larutan asam klorida pH 1,2 dan larutan fosfat pH 7,4 masing-masing sebanyak 10 ml pada wadah yang berbeda. Sampel dibiarkan mengembang pada suhu kamar ($\pm 26^\circ\text{C}$) selama 2 jam dalam medium asam, dan 8 jam dalam medium basa. Daya mengembang dihitung sebagai selisih bobot sampel sesudah dan sebelum terhadap bobot sampel awal.

3.4.2.10. Indeks kompresibilitas

Sejumlah 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 dan dicatat volume yang terbaca (V_2). Kompresibilitas dihitung dengan persamaan Rasio Hausner. Berat jenis mampat = m/V_2 .

$$\text{Indeks Kompresibilitas (\%)} = \frac{\text{BJ mampat} - \text{BJ bulk}}{\text{BJ mampat}} \times 100\% \quad (3.5)$$

$$\text{Hausner ratio} = \frac{\text{BJ mampat}}{\text{BJ bulk}} \quad (3.6)$$

Kriteria (menurut Hausner) :

< 1,25 = kompresibilitas baik

> 1,5 = kompresibilitas kurang baik

3.4.3 Pembuatan Mikrosfer Mukoadhesif

Mikrosfer dibuat dengan metode semprot kering. Sejumlah kitosan suksinat ditimbang dan didispersikan dalam NH_4OH , kemudian diaduk sempurna menggunakan homogenizer berkecepatan tinggi. Larutan kemudian diukur viskositasnya dengan menggunakan viskometer brookfield pada suhu kamar. Selanjutnya dispersi polimer dicampurkan dengan natrium diklofenak yang telah dilarutkan dalam air destilata, dan diaduk lagi dengan homogenizer. Campuran ini dialirkan ke alat *spray drier* dengan suhu masuk 195°C dan suhu keluar 90°C .

Tabel 3.1. Formulasi mikrosfer mukoadhesif

BAHAN	FORMULA			
	A	B	C	D
Kitosan Suksinat (g)	8	6	4	-
Kitosan (g)	-	-	-	8
HPMCP (g)	-	2	4	-
Natrium diklofenak (g)	0,8	0,8	0,8	0,8
NH_4OH 0,037% ad	200	200	200	-
HCl 0,37%	-	-	-	400

3.4.4 Evaluasi mikrosfer mukoadhesif

3.4.4.1 Pemeriksaan bentuk dan morfologi mikrosfer (Harikarnpakdee et al, 2006)

Sampel mikrosfer ditempatkan pada sampel holder, kemudian dilapisi dengan partikel emas menggunakan *fine coater*. Sampel kemudian diperiksa dan dilihat morfologinya melalui alat *scanning electron microscope* pada intensitas 12 kv.

3.4.4.2 Distribusi ukuran partikel (Harikarnpakdee et al, 2006)

Untuk mengetahui distribusi ukuran partikel digunakan alat *particle size analyzer*. Mikrosfer yang akan diuji, didispersikan dalam kloroform, kemudian dimasukkan ke dalam tabung sampel. Selanjutnya alat dioperasikan, dan ukuran partikel dinyatakan menggunakan diameter volume rata-rata.

3.4.4.3 Uji perolehan kembali (Harikarnpakdee et al, 2006)

Uji perolehan kembali ditentukan dengan membandingkan bobot total mikrosfer kering yang diperoleh terhadap total bahan yang digunakan pada saat pembuatan mikrosfer. Perolehan kembali dapat dihitung dengan rumus :

(3.6)

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

UPK = Presentase Perolehan Kembali (%)

W_m = Berat mikrosfer yang dihasilkan (g)

W_t = Berat bahan awal mikrosfer (g)

3.4.4.4 Pemeriksaan kadar air (Soewandhi dan Sutrisni, 2006)

Kadar air ditentukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer*. Alat dipanaskan terlebih dulu selama kurang lebih 3 menit. Parameter pada alat diatur dan suhu diatur menjadi 105°C. Mikrosfer mukoadhesif ditimbang kurang lebih 1 g dan diletakkan di atas aluminium dalam alat. Alat kemudian dinyalakan dan akan menunjukkan nilai kadar air setelah mencapai nilai kadar air yang konstan.

Universitas Indonesia

3.4.4.5 Indeks mengembang (Rekha & Sharma, 2008 dan Harikarnpakdee et al, 2006)

Mikrosfer mukoadhesif ditimbang sebanyak kurang lebih 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge*. Pada tabung *sentrifuge* tersebut kemudian ditambahkan 5 ml HCl pH 1,2 dan larutan fosfat pH 7,4. Tabung disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm dan mikrosfer dibiarkan mengembang selama 8 jam. Sampel dibiarkan mengembang pada suhu kamar ($\pm 26^{\circ}\text{C}$). Larutan medium kemudian dikeluarkan dan tabung beserta mikrosfer yang telah mengembang ditimbang. Presentase daya mengembang dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Indeks mengembang} = \frac{W_b - W_a}{W_o} \quad (3.7)$$

Wa: bobot tabung dan mikrosfer sebelum mengembang (g)

Wb: bobot tabung dan mikrosfer setelah mengembang (g)

Wo: bobot awal mikrosfer (g)

3.4.4.6 Uji daya perlekatan (Tur dan Hung Seng Ch'ng, 1998)

Uji daya perlekatan mikrosfer mukoadhesif dilakukan dengan menggunakan alat Texture Analyzer (TA.XT2) yang dihubungkan dengan komputer dan dijalankan dengan XTRA *Dimension Software*. Bagian dari jaringan usus dibuka dan dibersihkan dengan NaCl fisiologis 0,9%. Sejumlah tertentu mikrosfer ditempelkan diatas jaringan tersebut dan dibiarkan kontak selama 20 menit, kemudian direndam dalam medium buffer 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 mikrosfer menghadap ke luar. Alat dinyalakan dan probe diatur agar memberikan tekanan terhadap mikrosfer dengan kekuatan 0,69 N selama 1 menit. Setelah itu probe diangkat dengan kecepatan 1 mm/detik. Kurva antara waktu dengan besar gaya yang diperlukan akan terekam pada alat hingga mikrosfer terlepas dari permukaan jaringan.

3.4.4.7 Pembuatan larutan klorida pH 1,2 dan fosfat 7,4 (Depkes RI)

- Pembuatan medium klorida pH 1,2

Larutan klorida pH 1,2 dibuat dengan mencampur 50,0 ml kalium klorida 0,2 M dengan 85,0 ml asam klorida 0,2 N, dan diencerkan dengan air bebas karbondioksida hingga 200,0 ml.

- Pembuatan medium fosfat pH 7,4

Larutan fosfat pH 7,4 dibuat dengan mencampurkan 50,0 ml kalium dihidrogenfosfat 0,2 M dengan 39,1 ml natrium hidroksida 0,2 N, dan diencerkan dengan air bebas karbondioksida hingga 200,0 ml.

3.4.4.8 Penentuan panjang gelombang maksimum Natrium diklofenak

Penentuan panjang gelombang maksimum Na-diklofenak dilakukan pada larutan fosfat pH 7,4. Larutan Natrium diklofenak dibuat dengan konsentrasi 20 ppm. Larutan tersebut kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 200 – 400 nm.

3.4.4.9 Pembuatan kurva kalibrasi Natrium diklofenak

Pembuatan kurva kalibrasi Natrium diklofenak dilakukan pada medium fosfat (pH 7,4). Pembuatan kurva kalibrasi dimulai dengan membuat larutan natrium diklofenak dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14 dan 16 ppm. Larutan tersebut kemudian diukur serapannya pada $\lambda = 273$ nm (Moffat, 2005) atau pada hasil panjang gelombang maksimum Na-diklofenak yang telah diperoleh sebelumnya.

3.4.4.10. Uji jumlah obat yang terjerap dalam mikrosfer

Mikrosfer mukoadhesif ditimbang sebanyak 50 mg diletakkan pada labu ukur 100,0 ml kemudian mikrosfer dilarutkan dalam larutan fosfat pH 7,4 untuk mengekstraksi obat. Setelah 24 jam, cairan disaring dan filtrat dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung jumlah Na-diklofenak dalam mikrosfer,

Universitas Indonesia

menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Efisiensi penjerapan obat dihitung dengan :

$$\frac{\text{jumlah obat yang terekstraksi dari mikrosfer}}{\text{jumlah teoritis obat yang ditambahkan dalam mikrosfer}} \times 100\% \quad (3.8)$$

3.4.4.11 Uji pelepasan zat aktif secara *in vitro*

Uji pelepasan secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan alat difusi termodifikasi. Sejumlah mikrosfer yang setara dengan 5 mg natrium diklofenak diletakkan pada membran *cellophan* untuk menempatkan mikrosfer. Pengujian dilakukan dalam medium larutan fosfat pH 7,4 pada suhu $37 \pm 1^\circ\text{C}$ dengan pengadukan 50 rpm. Pengambilan sampel dilakukan pada 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; dan 8 jam pada medium medium fosfat pH 7,4. Tiap cuplikan dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal Na-diklofenak.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi dalam penelitian ini dilakukan terhadap kitosan suksinat hasil sintesis sebagai eksipien farmasi baru, juga terhadap empat formula mikrosfer mukoadhesif. Formula mikrosfer mukoadhesif terdiri dari formula dengan polimer tunggal yaitu kitosan suksinat, polimer campuran kitosan suksinat dan HPMCP, dan polimer kitosan sebagai pembanding terhadap polimer sintesis.

4.1 Preparasi kitosan suksinat

Kitosan suksinat dibuat dengan melakukan reaksi N-asilasi terhadap kitosan. N-asilasi kitosan meliputi reaksi antara kitosan dengan anhidrida asam. Anhidrida suksinat yang digunakan dalam sintesis ini dilarutkan dalam piridin yang juga berfungsi sebagai katalis reaksi (Alkhatib et al, 2008). Anhidrida suksinat bersifat elektrofil kuat, dan akan langsung bereaksi dengan gugus amin pada kitosan yang bersifat nukleofil. Substitusi pada gugus amin kitosan ini dikarenakan sifat gugus amin yang lebih nukleofil dibanding gugus hidroksil lain (Sakkinen, 2003).

Sejumlah kitosan dilarutkan dalam 0,37% HCl dengan konsentrasi akhir 2% dan pH larutan berkisar antara 2 – 3. Pada saat dimulainya reaksi, yaitu penambahan anhidrida suksinat dalam piridin yang diselengi NaOH 1 N, perubahan pH dan wujud larutan polimer menandakan terjadinya reaksi. Pada penelitian ini, penambahan NaOH 1 N dilakukan antara penambahan anhidrida suksinat dengan jumlah setengah dari volume anhidrida suksinat yang dimasukkan.

Reaksi yang terjadi dapat diamati melalui perubahan pH dan perubahan visual pada larutan. Larutan polimer awalnya berbentuk seperti gel berwarna kuning bening (pH sekitar 2 – 3). Kemudian dilakukan penambahan anhidrida suksinat dalam piridin yang diselengi NaOH 1 N sehingga larutan menjadi lebih encer dan membentuk koloid putih seperti santan (pH sekitar 4,5 – 5,5). Penambahan anhidrida suksinat dan larutan NaOH tetap dilakukan hingga terbentuk 2 fase yang memisah ketika larutan polimer didiamkan beberapa saat

(pH sekitar 5,6 – 6,5). Pada fase ini, penambahan NaOH yang dilakukan antara penambahan anhidrida suksinat tidak menunjukkan peningkatan pH secara signifikan. Hal ini dapat terjadi karena dalam lingkungan berair, anhidrida suksinat terhidrolisis menjadi asam suksinat yang memiliki dua gugus karboksil. Gugus karboksil ini akan melepas H^+ yang menyebabkan penurunan pH. Oleh karena itu, NaOH harus tetap ditambahkan berselang-seling dengan penambahan anhidrida suksinat agar penurunan pH secara drastis tidak terjadi. Saat pH larutan berkisar 6,6, larutan polimer kembali menjadi satu fase membentuk gel kuning bening seperti semula. Pada larutan ini, tetap ditambahkan NaOH 1 N hingga larutan mencapai pH 7 (Aiedeh & Taha, 1999).

Reaksi N-asilasi berjalan cukup lambat karena reaksinya sangat bergantung pada pH. Oleh karena itu, selama reaksi berlangsung penambahan NaOH harus dilakukan sedikit demi sedikit dan berkala serta disertai pengadukan untuk menghomogenkan larutan. Penambahan NaOH 1 N juga dimaksudkan agar reaksi asilasi tetap terjadi. Dengan ditamahnya NaOH, maka reaksi akan berjalan ke arah kanan yang menghasilkan produk kitosan suksinat dan melepas H^+ . Peristiwa ini menandakan reaksi sedang berlangsung karena H^+ masih dilepaskan.

Penambahan NaOH tetap dilakukan ke dalam polimer kitosan yang pH-nya sekitar 5,6 – 5,8 walaupun larutan anhidrida suksinat dalam piridin telah habis. Setelah larutan mencapai pH 7, penambahan NaOH 1 N dihentikan dan larutan polimer didiamkan selama 24 jam. Kemudian larutan polimer dituang ke atas lempeng kaca dan dimasukkan dalam oven suhu $60^{\circ}C$ selama 45 menit, untuk mengeringkan dan menghilangkan bau piridin. Kitosan suksinat yang telah kering kemudian didialisis untuk membersihkan polimer dari sisa-sisa pereaksi serta memurnikan polimer. Medium dialisis diuji menggunakan $FeCl_3$ dan NH_4OH untuk memastikan bahwa hasil sintesis telah bersih dari residu asam suksinat. Berdasarkan waktu yang telah diorientasi sebelumnya, proses dialisis yang dilakukan selama 8 jam dalam air destilata dengan pergantian medium dialisis setiap 2 jam cukup untuk membersihkan residu asam suksinat. Hal tersebut dibuktikan dengan tidak terbentuknya endapan coklat ketika $FeCl_3$ dan NH_4OH ditambahkan ke dalam medium dialisis pada jam ke-8, yang dibandingkan

terhadap blanko positif dan negatif. Hasil dialisis kitosan suksinat berupa gel kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C selama \pm 30 menit. Lembaran kitosan suksinat yang diperoleh diperkecil ukurannya dengan blender kemudian diayak dengan pengayak 45 mesh.

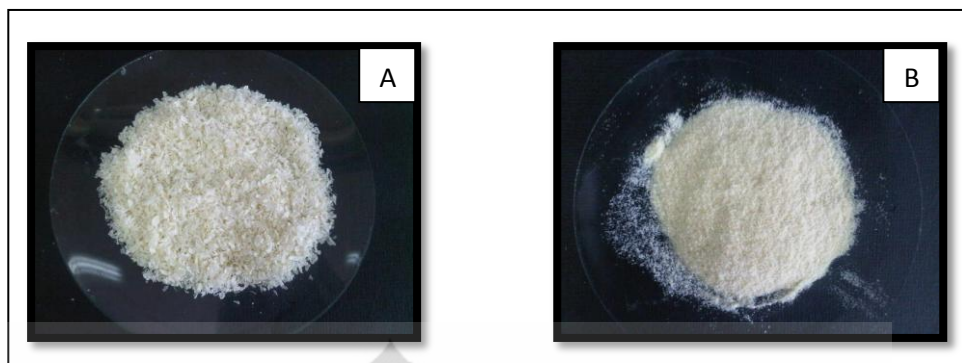
Dibandingkan metode sintesis terdahulu pada penelitian yang pernah dilakukan (Aiedeh & Taha, 1999) terdapat beberapa modifikasi dalam proses sintesis kitosan suksinat ini, yaitu :

1. Tidak dilakukan penambahan sejumlah besar larutan NaCl setelah larutan polimer mencapai pH 7. Hal ini dilakukan berdasarkan orientasi bahwa dengan dilakukannya penambahan NaCl, massa produk yang dihasilkan semakin banyak sehingga kemurnian produk hasil sintesis menjadi sangat rendah.
2. Pada tahap akhir, tidak dilakukan pencucian hasil sintesis dengan dietil ether dan aseton. Tujuan dari pencucian ini sebenarnya untuk membersihkan polimer sintesis dari bahan-bahan yang tidak ikut bereaksi yang tersisa pada larutan sintesis. Namun pada kenyataannya yang terjadi, larutan polimer hasil sintesis dapat terlarut dalam aseton, sehingga volume larutan menjadi semakin banyak sehingga cara ini dianggap kurang efisien.

4.2 Karakterisasi kitosan suksinat

4.2.1 Bentuk fisik

Kitosan suksinat hasil sintesis berbentuk serbuk amorf, berwarna kekuningan dan tidak berbau. Warna kekuningan pada kitosan suksinat disebabkan warna kitosan yang digunakan untuk mensintesis juga berwarna putih kekuningan. Selain itu, proses pengeringan dengan panas dalam oven, kemungkinan ikut mempengaruhi warna polimer hasil sintesis ini. Polimer hasil sintesis ini tidak berbau karena piridin yang ditambahkan saat sintesis telah menguap saat pemanasan dan tercuci saat dialisis.



Gambar 4.1. Serbuk kitosan (A) dan serbuk kitosan suksinat hasil sintesis (B)

4.2.2 Spektrum inframerah

Analisa menggunakan spektrofotometer inframerah dilakukan untuk membandingkan sifat kimia polimer sebelum dan setelah sintesis, yang diamati dari munculnya pita serapan baru pada polimer hasil sintesis. Spektrum inframerah dari kitosan suksinat dan kitosan dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Dari Gambar 4.2 terlihat bahwa terjadi perubahan pita serapan antara kitosan dan kitosan suksinat. Pada kitosan suksinat terdapat puncak pada bilangan gelombang $1668,48\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan telah terbentuknya gugus karbonil amida sebagai hasil substitusi suksinil pada gugus amin kitosan. Selain itu, terlihat pula pita serapan pada bilangan gelombang $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya gugus hidroksil karboksilat dari gugus suksinil yang mensubstitusi pada kitosan.

Selain itu, muncul juga pita serapan pada bilangan gelombang yang sama antara kitosan dan kitosan suksinat yang merupakan pita serapan amida, yaitu pada daerah sekitar $1540\text{-}1575\text{ cm}^{-1}$ dan $1380\text{-}1390\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan pita serapan gugus amin. Namun pada kitosan suksinat, pita serapan yang dihasilkan memiliki intensitas yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan pita serapan pada kitosan. Hal ini menunjukkan pada kitosan suksinat, gugus amin yang awalnya bebas, telah berubah menjadi ikatan amida yang berikatan dengan gugus suksinil.

Data spektrum infra merah pada Gambar 4.2 menerangkan bahwa reaksi N-asilasi pada kitosan dengan menggunakan anhidrida suksinat benar terjadi pada gugus amin kitosan. Hal ini dikarenakan gugus amin (N-) bersifat lebih nukleofil dibandingkan gugus hidroksil (OH-) pada kitosan (Aiedeh & Taha, 1999).

4.2.3 Derajat substitusi

Derajat substitusi ditetapkan dengan metode titrasi asam basa. Data penentuan derajat substitusi ditunjukkan pada Tabel 4.1. Cara titrasi asam basa yang digunakan dalam menentukan derajat substitusi, sebelumnya telah dilakukan untuk pada suksinilasi pati (Wicaksono, 2008). Titrasi asam basa merupakan reaksi penetralan antara asam dengan basa atau sebaliknya dimana ion H^+ dari asam akan bereaksi dengan ion OH^- dari basa membentuk molekul air yang netral (Harmita, 2006).

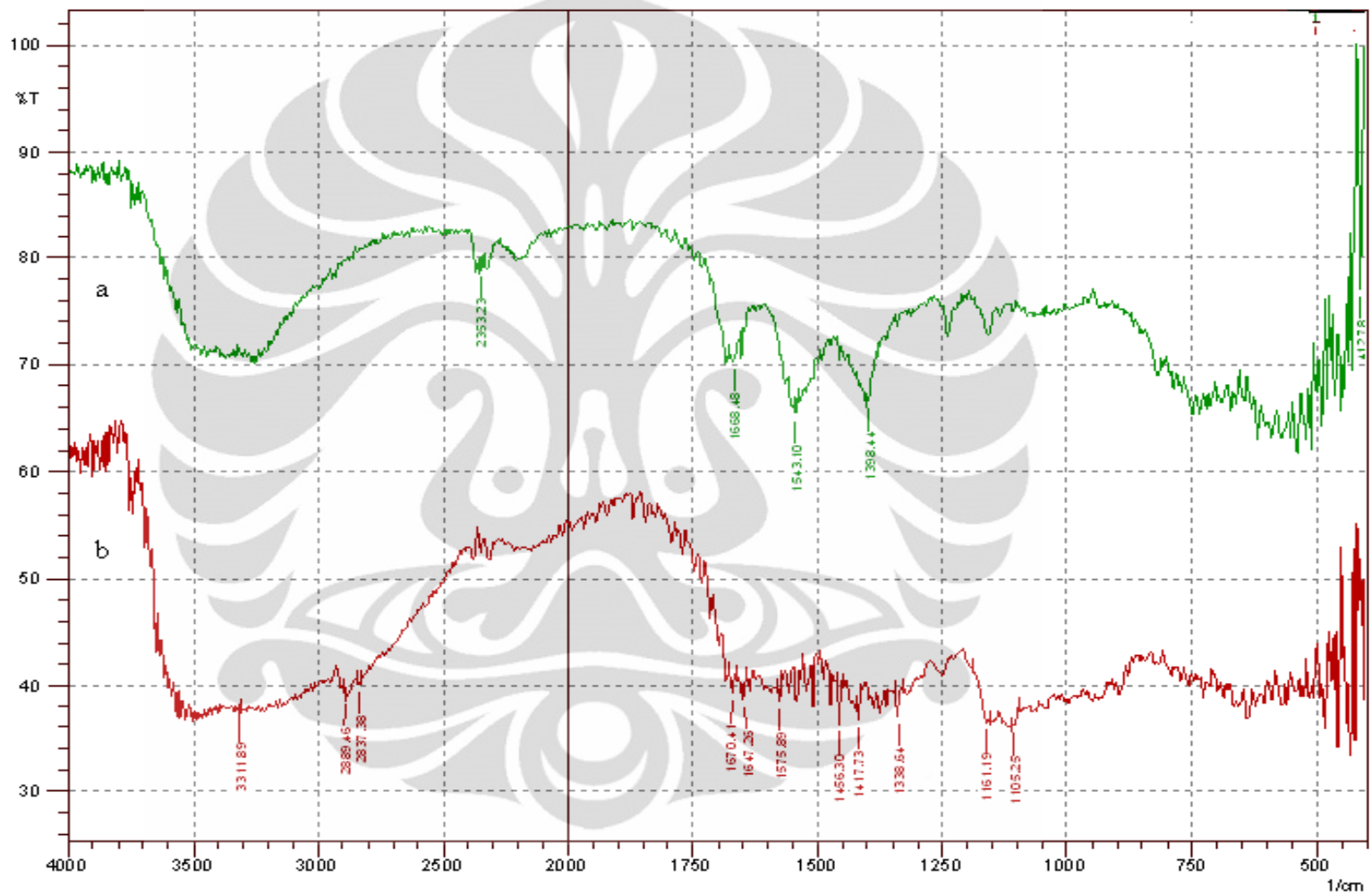
Sejumlah kitosan suksinat hasil sintesis dilarutkan dalam NaOH 1 N berlebih. Hal ini dimaksudkan agar Na^+ dari NaOH berikatan dengan gugus suksinat (COO^-) yang tersubstitusi pada kitosan membentuk garam dan melepaskan molekul air. Kelebihan NaOH yang tidak bereaksi dengan kitosan suksinat, kemudian dinetralkan dengan penambahan HCl 1 N. Titik akhir titrasi diperoleh saat larutan telah berubah warna dari kuning menjadi kuning jingga.

Sebelum penetapan derajat substitusi dilakukan, terlebih dulu dilakukan pembakuan terhadap NaOH dan HCl 1,0 N yang digunakan. Pembakuan NaOH dilakukan dengan menggunakan indikator fenolftalein, sedangkan pembakuan HCl menggunakan indikator boraks. Titik akhir masing-masing reaksi pembakuan ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi merah muda pada pembakuan NaOH, dan perubahan dari kuning menjadi kuning jingga pada pembakuan HCl.

Hasil penentuan derajat substitusi suksinat terhadap kitosan suksinat hasil sintesis adalah sekitar 1,97 mol/gram. Derajat substitusi dalam hal ini menggambarkan mol suksinat yang tersubstitusi pada gugus amin kitosan, dibandingkan berat kitosan suksinat yang ditimbang. Jadi, berdasarkan hasil penentuan derajat substitusi, pada setiap penimbangan 1 gram kitosan suksinat, terdapat 1,97 mol gugus suksinil yang mensubstitusi kitosan. Menurut penelitian oleh Noeriaty pada tahun 2007, derajat substitusi kitosan suksinat akan mempengaruhi sifat kelarutannya dalam air. Semakin besar derajat substitusi yang diperoleh dari proses sintesis, maka sifat kelarutan kitosan suksinat dalam air juga semakin meningkat.

Tabel 4.1 Ringkasan karakterisasi kitosan suksinat hasil sintesis.

No.	Karakter yang dibandingkan	KITOSAN	KITOSAN SUKSINAT
1	Bentuk fisik	Serbuk ringan, putih kekuningan, tidak berbau.	Serbuk amorf, putih kekuningan, tidak berbau.
2	Spektrum inframerah	1575,89 cm^{-1} (rendah) 1386,54 cm^{-1} (rendah)	1668,48 cm^{-1} (rendah) 3200-3500 cm^{-1} (sedang, broad) 1543,10 (sedang) 1398,44 cm^{-1} (sedang)
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	Tersusun atas pori-pori	Permukaan lebih halus & rapat.
6	Kelarutan	Larut dalam asam $\text{pH} \leq 3$	Larut dalam $\text{pH} 1,2$ dan $\text{pH} \geq 6,8$
7	Viskositas	-	* 4 % = 1736,5 cps * 6 % = 2327,5 cps * 8 % = 5250 cps
8	Daya mengembang	-	$\pm 5,4$ kali dalam asam dan basa
9	pH dalam aquadestilata	Tidak larut.	$\pm 6,8$
10	Indeks kompresibilitas	18 %	24 %

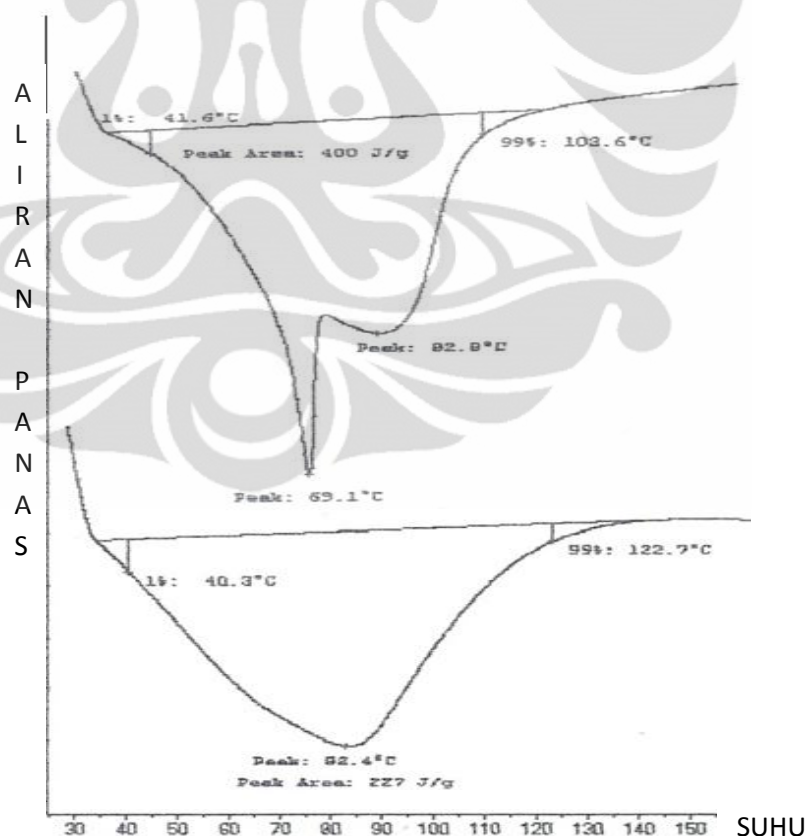


Gambar 4.2. Spektrum inframerah kitosan suksinat (a) dan kitosan (b).

4.2.4 Analisis sifat termal

Penentuan sifat termal kitosan dan kitosan suksinat ditentukan dengan menggunakan alat *Differential Scanning Calorimetry*. Analisis ini digunakan untuk memahami kecenderungan yang terjadi ketika bahan dipanaskan. Analisis dilakukan dengan mengukur suhu puncak yang terjadi saat energi dibebaskan atau diserap oleh bahan. Kurva analisis dapat dilihat pada Gambar 4.3. Berdasarkan gambar tersebut, terlihat bahwa terjadi pergeseran puncak endotermik antara kitosan dan kitosan suksinat. Hal ini juga terjadi pada jarak lebar kedua polimer.

Puncak endotermik menunjukkan terjadinya peleburan polimer, yaitu $82,4^{\circ}\text{C}$ pada kitosan dan $69,1^{\circ}\text{C}$ pada kitosan suksinat. Jarak peleburan pun antara kedua polimer pun berubah, yaitu $40,3^{\circ}\text{C}$ - $122,7^{\circ}\text{C}$ pada kitosan dan $41,6^{\circ}\text{C}$ - $103,6^{\circ}\text{C}$ pada kitosan suksinat. Perbedaan ini menunjukkan adanya perubahan struktur antara kitosan dan kitosan suksinat hasil sintesis.

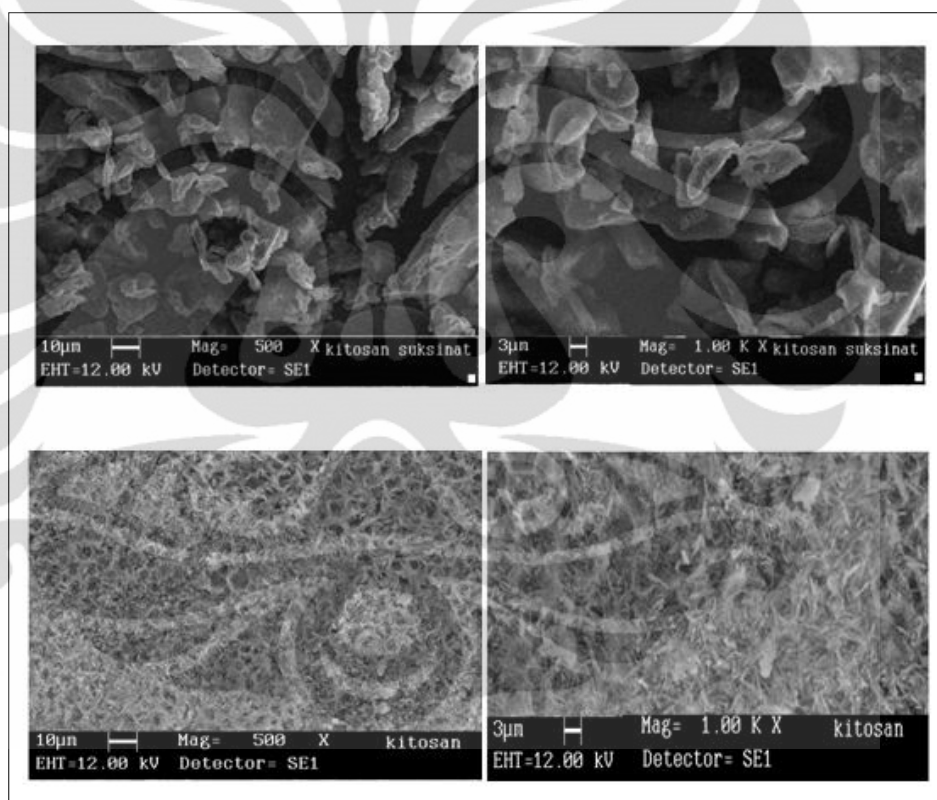


Gambar 4.3. Hasil analisis sifat termal polimer kitosan suksinat (atas) dan kitosan (bawah).

4.2.5 Bentuk dan morfologi kitosan suksinat

Pengamatan bentuk dan morfologi permukaan kitosan dan kitosan suksinat dilakukan menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pengujian dilakukan dalam perbesaran 200, 500, 1000, 5000, dan 10.000 kali. Hasil pengukuran yang menunjukkan ketajaman gambar terbaik adalah pada perbesaran 500 dan 1000x, hal ini dikarenakan pada perbesaran yang lebih tinggi kamera pengambil gambar sulit untuk fokus dan menghasilkan gambar berbayang.

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan Gambar 4.4 dibawah ini, terlihat perbedaan pada permukaan antara kitosan dan kitosan suksinat hasil sintesis.



Gambar 4.4. Mikrograf kitosan suksinat (atas) dan kitosan (bawah) dalam perbesaran 500x dan 1000x

Kitosan suksinat hasil sintesis memiliki permukaan yang lebih halus dibandingkan dengan kitosan. Selain itu, terlihat bahwa permukaan kitosan memiliki pori sedangkan permukaan kitosan suksinat cenderung tersusun lebih rapat. Hal ini dapat terjadi karena serbuk kitosan menyerupai serpihan dan lebih

ringan dibanding serbuk kitosan suksinat. Selain itu, penambahan gugus suksinil pada kitosan juga dapat membuat gugusan kitosan suksinat lebih padat dibandingkan gugus kitosan tanpa modifikasi.

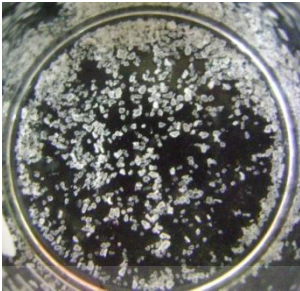
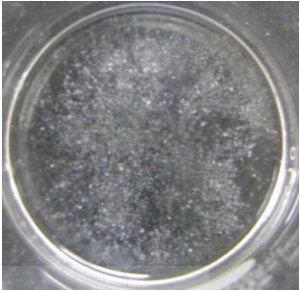
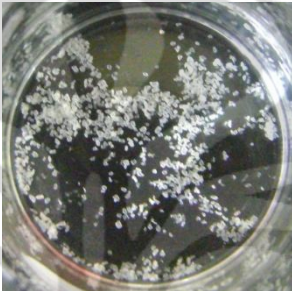
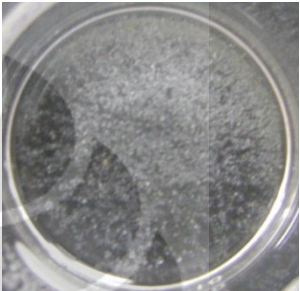
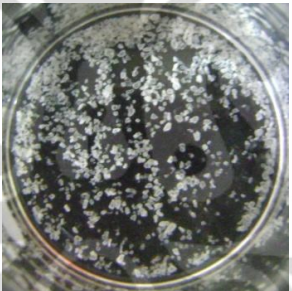


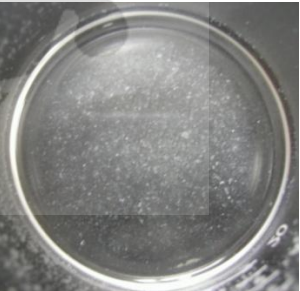
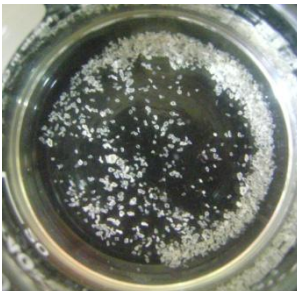

4.2.6 Kelarutan

Kitosan suksinat hasil sintesis diuji kelarutannya secara kualitatif dan kuantitatif dalam beberapa medium yaitu asam (larutan HCl pH 1,2 dan 3); air destilata; dan medium basa (larutan fosfat pH 6,8; 7,4; 10; dan 12). Uji dilakukan untuk membandingkan sifat kelarutan polimer hasil sintesis terhadap kelarutan polimer awal.

Dari hasil pengamatan visual yang ditunjukkan oleh Tabel 4.2, kitosan suksinat memiliki range kelarutan dalam pH yang lebih besar dibandingkan kitosan. Berdasarkan gambar tersebut, kitosan larut baik hanya dalam larutan HCl pH 1,2, sedangkan kitosan suksinat selain larut dalam pH 1,2 juga dapat larut dalam medium pH $\geq 6,8$. Hal ini menunjukkan, substitusi suksinat pada gugus amin kitosan, telah berhasil meningkatkan kelarutannya dalam suasana basa.

Tabel 4.2. Kelarutan kitosan dan kitosan suksinat hasil sintesis dalam medium berbagai pH yang diamati secara visual.

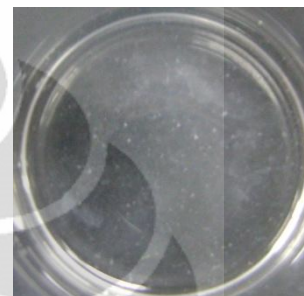
No.	Medium	Kitosan	Kitosan suksinat
1.	Larutan HCl pH 1,2		

2. Larutan HCl pH 3		
3. Larutan HCl pH 5		
4. Aquadest		
5. Medium fosfat pH 6,8		
6. Medium fosfat pH 7,4		

7. NaOH pH 10



8. NaOH pH 12



Kitosan suksinat tidak melarut dengan baik pada pH asam diatas 1,2 dan dibawah 6,8 (pH 3 dan 5). Hal ini menerangkan titik isoelektrik dari polimer hasil sintesis ini. Pada range pH ini, ekimolar dari NH_3^+ dan $-\text{COO}^-$ tetap berada dalam bentuk makromolekul (Säkkinen, 2003). Selain itu, dalam medium air destilata kitosan suksinat juga menunjukkan hasil kelarutan yang lebih baik dibandingkan kitosan yang tidak larut dalam air.

Kelarutan kitosan suksinat secara kuantitatif dilakukan dengan metode perbandingan terhadap standar kelarutan kitosan suksinat dalam NaOH 0,1 N. Larutan hasil pengamatan visual disaring, kemudian 5,0 ml filtratnya dipipet dan pH-nya diatur dengan penambahan NaOH 0,1 N hingga pH mencapai 14. Masing-masing larutan yang telah diatur pH-nya kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 228 nm (Aiedeh dan Taha, 1999). Hasil kuantitatif menunjukkan kelarutan kitosan suksinat sesuai dengan data dari pengamatan visual. Kelarutan kitosan suksinat yang cukup tinggi dalam medium asam pH 1,2, kemudian menurun pada pH 3 dan 5, dan mengalami kenaikan kelarutan pada $\text{pH} \geq 6,8$.

Tabel 4.3. Kelarutan kitosan suksinat dalam medium berbagai pH secara semi kuantitatif

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

Untuk meningkatkan sifat kelarutan kitosan suksinat dalam air, dapat dilakukan peningkatan jumlah anhidrida suksinat pada proses sintesis, agar jumlah substitusi pada gugus amin kitosan semakin meningkat. Hal ini dimaksudkan untuk memperoleh derajat substitusi kitosan suksinat yang lebih besar. Dengan derajat substitusi yang lebih besar, maka kelarutannya dalam air pun meningkat (Noeriati, 2007).

4.2.7 pH

Pengukuran pH kitosan suksinat dilakukan dalam medium air destilatadengan konsentrasi polimer yang bervariasi. Hasilnya, pH polimer dalam aquadest berkisar antara 6,77 hingga 6,89. Hal ini menunjukkan bawa larutan kitosan suksinat berada dalam pH netral menyerupai pH aquadest yang digunakan (pH aquadest 6,88) atau dengan kata lain, larutan kitosan suksinat tidak secara signifikan mengubah pH air destilata. Hal ini terjadi karena penambahan gugus COOH pada kitosan selain meningkatkan kelarutannya dalam air destilata, juga menurunkan sifat keasamannya.

Kitosan yang merupakan polimer awal juga didispersikan dalam aquadest dan digunakan sebagai pembanding. Polimer ini tidak larut dalam aquadest, sehingga pH yang terukur dari kitosan dalam aquadest bukanlah pH larutan melainkan pH aquadest (6,88). Saat kitosan suksinat didispersikan dalam air, pH

larutan sedikit berubah, yang menandakan bahwa sifat zat terlarut mempengaruhi pH dalam lingkungan berair.

Dengan kemampuan yang dihasilkan oleh kitosan suksinat hasil sintesis untuk mengembang dalam air, pembentukan gel dalam suasana netral dapat dilakukan. Hal ini akan memperluas penggunaan kitosan dalam sediaan farmasi seperti suspensi atau sebagai gelling Hal ini juga membuat proses penanganan kitosan menjadi lebih efisien dan lebih aman.

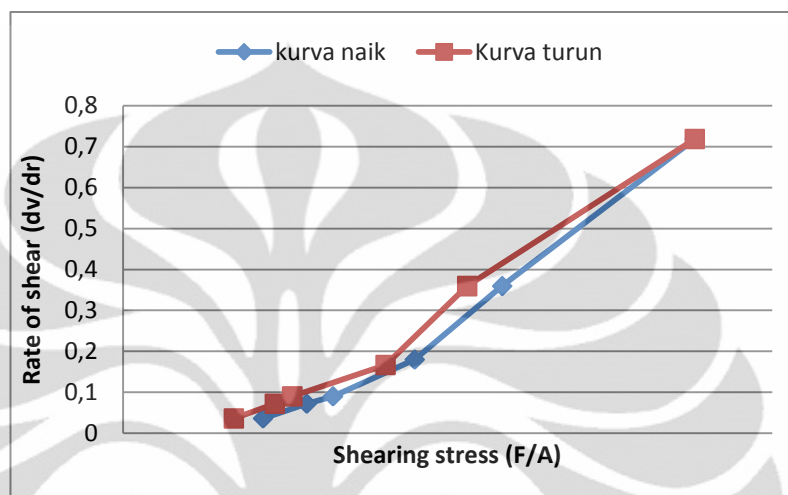
4.2.8 Daya mengembang

Uji daya mengembang dilakukan pada medium medium HCl pH 1,2 dan medium fosfat pH 7,4. Daya mengembang diperoleh dengan mengukur persentase peningkatan berat setelah polimer direndam dalam medium asam dan basa. Rata-rata kemampuan mengembang kitosan suksinat hasil sintesis dalam dapar HCl 1,2 adalah sebesar 5,43 kali dan dalam dapar fosfat 7,4 sebesar 5,32 kali. Daya pengembangan polimer hasil sintesis tidak berbeda signifikan baik dalam medium asam maupun basa. Hal ini menunjukkan bahwa polimer hasil sintesis masih membawa sifat asal kitosan yaitu mengembang dalam suasana asam. Derajat substitusi yang besarnya sekitar 1,97 mol/gram pada polimer hasil sintesis ini menunjukkan banyaknya gugus suksinat yang tersubstitusi pada amin kitosan, yang memungkinkan pengembangan polimer ini dalam suasana basa. Namun jumlahnya lebih sedikit dibanding gugus amin aktif yang tidak tersubstitusi. Gugus amin bebas ini tetap terprotonasi dalam lingkungan asam dan membuat polimer hasil sintesis tetap mengembang dalam asam.

4.2.9 Viskositas

Viskositas kitosan suksinat diukur dalam medium NH_4OH 0,037% dengan konsentrasi 4%, 6%, dan 8%. Viskositas rata-rata larutan kitosan suksinat adalah sebesar 131 cps, 2327 cps, dan 5350 cps untuk masing-masing kekentalan 4%, 6%, dan 8%. Data viskositas ini menggambarkan besarnya tahanan suatu zat cair untuk mengalir. Semakin besar viskositas, maka tahanan zat cair untuk mengalir juga makin besar.

Setelah memperoleh nilai viskositas, kemudian dicari harga shearing stress dan rate of share untuk menentukan kurva aliran. Dari kurva alir yang dihasilkan pada Gambar 4.5 dibawah ini, terlihat bahwa dispersi kitosan suksinat dengan konsentrasi 4%, 6%, dan 8% memiliki sifat aliran tiksotropik pseudoplastis.



Gambar 4.5. Rheogram dari dispersi kitosan suksinat dalam 0,03% NH_4OH dengan konsentrasi 6%.

Viskositas zat yang sifat alirnya pseudoplastis akan berkurang dengan meningkatnya *rate of shear*. Dengan meningkatnya shearing stress, molekul-molekul yang secara normal tidak beraturan mulai menyusun sumbu yang panjang dalam arah aliran. Pengarahan ini mengurangi tahanan dalam dari bahan tersebut dan mengakibatkan *rate of shear* yang lebih besar pada tiap *shearing stress* berikutnya (Martin et al, 1983).

Sifat aliran tiksotropik dari larutan kitosan suksinat terjadi karena campuran ini merupakan larutan polimer yang partikelnya asimetrik yang mempunyai banyak titik kontak dan tersusun sebagai jaringan tiga dimensi. Semakin tinggi konsentrasi kitosan suksinat dalam larutan NH_4OH 0,037%, viskositasnya semakin tinggi. Hal ini dapat dipahami karena kitosan suksinat merupakan polimer hidrofilik. Ketika kitosan didispersikan pada medium yang dapat membuat strukturnya mengembang, akan terbentuk dispersi koloid. Oleh karena itu, peningkatan jumlah polimer akan berbanding lurus dengan peningkatan viskositas.

4.2.10 Indeks kompresibilitas

Indeks kompresibilitas kitosan suksinat hasil sintesis yang dihasilkan adalah sebesar 24% dengan Hausner Ratio sebesar 1,32. Indeks kompresibilitas menggambarkan kemampuan suatu bahan untuk mengalami pengempaan langsung dalam penggunaannya sebagai sediaan tablet.

Dari hasil yang diperoleh, kitosan suksinat hasil sintesis memiliki indeks kompresibilitas yang termasuk dalam kategori agak baik untuk pembuatan tablet cetak langsung. Hal ini berbeda dengan kitosan yang memiliki indeks kompresibilitas sebesar 18%.

4.3 Pembuatan mikrosfer mukoadhesif

Mikrosfer mukoadhesif dibuat dengan menggunakan metode semprot kering. Mikrosfer yang diperoleh berbentuk serbuk halus dengan warna putih hingga putih kekuningan. Pembuatan mikrosfer dengan cara semprot kering dipilih karena metodenya yang mudah dan efisien. Selain itu, metode ini menghasilkan pengeringan bahan dengan cepat tanpa merusak sifat bahan yang dikeringkan, juga dapat menghasilkan serbuk dengan ukuran sangat kecil (Deasy, 1984).

Proses pembuatan mikrosfer secara semprot kering dimulai dengan mendispersikan serta menghomogenkan polimer dan zat aktif dalam medium yang sesuai, dalam penelitian ini digunakan 0,037% NH_4OH . Viskositas keempat formula mikrosfer diukur menggunakan *viscometer* Brookfield menggunakan spindle 1. Formula dengan campuran polimer menghasilkan viskositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula yang merupakan dispersi polimer tunggal. Rata-rata viskositas yang paling rendah dimiliki oleh campuran dispersi kitosan suksinat dan HPMCP dengan konsentrasi 2% : 2% yaitu formula C, dan viskositas tertinggi terdapat pada formula A yang terdiri dari polimer tunggal kitosan suksinat 4%.

Setelah itu, campuran polimer dan zat aktif mengalami proses atomisasi yaitu pengeringan pelarut dengan udara pemanas pada alat penyemprot. Serbuk yang telah kering dikumpulkan pada suatu wadah pengumpul (Deasy, 1984). Pada

proses pembuatan, sebelumnya dilakukan orientasi terhadap suhu penyemprotan agar mikrosfer yang dihasilkan cukup kering dan tidak saling menempel karena akan mengakibatkan aglomerasi partikel. Suhu masuk yang dipilih adalah 195°C dengan suhu keluar 90°C karena pada suhu ini dihasilkan serbuk yang cukup kering dan tidak saling menempel. Selain itu, diatur kecepatan penyemprotan 10ml/menit dengan tekanan penyemprotan sebesar 4-6 bar. Kecepatan penyemprotan dan besarnya tekanan yang dipilih akan mempengaruhi kuantitas mikrosfer yang diperoleh. Semakin tinggi kecepatan penyemprotan yang dipilih, maka kuantitas mikrosfer yang dihasilkan akan semakin kecil walaupun waktu pengerjaan semakin cepat. Mikrosfer mukoadhesif yang dihasilkan berupa serbuk putih halus dan tidak berbau, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.6.



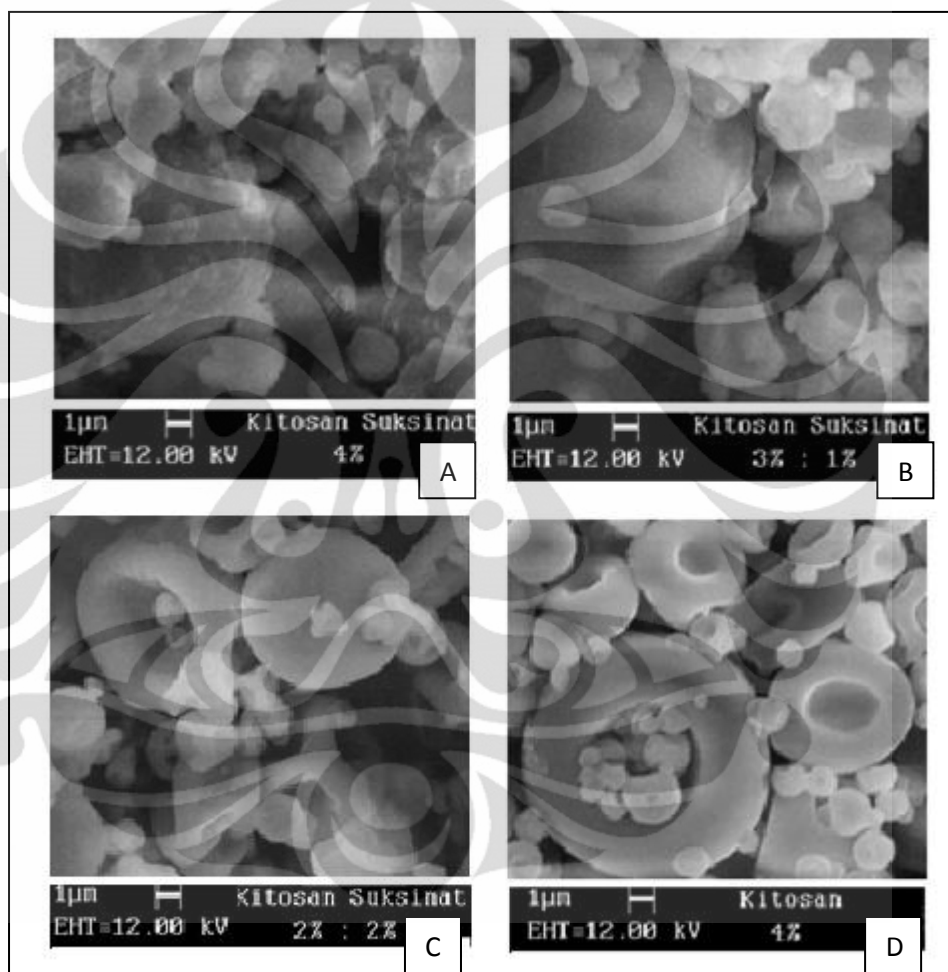
Keterangan: A = Kitosan suksinat 4%
 B = Kitosan suksinat – HPMCP (3% : 1%)
 C = Kitosan suksinat – HPMCP (2% : 2%)
 D = Kitosan 2%

Gambar 4.6. Mikrosfer mukoadhesif dari keempat formula.

4.4 Evaluasi mikrosfer mukoadhesif

4.4.1 Pemeriksaan bentuk dan morfologi mikrosfer

Bentuk dan morfologi mikrosfer hasil semprot kering dianalisis menggunakan alat *scanning electron microscope*. Hasil SEM mikrosfer dari formula A, B, C, dan D masing-masing ditunjukkan pada Gambar 4.2. Mikrosfer yang dihasilkan berbentuk bulat tidak merata hingga bulat dan memiliki bagian cekung di sisi permukaannya. Mikrosfer yang terdiri dari kitosan suksinat tunggal (Formula A) memiliki bentuk bulat dan permukaan tidak rata dan berserabut.



- Keterangan A = Kitosan suksinat 4%
 B = Kitosan suksinat – HPMCP (3% : 1%)
 C = Kitosan suksinat – HPMCP (2% : 2%)
 D = Kitosan 2%

Gambar 4.7. Mikrograf mikrosfer mukoadhesif dari keempat formula dengan perbesaran 3000 x.

Mikrosfer yang terdiri dari kombinasi polimer kitosan suksinat dan HPMCP (formula B dan C) menunjukkan bentuk yang bulat dan cekung pada sisi

permukaannya. Mikrosfer dari formula B cenderung lebih dapat mempertahankan bentuk bulatnya dibandingkan formula C.

Mikrosfer yang terbuat dari kitosan (formula D) memperlihatkan bentuk bulat dan memiliki sisi permukaan cekung menyerupai formula C. Sisi cekung pada permukaan mikrosfer disebabkan oleh terhisapnya air yang semula terperangkap dalam matriks. Pada saat proses semprot kering, uap panas yang mengenai larutan akan menguapkan air, sehingga tersisa bekas berupa permukaan yang cekung. Proses penguapan dengan uap panas ini terjadi dengan cepat.

Pada formula A, tidak terjadi penyusutan yang membuat permukaannya mencekung seperti pada formula B, C, dan D. Hal ini mungkin disebabkan oleh viskositas formula A yang tinggi, sehingga saat pengeringan tidak terlalu banyak air yang menguap dan tidak meninggalkan bekas cekung pada permukaan

4.4.2 Distribusi ukuran partikel

Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif diukur menggunakan alat *particle size analyzer*. Mikrosfer yang diperoleh dari hasil semprot kering didispersikan dalam larutan yang tidak melarutkan partikel, dan dalam penelitian ini digunakan pelarut non polar yaitu kloroform. Hasil pengukuran menggunakan *particle size analyzer* dari keempat formula menunjukkan hasil yang bervariasi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.8.

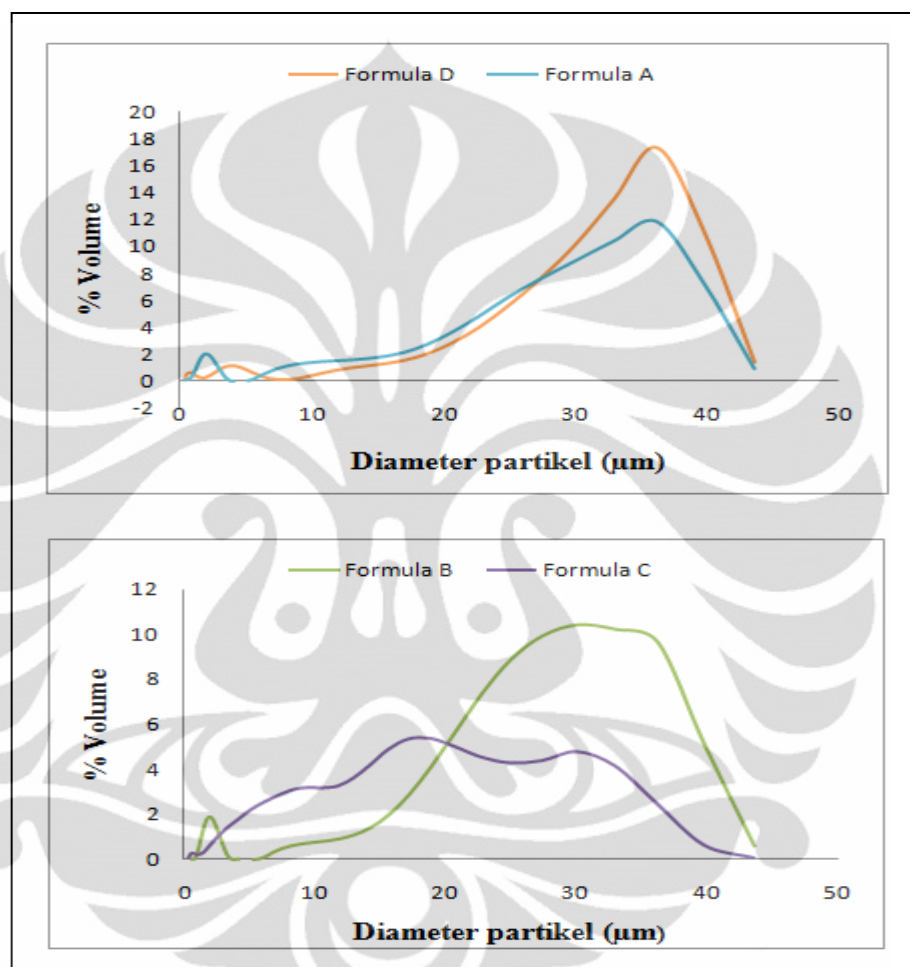
Tabel 4.4. Distribusi ukuran mikrosfer mukoadhesif berdasarkan diameter volume partikel

Formula	Rata-rata (μm)	Median (μm)
A	23,00	26,15
B	23,78	26,24
C	15,71	14,34
D	26,92	31,14

Rata-rata diameter partikel dari keseluruhan formula berkisar antara 15 – 26 μm . Formula dengan rata-rata diameter terendah dimiliki oleh formula B yaitu

15,71 μm , sedangkan diameter rata-rata tertinggi yaitu sebesar 26,92 μm dimiliki oleh formula D.

Dari hasil yang ditunjukkan oleh Tabel 4.4, ukuran partikel antara formula B dan D tidak berbeda signifikan.



Gambar 4.8. Kurva distribusi ukuran partikel mikrosfer berdasarkan % volume

Ukuran partikel yang dihasilkan dari proses semprot kering dipengaruhi oleh ukuran nozzle yang digunakan, kekentalan cairan dan tegangan permukaan cairan (Fogaca et al, 2004). Hal ini berlaku untuk mikrosfer dari formula A dan C. Mikrosfer dari formula A yang viskositasnya lebih tinggi, menghasilkan diameter ukuran partikel yang lebih besar dibanding mikrosfer dari formula C yang viskositasnya lebih rendah. Alasan yang mungkin mendasari hal tersebut adalah pada larutan dengan viskositas tinggi udara panas yang disemprotkan mengenai

aliran dispersi yang mengandung lebih banyak partikel padat. Saat proses penguapan, air akan tertarik dari larutan dan menghasilkan tetesan kecil yang menjadikannya mikrosfer. Semakin sedikit air yang tertarik dari larutan, maka akan semakin besar tetesan yang dihasilkan, sehingga ukuran partikel semakin besar. Hasil tersebut sesuai dengan keadaan yang menerangkan bahwa semakin tinggi viskositas larutan formula pembentuk mikrosfer, ukuran partikel yang dihasilkan dari proses semprot kering akan semakin besar (Yadav et al, 2004).

4.4.3 Uji perolehan kembali (UPK)

Nilai UPK dihitung dengan membandingkan bobot awal keseluruhan bahan yang digunakan dalam pembuatan mikrosfer, dibandingkan dengan bobot mikrosfer kering yang diperoleh. Hasil uji perolehan kembali terhadap serbuk mikrosfer dari keempat formula yaitu antara 24% hingga 53%. Hal ini menunjukkan hasil yang kurang baik, karena pada umumnya UPK yang diperoleh dari proses mikroenkapsulasi menggunakan *spray-dry* dapat mencapai > 85%.

UPK tertinggi mikrosfer mukoadhesif dihasilkan oleh formula C, diikuti formula B, dan formula A. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi viskositas larutan, maka UPK akan semakin kecil. Viskositas larutan yang lebih tinggi menyebabkan proses pengeringan menjadi sulit dan juga membutuhkan waktu pengerjaan yang lambat. Hal ini memungkinkan lebih banyak bahan menempel pada alat dan sukar mengalir untuk disemprot, sehingga UPK yang diperoleh menjadi kecil.

Formula D yang memiliki nilai UPK terendah yaitu 24,23%, merupakan formula yang terdiri dari dispersi 2% kitosan dan natrium diklofenak dengan perbandingan (10 : 1). Rendahnya hasil yang diperoleh dari formula ini disebabkan banyaknya zat yang menempel pada dinding permukaan alat penyemprot. Dalam proses pembuatannya, kitosan didispersikan di dalam 0,37% asam klorida, kemudian larutan natrium diklofenak dalam aquadest dimasukkan ke dalam dispersi tersebut. Ketika dicampur, larutan natrium diklofenak yang tidak dapat larut dalam suasana asam tidak terdispersi merata di dalam dispersi polimer tersebut. Hal ini menghasilkan larutan yang menyerupai suspensi, dimana natrium diklofenak akan berkumpul di dasar wadah jika larutan didiamkan. Ketika

dispersi polimer dan obat akan disemprotkan, dilakukan pengadukan untuk menghomogenkan larutan.

Nilai UPK formula D yang dihasilkan hanya 24,23%, hal ini dikarenakan walaupun dilakukan pengocokan, masih banyak zat aktif dan polimer yang tertinggal pada alat penyemprot. Hal ini berbeda dengan ketiga formula lainnya (A, B, dan C) yang menghasilkan nilai UPK diatas 45%. Ketiga formula lainnya dilarutkan di dalam 0,037% NH_4OH , kemudian larutan zat aktif dalam aquadest dan dicampurkan ke dalam dispersi polimer sehingga dapat menghasilkan dispersi polimer – obat yang merata.

Tabel 4. 5. Ringkasan evaluasi mikrosfer mukoadhesif dari keempat formula.

Formula	Diameter rata-rata (μm)	UPK (%)	Kadar air (%)	Efisiensi penyerapan \pm SD
A	23,00	47,36	11,40	74,83 \pm 1,49
B	23,78	50,28	10,53	126,54 \pm 8,60
C	15,71	53,17	8,66	108,20 \pm 4,68
B	26,92	24,23	13,62	35,29 \pm 4,17

4.4.4 Efisiensi penyerapan

Uji penentuan efisiensi penyerapan dilakukan untuk mengetahui jumlah obat yang terjerap dalam mikrosfer. Hasil penyerapan yang diperoleh dari proses semprot kering dalam mikrosfer mukoadhesif adalah berkisar antara 35-126%. Hal ini menandakan proses semprot kering merupakan teknik mikroenkapsulasi yang baik.

Efisiensi penyerapan tertinggi dihasilkan dari mikrosfer formula B, dan yang terendah ditunjukkan oleh formula D. Pada formula campuran (B dan C) efisiensi penyerapan yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan formula A dengan polimer tunggal kitosan suksinat.

Pada formula D, yang merupakan mikrosfer dari hasil dispersi kitosan dan natrium diklofenak dihasilkan efisiensi penyerapan sebesar 35,29%. Hal ini diakibatkan oleh sifat natrium diklofenak yang tidak larut dalam asam yang digunakan sebagai medium pendispersi kitosan suksinat. Ketika dicampurkan dan setelah dihomogenkan menggunakan homogenizer, larutan zat aktif tetap

mengambang dan tersebar tidak merata dalam dispersi kitosan. Hal ini menyebabkan obat yang terperap oleh polimer menjadi sangat kecil bila dibandingkan dengan formula A, B, dan C.

4.4.5 Pemeriksaan kadar air mikrosfer mukoadhesif

Hasil pemeriksaan kadar air mikrosfer mukoadhesif dapat dilihat pada Tabel 10. Keseluruhan formula menunjukkan jumlah kadar air yang terkandung antara 10 – 13,4%. Pengujian terhadap kandungan air dalam mikrosfer bertujuan untuk menentukan kemudahan sediaan dibasahi oleh air. Secara tidak langsung, uji ini dilakukan untuk memperkirakan kemampuan matriks melindungi zat aktif didalamnya dari kelembaban (Aiedeh & Taha, 1999). Nilai kadar air/kelembaban berpengaruh terhadap laju alir dan indeks kompresibilitas serbuk sehingga mikrosfer sulit dicetak menjadi tablet.

Pada formula A, B, dan C nilai kadar airnya masing-masing adalah 11,40%, 10,53% dan 8,66%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak penggunaan kitosan suksinat sebagai matriks, kadar air dalam mikrosfer semakin besar. Pada formula yang menggunakan campuran polimer (formula B dan C) kadar air dalam mikrosfer lebih kecil dibanding formula A yang menggunakan polimer tunggal kitosan suksinat. Penggabungan polimer yang menghasilkan kadar air lebih rendah dikarenakan HPMCP bersifat kurang hidrofil dibandingkan kitosan suksinat, sehingga kemampuannya menyerap kelembaban juga lebih sedikit. Kitosan suksinat bersifat lebih hidrofil, memiliki gugus –OH dan juga –COOH yang membuat mikrosfer dari polimer ini akan bersifat lebih higroskopis.

Nilai kadar air tertinggi dimiliki oleh formula D yang terdiri dari polimer kitosan tunggal. Hal ini dapat dipahami, karena sifat asli kitosan yang higroskopis. Bahan awal yang digunakan memiliki kadar air sebesar 9,3%. Selain itu, tingginya kadar air tersebut dipengaruhi juga oleh zat aktif yang digunakan dalam mikrosfer yaitu natrium diklofenak. Natrium diklofenak berbentuk serbuk dan sifatnya sangat higroskopis, sehingga penggabungan kedua bahan ini menghasilkan kandungan air yang cukup besar dalam mikrosfer yang diuji.

Kadar air yang diperbolehkan dalam suatu matriks berkisar antara 3 – 5% (Liebermann et al, 1994). Kandungan air yang besar dalam mikrosfer yang dibuat secara semprot kering dapat dikurangi dengan menggunakan kombinasi polimer seperti HPMCP, atau dapat juga diikuti dengan pengeringan lebih lanjut menggunakan vakum dan penyimpanan dalam desikator.

4.4.6 Indeks mengembang

Uji daya mengembang dilakukan terhadap mikrosfer mukoadhesif dalam larutan HCl pH 1,2 dan dalam larutan fosfat pH 7,4. Daya mengembang mikrosfer terbesar dalam suasana asam dihasilkan oleh formula C, sedangkan dalam suasana basa pengembangan terbesar dihasilkan oleh formula D.

Uji daya mengembang dilakukan untuk mengetahui kemampuan polimer untuk menyerap air. Kitosan dan kitosan suksinat merupakan polimer hidrogel. Pada saat kitosan dan kitosan suksinat dipaparkan pada medium asam, gugus amin yang tidak tersubstitusi oleh suksinat akan terprotonasi menjadi ion NH_3^+ . Tingginya konsentrasi ion akan mendorong pemindahan molekul air kedalam polimer untuk menurunkan perbedaan konsentrasi antara bagian dalam dan luar hidrogel. Selain itu, keadaan ini juga mendorong terjadinya penolakan dalam rantai polimer, dan disosiasi dari interaksi sekunder seperti ikatan hidrogen intramolekular membuat makin banyak cairan masuk dan membentuk massa seperti gel saat polimer mengembang (Gunasekaran et al, 2006). Hal inilah yang menjadi alasan, mikrosfer dari formula A, B, C, dan D dapat mengembang dalam suasana asam.

Pengembangan mikrosfer dalam medium basa dipahami oleh terionisasinya gugus karboksilat ($-\text{COOH}$) pada kitosan suksinat menjadi ion karboksilat ($-\text{COO}^-$) yang bermuatan negatif. Hal yang sama juga terjadi seperti pengembangan dalam asam, terjadi tolakan elektrostatik dari muatan ini yang menyebabkan polimer mengembang dalam suasana basa.

Mikrosfer dari formula A memiliki daya pengembangan dalam basa sebesar 8,04 kali dari beratnya semula sedangkan formula B dan C mengalami pengembangan sebesar 8,03 dan 5,2 kali dari berat polimer awal. Kemampuan mengembang mikrosfer dari formula B dan C lebih rendah dibanding kemampuan

mengembang formula A. Hal ini disebabkan adanya kombinasi polimer antara kitosan suksinat dengan HPMCP yang bersifat hidrofobik, yang menghasilkan penurunan kemampuan serap air polimer hidrofilik.

Kemampuan mikrosfer formula D menghasilkan daya mengembang yang paling besar diantara tiga formula lainnya dikarenakan daya mengembang kitosan yang besar. Disosiasi ikatan hidrogen antara gugus amino kitosan dengan peningkatan lingkungan berair dapat terjadi dalam jaringan hidrogel. Perenggangan rantai polimer kitosan akan menjadi terbatas saat rantai polimer terikat oleh krosslinking (Rohindra et al, 2004).

4.4.7 Uji daya perlekatan pada mukosa usus tikus

Daya perlekatan mikrosfer pada mukosa usus tikus diukur menggunakan alat *texture analyzer*. Prinsip pengujiannya yaitu dengan mengukur gaya yang dibutuhkan untuk melepaskan mikrosfer dari mukosa usus, setelah diberi tekanan tertentu. Semakin besar gaya yang dibutuhkan untuk melepaskan mikrosfer, maka daya perlekatannya pada mukosa usus semakin besar.

Pada uji ini digunakan tekanan sebesar 0,69 N yang cukup memberikan kontak antara mikrosfer dengan mukosa usus tikus, namun tidak merusak bentuk mukosa. luas probe pada alat yang menempel pada mukosa adalah 6 mm dengan kecepatan 1 mm/detik.

Sifat mukoadhesif suatu bahan dipengaruhi oleh interaksi antara mukosa dengan polimer yang dipengaruhi oleh struktur dan muatan polimer tersebut (Rekha & Sharma, 2008). Selain itu kemampuan polimer untuk membentuk ikatan dengan jaringan mukosa seperti yang diperantarai oleh ikatan ionik, ikatan hidrogen, dan belitan secara fisik juga mempengaruhi kekuatan adhesif polimer tersebut.

Hasil uji kekuatan pelekatan mikrosfer pada usus tikus menunjukkan bahwa kekuatan mukoadhesif terbesar diberikan oleh mikrosfer formula D yaitu kitosan. Hasil tersebut juga memperlihatkan bahwa polimer hasil sintesis yaitu kitosan suksinat, memiliki kekuatan mukoadhesif yang paling rendah diantara formula lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa substitusi gugus suksinat pada kitosan tidak meningkatkan daya adhesif dari polimer.

Tabel 4.6. Kekuatan perlekatan mikrosfer mukoadhesif pada mukosa usus tikus menggunakan *texture analyzer*

Formula	Gaya (gF)
	Rata-rata \pm SD
A	6,87 \pm 0,46
B	7,10 \pm 0,61
C	7,07 \pm 0,33
D	7,33 \pm 1,03

Kitosan memiliki daya mukoadhesif karena gugus aminnya yang bersifat positif dapat berikatan dengan hasil ionisasi asam sialat glukoprotein, yang terdapat pada permukaan mukosa. Alasan yang memungkinkan kekuatan mukoadhesif formula D lebih besar dibanding formula A yaitu, ikatan antara muatan positif kitosan dengan muatan negatif dari mukosa memberikan ikatan yang lebih kuat dibandingkan ikatan hidrogen yang dihasilkan antara gugus karboksilat pada kitosan suksinat dengan mukosa. Selain itu, substitusi gugus anionik pada gugus amin kitosan menghasilkan hilangnya muatan positif dari kitosan yang mengakibatkan berkurangnya sifat mukoadhesif (Rekha & Sharma, 2008). Hal lain yang mempengaruhi adalah, pada pH usus 7,4 gugus ester dari suksinat pada kitosan suksinat akan mengalami ionisasi yang meningkatkan penyerapan air. Banyaknya air yang terserap akan membentuk massa seperti gel licin yang mengakibatkan daya untuk melepas mikrosfer dari jaringan mukosa menjadi lebih mudah.

Pada formula campuran B dan C, kekuatan mukoadhesif yang dihasilkan masing-masing 7,1 dan 7,07 gF, nilai ini lebih tinggi dibanding formula A yaitu sebesar 6,87. Dari data terlihat bahwa kombinasi kitosan suksinat dengan HPMCP dapat meningkatkan sifat mukoadhesif. Walaupun sifat kitosan suksinat dapat terionisasi pada pH 7,4 namun dengan adanya penambahan HPMCP yang bersifat hidrofobik, penyerapan air yang terlalu banyak dapat dihindarkan. Penjelasan yang dapat dikemukakan terhadap peningkatan daya mukoadhesif pada kombinasi polimer ini adalah dengan adanya penambahan HPMCP, akan dihasilkan

Universitas Indonesia

penambahan jumlah rantai yang tersedia dari untuk berpenetrasi dengan mukosa. Namun, peningkatan konsentrasi HPMCP pada formula C tidak mengubah kekuatan perlekatan secara berarti. Secara tidak langsung hal ini dipengaruhi oleh penurunan konsentrasi kitosan suksinat yang mengakibatkan jumlah rantai yang berpenetrasi dengan mukosa tidak jauh berbeda dengan formula B.

Kekuatan perlekatan formula campuran B dan C lebih rendah dibanding formula D. Hasil ini dapat dipahami dengan penjelasan dari kemampuan mengembang mikrosfer pada pH usus. Formula D menghasilkan daya mengembang lebih tinggi dibandingkan formula B dan C. Daya mengembang yang tinggi menghasilkan luas permukaan yang lebih besar, sehingga kontak mikrosfer dari formula D dengan mukosa usus menjadi lebih besar. Kontak yang besar akan menghasilkan gaya adhesif yang lebih besar pula, dibanding bahan yang memiliki kontak yang kecil dengan mukosa usus.

4.4.8 Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum natrium diklofenak dilakukan pada konsentrasi larutan 20 ppm dalam medium fosfat pH 7,4. Menurut literatur, panjang gelombang maksimum dalam medium basa adalah 275 nm. Namun berdasarkan kurva serapan yang dihasilkan dari percobaan, panjang gelombang maksimum natrium diklofenak adalah 276 nm. Pengukuran selanjutnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang yang diperoleh dari hasil kurva serapan.

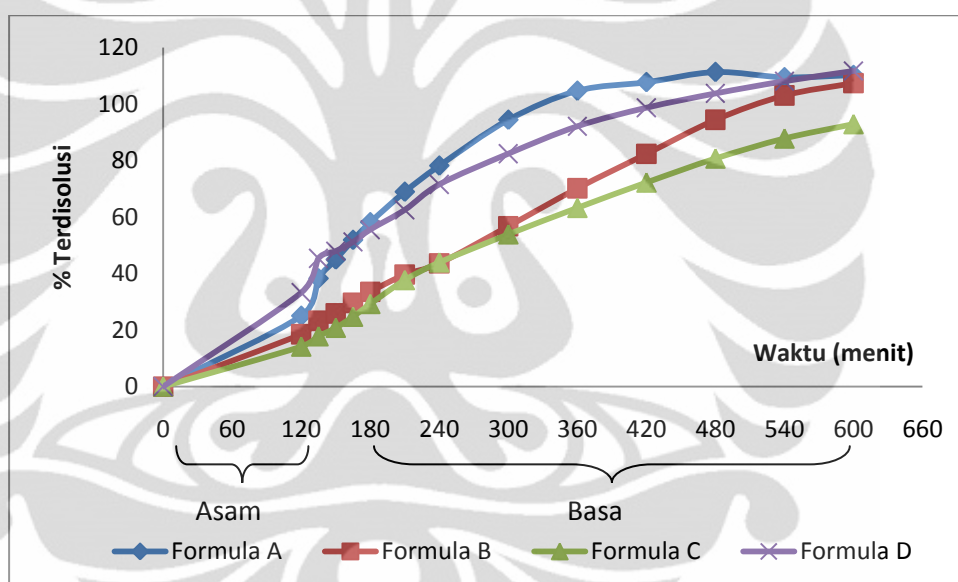
4.4.9 Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi natrium diklofenak yang dibuat dalam medium fosfat pH 7,4 dan menghasilkan persamaan garis : $y = -0,01468 + 0,03032 x$

4.4.10 Uji pelepasan zat aktif secara *in vitro*

Pelepasan zat aktif secara *in vitro* dilakukan pada alat difusi termodifikasi yang terdiri dari *beaker glass* ukuran 250 ml dengan pemutar magnetik dibawahnya. Mikrosfer diletakkan pada membran *cellophan* untuk menghindarkan terbawanya mikrosfer pada saat sampling dilakukan. Penggunaan

membran difusi ini juga dilakukan pada uji disolusi mikrosfer untuk penggunaan intranasal (Desai et al, 2011). Pengukuran pelepasan zat aktif dilakukan pada alat difusi termodifikasi dengan pemutar stirrer dibawahnya dan membran *cellophan* untuk melokalisasi mikrosfer digunakan karena jumlah zat aktif yang akan diukur pelepasannya dari mikrosfer lebih sedikit dibanding tablet konvensional biasa. Selain itu, alat difusi termodifikasi ini dirancang sehingga mirip dengan alat disolusi yang sesungguhnya. Pengaduk magnetik diatur agar memberikan putaran 50 rpm pada medium seperti fungsi dayung pada alat disolusi, dan pemanas diatur sehingga menghasilkan panas dengan suhu sebesar 37°C yang diukur pada medium larutan.



Gambar 4.9. Pelepasan kumulatif natrium diklofenak secara *in vitro* dari keempat formula dalam medium asam klorida pH 1,2 dan medium fosfat pH 7,4.

Hasil uji pelepasan natrium diklofenak dalam medium klorida pH 1,2 yang dilanjutkan dalam medium fosfat pH 7,4 ditunjukkan pada Gambar 4.9. Jumlah pelepasan obat yang paling tinggi pada akhir jam ke 10 dihasilkan oleh formula D yang merupakan polimer tunggal kitosan, sedangkan jumlah pelepasan obat paling rendah terdapat pada formula C yang merupakan campuran antara kitosan suksinat dan HPMCP (2% : 2%).

Pada 2 jam pertama masing-masing formula diukur pelepasan zat aktifnya dalam medium asam klorida pH 1,2 dengan suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Hal ini dilakukan untuk membandingkan polimer kitosan suksinat hasil sintesis dan polimer yang dikombinasi dengan HPMCP terhadap polimer awal kitosan mengenai kemampuannya dalam menahan pelepasan obat.

Dari data yang dihasilkan terlihat bahwa kitosan suksinat hasil sintesis (formula A) dapat menahan pelepasan natrium diklofenak dalam medium asam lebih baik dibandingkan kitosan (formula D). Selanjutnya, dengan adanya kombinasi kitosan suksinat dengan HPMCP yang merupakan polimer enterik, pelepasan obat dalam medium asam dapat lebih ditekan.

Pada proses pengukuran jumlah kumulatif natrium diklofenak yang terlepas pada suasana asam, didapati permasalahan mengenai keterbatasan kelarutan natrium diklofenak. Menurut USP 32, natrium diklofenak dapat terdisolusi dalam medium klorida pH 1,2. Hal tersebut benar adanya, bahwa natrium diklofenak dapat terlepas dalam suasana asam. Namun natrium diklofenak tidak dapat larut dalam asam encer sehingga kurva kalibrasi untuk mengukur pelepasannya secara langsung pada medium asam tidak dapat dihasilkan. Dalam asam encer, natrium diklofenak yang terlepas dari matriks akan terurai menjadi asam diklofenak yang hanya larut dalam suasana basa. Oleh karena alasan ini, proses pengukuran jumlah kumulatif lepasnya obat dari mikrosfer dalam suasana asam dilakukan hanya pada jam ke-2 (menit ke 120). Setelah 2 jam, dilakukan adjust pH menggunakan KH_2PO_4 dan NaOH terhadap 200 ml medium disolusi, hingga medium disolusi mencapai pH 7,4. Pengukuran jumlah obat yang terdisolusi dari mikrosfer dilakukan dengan menggunakan blanko dapar fosfat pH 7,4 dan pehitungannya menggunakan kurva kalibrasi yang diperoleh dari larutan natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4.

Setelah proses disolusi dalam asam selama 2 jam, membran cellophan yang berisi mikrosfer mukoadhesif dipindahkan ke dalam *beaker glass* baru yang berisi medium basa dapar fosfat 7,4 dengan suhu $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan disolusi dilakukan selama 8 jam dengan sampling sebanyak 12 kali pada interval waktu tertentu.

Pelepasan kumulatif mikrosfer mukoadhesif dalam medium fosfat dari masing-masing formula adalah sebesar 85,25%; 88,89%; 78,77%; dan 84,76%

pada formula A, B, C, dan D. Dari hasil yang ditunjukkan dari Gambar 4.10 diatas, terlihat bahwa kitosan suksinat (formula A) tidak dapat digunakan sebagai polimer tunggal dalam menahan pelepasan obat. Hal ini terlihat dengan terlepasnya obat dari zat aktif sebanyak 100% pada jam ke-5. Keadaan ini mungkin disebabkan oleh sifat kitosan suksinat yang mengalami pengembangan dan juga over hidrasi pada pH 7,4. Polimer hasil sintesis ini mengalami deprotonasi menghasilkan anion karboksilat. Hidrasi karboksilat ion ini menyebabkan polimer mengembang dengan cepat dalam medium pH 7,4. Kemudian seiring dengan mengembangnya polimer, terbentuk massa seperti gel yang lama-kelamaan terlarut yang pada akhirnya menyisakan massa seperti lendir di akhir jam ke -10. Peristiwa ini menyebabkan lepasnya natrium diklofenak dari matriks mikrosfer (Aiedeh & Taha, 1999).

Hasil ini berbeda dengan formula B dan C. Dengan adanya kombinasi polimer, penahanan terhadap pelepasan obat dapat dicapai dengan lebih baik dibandingkan formula A, walaupun hasilnya belum terlalu memuaskan. Pada formula B, zat aktif terdisolusi 100% pada jam ke-8 sedangkan pada formula C hingga akhir jam ke-10 jumlah zat aktif yang terlepas hanya 92%. Hal ini menunjukkan dengan adanya peningkatan jumlah HPMCP dan penurunan jumlah kitosan suksinat dalam matriks, kemampuan untuk menahan pelepasan obat semakin meningkat. Peningkatan ini dapat terjadi karena adanya peningkatan densitas matriks polimer yang menghasilkan besarnya ukuran mikrosfer bertambah. Hal ini mengakibatkan penambahan jarak difusi yang harus ditempuh zat aktif untuk terbebas dari matriks, sehingga jumlah obat yang dilepaskan menjadi lebih sedikit (Malay & Divya, 2008).

Kombinasi HPMCP pada formula B dan C menurunkan jumlah obat yang terlepas dari matriks dapat dipahami juga melalui daya mengembang polimer tersebut. HPMCP adalah polimer yang bersifat hidrofobik karena gugus ftalat yang mensubstitusi salah satu gugus OH⁻ pada molekul HPMC. Sifat pelepasan obat dari polimer ini adalah melalui erosi permukaan, yang berbeda dengan sifat kitosan suksinat yang mengembang kemudian melepaskan obat. Dengan adanya kombinasi kitosan suksinat dan HPMCP, sifat mengembang polimer hasil sintesis

menjadi berkurang, yang menghasilkan pengurangan pada jumlah obat yang terlepas dari matriks mikrosfer.

Jumlah natrium diklofenak yang terlepas dari matriks mikrosfer antara formula B dan C pada jam-jam awal tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Hal ini terjadi hingga jam ke-5 dimana masing-masing formula memberikan pelepasan sebesar 56,76% dan 53,92% untuk formula B dan C. Penahanan pelepasan obat oleh formula C terlihat mulai pada jam ke-6, dimana jumlah kumulatif zat aktif yang dilepaskan pada formula ini lebih rendah dibandingkan formula B.

Hal yang sama terjadi juga pada formula A dan D. Pada suasana asam, formula D menghasilkan pelepasan zat aktif yang lebih besar dibanding formula A, yaitu 32% sedangkan formula A hanya sekitar 25%. Dalam medium fosfat, formula D yang terdiri dari dispersi kitosan memberikan penahanan pelepasan zat aktif yang tidak berbeda secara signifikan bila dibandingkan formula A. Hal yang memungkinkan terjadinya peristiwa ini adalah, saat proses disolusi selama 2 jam dalam asam, polimer dari formula D telah mengalami pengembangan juga melepaskan zat aktif yang dikandungnya. Ketika membran *cellophan* dipindahkan ke dalam medium basa, polimer pembentuk mikrosfer yang telah terbasahi dan kemudian mengembang, tidak lagi cukup kuat untuk menahan pelepasan zat aktif dalam suasana basa. Oleh karena itu walaupun polimer pembentuk formula D tidak terlarut dalam medium basa, pelepasan obat dengan berdifusi meninggalkan matriks tetap dapat terjadi.

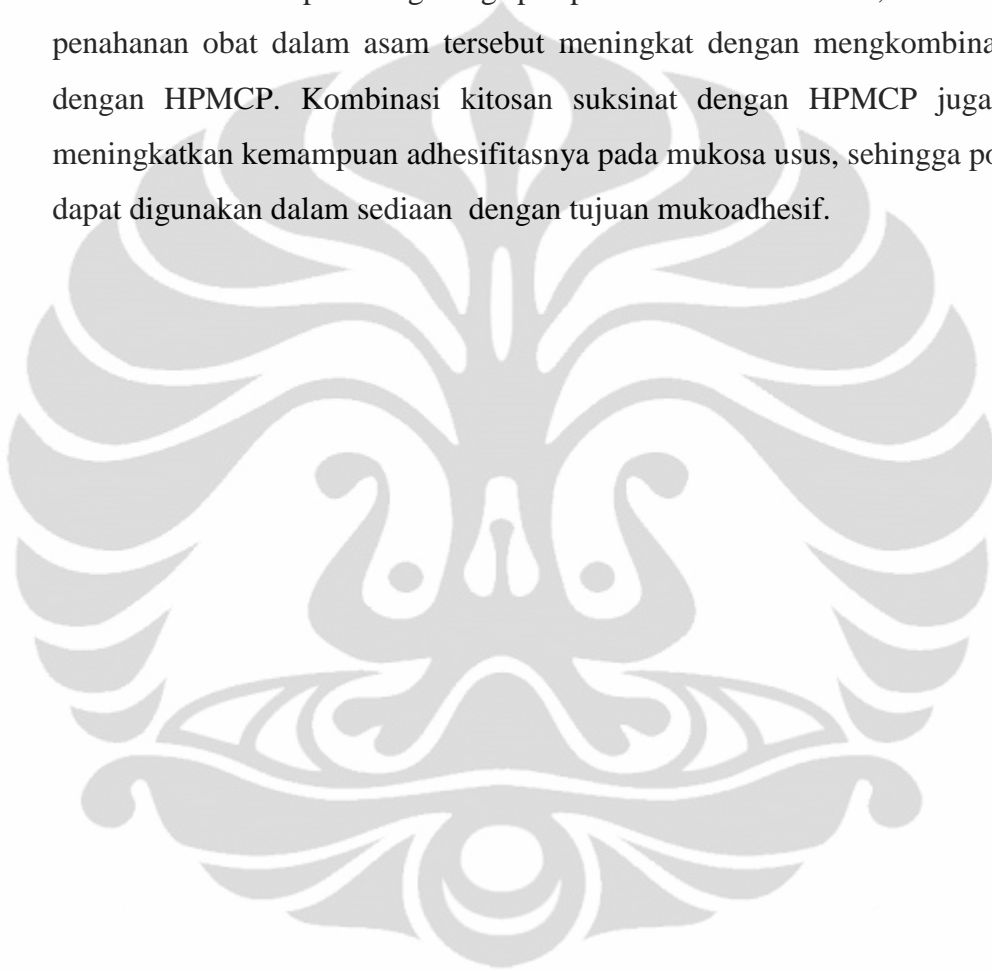
Hal yang berbeda terjadi pada mikrosfer dari formula A. Pelepasan obat yang cukup cepat pada formula A diakibatkan oleh kemampuan mengembang kitosan suksinat yang besar pada medium basa. Pada formula A, selain mengalami pengembangan, kitosan suksinat juga membentuk gel yang dapat terlarut pada medium disolusi sehingga perlindungan terhadap zat aktif menjadi semakin rendah. Hal ini tentu saja meningkatkan jumlah zat aktif yang dapat terlepas, karena menurunnya jumlah polimer yang berfungsi sebagai barrier penahan pelepasan obat.

Mekanisme pelepasan obat secara difusi dapat diketahui berdasarkan persamaan Korsmeyer-Peppas. Mekanisme pelepasannya dilihat dari nilai n yang merupakan eksponen pelepasan, untuk sediaan geometri sferis seperti mikrosfer, jika $n < 0,43$ maka pelepasan zat aktif mengikuti mekanisme difusi Fickian sedangkan jika nilainya berada dalam rentang $0,43 < n < 0,85$ maka pelepasan zat aktif mengikuti mekanisme difusi non-Fickian. Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 4.7, diketahui bahwa keseluruhan formula memiliki rentang nilai $n > 0,43$ dan $n < 0,85$. Oleh karena itu mekanisme pelepasan zat aktif dari mikrosfer mengikuti mekanisme pelepasan non-Fickian. Pelepasan non-Fickian adalah kombinasi pelepasan antara peristiwa difusi dan erosi. Hal yang terjadi adalah, saat medium berpenetrasi ke dalam matriks polimer, matriks akan mengembang sehingga medium yang masuk ke dalam matriks membawa keluar zat aktif dari pori-pori matriks dan pada saat yang sama polimer mengalami erosi (Martin et al, 1983). Selain itu, dari data linearitas yang diperoleh, terlihat bahwa formula A dan D mengikuti kinetika Higuchi, sedangkan formula C dan D mengikuti kinetika pelepasan orde nol.

Tabel 4.7. Kinetika pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer mukoadhesif keempat formula

Formula	Parameter	Higuchi		Orde 0	Orde 1	Peppas
		r	r ²			
A	R	0,9808	0,9621	0,9196	0,6882	0,9841
	A	0,1459		20,538	2,6356	0,4086
	B	4,4398		0,1742	0,0052	n = 0,7114
B	R	0,9765	0,9537	0,9965	0,8590	0,9916
	A	-15,181		2,6452	1,8171	-0,3421
	B	4,4914		0,1918	0,0069	n = 0,7666
C	R	0,9879	0,976	0,9902	0,8354	0,9881
	A	-11,509		4,7583	1,8022	-0,3793
	B	3,9624		0,1662	0,0067	n = 0,7639
D	R	0,9955	0,9911	0,9695	0,7465	0,9920
	A	-3,9829		12,254	2,3401	0,2699
	B	3,7462		0,1527	0,0054	n = 0,6831

Pada penelitian ini telah dilakukan modifikasi kimia terhadap kitosan melalui reaksi N-asilasi dengan menggunakan pelarut organik yang menghasilkan kitosan suksinat. Kitosan suksinat hasil modifikasi memiliki range kelarutan dalam pH yang lebih luas dibanding kitosan, namun tidak menghilangkan sifat mukoadhesif dari kitosan. Dalam penggunaannya sebagai mikrosfer mukoadhesif kitosan suksinat dapat mengurangi pelepasan obat dalam asam, dan kemampuan penahanan obat dalam asam tersebut meningkat dengan mengkombinasikannya dengan HPMCP. Kombinasi kitosan suksinat dengan HPMCP juga terbukti meningkatkan kemampuan adhesifitasnya pada mukosa usus, sehingga polimer ini dapat digunakan dalam sediaan dengan tujuan mukoadhesif.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan antara lain:

1. Modifikasi kitosan melalui penambahan anhidrida suksinat dalam piridin dapat dilakukan sebagai reaksi pembentukan kitosan suksinat. Reaksi ini disebut juga N-Suksinilasi yang terjadi pada gugus amin kitosan.
2. Kitosan suksinat hasil sintesis memiliki derajat substitusi sebesar 1,97 mol/gram. Polimer ini memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 1668 cm^{-1} juga $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum inframerah. Selain itu polimer ini mampu larut dalam basa $\text{pH} \geq 6,8$ sehingga terbukti memperluas kelarutan kitosan.
3. Kitosan suksinat hasil sintesis telah diaplikasikan dalam formulasi mikrosfer mukoadhesif dengan melalui teknik *spray-drying*.
4. Mikrosfer mukoadhesif yang dihasilkan memiliki ukuran antara $15 - 26\ \mu\text{m}$, tidak menghilangkan daya mukoadhesif dari kitosan, mampu menahan pelepasan obat lebih baik dalam suasana asam dibanding kitosan dan memberikan pelepasan $> 90\%$ pada akhir jam ke-8 dalam medium basa.

5.2 Saran

Untuk meningkatkan kelarutan polimer hasil sintesis, dapat ditingkatkan perbandingan jumlah anhidrida suksinat yang ditambahkan saat sintesis berlangsung agar derajat substitusi yang dihasilkan meningkat. Atau dapat pula mensubstitusi gugus amin yang belum tersubstitusi pada kitosan suksinat dengan anhidrida dari asam lain. Selain itu, untuk melihat profil pelepasan obat dalam suasana asam dan basa, dapat dilakukan pemilihan obat yang melarut dengan baik dalam kedua medium tersebut.

DAFTAR ACUAN

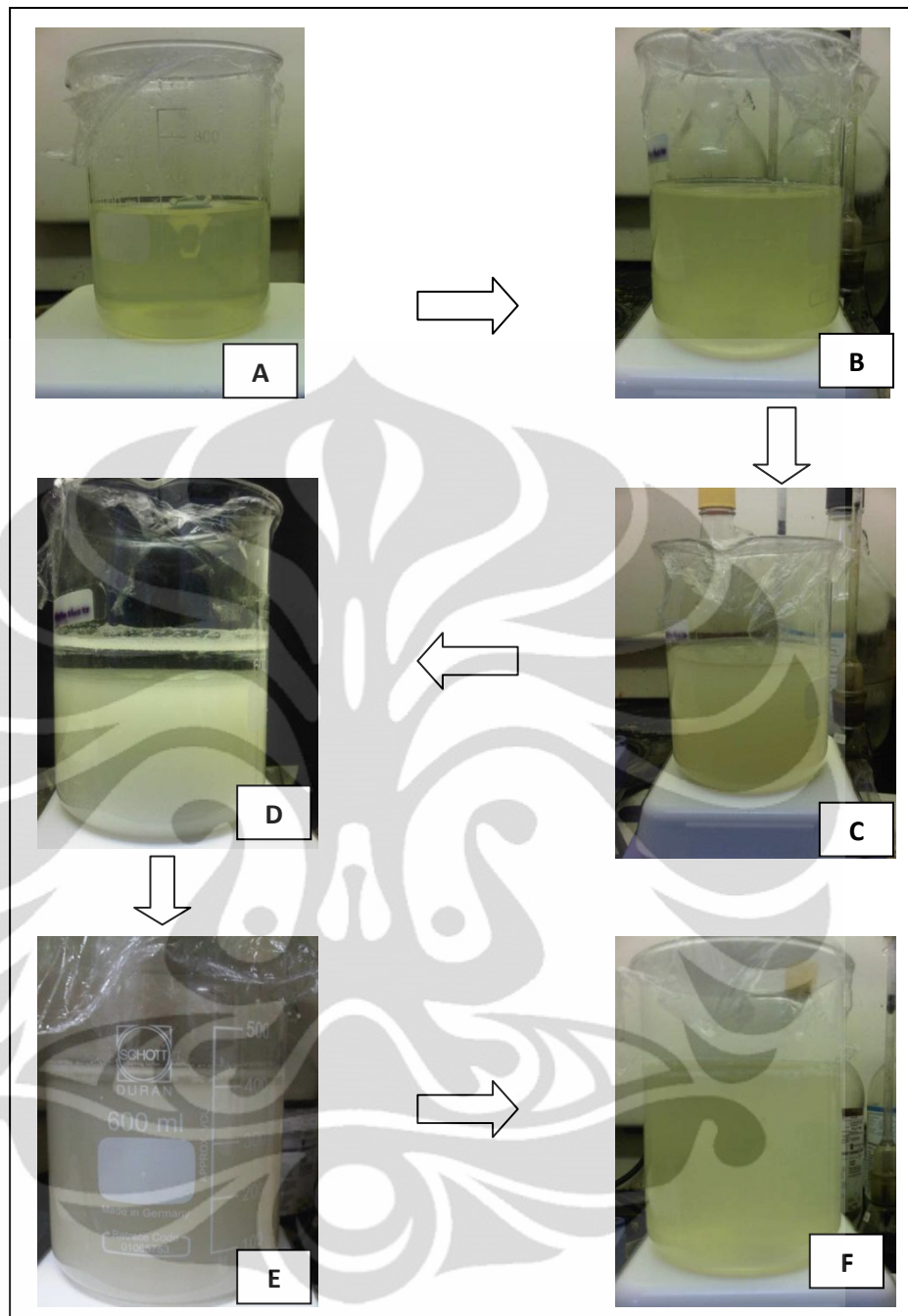
- Aiedeh, Khaled & Taha, M.O. (1999). Synthesis of Chitosan Succinate and Chitosan Phthalate and Their Evaluation as Suggested Matrices in Orally Administered, Colon-Specific Drug Delivery Systems. Dalam *Arch. Pharm. Med. Chem. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH*, D-69451. 103-107.
- Anya H, Andrew W.L., James S. (2001). *Drug Delivery and Targeting for Pharmacist and Pharmaceutical Scientists*. New York : Taylor and Francis.
- Ansel, H. C., Allen, L. V., dan Popovich, N. E. (1999). Modified-release dosage forms and drug delivery systems. Dalam : *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems* 7th edition. USA : Lippincott Williams and Wilkins.
- Alamsyah, Rizal. (2006). Pengembangan Proses Produksi Kitosan Larut Air. Makalah dipresentasikan dalam Prosiding Seminar Nasional Kitin-Kitosan 2006, Bogor.
- Alkhatib H.S., Aiedeh K.H., Bustanji Y, Hamed S, Mohammada M.K. (2008). Modulation of Buspirone HCl Release from Hypermellose Matrices Using Chitosan Succinate : Implications for pH-independent Release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 70, 804-812.
- Benita, Simon.(ed). (1996). *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*. New York : Marcel Dekker.
- Bernkop-Schnurch, Andreas. (2005). *Mucoadhesive Systems in Oral Drug Delivery*. Drug Delivery Today : Technologies | Drug Delivery/Formulation and Nanotechnology, Vol.2, No.1, 83-87.
- Carvalho, F.C., Marcos L.B., Raul, C.E., Maria, P.D.G. (2010). Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science*, Vol.46, No.1.
- Champagne, Lacia M. (2008). The Synthesis of Water Soluble N-Acyl Chitosan Derivatives for Characterization as Antibacterial Agent. *A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural dan Mechanical College in partial fulfillment of their requirements for the degree of Doctor of Philosophy in The Department of Chemistry*.

Universitas Indonesia

- Das, Malay K. & Maurya, Divya P. (2008). Evaluation of Diltiazem Hydrochloride-loaded Mucoadhesive Microspheres Prepared by Emulsification-internal Gelation Technique. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, Vol. 65 No. 2.
- Deasy, P. B. (1984). *Microencapsulation and Related Drug Processes*. New York : M. Dekker.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Jilid IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Desai, S., Gali Vidyasagar, Viral Singh, Dhruv De Sai. (2011). Preparation and *In Vitro* Characterisation of Mucoadhesive Microspheres of Midazolam: Nose to Brain Administration. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol. 4, Issue 1:100-102.
- Dhawan S, Anil, K.S., Vivek R.S. (2004). Evaluation of Mucoadhesive Properties of Chitosan Microspheres Prepared by Different Methods. *APPS PharmSciTech*, Vol.5, No.4, Article 67. (<http://www.aapspharmcitech.org>).
- Fogaca de Oliveira, B., Maria Helena Andrade Santana, Maria Inês Ré. (2004). *Spray-dried Chitosan Microspheres Cross-linked with D,L-Gyceraldehyde as a Potential Drug Delivery System: Preparation and Characterization*. Paper presented at the meeting of the 14th International Drying Symposium, Sao Paulo, Brazil, 22-25 Agustus 2004.
- Harikarnpakdee S, Vimolmas Lipipun, Narueporn Sutanthavibul, dan Garnpimol C.R. (2006). Spray-dried Mucoadhesive Microspheres:Preparation and Transport Through Nasal Cell Monolayer. *AAPS PharmSciTech*, Vol. 7, No. 1, Article 12. DOI: [10.1208/pt070112](https://doi.org/10.1208/pt070112)
- Harmita. (2006). *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Depok : Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Lieberman H.A., Lachman L, Kaning J.L. (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, Edisi III. (Suyatmi S., Penerjemah). Jakarta : UI Press.

- Martin, A., James Swarbrick, dan Arthur Cammarata. (1993). *Farmasi Fisik : Dasar-dasar Kimia Fisik Dalam Ilmu Farmasetik*, Edisi ke-III. (Yoshita, Penerjemah). Jakarta : UI Press.
- Mathiowitz, Edith. (1999). *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery* (Volume 1 & 2). New York : John Wiley & Sons.
- Moffat, A.C., Osselton M.D., Widdop B. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* (Third Edition). London : Pharmaceutical Press.
- M. Gandhi, Pandey P. (2010). Chitosan as Potential Carrier for Bioadhesive Drug Delivery System. *Journal of Natura Conscientia*, Vol.1, No.3, 223-226.
- Noerati, Cynthia. L. Radiman, Saadijah Achmad dan Bambang Ariwahjoedi. (2007). Sintesis Khitosan Suksinat Larut Air. Departemen Kimia FMIPA ITB. *Akta Kimindo*, Vol. 2, No. 2: 113 – 116.
- Nighute, A. B., dan Bhise, S.B. (2009). Preparation and Evaluation of Rifabutin Loaded Polymeric Microspheres. *Research J. Pharm. and Tech*, 2(2): 371-374.
- Patel R.P., M.P. Patel, A.M. Suthar. (2009). Spray Drying Technology: An Overview. *Indian Journal of Science and Technology*, Vol.2, No.10.
- Pignatello R, Stancampiano A.H.S., Ventura C.A., dan Puglisi G. (2007). Dexamethasone Sodium Phosphate-loaded Chitosan based Delivery Systems for Buccal Application. *Journal of Drug Targeting*, Vol.15, No.9, 603-610.
- Rasala, T.M., Govind, K.I., Vinita, V.K., Jasmine, G.A. (2010). Comparative Study of Ionotropic Gelation Technique to Entrap Diltiazem HCl in Mucoadhesive Microparticulate System. *Journal of Pharmacy Research*, Vol.3, No.7, 1531-1534.
- Rekha, M.R dan Sharma, C.P., (2008). pH Sensitive Succinyl Chitosan Microparticles : A Preliminary Investigation Towards Oral Insulin Delivery. *Trends Biomater. Artif. Organs*, Vol.21, No.2, 107-115.
- Rohindra, David R., Nand, Ashveen V., Khurma, Jagjit R. Swelling Properties of Chitosan Hydrogel. (2004). *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 102, 4665–4671.

- 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*.
- Soewandhi, S. N. dan N. N. W. Sutrisni. (2006). Formulasi Pelet Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) yang Disalut dengan Etermanan dan Uji Mukoadhesifnya. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 11 (3) : 48-56.
- Sonone S.B., S.S. Malve, N.S. Naikwade, J.P. Shirote. (2010). Synthesis of Water Soluble Crosslinked N-Acyl Derivative of Chitosan and Its Assessment for Antimicrobial Activities In Vitro. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol.1, Issue 8.
- Sugita P, Tuti Wukirsari, Ahmad Sjahriza, Dwi Wahyono. (2009). *KITOSAN. Sumber Biomaterial Masa Depan*. Bogor: IPB Press.
- Tan Hoan Tjay dan Kirana Rhardja. (2008). *Obat-Obat Penting. Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya*, Edisi ke-VI cetakan pertama. Jakarta : PT. Gramedia.
- The United States Pharmacopeial Convention. (2009). *US Pharmacopoeia 32-NF 27 (e-book)*.
- Tur, K. M. Dan Hung Seng Ch'ng. (1998). Evaluation of Possible Mechanism(s) of Bioadhesion. *International Journal of Pharmaceutics*, 160 : 61-74.
- Wicaksono, Aji. (2008). *Suksinilasi Pati Singkong Prigelatinisasi Sebagai Penghancur Dan Pengikat Pada Tablet Amoxicillin*. Depok, Indonesia. Skripsi Departemen Farmasi, FMIPA Universitas Indonesia.
- Yadav, V., dan Mote, H. H. (2008). Development of Biodegradable Starch Microspheres for Intranasal Delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, April 2008 : 170-174.
- Yan C, Dawei C, Jiwei G. (2006). Preparation of N-succinyl –Chitosan and Their Physical Chemical Properties as a Novel Excipient. *Yakugaku Zasshi*, 126 (9), 789-793.

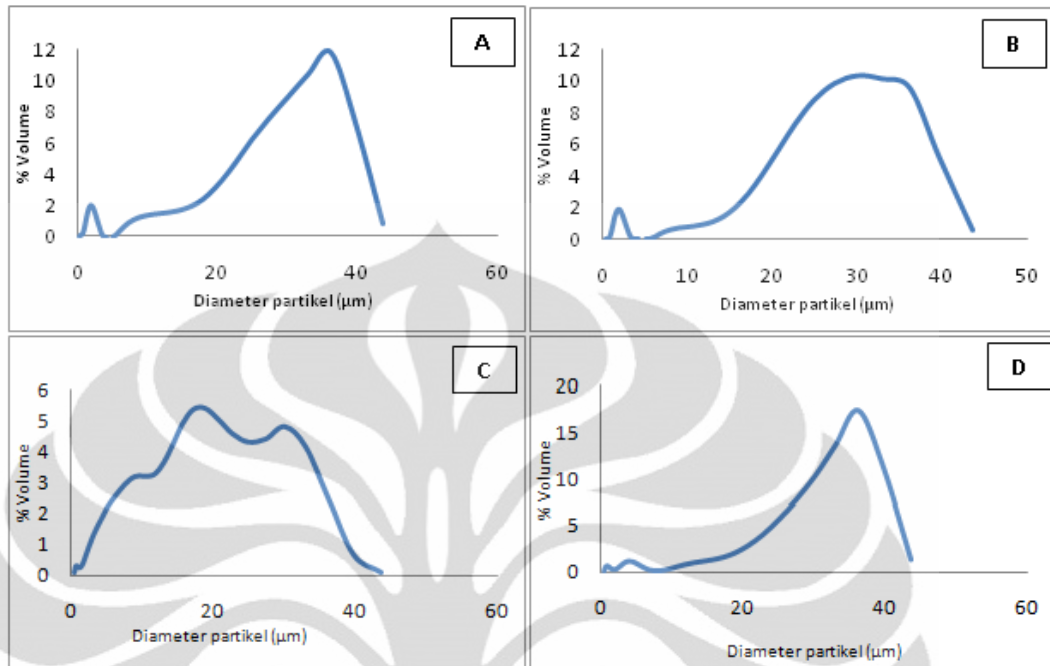


Lampiran 1

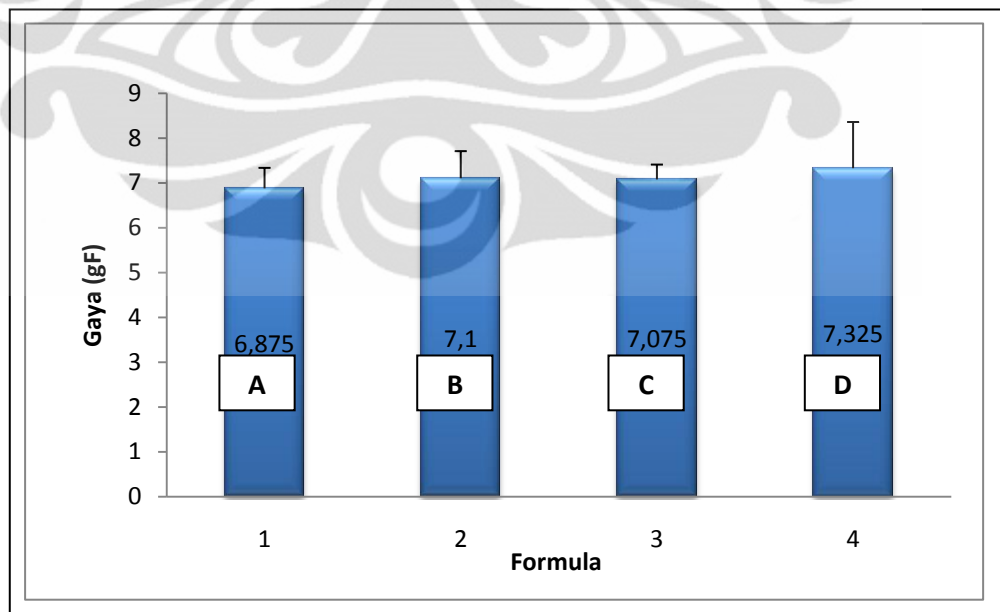
Perubahan visual selama proses sintesis kitosan suksinat berlangsung

A : larutan berupa gel kuning transparan, B : terbentuk gel yang mulai keruh setelah penambahan NaOH dan anhidrida suksinat dalam piridin, C : larutan semakin keruh dan terlihat seperti koloid, D : terjadi pemisahan larutan menjadi 2 fase, E : pemisahan yang terjadi semakin berkurang saat mencapai akhir reaksi (pH mendekati 7), dan F : larutan polimer yang telah disintesis kembali membentuk gel kuning transparan.

Lampiran 2.
Distribusi ukuran partikel dari keempat formula mikrosfer mukoadhesif

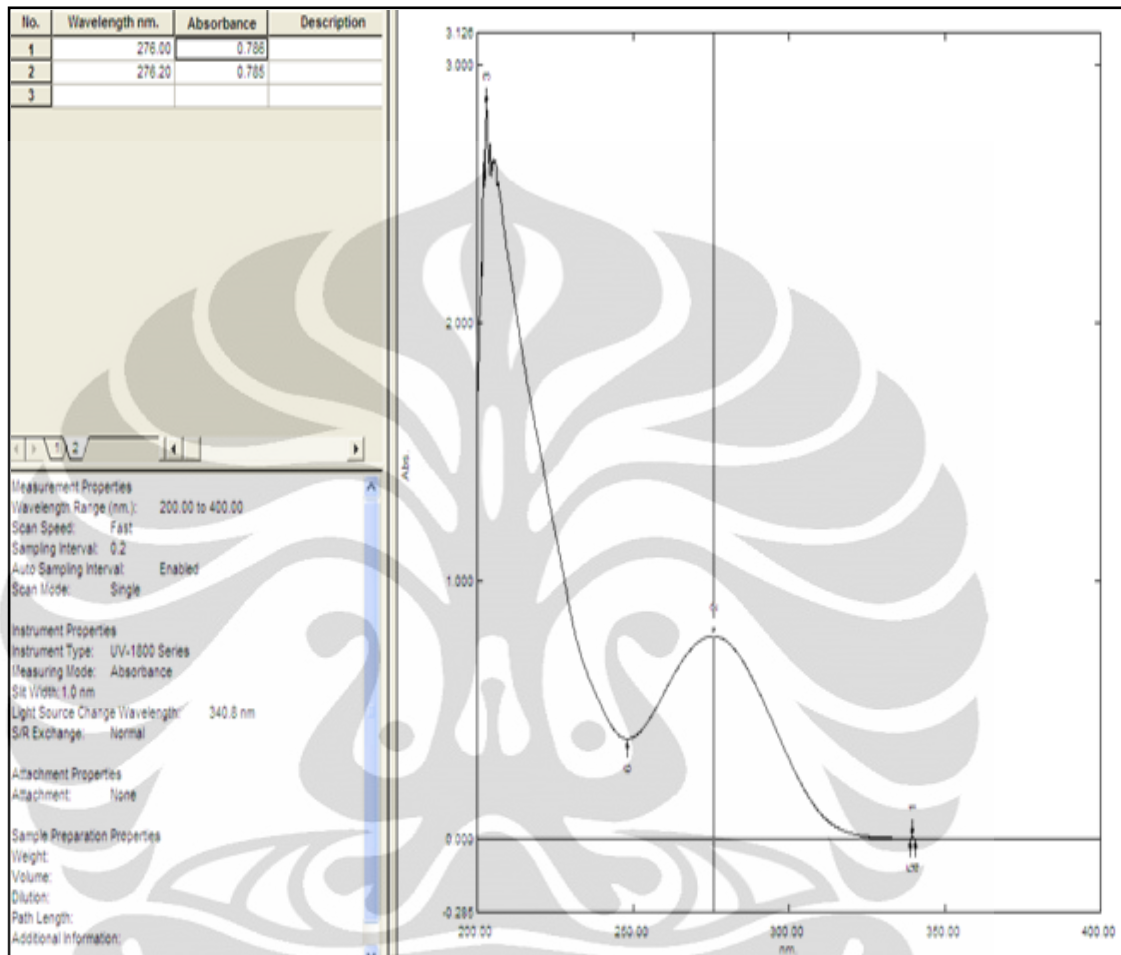


Lampiran 3.
Grafik perlekatan mukoadhesif masing-masing formula mikrosfer pada usus tikus



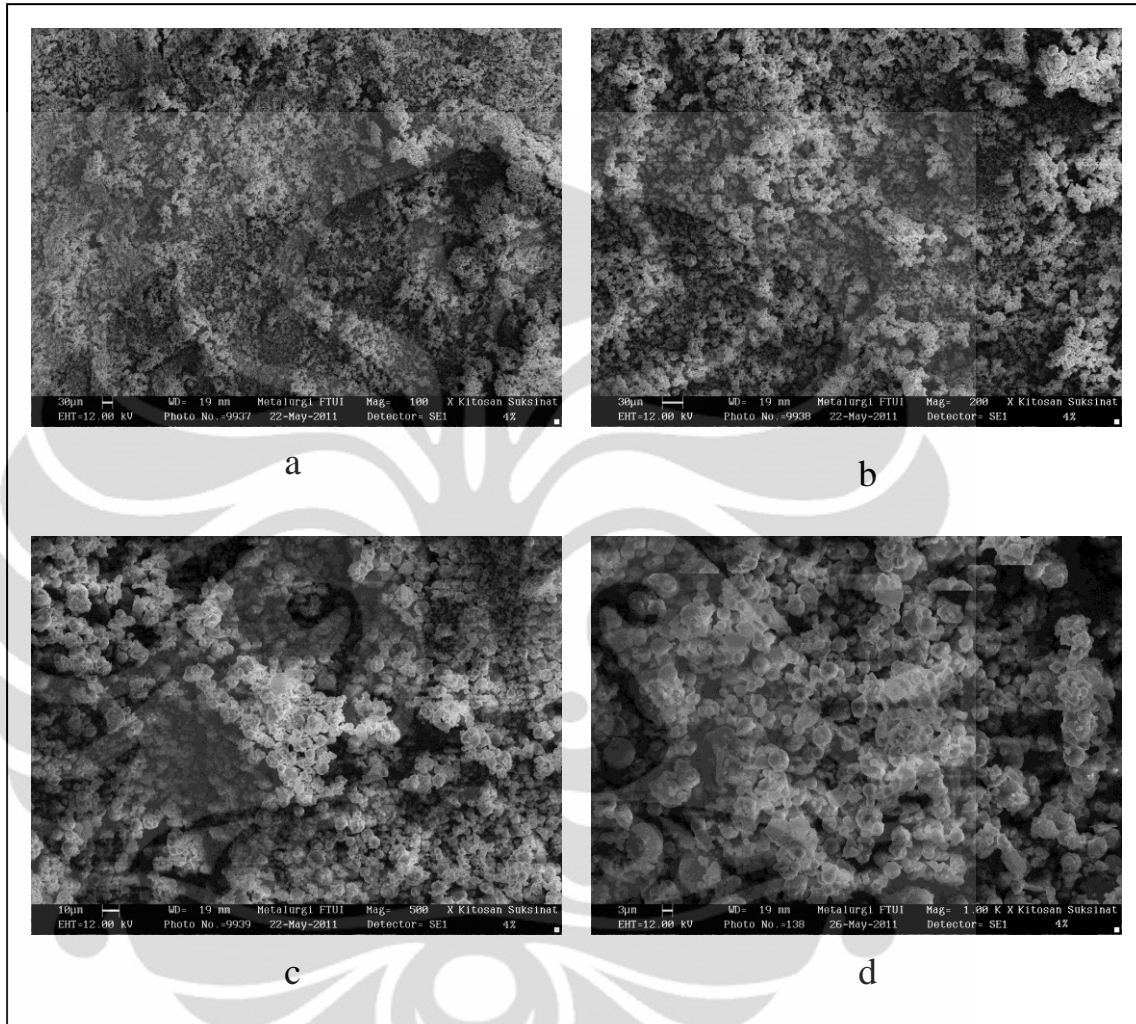
Lampiran 4.

Kurva serapan natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4



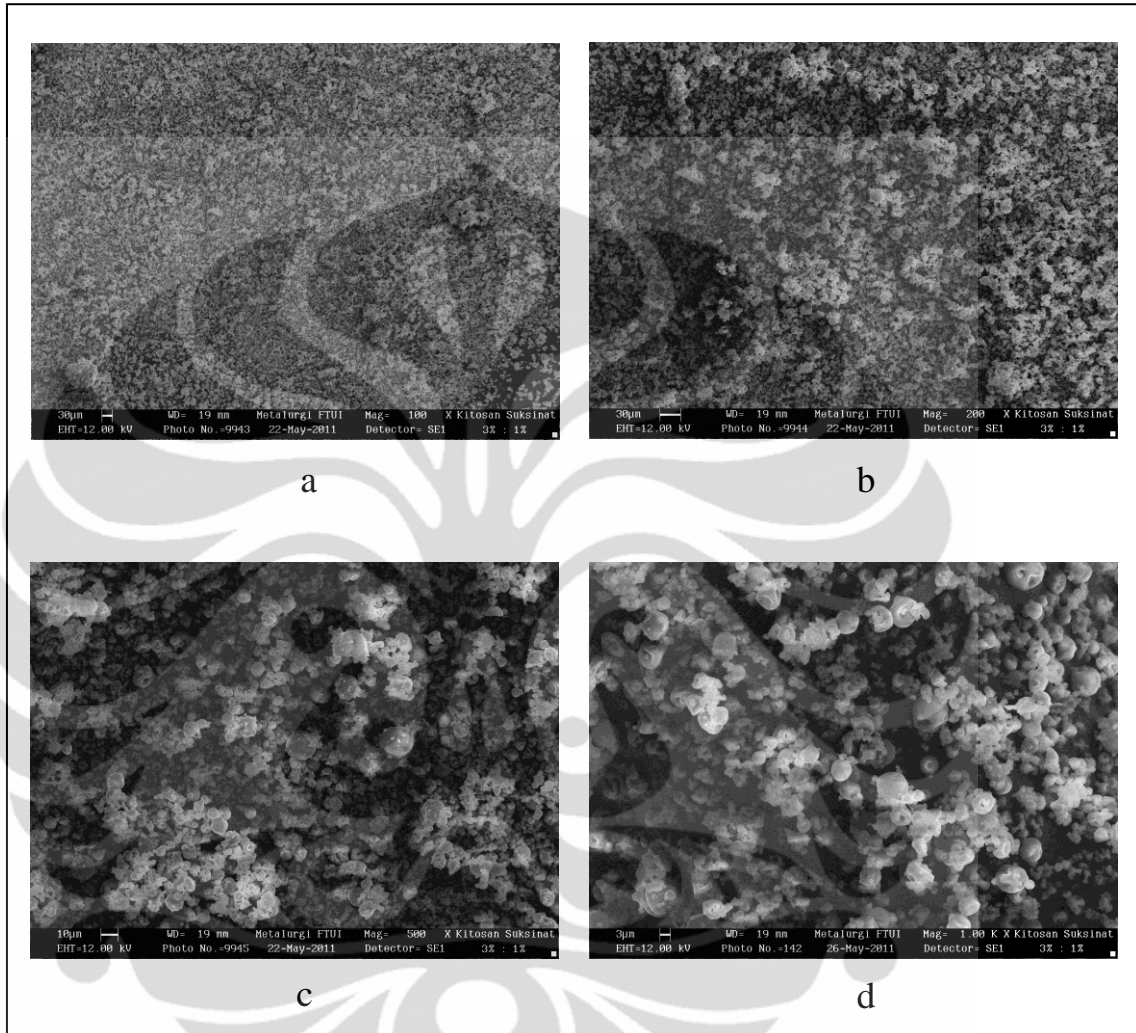
Lampiran 5.

Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula A dengan perbesaran a. 100 x, b. 200 x, c. 500 x, dan d. 1000 x



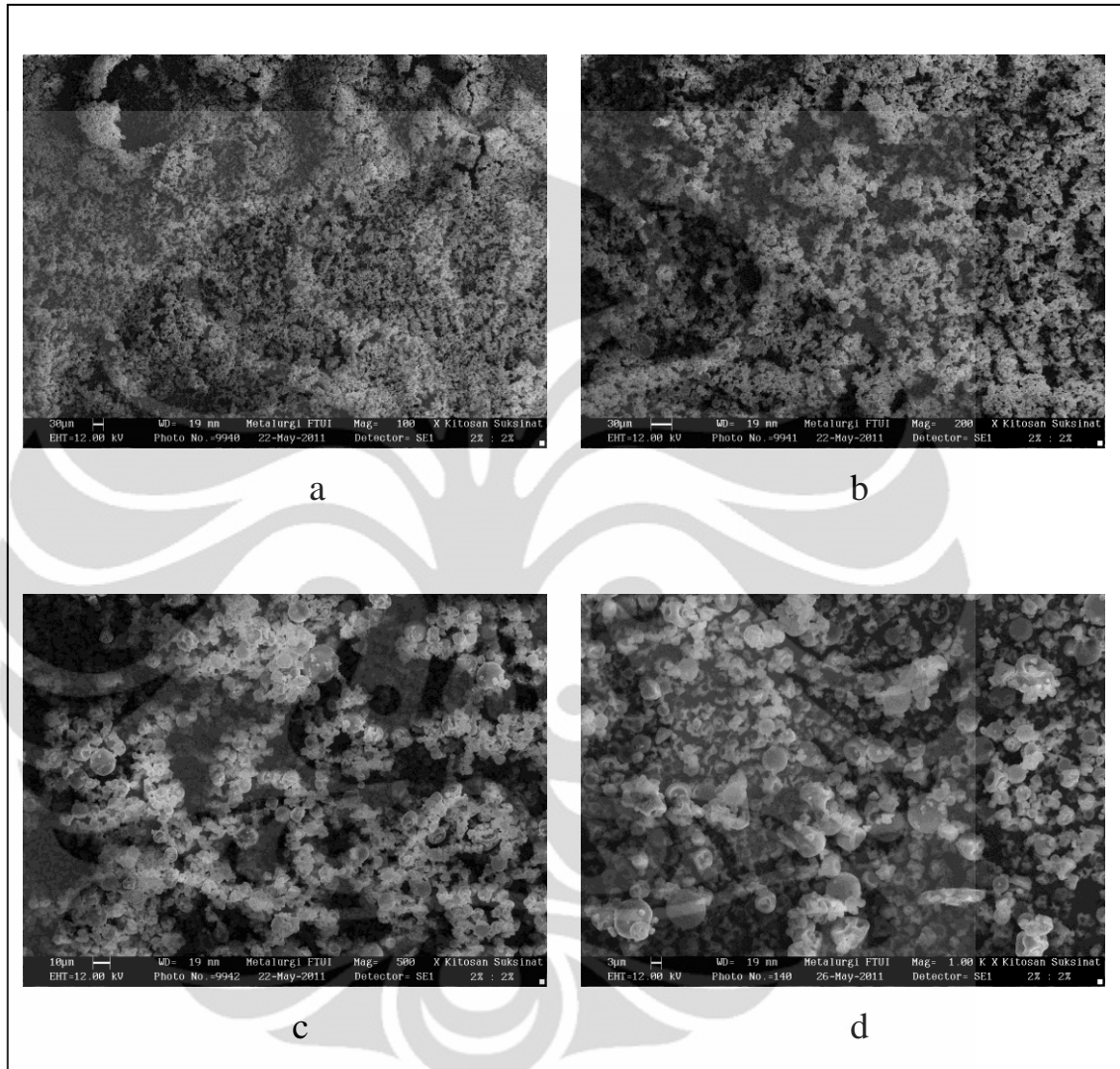
Lampiran 6.

Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula B dengan perbesaran a. 100 x, b. 200 x, c. 500 x, dan d. 1000 x



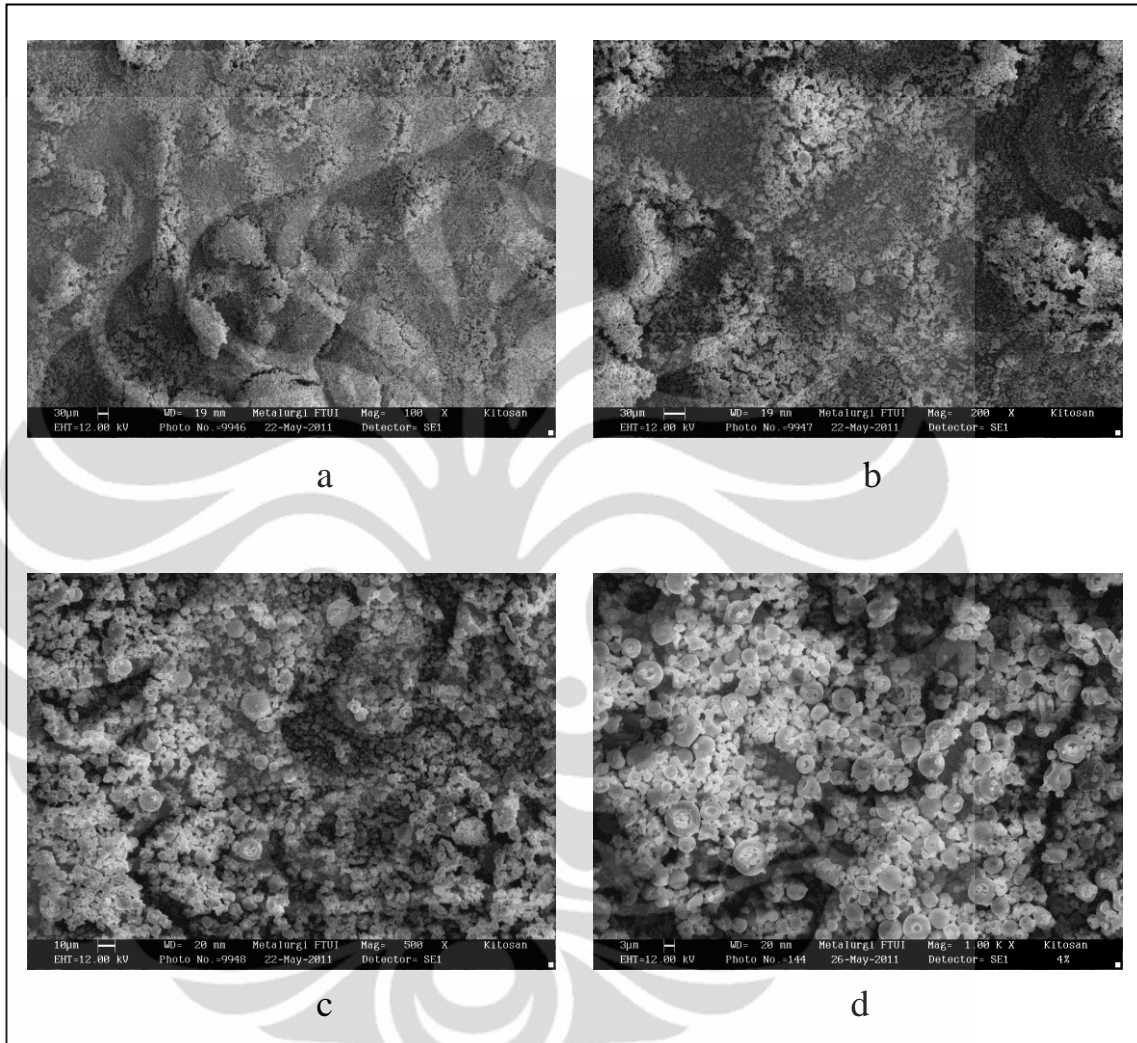
Lampiran 7.

Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula C dengan perbesaran a. 100 x, b. 200 x, c. 500 x, dan d. 1000 x

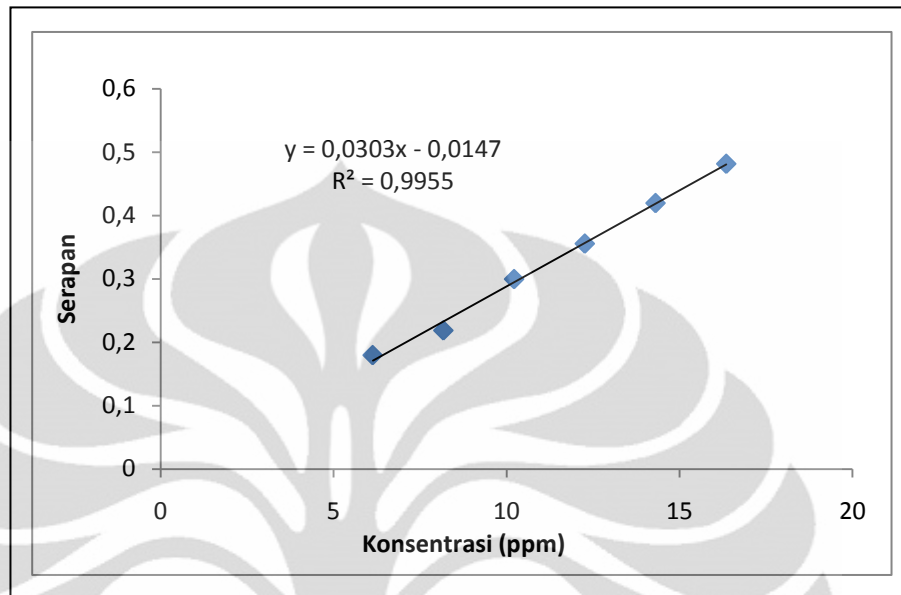


Lampiran 8.

Mikrograf mikrosfer mukoadhesif formula D dengan perbesaran a. 100 x, b. 200 x, c. 500 x, dan d. 1000 x



Lampiran 9.
Kurva kalibrasi natrium diklofenak dalam dapar fosfat pH 7,4





Lampiran 10.
Alat-alat yang digunakan selama penelitian

Lampiran 11.

Tabel pembakuan HCl 1 N dengan boraks

Berat boraks (mg)	Volume HCl (ml)	Normalitas HCl (N)
602,1	3,16	0,9992
601,4	3,18	0,9918
601,9	3,18	0,9926

Lampiran 12.

Tabel pembakuan NaOH 1N dengan KHP

Berat KHP (mg)	Volume NaOH (ml)	Normalitas NaOH (N)
501,4	2,48	0,9899
501,1	2,40	1,022
500,5	2,40	1,021

Lampiran 13.

Tabel penetapan derajat substitusi secara titrasi asam basa

Berat kitosan suksinat	Volume NaOH (ml)	Volume HCl (ml)	Derajat substitusi (mol/g)	Rata-rata \pm SD
101,2	10,0	10,20	2,0	
100,2	10,0	10,20	2,0	2,0 \pm 0,00
101,4	10,0	10,20	2,0	

Lampiran 14.

Tabel viskositas kitosan suksinat dalam 0,037% NH₄OH

Formula	Spindel	Kec (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor koreksi(Fk)	Viskositas (dr x Fk)	Rata-rata (cps)
4 %		2	30	100	3000	
Kitosan Suksinat	1	2,5	34,5	80	2760	1736,5
		5	38,5	40	1540	

		10	47,5	20	950	
		20	65	10	650	
		20	64,5	10	645	
		10	50	20	1000	
		5	37,5	40	1500	
		2,5	31,5	80	2520	
		2	28	100	2800	
		1	24	200	4800	
		2	31,5	100	3150	
		2,5	36	80	2880	
		5	50	40	2000	
		10	65	20	1300	
6 %		20	98	10	980	
Kitosan	1	20	98	10	980	2327,5
Suksinat		10	59	20	1180	
		5	45	40	1940	
		2,5	29	80	2320	
		2	26	100	2600	
		1	19	200	3800	
		1	5,5	2000	11000	
		2	9	1000	9000	
		2,5	10	800	8000	
		5	12	400	4800	
		10	14,5	200	2900	
8%		20	21	100	2100	
Kitosan	3	20	17	100	1700	5250
Suksinat		10	11	200	2200	
		5	8,5	400	3500	
		2,5	6	800	4800	
		2	5	1000	5000	
		1	4	2000	8000	

Lampiran 15.

Tabel pH kitosan suksinat dalam berbagai konsentrasi

Berat kitosan suksinat (mg)	Konsentrasi larutan (%)	pH
50,1	0,5	6,85
100,8	1	6,81
202,4	2	6,79
302,4	3	6,8
403	4	6,77
501,2	5	6,79

Lampiran 16.

Tabel indeks mengembang kitosan suksinat dalam larutan HCl pH 1,2

Berat gelas ukur kosong (g)	Berat gelas ukur + polimer (g)	Berat akhir (g)	Indeks mengembang	Rata – rata \pm SD
27,1977	27,698	30,2503	5,1015	5,4397 \pm 0,36
29,9439	30,445	33,3579	5,8130	
30,1422	30,6443	33,3579	5,4045	

Lampiran 17.

Tabel indeks mengembang kitosan suksinat dalam larutan fosfat pH 7,4

Berat gelas ukur kosong (g)	Berat gelas ukur + polimer (g)	Berat akhir (g)	Indeks mengembang	Rata – rata \pm SD
30,2727	30,7735	33,4567	5,3578	5,3182 \pm 0,18
30,3262	30,8269	33,5688	5,4761	
30,1411	30,6415	33,2039	5,1207	

Lampiran 18.

Tabel kompresibilitas serbuk kitosan suksinat dibandingkan dengan kitosan

Keterangan		Kitosan	Kitosan suksinat
Volume (ml)	Awal	50	50
	Akhir	41	38
Indeks kompresibilitas		18%	24%
Hausner ratio		1,22	1,32
Berat (g)	Awal	9,25	9,21
	Akhir	8,55	8,48
Kerapatan bulk		0,2085	0,223

Lampiran 19.

Tabel viskositas formula mikrosfer mukoadhesif

Formula	Spindel	Kec (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor koreksi (Fk)	Viskositas (dr x Fk)	Rata-rata (cps)
A	1	2	30	100	3000	1736,5
		2,5	34,5	80	2760	
		5	38,5	40	1540	
		10	47,5	20	950	
		20	65	10	650	
		20	64,5	10	645	
		10	50	20	1000	
		5	37,5	40	1500	
		2,5	31,5	80	2520	
		2	28	100	2800	
B	1	2	7	100	700	361,67
		2,5	8	80	640	
		5	11,5	40	460	
		10	17	20	340	
		20	27	10	270	

		50	47,5	4	190	
		50	45	4	180	
		20	21	10	210	
		10	12,5	20	250	
		5	7,5	40	300	
		2,5	5	80	400	
		2	4	100	400	
<hr/>						
C	1	2	4	100	400	
		2,5	5	80	400	
		5	7	40	280	
		10	9	20	180	
		20	12	10	120	
		50	25	4	100	
		50	24,5	4	98	182,33
		20	8	10	80	
		10	5	20	100	
		5	3	40	120	
		2,5	2	80	160	
		2	1,5	100	150	
<hr/>						
D	1	2	3	100	300	
		2,5	4	80	320	
		5	5,5	40	220	
		10	9,5	20	190	
		20	17	10	170	
		50	41	4	164	
		50	41	4	164	238,16
		20	17	10	170	
		10	9,5	20	190	
		5	5,5	40	220	
		2,5	5	80	400	
		2	3,5	100	350	
<hr/>						

Lampiran 20.

Tabel uji perolehan kembali pembuatan mikrosfer mukoadhesif dengan metode semprot kering

Formula	Wo (g)	Wt (g)	Wp (%)
A	8,80	4,17	47,38
B	8,81	4,43	50,28
C	8,81	4,68	53,12
D	8,85	2,15	24,29

Lampiran 21.

Tabel indeks mengembang mikrosfer mukoadhesif dalam larutan HCl pH 1,2

Formula	Berat tabung kosong (gr)	Berat mikrosfer (gr)	Berat akhir (gr)	Indeks mengembang	Rata-rata \pm SD
A	6,669	0,0509	6,9339	4,3220	3,7225 \pm 0,69
	6,849	0,0513	7,0998	3,8899	
	6,936	0,0507	7,1365	2,9556	
B	7,507	0,0536	7,7595	3,7108	4,0865 \pm 0,49
	7,367	0,0532	7,6275	3,8966	
	7,347	0,0512	7,6364	4,6523	
C	6,823	0,0516	7,1925	6,6109	5,5415 \pm 1,02
	6,699	0,0536	7,0443	5,4235	
	6,809	0,0505	7,0913	4,5901	
D	6,763	0,0525	7,1097	5,6038	4,4466 \pm 1,15
	7,484	0,0518	7,7064	3,2934	
	6,851	0,0515	7,1313	4,4427	

Lampiran 22.

Tabel indeks mengembang mikrosfer mukoadhesif dalam larutan fosfat pH 7,4

Formula	Berat tabung kosong (gr)	Berat mikrosfer (gr)	Berat akhir (gr)	Indeks mengembang	Rata-rata \pm SD
A	6,724	0,0503	7,2166	8,7932	8,0394 \pm 0,69
	6,840	0,0545	7,3252	7,9028	
	6,911	0,0528	7,3557	7,4223	
B	7,450	0,0522	7,9259	8,1169	8,0450 \pm 0,40
	7,366	0,0506	7,8018	7,6126	
	7,387	0,0530	7,8855	8,4057	
C	6,862	0,0510	7,1782	5,2000	5,2059 \pm 0,45
	6,718	0,0586	7,0551	4,7526	
	6,772	0,0520	7,1186	5,6654	
D	6,764	0,0518	7,3152	9,6409	9,5064 \pm 0,32
	7,498	0,0516	8,0518	9,7326	
	6,768	0,0528	7,3037	9,1458	

Lampiran 23.

Kekuatan perlekatan mikrosfer mukoadhesif pada mukosa usus tikus

Formula	Gaya (gF)	Rata-rata \pm SD
A	7,4	6,87 \pm 0,46
	6,8	
	6,3	
	7,0	
B	6,2	7,10 \pm 0,61
	7,4	
	7,5	
	7,3	
C	7,3	7,07 \pm 0,33
	6,9	
	6,7	
	7,4	
D	8,2	7,33 \pm 1,03
	6,2	
	8,2	
	6,7	

Lampiran 24.

Kurva serapan natrium diklofenak dalam medium dapar fosfat pH 7,4 pada λ 276 nm

No	Konsentrasi (ppm)	Serapan
1.	6,132	0,180
2.	8,176	0,219
3.	10,220	0,300
4.	12,264	0,356
5.	14,308	0,420
6	16,352	0,482

$$a = -0,01468$$

$$b = 0,03032$$

$$r = 0,09977$$

Persamaan regresi linear :

$$y = -0,01468 + 0,03032 x$$

Lampiran 25.

Tabel efisiensi penyerapan mikrosfer mukoadhesif

Formula	Jumlah mikrosfer yang ditimbang (mg)	Jumlah natrium diklofenak dalam mikrosfer (mg)	Jumlah kandungan obat dalam mikrosfer teoritis	Efisiensi penyerapan (%)	Rata-rata \pm SD (%)
A	213,3	7,31	9,69	75,44	74,83 \pm 1,49
	212,0	7,44	9,80	75,92	
	215,7	7,05	9,64	73,13	
B	214,5	13,21	9,75	135,48	126,54 \pm 8,60
	223,5	12,78	10,16	125,78	
	231,4	12,45	10,52	118,35	
C	216,6	10,84	9,85	110,05	108,20 \pm 4,68
	224,0	11,37	10,18	111,68	
	221,4	10,35	10,06	102,88	
D	114,2	1,61	5,19	31,02	35,29 \pm 4,17
	117,6	1,90	5,35	35,51	
	115,8	2,07	5,26	39,35	

Lampiran 26.

Tabel pelepasan kumulatif natrium diklofenak secara *in vitro* dalam medium asam (dapar klorida pH 1,2) dan medium basa (dapar fosfat pH 7,4)

Waktu (menit)	Pelepasan kumulatif natrium diklofenak dari mikrosfer (% w/w)									
	Formula									
	A		B		C		D			
0	0		0		0		0		0	
120 asam	25,03	± 2,38	18,54	± 1,18	14,16	± 3,32	32,94	± 4,23		
135	38,26	± 7,93	23,31	± 1,23	17,81	± 3,48	45,40	± 11,53		
150	44,95	± 7,74	25,91	± 2,01	20,81	± 4,42	47,94	± 10,88		
165	51,88	± 4,71	29,63	± 2,50	24,73	± 4,80	51,20	± 8,51		
180	58,14	± 1,28	33,54	± 2,62	29,26	± 4,78	55,56	± 7,04		
210	68,93	± 4,09	39,63	± 3,10	37,72	± 5,22	62,55	± 2,59		
240	78,17	± 7,75	43,62	± 2,29	43,97	± 4,30	71,55	± 1,40		
300	94,40	± 12,36	56,76	± 4,04	53,92	± 4,54	82,43	± 3,95		
360	104,67	± 10,94	70,19	± 3,33	63,28	± 4,63	92,13	± 4,24		
420	107,71	± 7,40	82,35	± 3,08	72,26	± 5,61	98,69	± 4,48		
480	111,31	± 5,48	94,44	± 2,90	80,76	± 6,24	103,75	± 3,09		
540	109,44	± 1,98	103,05	± 2,01	87,84	± 4,86	108,07	± 3,07		
600	110,23	± 3,65	107,43	± 1,60	92,93	± 4,41	111,70	± 5,47		

Lampiran 27.

Tabel data kelarutan kitosan suksinat semikuantitatif

Medium	Berat kitosan suksinat (mg)	Serapan (228 nm)	C (ppm)	C x faktor pengenceran	Jumlah kitosan suksinat yang terlarut (g/100 ml)
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
Air destilata	50,2	0,025	77,653	310,615	0,031
Medium fosfat pH 6,8	51,6	0,091	282,66	1130,639	0,113
Medium 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 standar : 51,5 mg

Konsentrasi 5150 ppm

Serapan standar pada 228 nm : 1,658

Faktor pengenceran : 4

Lampiran 28.

Perhitungan pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer mukoadhesif

Jumlah pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer (mg) :

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

$$\text{b. Menit ke 30} = \frac{(Y_{30}-\alpha) \times fp \times M}{b \times 1000} + \frac{(Y_{15}-\alpha) \times fp \times s}{b \times 1000}$$

$$\text{c. Menit ke 45} = \frac{(Y_{45}-\alpha) \times fp \times M}{b \times 1000} + \frac{(Y_{30}-\alpha) \times fp \times s}{b \times 1000} + \frac{(Y_{15}-\alpha) \times fp \times s}{b \times 1000}$$

$$\text{d. Menit ke 480} = \frac{(Y_{480}-\alpha) \times fp \times M}{b \times 1000} + \dots \dots \dots + \frac{(Y_{15}-\alpha) \times fp \times s}{b \times 1000}$$

Keterangan :

Y = serapan natrium diklofenak

Y_{15} = serapan natrium diklofenak pada menit ke-15 (berlaku untuk Y_{30} , Y_{45} dst)

fp = faktor pengenceran

M = volume medium yang digunakan (200 ml)

S = volume sampel yang diambil tiap titik (10 ml)

a = koefisien intersep

b = slope

Lampiran 29.
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 30.
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 31.
Sertifikat analisis natrium diklofenak (1 dari 3)

 **PT INDOFARMA Tbk.**
Untuk kehidupan yang lebih baik | for the betterment of life

Commercial Office :
Jln. Tambak No. 2, Manggarai, Jakarta 13150
Tel. : (021) 85908349
Fax. : (021) 8517223

Head Office and Factory :
Jl. Indofarma No. 1, Cikarang Barat 17530
Jawa Barat PO Box : 4111/Jkt 10041 Indonesia
Phone : (021) 88323971, 88323975
Fax. : (021) 88323972 / 73
E-mail : general@indofarmagroup.com
http : www.indofarmagroup.com

 
Certificate No. ID0310102

TANDA TERIMA


Telah diserahkan bahan baku beserta COA nya untuk :

No.	Nama Bahan	Jumlah
1.	BA. Sodium Diclofenak - Dinamide	50 Gram

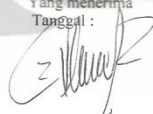
Dipergunakan untuk penelitian program Sarjana Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA-UI
atas nama :

1. Sdr. Koko Prakoso

Alamat :
UNIVERSITAS INDONESIA
Fakultas MIPA Departemen farmasi
Kampus UI Depok

Yang menyerahkan
Tanggal : 

Dra. Desinatri Usman

Yang menerima
Tanggal : 

Sdr. Koko Prakoso

Lampiran 32.
Sertifikat analisis natrium diklofenak (2 dari 3)



DIPHARMA FRANCIS S.r.l.

Certificate of analysis

Manufacturing site
DIPHARMA FRANCIS S.r.l.
Via Bissone 5
20021 Baranzate MI
Italy

Issued
16.03.2010

Code
500277

Ref. DDT.
8100391

Ref. Order
TP/P/III/20100290

Batch Nr. 1000174
Mfg. date 16.12.2009
Release date 22.01.2010
Retest date 15.12.2014
Analysis nr. 4000032072

Buyer 3000087

PT TATARASA PRIMATAMA
RUKO SENTRA NIAGA
11610 JAKARTA
Indonesia

End User 3000087

PT TATARASA PRIMATAMA

Product

DICLOFENAC SODIUM BP/USP

TEST	UM	SPECIFICATIONS	REFERENCES	RESULTS
Appearance	-	A white or slightly yellowish hygroscopic crystalline powder.	EP/USP	Conform to description
Identification : IR Spectrum	-	Positive	EP/USP	Positive
Reaction of Sodium	-	Positive	EP/USP	Positive
Identification by TLC	-	Positive	EP	Positive
Identification by HPLC	-	Positive	USP	Positive
Appearance of solution	-	Conform	EP/USP	Conform
Absorbance of solution	-	max 0,050	EP/USP	0,003
Heavy Metals	ppm	max 10	EP/USP	< 10
Loss on drying	%	max 0,5	EP/USP	0,1
Water (KF)	%	max 0,5	Company	0,0
pH	%	7,0 - 8,5	USP	7,5
Each other Impurity (TLC)	%	max 0,1	EP/Company	< 0,1
1-(2,6-dichlorophenyl)-2-indolinone HPLC	%	max 0,05	EP/USP	0,02
Impurity E EP (HPLC)	%	max 0,1	EP/USP	< 0,0
Impurity Dik/7 (HPLC)*	%	max 0,1	EP/USP	< 0,0
Impurity Dik/6 (HPLC)*	%	max 0,1	EP/USP	< 0,0
Each other known impurity (HPLC)	%	max 0,1	EP/USP	< 0,0
Each unknown impurity (HPLC)	%	max 0,10	EP/USP	0,02
Total Impurities (HPLC)	%	max 0,3	EP/USP	0,0
Assay (potentiometric)	%	99,0 - 101,0	EP/USP	100,8
Isopropanol (GC)	µg/g	max 500	Company	18
Ethyl Acetate (GC)	µg/g	max 100	Company	< 10
Toluene (GC)	µg/g	max 890	Company	< 10

Pg. 1/2

Lampiran 33.
Sertifikat analisis natrium diklofenak (3 dari 3)

Since 1949
Dipharma

DIPHARMA FRANCIS S.r.l.

Certificate of analysis	Buyer
<p>Manufacturing site DIPHARMA FRANCIS S.r.l. Via Bissone 5 20021 Beranzate MI Italy</p> <p>Issued 16.03.2010</p> <p>Code 500277</p> <p>Ref. DDT. 8100391</p> <p>Ref. Order TP/P/III/20100290</p> <p>Batch Nr. 1000174 Mfg. date 16.12.2009 Release date 22.01.2010 Retest date 15.12.2014 Analysis nr. 40000032072</p>	<p>3000087</p> <p>PT TATARASA PRIMATAMA RUKO SENTRA NIAGA 11610 JAKARTA Indonesia</p> <p>End User 3000087 PT TATARASA PRIMATAMA</p>
<p>Product</p> <p>DICLOFENAC SODIUM BP/USP</p>	

TEST	UM	SPECIFICATIONS	REFERENCES	RESULTS
<p>Diclofenac Sodium USP EP</p> <p>* DIK/6 = N-Phenyl 2,6-Dichloroaniline * DIK/7 = N-Chloroacetyl-N-phenyl-2,6-Dichloroaniline</p> <p>Residual Solvents (as per USP 467): We can certify that there is no potential for specific toxic solvents (class 1) to be present and that material, if tested, will comply with established standards.</p>				

Pg. 2/2

Quality Control *[Signature]*
Quality Assurance *[Signature]*

Lampiran 34.
Sertifikat tikus putih yang ususnya digunakan untuk uji daya perlekatan



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

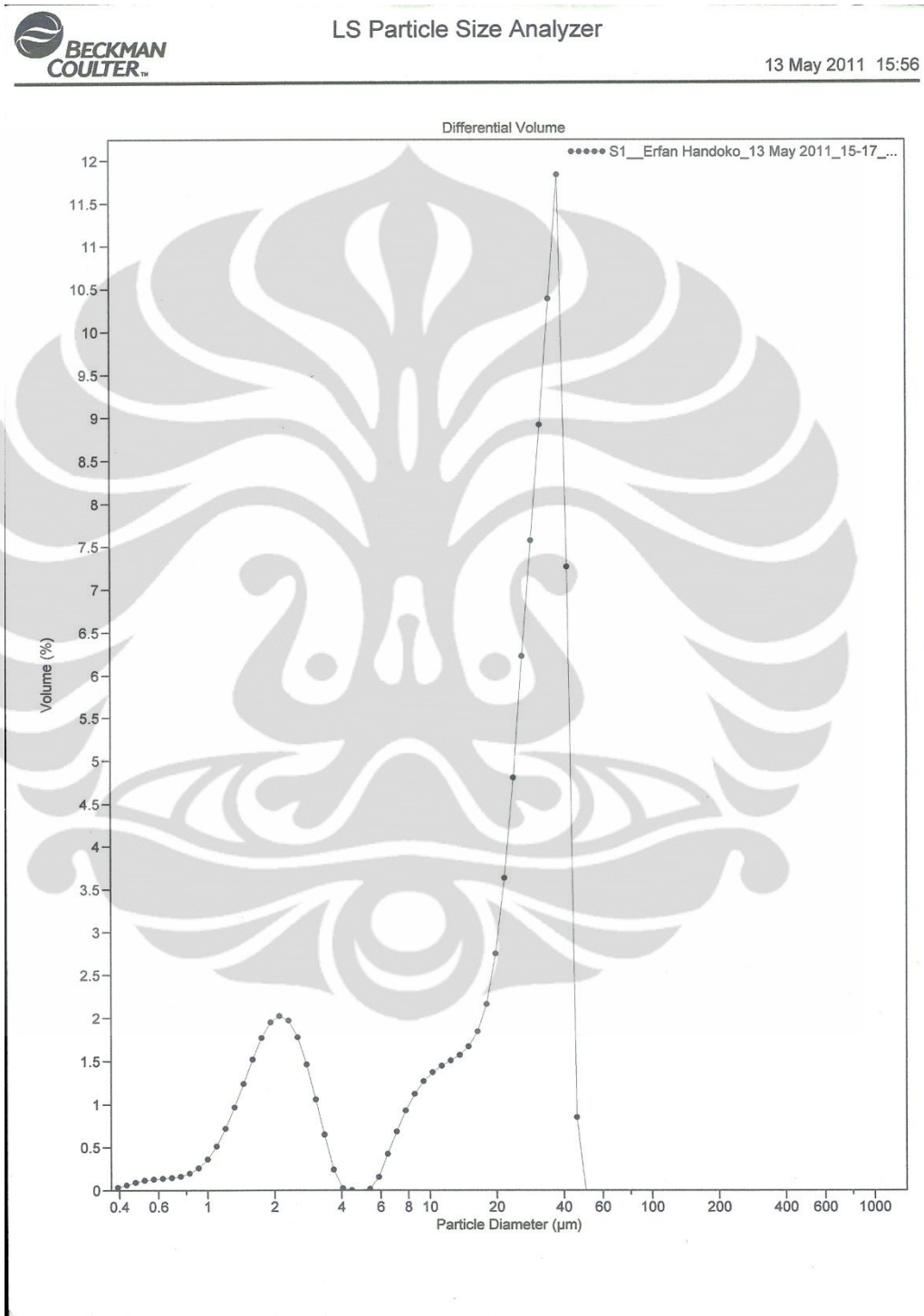
Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Non Ruminansia dan Satwa Harapan, Fakultas Peternakan IPB, telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Kepala,

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

Lampiran 35.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (1 dari 3)



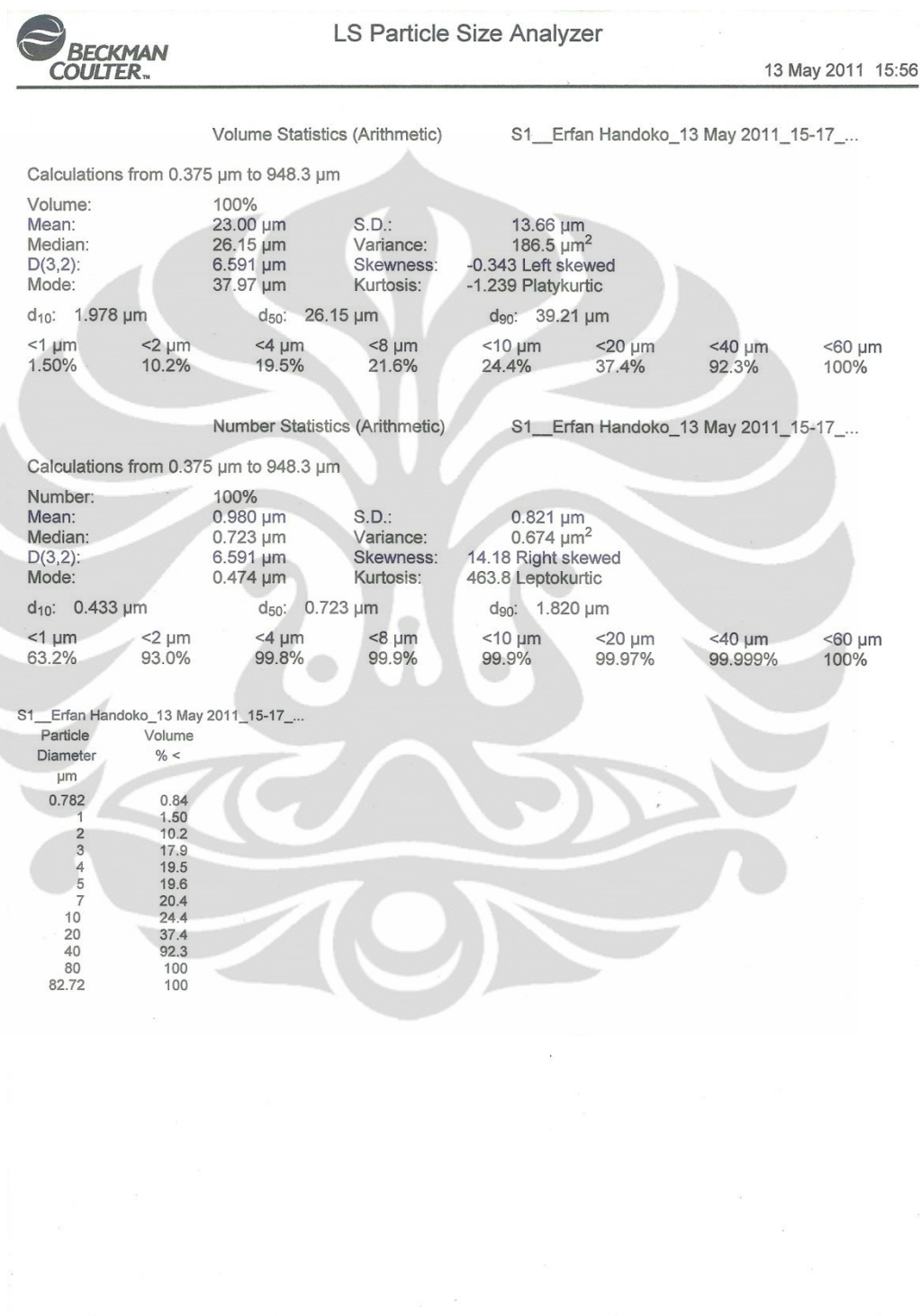
Lampiran 36.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (2 dari 3)



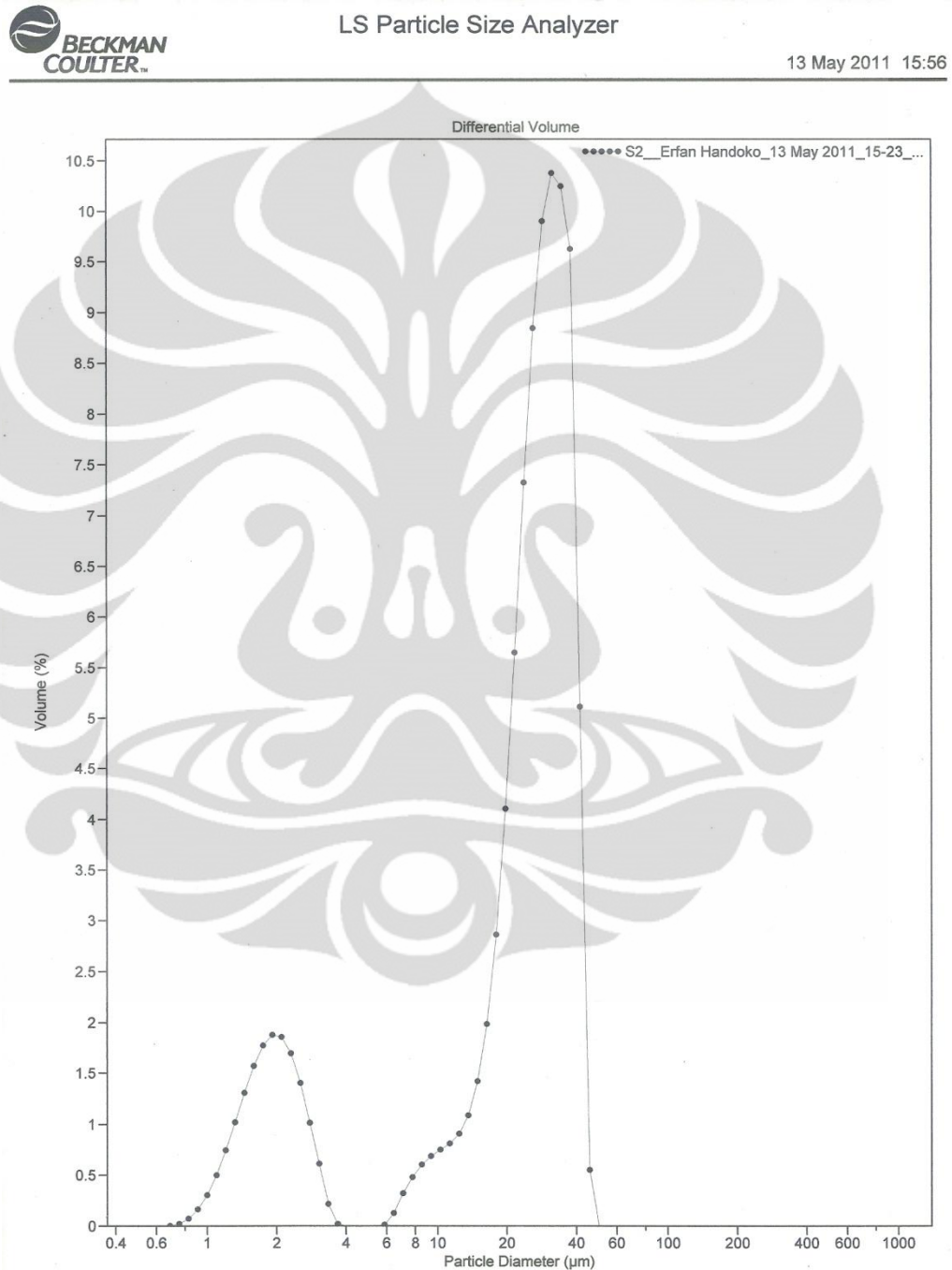
S1__Erfan Handoko_13 May 2011_15-17_...

Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %	Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %
1	0.375	0.032	5.75	61	101.1	0	0
2	0.412	0.059	7.94	62	111.0	0	0
3	0.452	0.092	9.29	63	121.8	0	0
4	0.496	0.11	8.75	64	133.7	0	0
5	0.545	0.13	7.40	65	146.8	0	0
6	0.598	0.14	5.96	66	161.2	0	0
7	0.656	0.14	4.77	67	176.9	0	0
8	0.721	0.16	4.01	68	194.2	0	0
9	0.791	0.19	3.68	69	213.2	0	0
10	0.868	0.26	3.67	70	234.0	0	0
11	0.953	0.36	3.89	71	256.9	0	0
12	1.047	0.51	4.19	72	282.1	0	0
13	1.149	0.72	4.43	73	309.6	0	0
14	1.261	0.97	4.51	74	339.9	0	0
15	1.384	1.24	4.38	75	373.1	0	0
16	1.520	1.52	4.06	76	409.6	0	0
17	1.668	1.77	3.57	77	449.7	0	0
18	1.832	1.95	2.97	78	493.6	0	0
19	2.011	2.03	2.34	79	541.9	0	0
20	2.207	1.97	1.72	80	594.8	0	0
21	2.423	1.78	1.17	81	653.0	0	0
22	2.660	1.46	0.73	82	716.8	0	0
23	2.920	1.06	0.40	83	786.9	0	0
24	3.205	0.65	0.18	84	863.9	0	0
25	3.519	0.24	0.051		948.3		
26	3.863	0.022	0.0036				
27	4.240	0.000005	0.000001				
28	4.655	0	0				
29	5.110	0.014	0.00095				
30	5.610	0.15	0.0082				
31	6.158	0.42	0.017				
32	6.760	0.68	0.021				
33	7.421	0.93	0.021				
34	8.147	1.12	0.019				
35	8.943	1.27	0.017				
36	9.818	1.37	0.014				
37	10.78	1.45	0.011				
38	11.83	1.51	0.0085				
39	12.99	1.57	0.0067				
40	14.26	1.67	0.0054				
41	15.65	1.85	0.0045				
42	17.18	2.17	0.0040				
43	18.86	2.75	0.0038				
44	20.71	3.64	0.0038				
45	22.73	4.81	0.0038				
46	24.95	6.22	0.0038				
47	27.39	7.57	0.0035				
48	30.07	8.92	0.0031				
49	33.01	10.4	0.0027				
50	36.24	11.8	0.0023				
51	39.78	7.26	0.0011				
52	43.67	0.85	0.000096				
53	47.94	0	0				
54	52.62	0	0				
55	57.77	0	0				
56	63.41	0	0				
57	69.61	0	0				
58	76.42	0	0				
59	83.89	0	0				
60	92.09	0	0				

Lampiran 37.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (3 dari 3)



Lampiran 38.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula B (1 dari 3)



Lampiran 39.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula B (2 dari 3)



LS Particle Size Analyzer

13 May 2011 15:56

S2__Erfan Handoko_13 May 2011_15-23_...

Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %	Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %
1	0.375	0	0	61	101.1	0	0
2	0.412	0	0	62	111.0	0	0
3	0.452	0	0	63	121.8	0	0
4	0.496	0	0	64	133.7	0	0
5	0.545	0	0	65	146.8	0	0
6	0.598	0	0	66	161.2	0	0
7	0.656	0.0016	0.12	67	176.9	0	0
8	0.721	0.020	1.22	68	194.2	0	0
9	0.791	0.072	3.29	69	213.2	0	0
10	0.868	0.16	5.59	70	234.0	0	0
11	0.953	0.30	7.87	71	256.9	0	0
12	1.047	0.50	9.78	72	282.1	0	0
13	1.149	0.74	11.0	73	309.6	0	0
14	1.261	1.02	11.4	74	339.9	0	0
15	1.384	1.31	11.1	75	373.1	0	0
16	1.520	1.57	10.1	76	409.6	0	0
17	1.668	1.77	8.58	77	449.7	0	0
18	1.832	1.88	6.87	78	493.6	0	0
19	2.011	1.86	5.14	79	541.9	0	0
20	2.207	1.69	3.54	80	594.8	0	0
21	2.423	1.40	2.22	81	653.0	0	0
22	2.660	1.02	1.21	82	716.8	0	0
23	2.920	0.61	0.55	83	786.9	0	0
24	3.205	0.22	0.15	84	863.9	0	0
25	3.519	0.018	0.0092		948.3		
26	3.863	0	0				
27	4.240	0	0				
28	4.655	0	0				
29	5.110	0	0				
30	5.610	0.011	0.0014				
31	6.158	0.12	0.012				
32	6.760	0.32	0.023				
33	7.421	0.48	0.026				
34	8.147	0.60	0.025				
35	8.943	0.69	0.022				
36	9.818	0.75	0.018				
37	10.78	0.81	0.015				
38	11.83	0.91	0.012				
39	12.99	1.09	0.011				
40	14.26	1.42	0.011				
41	15.65	1.99	0.012				
42	17.18	2.87	0.013				
43	18.86	4.11	0.014				
44	20.71	5.65	0.014				
45	22.73	7.33	0.014				
46	24.95	8.85	0.013				
47	27.39	9.91	0.011				
48	30.07	10.4	0.0086				
49	33.01	10.2	0.0064				
50	36.24	9.63	0.0045				
51	39.78	5.12	0.0018				
52	43.67	0.55	0.00015				
53	47.94	0	0				
54	52.62	0	0				
55	57.77	0	0				
56	63.41	0	0				
57	69.61	0	0				
58	76.42	0	0				
59	83.89	0	0				
60	92.09	0	0				

Lampiran 40.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula B (3 dari 3)



LS Particle Size Analyzer

13 May 2011 15:56

Volume Statistics (Arithmetic)

S2__Erfan Handoko_13 May 2011_15-23_...

Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm

Volume: 100%
 Mean: 23.78 μm S.D.: 12.29 μm
 Median: 26.24 μm Variance: 151.0 μm^2
 D(3,2): 7.969 μm Skewness: -0.560 Left skewed
 Mode: 31.50 μm Kurtosis: -0.746 Platykurtic

d₁₀: 2.079 μm d₅₀: 26.24 μm d₉₀: 38.18 μm

<1 μm	<2 μm	<4 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
0.41%	9.24%	16.2%	17.0%	18.5%	30.8%	94.6%	100%

Number Statistics (Arithmetic)

S2__Erfan Handoko_13 May 2011_15-23_...

Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm

Number: 100%
 Mean: 1.507 μm S.D.: 0.986 μm
 Median: 1.381 μm Variance: 0.972 μm^2
 D(3,2): 7.969 μm Skewness: 18.81 Right skewed
 Mode: 1.321 μm Kurtosis: 512.7 Leptokurtic

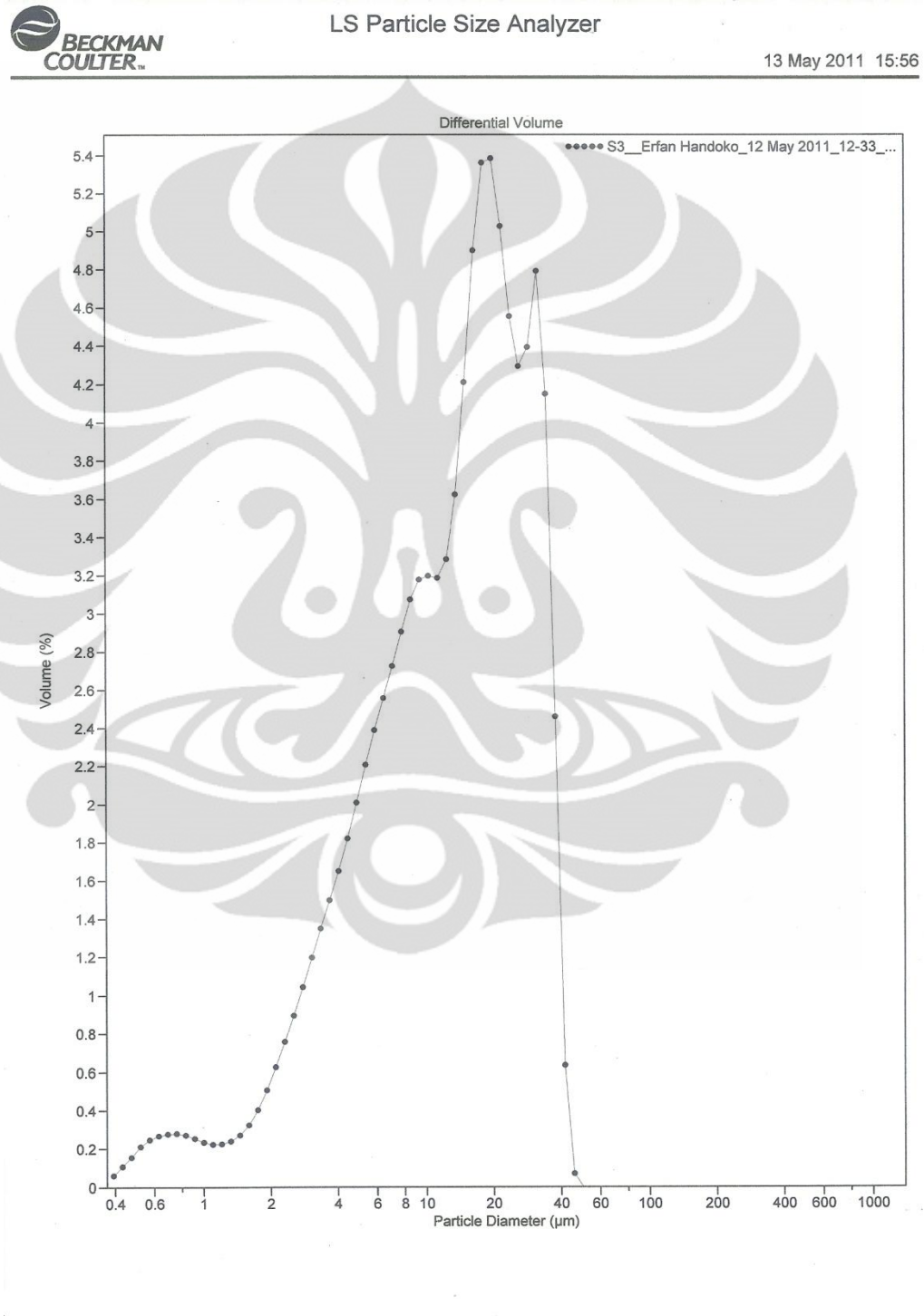
d₁₀: 0.950 μm d₅₀: 1.381 μm d₉₀: 2.129 μm

<1 μm	<2 μm	<4 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
14.2%	86.5%	99.7%	99.8%	99.8%	99.9%	99.998%	100%

S2__Erfan Handoko_13 May 2011_15-23_...

Particle Diameter μm	Volume % <
0.782	0.019
1	0.41
2	9.24
3	15.5
4	16.2
5	16.2
7	16.4
10	18.5
20	30.8
40	94.6
80	100
82.72	100

Lampiran 41.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula C (1 dari 3)



Lampiran 42.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula C (2 dari 3)



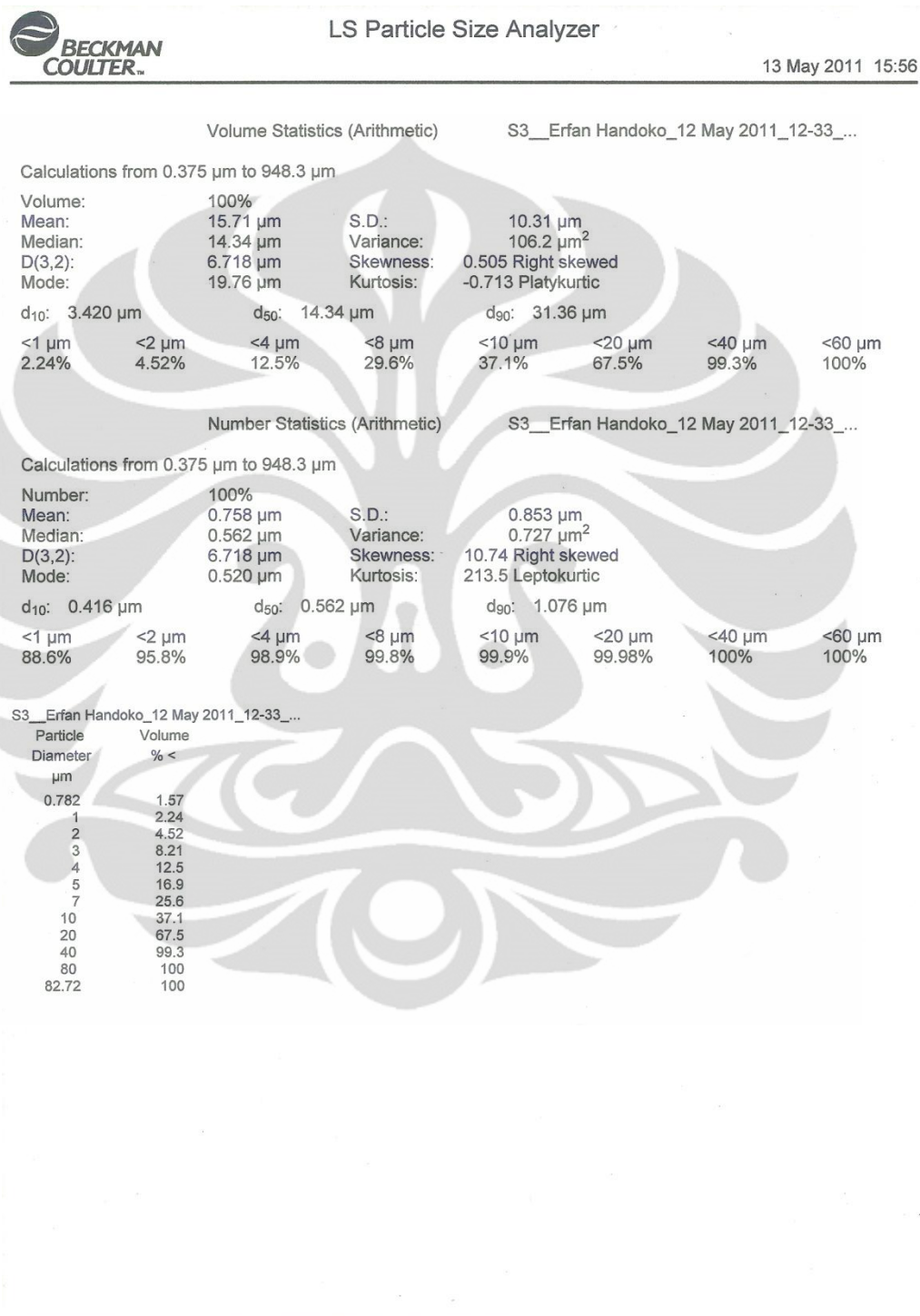
LS Particle Size Analyzer

13 May 2011 15:56

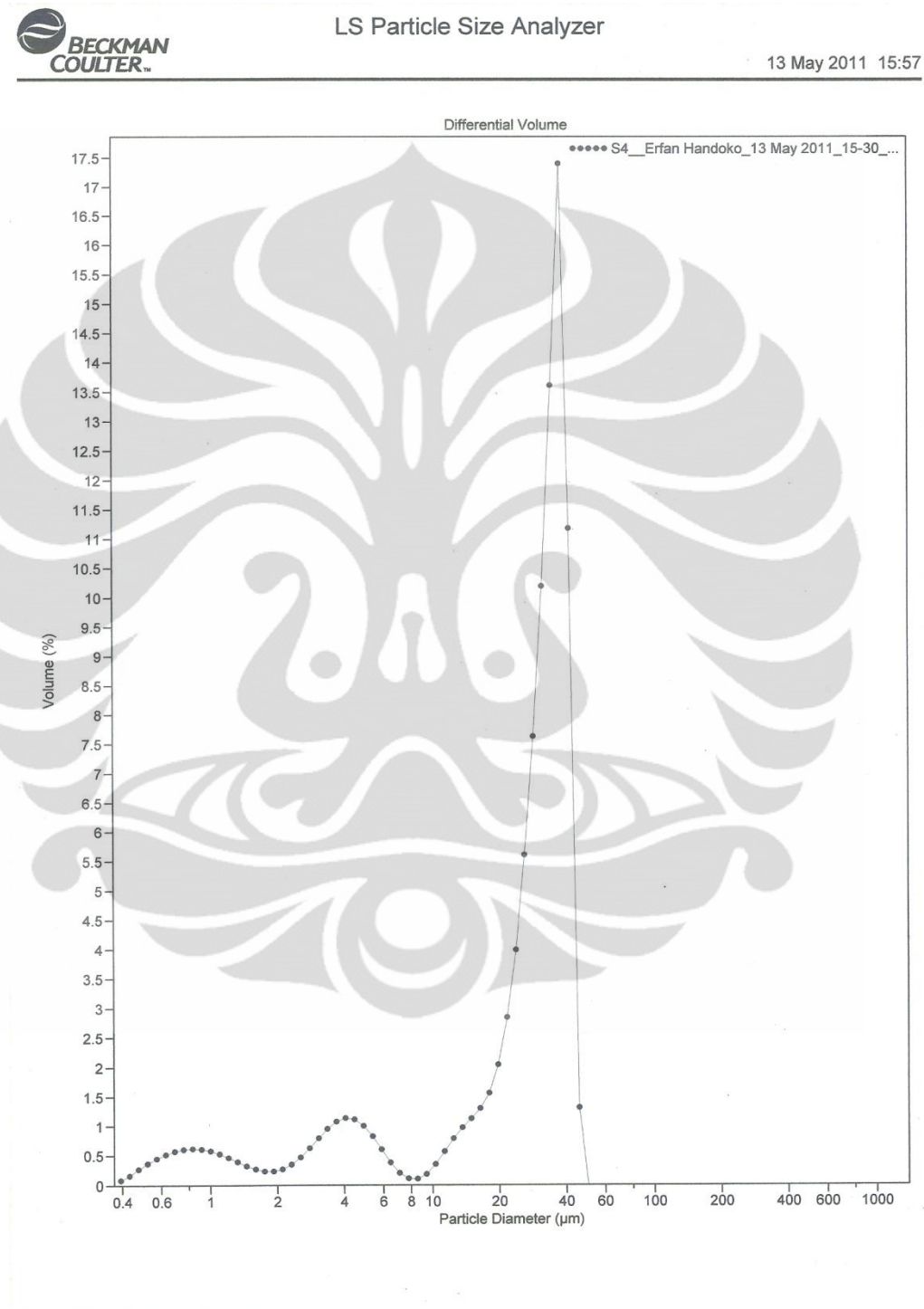
S3__Erfan Handoko_12 May 2011_12-33_...

Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %	Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %
1	0.375	0.061	8.77	61	101.1	0	0
2	0.412	0.11	11.7	62	111.0	0	0
3	0.452	0.15	12.7	63	121.8	0	0
4	0.496	0.21	13.1	64	133.7	0	0
5	0.545	0.25	11.6	65	146.8	0	0
6	0.598	0.27	9.47	66	161.2	0	0
7	0.656	0.28	7.43	67	176.9	0	0
8	0.721	0.28	5.67	68	194.2	0	0
9	0.791	0.27	4.16	69	213.2	0	0
10	0.868	0.25	2.93	70	234.0	0	0
11	0.953	0.23	2.05	71	256.9	0	0
12	1.047	0.22	1.48	72	282.1	0	0
13	1.149	0.22	1.13	73	309.6	0	0
14	1.261	0.24	0.91	74	339.9	0	0
15	1.384	0.27	0.78	75	373.1	0	0
16	1.520	0.32	0.70	76	409.6	0	0
17	1.668	0.40	0.66	77	449.7	0	0
18	1.832	0.51	0.63	78	493.6	0	0
19	2.011	0.63	0.59	79	541.9	0	0
20	2.207	0.76	0.54	80	594.8	0	0
21	2.423	0.90	0.48	81	653.0	0	0
22	2.660	1.04	0.42	82	716.8	0	0
23	2.920	1.20	0.37	83	786.9	0	0
24	3.205	1.35	0.31	84	863.9	0	0
25	3.519	1.50	0.26		948.3		
26	3.863	1.65	0.22				
27	4.240	1.82	0.18				
28	4.655	2.01	0.15				
29	5.110	2.21	0.13				
30	5.610	2.39	0.10				
31	6.158	2.56	0.083				
32	6.760	2.73	0.067				
33	7.421	2.91	0.054				
34	8.147	3.07	0.043				
35	8.943	3.18	0.034				
36	9.818	3.20	0.026				
37	10.78	3.19	0.019				
38	11.83	3.28	0.015				
39	12.99	3.63	0.013				
40	14.26	4.21	0.011				
41	15.65	4.90	0.0097				
42	17.18	5.36	0.0080				
43	18.86	5.39	0.0061				
44	20.71	5.03	0.0043				
45	22.73	4.56	0.0030				
46	24.95	4.30	0.0021				
47	27.39	4.40	0.0016				
48	30.07	4.80	0.0013				
49	33.01	4.15	0.00088				
50	36.24	2.46	0.00039				
51	39.78	0.64	0.000077				
52	43.67	0.069	0.000006				
53	47.94	0	0				
54	52.62	0	0				
55	57.77	0	0				
56	63.41	0	0				
57	69.61	0	0				
58	76.42	0	0				
59	83.89	0	0				
60	92.09	0	0				

Lampiran 43.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula C (3 dari 3)



Lampiran 44.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula A (1 dari 3)



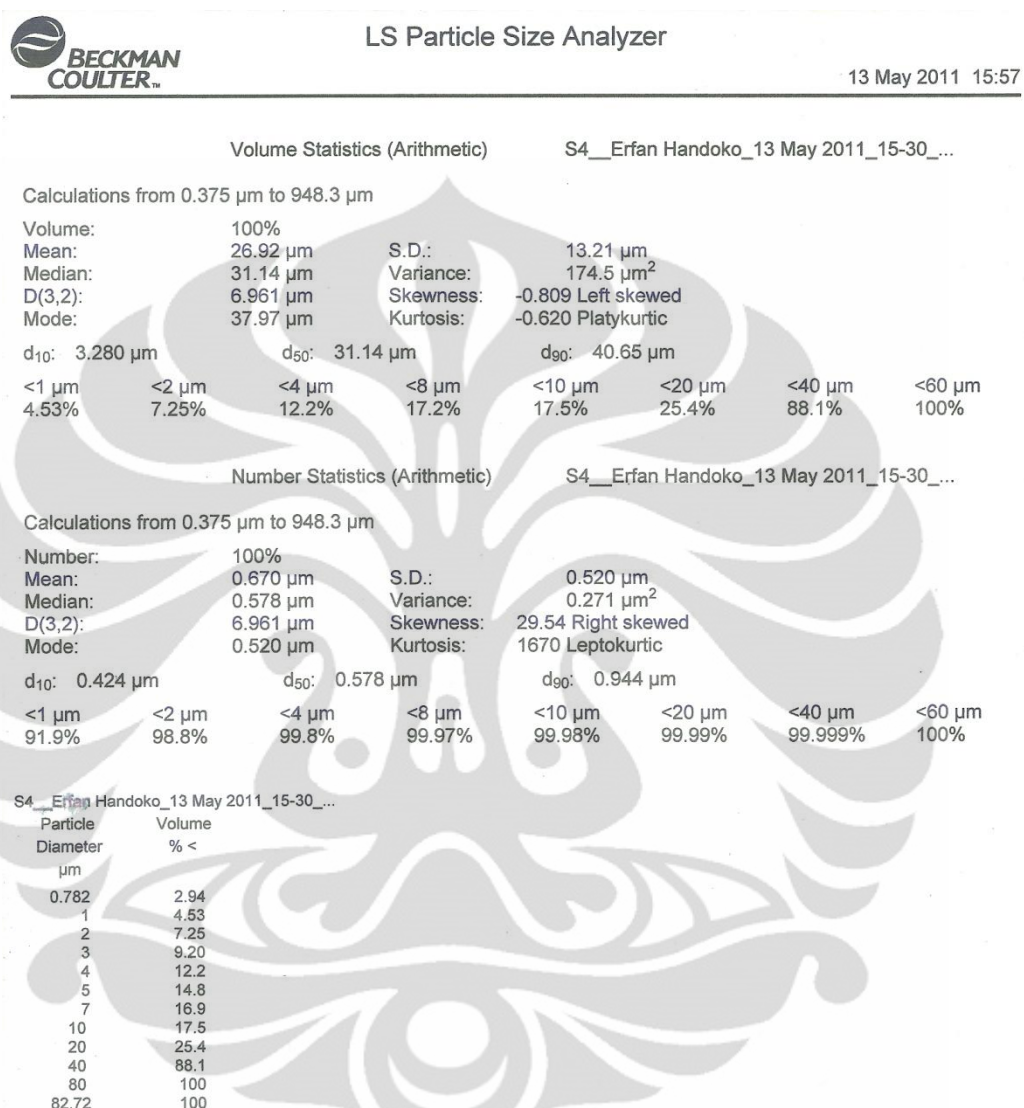
Lampiran 45.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula D (2 dari 3)

BECKMAN COULTER LS Particle Size Analyzer 13 May 2011 15:57

S4__Erfan Handoko_13 May 2011_15-30_...

Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %	Channel Number	Channel Diameter (Lower) μm	Diff. Volume %	Diff. Number %
1	0.375	0.085	6.99	61	101.1	0	0
2	0.412	0.16	10.0	62	111.0	0	0
3	0.452	0.27	12.6	63	121.8	0	0
4	0.496	0.36	12.9	64	133.7	0	0
5	0.545	0.45	12.1	65	146.8	0	0
6	0.598	0.52	10.5	66	161.2	0	0
7	0.656	0.57	8.78	67	176.9	0	0
8	0.721	0.60	7.03	68	194.2	0	0
9	0.791	0.62	5.43	69	213.2	0	0
10	0.868	0.61	4.04	70	234.0	0	0
11	0.953	0.58	2.90	71	256.9	0	0
12	1.047	0.53	2.00	72	282.1	0	0
13	1.149	0.46	1.33	73	309.6	0	0
14	1.261	0.39	0.85	74	339.9	0	0
15	1.384	0.32	0.53	75	373.1	0	0
16	1.520	0.27	0.33	76	409.6	0	0
17	1.668	0.24	0.22	77	449.7	0	0
18	1.832	0.23	0.17	78	493.6	0	0
19	2.011	0.27	0.14	79	541.9	0	0
20	2.207	0.35	0.14	80	594.8	0	0
21	2.423	0.47	0.14	81	653.0	0	0
22	2.660	0.62	0.14	82	716.8	0	0
23	2.920	0.79	0.14	83	786.9	0	0
24	3.205	0.95	0.13	84	863.9	0	0
25	3.519	1.08	0.11		948.3		
26	3.863	1.14	0.086				
27	4.240	1.12	0.064				
28	4.655	1.01	0.043				
29	5.110	0.83	0.027				
30	5.610	0.60	0.015				
31	6.158	0.38	0.0071				
32	6.760	0.20	0.0029				
33	7.421	0.11	0.0012				
34	8.147	0.10	0.00083				
35	8.943	0.18	0.0011				
36	9.818	0.35	0.0016				
37	10.78	0.57	0.0020				
38	11.83	0.79	0.0021				
39	12.99	0.98	0.0019				
40	14.26	1.13	0.0017				
41	15.65	1.30	0.0015				
42	17.18	1.57	0.0013				
43	18.86	2.05	0.0013				
44	20.71	2.85	0.0014				
45	22.73	4.00	0.0015				
46	24.95	5.61	0.0016				
47	27.39	7.63	0.0016				
48	30.07	10.2	0.0016				
49	33.01	13.6	0.0016				
50	36.24	17.4	0.0016				
51	39.78	11.2	0.00077				
52	43.67	1.32	0.000069				
53	47.94	0	0				
54	52.62	0	0				
55	57.77	0	0				
56	63.41	0	0				
57	69.61	0	0				
58	76.42	0	0				
59	83.89	0	0				
60	92.09	0	0				

Lampiran 46.
Distribusi ukuran partikel mikrosfer mukoadhesif formula D (3 dari 3)





LAMPIRAN



Daftar Lampiran

Lampiran Gambar	1-10
Lampiran Tabel	11-27
Lampiran Rumus Perhitungan	28
Lampiran Sertifikat	29-34
Lampiran Hasil Particle Size Analyzer	35-46