



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH ETANOL DAN ASAM OLEAT TERHADAP
PENETRASI LIPOSOM TRANSDERMAL GLUKOSAMIN
MENGUNAKAN SEL DIFUSI FRANZ**

SKRIPSI

JATI MAYANGKARA

0706197452

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM SARJANA FARMASI

DEPOK

JULI 2011

Universitas Indonesia



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH ETANOL DAN ASAM OLEAT TERHADAP
PENETRASI LIPOSOM TRANSDERMAL GLUKOSAMIN
MENGUNAKAN SEL DIFUSI FRANZ**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi**

JATI MAYANGKARA

0706197452

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Jati Mayangkara

NPM : 0706197452

Tanda Tangan :

Tanggal : 15 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Jati Mayangkara
NPM : 0706197452
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Etanol dan Asam Oleat Terhadap Penetrasi Liposom Transdermal Glukosamin Menggunakan Sel Difusi Franz

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 : Pharm Dr. Joshita Djajadisastra. M.S.PhD (.....)

Pembimbing II : Prof. Dr. Yahdiana Harahap. M.S (.....)

Penguji I : Dra. Azizahwati, M.S (.....)

Penguji II : Dr. Hasan Rachmat M (.....)

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

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 15 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil' alamin, puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran ALLAH Subhannahu Wa Ta'ala, serta shalawat dan salam kepada Rasulullah SAW. Atas semua rahmat, taufik dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul "Pengaruh Etanol dan Asam Oleat Terhadap Penetrasi Liposom Transdermal Glukosamin Menggunakan Sel Difusi Franz".

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Dalam penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan dan dukungan serta pengarahan baik secara moril maupun materil dari semua pihak. Oleh karena itu, dengan segenap kerendahan dan kesungguhan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- (1) Prof. Dr. Yahdiana Harahap. M.S, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI, yang telah memberikan kesempatan sehingga penulis dapat menimba ilmu di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (2) Dra. Azizahwati, MS. Selaku Ketua Program Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (3) Dra. Juheini, M.Si. selaku pembimbing akademis yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- (4) Pharm Dr. Joshita. Djajadisastra. M.S. PhD selaku pembimbing I dan Prof. Dr. Yahdiana Harahap. M.S selaku pembimbing II skripsi yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini, serta banyak memberikan bimbingan, ilmu, saran, motivasi, dan bantuan lainnya yang sangat bermanfaat selama penelitian dan penyusunan skripsi;
- (5) Sutriyo, Msi. Selaku Ketua Laboratorium Farmasetika yang telah memberikan izin penggunaan tempat dan fasilitas yang ada di Laboratorium Farmasetika FMIPA UI;

- (6) Seluruh staf pengajar, karyawan, dan laboran Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian;
- (7) Orangtua tercinta, dan kekasih tercinta yang senantiasa memberikan doa, semangat, pengertian, perhatian, dan kasih sayang, serta seluruh keluarga atas dukungannya kepada penulis selama ini;
- (8) Rekan-rekan penelitian di laboratorium Farmasetika FMIPA UI serta teman-teman Ekstensi Farmasi UI Angkatan 2007 atas kebersamaan, kerjasama, keceriaan, kesediaan berbagi suka duka, dukungan, semangat, dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
- (9) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu dengan ikhlas baik secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap semoga semua jasa dan bantuan yang telah diberikan akan mendapatkan balasan dan ridho dari ALLAH Subhannahu Wa Ta'ala. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Untuk itu penulis mengharapkan segala kritik dan saran yang mendukung dan bermanfaat dari yang membacanya.

Akhir kata penulis menghaturkan permohonan maaf atas segala kekurangannya dan mengucapkan terima kasih atas segala perhatiannya.

Penulis

2011

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

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

Nama : Jati Mayangkara
NPM : 0706197452
Program Studi : Sarjana Ekstensi Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demikian 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:

Pengaruh Etanol dan Asam Oleat Terhadap Penetrasi Liposom Transdermal Glukosamin Menggunakan Sel Difusi Franz

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 15 Juli 2011

Yang menyatakan



(Jati Mayangkara)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Kulit	3
2.2 Liposom	5
2.2.1 Definisi Liposom	5
2.2.2 Metode Pembuatan	6
2.2.2.1 Metode mekanik.....	6
2.2.2.2 Metode penghilangan pelarut.....	7
2.2.3 Stabilitas Liposom.....	8
2.2.4 Bahan Dasar Liposom.....	9
2.3 Fosfatidilkolin.....	10
2.4 Kolesterol	11
2.5 Glukosamin	12
2.6 Gel	13
2.7 Senyawa Peningkat Penetrasi	13
2.7.1 Asam oleat.....	14
2.7.2 Etanol.....	15
2.8 Eksipien	16
2.8.1 HPMC.....	16
2.8.2 Propilen Glikol.....	16
2.8.3 Metil paraben.....	17
2.8.4 Propil paraben.....	18
2.9 Uji Penetrasi.....	19
2.10 KCKT	20
2.10.1 Analisis Menggunakan Detektor Fluoresensi.....	20
2.10.2 Metode analisis dengan KCKT fase balik.....	21
2.10.2.1 Langsung.....	21
2.10.2.1 larutan dapar.....	21
2.10.3 Derivatisasi pada KCKT.....	21

2.10.4 Ortoftalaldehid	22
III. METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1 Lokasi dan Waktu	23
3.2 Alat	23
3.3 Bahan	23
3.3.1 Pembuatan Larutan Glukosamin HCl.....	24
3.3.2 Pembuatan Dapar Fosfat pH 7,4.....	24
3.3.3 Pembuatan Dapar Borat pH 9,3	24
3.3.4 Pembuatan Pereaksi O-Ftalaldehid/2-Merkaptoetanol (OPA/2-ME).....	24
3.3.5 Pembuatan Fase Gerak Tetrahidrofuran 0,25% - Asetonitril (83:17)	24
3.4 Cara Kerja	25
3.4.1 Pembuatan Liposom Dengan Metode Lapis Tipis.....	25
3.4.2 Pemurnian Liposom	25
3.4.3 Pembuatan Sediaan Gel Liposom.....	26
3.5 Evaluasi Sediaan Gel.....	26
3.5.1 Uji Organoleptis	26
3.5.2 Uji Konsistensi.....	27
3.5.3 Pengukuran pH.....	27
3.5.4 Pengukuran Viskositas Gel.....	27
3.5.5 Stabilitas Fisik Sediaan.....	27
3.5.6 Uji Siklus.....	28
3.5.7 Uji Penetrasi Perkutan	28
3.5.7.1 Pembuatan kurva kalibrasi glukosamin dapar forfat 7,4 dan dapar borat pH 9,3	28
3.5.7.2 Uji Penetrasi Glukosamin.....	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Pembuatan Liposom	30
4.1.1 Pemurnian Liposom.....	31
4.1.2 Pembuatan Gel Liposom.....	32
4.2 Evaluasi Sediaan Gel.....	33
4.2.1 Pengamatan Organoleptis.....	33
4.2.3 Pengukuran pH.....	34
4.2.4 Pengukuran Viskositas Gel.....	34
4.3 Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel.....	35
4.3.1 Penyimpanan pada Suhu Kamar, Suhu Tinggi, dan Suhu Rendah...35	
4.3.1.1 Pengamatan Organoleptis.....	35
4.3.1.2 Pengukuran pH.....	35
4.3.1.3 Pengukuran Viskositas Gel.....	36
4.3.2 Uji Siklus.....	37
4.4 Uji Penetrasi Perkutan secara <i>In Vitro</i>	37
4.4.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Glukosamin dalam Dapar Fosfat pH 7,4 dan Dapar Borat pH 9,3	38
4.4.2 Uji Penetrasi Gel Liposom Glukosamin.....	38

V. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Struktur kulit	3
Gambar 2. 2. Metode Hidrasi Lapis Tipis.....	7
Gambar 2. 3. Struktur kimia lesitin.....	11
Gambar 2. 4. Struktur kimia kolesterol.....	11
Gambar 2. 5 Struktur kimia Glukosamin.....	12
Gambar 2. 6. struktur kimia asam oleat.....	14
Gambar 2. 7. struktur kimia etanol.....	15
Gambar 2. 8. struktur kimia HPMC.....	16
Gambar 2. 9. struktur kimia Propilen Glikol.....	16
Gambar 2. 10. Struktur kimia metil paraben.....	17
Gambar 2. 11. Struktur kimia propil paraben.....	18
Gambar 2. 12. Skema alat difusi Franz	20
Gambar 4. 1. Grafik Hubungan Antara Waktu Penyimpanan Dengan pH Ketiga Formula Selama 8 Minggu.	36
Gambar 4. 2. Grafik Hubungan Antara Linieritas Fluks dan Formulasi Gel.	41
Gambar 4. 3. Liposom.....	46
Gambar 4. 4. Foto Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Kontrol, Formula 1 dan Formula 2 Pada Penyimpanan Suhu Rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) Selama 8 Minggu.	46
Gambar 4. 5. Foto Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Kontrol, Formula 1 dan Formula 2 Pada Penyimpanan Suhu Kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) Selama 8 Minggu.	47
Gambar 4. 6. Foto Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Kontrol, Formula 1 dan Formula 2 Pada Penyimpanan Suhu Tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) Selama 8 Minggu.	48
Gambar 4. 7. Foto Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Kontrol, Formula 1 dan Formula 2 Setelah Dilakukan Uji Siklus.....	48
Gambar 4. 8. Reaksi Pembentukan Senyawa Berfluoresensi Derivat Glukosamin – Opa/2-Me	49

Gambar 4. 9. Reaksi Degradasi Glukosamin Menjadi Senyawa Furfural.....	49
Gambar 4. 10. Grafik Rheologi sediaan Kontrol pada minggu ke-0.....	50
Gambar 4. 11. Grafik Rheologi sediaan Kontrol pada minggu ke-0.....	50
Gambar 4. 12. Grafik Rheologi sediaan Kontrol pada minggu ke-0.....	50
Gambar 4. 13. Grafik Rheologi sediaan Kontrol pada minggu ke-8.....	51
Gambar 4. 14. Grafik Rheologi sediaan Kontrol pada minggu ke-8.....	51
Gambar 4. 15. Grafik Rheologi sediaan Kontrol pada minggu ke-8.....	51
Gambar 4. 16. Kurva Kalibrasi Glukosamin Dalam Pelarut Dapar Fosfat pH 7,4 dan Dapar Borat pH 9,3.....	52
Gambar 4. 17. Profil Jumlah Kumulatif Glukosamin Yang Terpenetrasi Dari Masing-Masing Formula.....	52
Gambar 4. 18. Profil Laju Penetrasi Atau Fluks Glukosamin Dari Masing-Masing Formula.....	52
Gambar 4. 19. Hasil ukuran partikel liposom glukosamin (a) sebelum ekstruksi, (b) sesudah ekstruksi.....	53
Gambar 4. 20. Kromatogram kurva kalibrasi glukosamin HCl standar pada konsentrasi 6 ppm.....	54
Gambar 4. 21. Kromatogram glukosamin HCl sampel-2 dialisis pada menit ke-300.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1. Formulasi Gel Liposom Glukosamin.....	26
Tabel 4. 1. Data Persentase Efektifitas Penjerapan	31
Tabel 4. 2. Hasil pemeriksaan konsistensi kedua formula pada minggu ke-0.....	34
Tabel 4. 3. Data Viskositas rata-rata	36
Tabel 4. 4. Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada minggu ke-0.....	56
Tabel 4. 5. Hasil pemeriksaan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	56
Tabel 4. 6. Hasil pemeriksaan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	57
Tabel 4. 7. Hasil pemeriksaan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	57
Tabel 4. 8. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	58
Tabel 4. 9. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu rendah ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	58
Tabel 4. 10. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	58
Tabel 4. 11. Hasil pengamatan organoleptis, pH, kedua formula setelah dilakukan Uji Siklus	59
Tabel 4. 12. Data Kurva Kalibrasi Glukosamin dalam Pelarut Dapar Fosfat pH 7,4 dan Dapar Borat pH 9,3	59
Tabel 4. 13. Hasil pengukuran viskositas sediaan kontrol pada minggu ke-0.....	60
Tabel 4. 14. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 1 pada minggu ke-0.....	61
Tabel 4. 15. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 2 pada minggu ke-0.....	62
Tabel 4. 16. Hasil pengukuran viskositas sediaan kontrol pada minggu ke-8.....	63
Tabel 4. 17. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 1 pada minggu ke-8.....	64
Tabel 4. 18. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 2 pada minggu ke-8.....	65
Tabel 4. 19. Jumlah kumulatif hasil uji penetrasi glukosamin dalam dapar fosfat pH 7,4 dari masing-masing formulasi.....	66

Tabel 4. 20. Hasil perhitungan fluks atau laju penetrasi glukosamin dari masing-masing formulasi.....66

Tabel 4. 21. Data hasil dialisis liposom pada berbagai komposisi.....67



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Contoh perhitungan EP% sampel 1.....	68
Lampiran 2. Contoh perhitungan yield value dari pengukuran konsistensi sediaan formula 2.....	69
Lampiran 3. Contoh perhitungan jumlah kumulatif glukosamin yang terpenetrasi dari sediaan formula 1 pada menit ke-10.....	70
Lampiran 4. Contoh perhitungan jumlah kumulatif glukosamin yang terpenetrasi dari sediaan formula 2 pada menit ke-30.....	71
Lampiran 5. Contoh perhitungan fluks atau laju penetrasi glukosamin dari sediaan formula 1 pada menit ke-30.....	72
Lampiran 6. Sertifikat analisis tikus <i>Rattus norvigicus</i>	73
Lampiran 7. Sertifikat analisis glukosamin HCl.....	74
Lampiran 8. Sertifikat analisis HPMC.....	75
Lampiran 9. Sertifikat analisis Lesitin.....	76
Lampiran 10. Sertifikat analisis Kolesterol.....	78

ABSTRAK

Nama : Jati Mayangkara
Program Studi : Ekstensi Farmasi
Judul : Pengaruh Etanol Dan Asam Oleat Terhadap Penetrasi Liposom Transdermal Glukosamin Menggunakan Sel Difusi Franz.

Liposom berperan sebagai pembawa obat larut air maupun larut lemak. Senyawa peningkat penetrasi seperti etanol dan asam oleat ditambahkan kedalam masing-masing formula untuk meningkatkan penetrasi glukosamin melalui membran abdomen tikus *Rattus norvegicus* menggunakan sel Difusi Franz secara *in vitro*. Jumlah kumulatif glukosamin yang terpenetrasi tertinggi pada formula 1 (etanol) terjadi pada menit ke-60 sebesar $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dengan laju penetrasi $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$; pada formula 2 (asam oleat) terjadi pada menit ke-90 sebesar $164,455 \pm 3,61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dengan laju penetrasi $109,64 \pm 2,41 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$. Formula terbaik untuk sediaan glukosamin yang mengandung senyawa peningkat penetrasi etanol. Uji kestabilan fisik dilakukan melalui pengamatan organoleptis, pH, viskositas, konsistensi, serta uji siklus. Ukuran partikel liposom yang diperoleh hasil ekstruksi rata-rata $0,465 \mu\text{m}$.

Kata Kunci : Glukosamin HCl, Transdermal, Liposom, sel difusi Franz.
xvii + 78 halaman; 21 gambar; 21 tabel; 10 lampiran
Daftar Pustaka : 33 (1983 – 2010)

ABSTRACT

Name : Jati Mayangkara
Study Program : Extension of Pharmacy
Title : The Effects of Ethanol and Oleic Acid on Transdermal Liposome Penetration of Glucosamine Using Franz Diffusion cell.

Liposomes act as carriers of water-soluble drugs and lipid-soluble. Penetration enhancing compounds such as ethanol and oleic acid were added to each formula to increase the penetration of glucosamine through abdominal rat *Rattus norvegicus* membrane using Franz diffusion cells in vitro. The highest cumulative amount of glucosamine penetrated was $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, the formula 1 with ethanol, occurred at the 60th minute with penetration rate of $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hour}$; the formula 2 with oleic acid, occurred at the 90th minute as much as $164,455 \pm 3,61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ with penetration rate of $109,64 \pm 2,41 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hour}$. The best formula for the preparation of glucosamine is the formula containing ethanol as penetration enhancer. Testing is done through observation of physical stability organoleptis, pH, viscosity, consistency, and cycling test. The average particle size of liposomes obtained by extrusion was $0,465 \mu\text{m}$.

Key words : Glucosamin HCl, Transdermal, Liposom, Franz Diffusion Cell
xvii + 78 pages; 21 figures; 21 tables; 10 appendixes
Bibliography : 33 (1983 – 2010)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Osteoarthritis adalah penyakit degeneratif yang ditandai dengan jaringan kartilago yang melindungi persendian yang semakin menipis sehingga memicu rasa nyeri dan membatasi kemampuan gerak pasien. Glukosamin dapat menjadi terapi farmakologis untuk osteoarthritis karena memiliki efek samping yang lebih ringan (Wells, 2009). Konsumsi glukosamin secara oral dalam jangka waktu panjang dapat memperlambat perkembangan osteoarthritis (Pavelka et al., 2002).

Transdermal adalah salah satu cara pemberian obat berupa krim, gel, atau patch yang digunakan pada permukaan kulit, yang mampu menghantarkan obat masuk ke dalam tubuh melalui kulit untuk mendapatkan efek sistemik. Namun, kulit merupakan suatu 'barrier' yang melindungi dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar, membatasi penetrasi berbagai zat yang masuk menembus kulit (Kurihara, Tamie & William, R, Good, 1994).

Liposom sebagai sistem penghantaran obat, merupakan suatu sistem yang unik karena bisa berperan sebagai pembawa obat larut air maupun larut lemak. Liposom mempunyai beberapa bentuk dan ukuran tergantung metode dan tujuan penggunaan (Lachman, Lieberman, 1994).

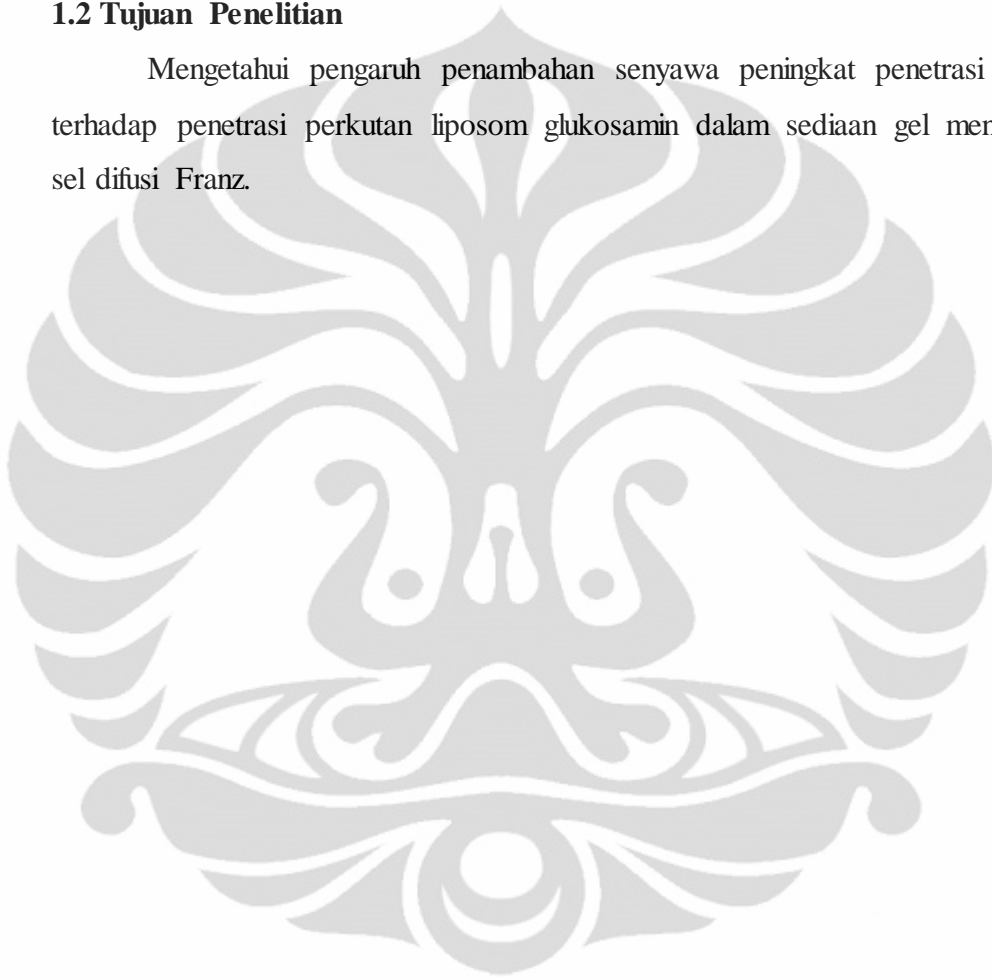
Senyawa peningkat penetrasi (*penetration enhancers*) lazim digunakan di dalam sediaan transdermal dengan tujuan mempermudah transfer obat melewati kulit. Senyawa peningkat penetrasi dapat memodifikasi atau melemahkan susunan lapisan stratum korneum sehingga transfer obat melalui kulit dapat ditingkatkan. Penelitian tentang pengaruh peningkat penetrasi glukosamin dalam gel telah dilakukan oleh Christina (2010) menggunakan etanol dan urea sebagai senyawa peningkat penetrasi. Hasilnya menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut mampu meningkatkan penetrasi glukosamin 2-3 kali dari kontrol (Christina, 2010).

Pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan liposom glukosamin dalam bentuk sediaan gel yang ditujukan untuk rute transdermal. Untuk meningkatkan

penetrasi glukosamin digunakan bahan peningkat penetrasi yaitu asam oleat dan etanol. Membran yang digunakan untuk penetrasi adalah kulit tikus *Rattus norvigicus* bagian perut yang telah dihilangkan bulunya dan alat yang digunakan adalah sel difusi Franz.

1.2 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh penambahan senyawa peningkat penetrasi perkutan terhadap penetrasi perkutan liposom glukosamin dalam sediaan gel menggunakan sel difusi Franz.

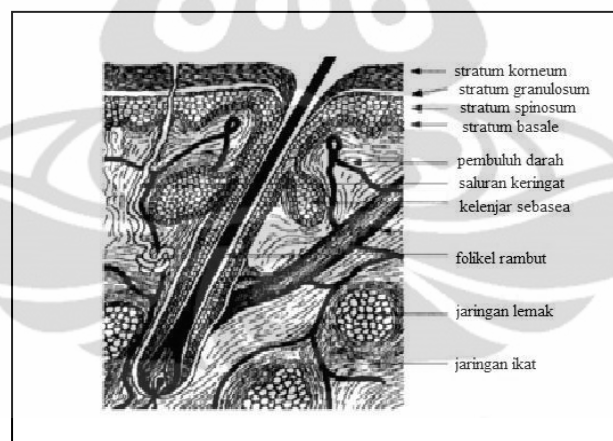


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Kulit

Kulit adalah lapisan jaringan yang terdapat pada bagian luar menutupi dan melindungi permukaan tubuh, jumlahnya sekitar lebih dari 10% massa tubuh, dan salah satu yang memungkinkan tubuh berinteraksi dengan lingkungannya (Walters, 2002). Kulit memiliki dua lapisan struktural utama. Epidermis bagian luar terutama bersifat protektif, dan dermis bagian dalam mengandung berbagai jaringan dengan berbagai macam fungsi. Dermis mengandung ribuan mikroindra yang memungkinkan sensasi raba, juga kelenjar dan pembuluh darah yang dapat diatur berperan dalam pengaturan suhu tubuh. Di bawah dermis ada sebuah lapisan disebut lemak subkutan, lapisan ini berperan sebagai penyangga dan memberikan tambahan penyekat suhu dari keadaan panas dan dingin berlebihan (Parker, 2009).



[Walters, 2002]

Gambar 2. 1. Struktur kulit (telah diolah kembali)

Obat dapat menembus melewati kulit melalui tiga cara yaitu: (Toitou & William, 2007; walters, Kenneth A, 2002).

1) Transelular atau intraselular

Permeasi obat melalui jalur transeluler langsung menembus hanya terjadi dalam jumlah sangat kecil. Hal ini dipengaruhi oleh sel tanduk yang sulit ditembus.

2) Intraselular

Sebagian besar obat menembus stratum korneum melalui jalur ini. Bagian interselular atau celah sel stratum korneum tersusun atas lipid *bilayer*. Oleh karena itu peningkatan permeasi obat dilakukan dengan memodifikasi atau mempengaruhi lapisan lipid bilayer ini.

3) Transappendageal

Permeasi obat melalui kelenjar sebacea, folikel rambut, ataupun kelenjar keringat. Jalur ini kurang berperan penting dalam permeasi obat karena luas permukaan yang kecil.

Transdermal adalah salah satu cara administrasi obat dengan bentuk sediaan farmasi/obat berupa krim, gel atau *patch* yang digunakan pada permukaan kulit, namun mampu menghantarkan obat masuk ke dalam tubuh melalui kulit (trans = lewat; dermal = kulit) atau obat transdermal adalah obat yang dirancang untuk larut ke dalam kulit untuk mendapatkan efek sistemik.

Keuntungan sistem pemberian obat secara transdermal adalah sebagai berikut (Delgado, M. Begoña & Richard.H, 2001)

- 1) Menghindari kesulitan absorpsi obat melalui saluran cerna disebabkan oleh pH saluran cerna, interaksi obat dengan makanan, minuman atau pemberian obat secara oral lainnya.
- 2) Menggantikan pemakaian obat melalui mulut apabila tidak sesuai karena muntah dan atau diare.
- 3) Menghindari *first-pass effect*, yaitu pelepasan pertama suatu bahan obat melalui sistemik, yang menyertai absorpsi pada saluran cerna (dengan cara demikian mungkin menghindari obat nonaktif oleh saluran cerna dan enzim-enzim dalam hati).
- 4) Menghindari terapi secara parenteral
- 5) Mengurangi frekuensi pemberian obat

- 6) Memperpanjang aktivitas obat yang mempunyai waktu paruh yang pendek melalui penyimpanan obat yang ada pada sistem pemberian terapeutik dan sifat pengaturan dan pelepasannya yang terkendali.
- 7) Penghentian efek obat dapat dilakukan secara cepat (apabila diperlukan secara klinik) dengan cara melepaskan pemakaian obat dari permukaan kulit.
- 8) Menyediakan kemudahan identifikasi secara cepat tentang pengobatan dalam keadaan darurat (misalnya tidak menerima, tidak sadar, atau pasien dalam keadaan koma).

Kekurangan sistem pemberian secara transdermal adalah sebagai berikut:

- 1) Cara pemberian melalui kulit tidak sesuai untuk obat-obat yang menimbulkan iritasi atau peka pada kulit.
- 2) Hanya obat-obat yang relatif mempunyai potensi yang sesuai disampaikan melalui kulit oleh karena sifat permeabilitas kulit, sehingga obat yang dapat masuk menembus pada kulit terbatas.
- 3) Kesukaran teknis sehubungan dengan pelekatan dari sistem pada kulit dengan tipe yang berbeda-beda, dan dibawah kondisi lingkungan yang bermacam-macam serta perkembangan gambaran penyampaian obat dengan laju terkendali yang menguntungkan baik secara terapeutik maupun secara ekonomi untuk zat obat yang lebih banyak.
- 4) Tidak dapat untuk obat-obat dengan pemakaian dosis tinggi

1.2 Liposom

2.2.1 Definisi Liposom

Liposom adalah analog sintetik dari membran alami. Suatu vesikel berair yang dikelilingi oleh membran lipid lapis ganda unilamellar atau multilamellar, terbentuk secara spontan ketika fosfolipid dihidrasi dengan sejumlah air. Liposom dapat dikarakteristikan berdasarkan komposisi lipid, distribusi ukuran partikel, jumlah lamela, dan fase dalam atau luar airnya yang berkaitan dengan obat, semuanya menentukan stabilitas dan karakteristik interaksi (Lasic, Papahadjopoulos, 1998). Liposom sebagai kantung yang terbungkus dalam ukuran mikron atau submikron tersebar di lingkungan air. Dinding kantung terdiri dari dua lapis yang terdiri dari amfifilik yang cocok. Sifat *bilayer* memastikan

pembentukan kompartemen air didalam yang berbeda dengan media luar. Adanya dua lingkungan yang berbeda dalam pembawa, membuat liposom menjadi model yang unik untuk bahan hidrofobik, ampifatik, dan hidrofilik. Keuntungan liposom sebagai pembawa dalam dermatologi yaitu meningkatkan penyerapan perkutan dari berbagai senyawa, termasuk protein, antibodi, enzim, dan berbagai obat, pelokalan senyawa bioaktif ke jaringan kulit yang tepat tanpa meningkatkan pengiriman senyawa ke kompartemen sistemik, menghantarkan senyawa bioaktif seperti DNA, dan obat melalui akar rambut atau bagian kulit lain (Redelmeier, Thomas.E., Neil,).

Secara morfologi, liposom dapat diklasifikasikan menjadi (Abdassah, 2004):

1) Liposom multilamellar (MLV)

MLV dapat menyerap molekul berukuran kecil maupun besar, keburukan utama MLV adalah kapasitas penyerapan untuk fase air atau zat polar yang rendah. Ukuran MLV berkisar antara 0,1-0,5 μm dan pada umumnya terdiri dari lima atau lebih *lamelar*. Faktor yang paling penting dalam preparasi MLV adalah waktu, proses hidrasi, ketebalan lipid lapis tipis, konsentrasi, komposisi lipid dan volume dapar.

2) Liposom unilamellar kecil (SUV)

Berbentuk bulat dengan radius minimal 20-50 nm. SUV merupakan kumpulan vesikel kecil yang homogen. Proses sonikasi dari dispersi fosfolipid akan menghasilkan sediaan yang jernih. Liposom hasil sonikasi sangat bergantung dari komposisi lipid, waktu sonikasi, dan jumlah kolesterol pada campuran lipid.

3) Liposom unilamellar besar (LUV)

LUV dibentuk dari emulsi fosfolipid dalam dapar dengan fase pelarut organik, diikuti dengan penguapan pelarut organik tersebut dibawah tekanan vakum.

2.2.2 Metode Pembuatan

Metode pembuatan liposom ada beberapa macam, yaitu (Boylan, 1994, Crommelin, DJA. Schreier, H, 1994):

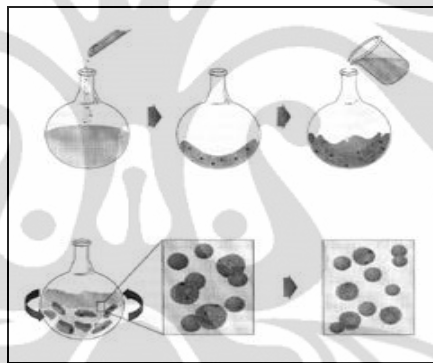
2.2.2.1 Metode mekanik

Metode ini terbagi menjadi:

a. Hidrasi Lapis Tipis

Metode ini menghasilkan liposom dengan tipe MLV dan SUV. Langkah pembuatannya adalah:

- 1) Lipid lapis tipis yang mengandung fosfolipid dibentuk di dalam dinding labu gelas menggunakan *vacum evaporator*.
- 2) Fase organik diuapkan sempurna dengan cara dibiarkan beberapa jam agar tercapai kondisi kesetimbangan dengan lingkungan, lapis tipis dihidrasi dengan penambahan larutan dapar.
- 3) Dilakukan pengocokan pada suhu transisi sekitar 56 – 62°C yang akan membentuk dispersi MLV yang mempunyai ukuran heterogen.



Gambar 2. 2. Metode Hidrasi Lapis Tipis

b. Metode Ultrasonikasi

Dispersi fosfolipid dalam fase air disonikasi dengan menggunakan *strong bath sonicator* untuk menghasilkan liposom tipe SUV.

2.2.2.2 Metode penghilangan pelarut

Metode ini terbagi menjadi:

a. Metode evaporasi fase terbalik (Skoja, 1976).

Pada metode ini, beberapa fosfolipid baik murni ataupun campuran dengan kolesterol dapat digunakan. Lipid terlebih dahulu dilarutkan dengan pelarut organik yang kemudian dialiri dengan gas nitrogen, pelarut yang biasa digunakan adalah dietil eter dan isopropil eter. Campuran tersebut di larutkan dalam fase air

yang mengandung obat disonikasi sampai terdispersi menjadi satu fase. Campuran tersebut ditempatkan pada *rotary evaporator* dan pelarut organik dihilangkan sampai terbentuk gel.

b. Metode Injeksi

Metode ini mencampurkan lipid kedalam pelarut organik dan kemudian diinjeksikan kedalam fase air. Metode ini dapat dibagi kedalam (Riaz, 1996):

1) Metode Injeksi eter

Larutan lipid yang dilarutkan dengan menggunakan dietil eter atau campuran eter dan metanol diinjeksikan ke dalam fase air yang mengandung zat aktif yang akan dienkapsulasi pada suhu antara 55 - 65°C atau dibawah tekanan. Kekurangan ini adalah ukuran liposom yang dihasilkan heterogen yaitu sekitar 70 - 190 nm.

2) Metode Injeksi Etanol

Larutan lipid yang dilarutkan dalam etanol diinjeksikan secara cepat ke dalam fase air yang mengalami pengadukan. Dengan metode ini didapatkan liposom tipe MLV. Kekurangan dari metode ini adalah ukuran yang didapatkan terlalu heterogen yaitu sekitar 30-110 nm, terlalu cair, dan sulit untuk menghilangkan etanol karena terbentuknya azeotrop dengan air.

2.2.3 Stabilitas Liposom

Stabilitas liposom adalah hal yang utama yang perlu diperhatikan dalam pengembangan ini. Obat yang terkandung di dalamnya bisa menjadi tidak stabil karena terdegradasi secara fisik dan kimia (Boylan, 1994). Perubahan struktur baik fisik maupun kimia akan mempengaruhi disposisi obat yang terenkapsulasi dan keamanan liposom. Sediaan liposom sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, dimana sangat mempengaruhi integritas dari membran lapis ganda. Liposom dapat dipengaruhi oleh (Boylan, 1994):

1) Stabilitas Kimia

Stabilitas dari liposom tergantung dari stabilitas komponen lipidnya, karena lipid adalah biomolekul yang sangat sensitif dan cepat mengalami reaksi degradasi kimia. Kestabilan kimia pada fosfolipid, dapat dipengaruhi oleh hidrolisis dan reaksi peroksidase. Reaksi hidrolisis terjadi pada ikatan ester

fosfatidilkolin yang menghasilkan produk degradasi yaitu 2-lisofosfatidilkolin dan asam lemak bebas. Reaksi peroksidase terjadi terutama pada ikatan yang tidak jenuh dalam rantai asil dari fosfolipid. Reaksi peroksidase dapat dicegah dengan pemilihan fosfolipid yang hanya memiliki rantai asil jenuh, penyimpanan liposom dalam ruang hampa atau pada gas inert seperti nitrogen, penyimpanan dalam tempat gelap untuk menghindari fotooksidasi, penggunaan bahan pengkelat untuk mencegah reaksi peroksidasi yang diaktivasi oleh ion logam, serta penambahan antioksidan seperti α -tokoferol, butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT), asam askorbat.

2) Stabilitas Fisika

Ketidakstabilan fisik liposom dapat dilihat dari terbentuknya liposom berukuran besar karena liposom yang berfusi atau beragregasi. Kecenderungan liposom beragregasi tergantung pada konstituen bilayer obat yang dijerap, ukuran partikel dan suhu. Penambahan agen penginduksi seperti fosfatidil gliserol atau kolesterol 10% cenderung untuk menstabilkan liposom.

2.2.4 Bahan Dasar Liposom

Bahan yang digunakan sebagai bahan dasar liposom adalah lipid, macam-macam lipid yang digunakan dalam bidang farmasi adalah fosfolipid (Boylan, 1994). Fosfolipid adalah komponen utama membran sel yang mempunyai kemiripan sifat dengan lemak, namun molekul ini memiliki hanya dua asam lemak, bukan tiga seperti pada lemak. Fosfolipid menunjukkan perilaku ambivalen terhadap air, ekornya yang terdiri atas hidrokarbon bersifat hidrofobik dan tidak dapat bercampur dengan air. Gugus fosfat dan ikatannya akan membentuk sebuah kepala hidrofilik yang memiliki afinitas yang kuat terhadap air. Ketika fosfolipid ditambahkan ke dalam air, molekul-molekul tersebut akan mengumpul dengan sendirinya membentuk agregat yang melindungi bagian hidrofobiknya dari air. Kemudian lapisan akan terbentuk dimana ekor asam lemak mengarah ke dalam membran dan kepala polar mengarah keluar. Berdasarkan sumbernya fosfolipid dapat dibedakan menjadi empat macam, yaitu (Boylan, 1994):

1) Fosfolipid yang bersumber dari alam

Bahan utama yang dapat digunakan adalah telur dan kacang kedelai yang terdapat pada fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE) fosfatidilinositol (PI), sfingomielin (SPM). Fosfolipid pada telur memiliki rantai asil tersaturasi pada R1 dan tidak tersaturasi pada R2, sedangkan pada kacang kedelai tidak tersaturasi pada posisi R1 dan R2.

2) Fosfolipid alam yang dimodifikasi

Dimodifikasi secara kimia dengan proses hidrogenasi sempurna maupun parsial untuk mengurangi derajat tidak tersaturasi agar resisten terhadap peroksidasi.

3) Fosfolipid sintetik

Komponen dalam pembuatan seluruhnya melalui sintesis kimia.

4) Fosfolipid semisintetik

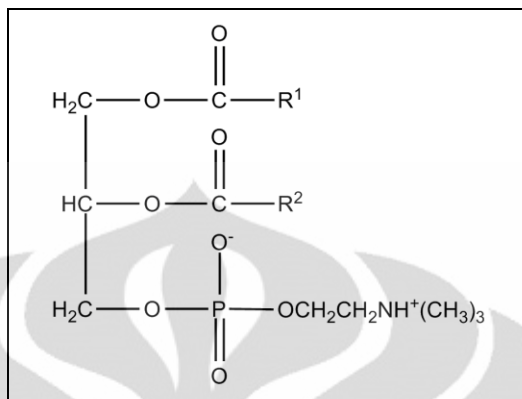
Rantai asil dari fosfolipid alam diganti dengan rantai asil yang bersifat sintetik.

1.3 Fosfatidilkolin

Fosfolipid yang berasal dari alam dapat digunakan fosfatidilkolin atau dengan nama populernya adalah lesitin. Kata lesitin berasal dari bahasa Yunani *lekithos* yang berarti kuning telur. Secara alamiah, lesitin ditemukan pada kacang kedelai 1,48-3,08%, kacang tanah 1,11%, hati anak sapi 0,85%, gandum 0,61%, telur 0,39%. Lesitin nabati tidak mengandung kolesterol sedangkan lesitin yang berasal dari hewan mengandung kolesterol (Aku, dkk, 2007).

Lesitin adalah zat yang menyerupai lilin, bersifat higroskopis, praktis tidak berbau, larut dalam alkohol, eter dan kloroform, tetapi tidak larut dalam aseton (Rowe, Sheskey, Owen 2009). Warna putih lesitin akan segera berubah menjadi coklat apabila berkontak dengan udara dan cahaya sehingga harus dilindungi dari cahaya dan oksidasi. Lesitin akan memisah pada kondisi pH yang ekstrim, higroskopis dan dapat menjadi sumber degradasi mikroba. Ketika dipanaskan, lesitin akan teroksidasi, menjadi gelap dan memisahkan diri. Lesitin harus disimpan pada suhu ruangan atau di atasnya, suhu dibawah 10°C dapat menyebabkan pemisahan, sedangkan pada suhu 160 - 180°C akan menyebabkan

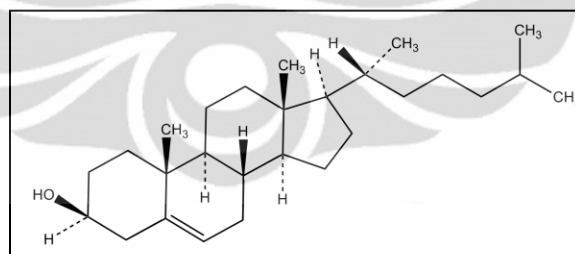
degradasi dalam waktu 24 jam. Lesitin murni harus disimpan dalam wadah tertutup rapat pada suhu beku (Rowe, Sheskey, Owen, 2009).



Gambar 2. 3. Struktur kimia lesitin

1.4 Kolesterol

Kolesterol digunakan pada kosmetik dan sediaan farmasi topikal pada konsentrasi 0,3-5,0% w/w sebagai agen pengemulsi. Kolesterol berupa serbuk atau granul berwarna putih atau agak sedikit kekuningan hampir tidak berbau, yang mudah larut dalam aseton, kloroform, eter, benzen, praktis tidak larut dalam air. Pada kontak yang terlalu lama oleh cahaya dan udara, kolesterol kuning menjadi berwarna cokelat (Rowe, Sheskey, Owen 2009). Kolesterol stabil dan harus disimpan dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya.



[Sumber: Rowe, Sheskey, & Owen, 2006]

Gambar 2. 4. Struktur kimia kolesterol.

Kolesterol digunakan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan liposom berguna untuk meningkatkan stabilitas fase lamelar, menghambat transisi lamelar menjadi non-lamelar (Boylan, 1994). Meningkatkan stabilitas liposom dalam kasus komponen-komponen fosfolipid yang relatif tak jenuh, meningkatkan densitas pengepakan dari lipid pada lapisan liposom. Satu keuntungan kolesterol,

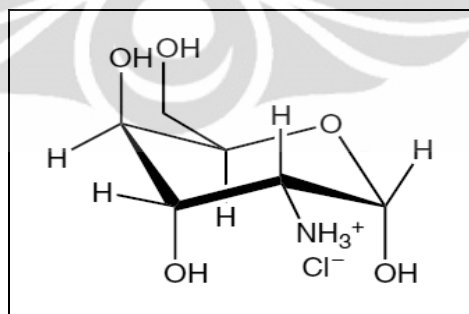
dimana liposom yang digunakan pada luka atau tempat bedah, berpotensi mengurangi toksisitas karena pertukaran lipid antara liposom dan sel pada luka atau tempat bedah (Uster et al, 1991).

1.5 Glukosamin

Glukosamin adalah amino monosakarida yang diperoleh dari hasil hidrolisis kitin. Kitin sendiri dapat diperoleh dari kerangka luar krustaseae ataupun dari hasil fermentasi. Glukosamin mempunyai struktur seperti glukosa yang salah satu gugus hidroksinya disubstitusi oleh gugus amin.

Tubuh manusia dapat memproduksi sendiri glukosamin sebagai salah satu komponen biosintesis glikosaminoglikan (GAG), GAG ini akan berikatan secara kovalen pada inti protein proteoglikan, salah satu komponen matriks jaringan kartilago, dan menjaga integritas struktur dan fungsi jaringan kartilago. Glukosamin yang diproduksi oleh tubuh berada dalam bentuk glukosamin-6-fosfat dan dihasilkan dari glukosa yang mengikuti jalur biosintesis heksosamin. (Oegema, et al, 2002).

Efek samping glukosamin yang cukup mengganggu adalah resistensi insulin karena biosintesisnya mengikuti jalur heksosamin dan strukturnya mirip dengan glukosa. Sementara ini belum ada laporan mengenai efek samping glukosamin lainnya (Christina, 2010).



Gambar 2. 5.Struktur kimia Glukosamin

Nama kimia : 2-amino-2-deoksi-D-glukopiranosida hidroklorida
 Sinonim : Chitosamin HCL
 BM : 215,63

Kelarutan : 1: 10 dalam air (20°C)

Organoleptis : serbuk kristalin putih dengan rasa agak manis dan bau tidak spesifik

Penyimpanan : di wadah tertutup rapat dan terhindar dari cahaya.

2.6 Gel (Martin, J. Swarbrick & A. Cammarata, 1983, Pena, Lorraine E, 1990)

Gel adalah sediaan semisolid transparan yang mempunyai kandungan air atau pelarut lain yang cukup tinggi. Untuk membentuk gel diperlukan gel agen. Gel agen akan membentuk struktur 3 dimensi yang akan menghambat pergerakan pelarut dengan cara memerangkap molekul-molekul pelarut. Struktur 3 dimensi gel juga mempengaruhi stabilitas dan viskositas gel.

Pemilihan pelarut yang tepat sangatlah penting, pelarut yang memiliki afinitas yang baik dengan gel agen yang diperlukan akan membantu stabilitas gel karena struktur yang tidak teratur yang terbentuk semakin banyak dan memperbesar terjadinya ikatan silang sehingga struktur 3 dimensinya cukup kuat. Sebaliknya pemilihan pelarut yang memiliki afinitas yang buruk akan membentuk struktur gel yang lemah karena menurunkan jumlah ikatan silang dan rantai polimer gel agen akan berusaha meminimalisir kontak dengan pelarut. Gel agen yang sering digunakan dalam sediaan farmasi adalah makromolekul sintetik seperti karbomer, derivat selulosa seperti karboksimetil selulosa (CMC) atau hidroksipropilmetil selulosa (HPMC) dan gum arab seperti tragakan.

Gel dapat mengalami sineresis, yaitu peristiwa dimana keluarnya pelarut dari matriks gel. Hal ini diperkirakan karena terjadinya struktur matriks atau serat gel yang terus mengeras dan akhirnya mengakibatkan terperasnya air keluar. Sebaliknya *swelling* adalah diserapnya cairan oleh suatu gel dengan peningkatan volume.

1.7 Senyawa Peningkat Penetrasi

Rute transdermal merupakan salah satu cara penghantaran obat yang menjanjikan. Akan tetapi terdapat beberapa hambatan dalam mencapai terapi yang diinginkan. Seperti terbatasnya laju penetrasi obat melintasi stratum korneum (Barry, 1987). Untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan senyawa peningkat

penetrasi. Senyawa peningkat penetrasi yang diharapkan mempunyai sifat-sifat tidak memberikan efek farmakologi terhadap tubuh, baik lokal maupun sistemik, tidak mengiritasi ataupun menimbulkan alergi, bekerja secara reversibel pada kulit, membantu penetrasi obat melintasi kulit namun tidak memfasilitasi keluarnya senyawa endogen, serta tidak bereaksi dengan obat maupun senyawa lain dalam sediaan.

Mekanisme aksi beberapa peningkat penetrasi mempengaruhi stratum korneum secara umum dengan cara (Christina, 2010):

- Mempengaruhi lipid interseluler stratum korneum sehingga menurunkan *barier lipid bilayer* terhadap molekul obat.
- Mengubah sifat melarutkan stratum korneum sehingga meningkatkan koefisien partisi obat ataupun bekerja sebagai kosolven jaringan.
- Mempengaruhi keratin intraseluler stratum korneum dengan cara mendenaturasi atau mengubah konformasinya sehingga menyebabkan swelling, peningkatan hidrasi.
- Mempengaruhi desmosom, pengikat antar sel tanduk, sehingga terjadi pemisahan stratum korneum.

Beberapa senyawa peningkat penetrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

2.7.1 Asam oleat (Rowe, 2009, Williams, 2007)



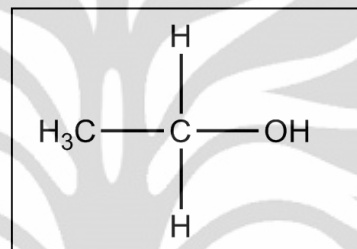
Gambar 2. 6. struktur kimia asam oleat

Nama kimia	: Asam-9-oktadekanoat
BM	: 282,47
Kelarutan	: tidak larut dalam air, larut dalam etanol
Organoleptis	: minyak berwarna kuning hingga kecoklatan dengan bau dan rasa khas lemak
Inkompatibilitas	: aluminium, kalsium, logam berat, asam perklorat dan agen pengoksidasi

Penyimpanan : wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

Asam oleat merupakan senyawa peningkat penetrasi yang bersifat lipofilik. Mekanisme kerjanya sebagai peningkat penetrasi yaitu dengan mengganggu struktur lipid bilayer stratum korneum yang tersusun rapi sehingga menyebabkan fluidisasi pada lapisan interseuler stratum korneum yang memudahkan obat masuk menembus kulit.

2.7.2 Etanol (Rowe, 2009, Williams, 2007)



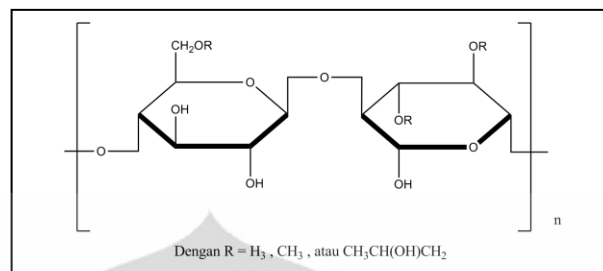
Gambar 2. 7. struktur kimia etanol

Nama kimia : etanol
 BM : 46,07
 Kelarutan : larut dalam air.
 Organoleptis : cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap, sedikit berbau dan menimbulkan rasa panas.
 Inkompatibilitas : senyawa pengoksidasi dan kondisi alkali.
 Penyimpanan : wadah tertutup rapat ditempat sejuk.

Etanol meningkatkan penetrasi obat dengan cara mengubah sifat melarutkan stratum korneum hingga koefisien partisi obat ke dalam kulit meningkat dan meningkatkan aktifitas termodinamik obat karena etanol cepat menembus melewati stratum korneum dan cepat menguap sehingga membuat obat dalam sediaan mencapai kondisi jenuh serta memberikan daya dorong permeasi yang kuat.

1.8 Eksiipien

2.8.1 HPMC (Rowe, 2009)



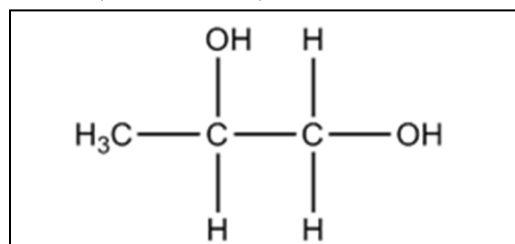
[Sumber: Rowe, Sheskey, & Owen, 2006]

Gambar 2. 8. struktur kimia HPMC

Nama kimia	: Hidroksipropil metil eter selulosa
BM	: 10000-1500000
Fungsi	: pembentuk gel
Organoleptis	: serbuk granular berwarna putih krem
Inkompatibilitas	: senyawa pengoksidasi.
Penyimpanan	: wadah tertutup rapat, ditempat sejuk dan kering.

HPMC memiliki beberapa tipe berdasarkan viskositas yang akan dihasilkan. Pembentukan gel HPMC dilakukan dengan cara mendispersikan dalam air kemudian dipanaskan hingga suhu 50 - 90°C dan selanjutnya dilakukan pendinginan. Gel yang terbentuk jernih dan stabil pada jangkauan pH yang luas, yaitu 3-11. Derivat selulosa ini tahan terhadap enzim yang dihasilkan oleh mikroba sehingga viskositas gel yang dihasilkan stabil pada penyimpanan jangka panjang.

2.8.2 Propilen Glikol (Rowe, 2009)



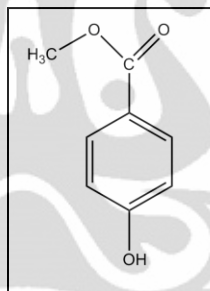
[Sumber: Rowe, Sheskey, & Owen, 2006]

Gambar 2. 9. struktur kimia Propilen Glikol

Nama kimia	: 1,2-Propanediol
BM	: 76,09
Fungsi	: Humektan dan kosolven
Kelarutan	: larut dalam air
Organoleptis	: cairan tidak berwarna, jernih dan tidak berbau, dan mempunyai rasa manis
Inkompatibilitas	: senyawa pengoksidasi seperti KMnO_4 , dan suhu tinggi
Penyimpanan	: wadah tertutup rapat, ditempat sejuk dan kering.

Propilen glikol dapat digunakan sebagai humektan untuk menjaga agar sediaan tidak kehilangan kandungan airnya secara drastis dan juga sebagai kosolven.

2.8.3 Metil paraben (Rowe, Sheskey, & Owen, 2006)



[Sumber: Rowe, Sheskey, & Owen, 2006]

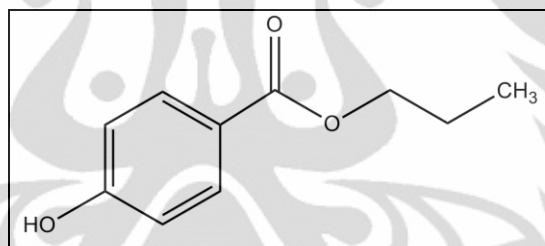
Gambar 2. 10. Struktur kimia metil paraben

Nama kimia	: Metil-4-hidroksibenzoat
Sinonim	: Nipagin
BM	: 152,15
Fungsi	: Pengawet
Kelarutan	: 1:400 dalam air, 1:2 dalam etanol, 1:5 dalam propilen glikol
Organoleptis	: Kristal tidak berwarna atau serbuk kristalin putih, memberikan rasa panas dan bau tidak spesifik

- Inkompatibilitas : Bentonit, magnesium trisilikat, talk, natrium alginat, tragakan, minyak atsiri, sorbitol, dan Tween 80.
Terjadi perubahan warna dengan adanya logam besi.
- Penyimpanan : Wadah tertutup rapat di tempat sejuk dan kering.

Metil paraben mempunyai rentang pH efektif yang cukup lebar (4-8) dan juga aktivitas antimikroba dengan spektrum luas. Penggunaannya dapat dikombinasikan dengan paraben lainnya untuk mendapatkan efek yang sinergis, ataupun dengan mengkombinasikannya dengan propilen glikol. Sediaan dengan metil paraben pada pH 3-6 stabil selama 4 tahun pada suhu ruangan, sedangkan pada pH di bawah 3 atau di atas 8 kestabilannya menurun menjadi 60 hari penyimpanan pada suhu ruangan.

2.8.4 Propil Paraben (Rowe, Sheskey, & Owen, 2006)



[Sumber: Rowe, Sheskey, & Owen, 2006]

Gambar 2. 11. Struktur kimia propil paraben

- Nama kimia : Propil 4-hidroksibenzoat
- Sinonim : Nipasol
- BM : 180,20
- Fungsi : Pengawet
- Kelarutan : 1:2500 dalam air, 1:5,6 dalam etanol, 1:3,9 dalam propilen glikol
- Organoleptis : Serbuk putih dengan rasa dan bau tidak spesifik
- Inkompatibilitas: Aluminium silikat, magnesium trisilikat, *yellow iron oxide*, dan *ultramarine blue* dapat menyerap propil paraben. Besi dapat menyebabkan perubahan warna.

Penyimpanan : Wadah tertutup rapat di tempat sejuk dan kering.

Propil paraben ini mempunyai rentang pH efektif yang cukup lebar (4-8) dan juga aktivitas antimikroba dengan spektrum luas. Propil paraben umumnya dikombinasikan dengan metil paraben untuk mendapatkan efek yang sinergis. Sediaan dengan pengawet propil paraben pada pH 3-6 stabil selama 4 tahun pada suhu ruangan, sedangkan pada pH di bawah 3 ataupun di atas 8 kestabilannya menurun menjadi 60 hari penyimpanan pada suhu ruangan.

2.9 Uji Penetrasi (Martin, J. Swarbrick & A. Cammarata, 1983, Touitou, 2007)

Sel difusi franz adalah salah satu cara untuk mengukur jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit. Sel difusi franz terbagi atas dua komponen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor. Membran yang digunakan dapat berupa kulit manusia ataupun kulit hewan. Membran diletakkan diantara kedua kompartemen yang dilengkapi dengan *o-ring* untuk menjaga letak membran. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dijaga dengan sirkulasi air disekeliling kompartemen reseptor. Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit.

Pada interval waktu tertentu diambil sampel beberapa ml cairan dari kompartemen reseptor dari jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dapat dianalisa dengan metode analisis yang sesuai. Setiap sampel yang diambil pada kompartemen reseptor harus selalu digantikan dengan cairan yang sama sejumlah volume pengambilan. Secara umum laju penetrasi obat melalui kulit mengikuti hukum Fiks 1 karena pada dasarnya obat masuk ke dalam kulit dengan cara difusi pasif.

$$J = \frac{dM}{A \cdot dt} \quad (2.1)$$

Keterangan :

M = jumlah kumulatif obat yang melalui membran (μg)

A = area difusi (cm^2)

t = waktu (jam)

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i S}{A} \quad (2.2)$$

Q = jumlah kumulatif obat terpenetrasi per luas area difusi ($M/A = \mu\text{g cm}^{-2}$)

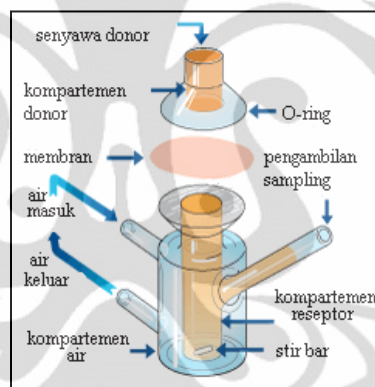
C_n = konsentrasi obat ($\mu\text{g ml}^{-1}$) pada sampling jam ke- n

V = volume sel difusi Franz (12,0 ml)

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i S$ = jumlah konsentrasi obat ($\mu\text{g ml}^{-1}$) pada sampling pertama ($i=1$, jam ke 0,5)

S = volume sampling (0,5 ml)

A = area membran ($1,89 \text{ cm}^2$) = area difusi dalam hukum fick



[Sumber : *PermeGear Franz*, 2005]

Gambar 2. 12. Skema alat difusi Franz (telah diolah kembali)

2.10 KCKT

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran diantara dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan teknik analisa yang paling cepat berkembang dalam kimia analitik baik dalam analisa kuantitatif maupun kualitatif (Harmita, 2006).

2.10.1 Analisis Menggunakan Detektor Fluoresensi

Pada umumnya detektor fluoresensi digunakan untuk zat-zat yang dapat berfluoresensi seperti kinin. Untuk zat-zat yang tidak memiliki gugus kromofor seperti asam amino dan glukosamin dapat ditambahkan pereaksi agar membentuk senyawa yang dapat berfluoresensi. Glukosamin merupakan senyawa amin primer yang dapat bereaksi dengan ortoftalaldehid memberikan hasil yang dapat berfluoresensi tinggi.

2.10.2 Metode analisis dengan KCKT fase balik

2.10.2.1 Langsung

Metode ini menggunakan pasangan pelarut yang paling lazim dipakai dalam KCKT fase balik, yaitu metanol-air. Metanol merupakan pelarut yang sangat murni, mudah didapatkan dan berhasil baik pada banyak pemisahan. Tetapi memiliki kekurangan dimana viskositasnya yang tinggi cenderung menurunkan koefisien kolom, sukar bercampur dengan cuplikan non polar.

2.10.2.2 Larutan dapar

Larutan dapar dalam air lazim digunakan untuk menekan pengionan komponen cuplikan yang dapat terion. pH larutan dapar dalam air akan berubah jika larutan itu dicampur dengan pelarut organik seperti metanol dan asetonitril. Contoh dapar yang dapat digunakan yaitu dapar fosfat, dapar asetat dan kombinasi dapar asetat dan fosfat.

2.10.3 Derivatisasi pada KCKT

Suatu reaksi derivatisasi harus mempunyai syarat produk yang dihasilkan harus mampu menyerap baik sinar UV atau sinar tampak atau dapat membentuk senyawa yang berfluoresensi sehingga dapat dideteksi dengan spektrofotometer, proses derivatisasi harus cepat dan menghasilkan produk yang sebesar mungkin, produk hasil derivatisasi harus stabil selama proses derivatisasi dan deteksi, sisa pereaksi untuk derivatisasi harus tidak mengganggu pemisahan kromatografi.

Derivatisasi dapat dilakukan baik sebelum masuk kolom (*pre column derivatization*). Pada derivatisasi ini analit diderivatisasi terlebih dahulu sebelum

diinjeksikan ke dalam kromatografi, sementara itu pada derivatisasi setelah kolom analit diinjeksikan dahulu ke kolom lalu diderivatisasi setelah keluar dari kolom, akan tetapi belum mencapai detektor.

2.10.4 Ortoftalaldehida (Blau, 1993)

Semua asam amino dapat berfluoresensi dengan ortoftalaldehida (OPA) dengan adanya kehadiran alkilthiol seperti 2-merkaptoetanol. Reaksi selanjutnya dengan OPA/2-merkaptoetanol atau thiol lainnya pada pH 10 diikuti dengan perekaman intensitas fluoresensi (eksitasi pada 340-345 nm, emisi pada 455 nm), menjadi metode yang digunakan secara luas untuk determinasi dari asam amino. Reaksi umum OPA/2-merkaptoetanol dengan glukosamin dapat dilihat pada gambar 4.8

Pada pH 10 media air (biasanya buffer borat) komponen yang mengandung gugus amin primer bereaksi dengan OPA dengan kehadiran thiol memberikan 1-alkilthio-2-alkilisoindol. Jika OPA/R-SH berada pada konsentrasi melampaui amina 2-3 kali besarnya, reaksi biasanya sempurna pada 1-2 menit pada suhu kamar.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

1.1 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2010 - Mei 2011. Pembuatan liposom, gel, evaluasi sediaan serta uji efektifitas penyerapan dan penetrasi glukosamin secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz dilakukan di Laboratorium Penelitian Farmasetika Departemen Farmasi FMIPA UI dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI, serta penetapan ukuran partikel liposom di Departemen Fisika FMIPA UI.

1.2 Alat

Timbangan Analitik (Adam, USA), Mikro pipet (Socorex, Swiss), pH meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), Vortek mixer (Branstead, USA), Sonikator (Branson 3200), HPLC yang dilengkapi dengan detektor Fluoresensi (Shimadzu RF-535, Jepang), Kolom C18 Symmetry Shield (Waters, USA), Rotary Evaporator (IKA), Homogenizer (Multimix, Malaysia), Viskometer model HAT dengan spindle tipe HA (Brookfield, USA), Penetrometer (Herzoo, Jerman), Oven (Mettler, Jerman), Difusi Franz (Bengkel gelas ITB, Indonesia), Peralatan gelas lainnya.

1.3 Bahan

Glukosamin HCl (Jiangsu Jiushoutang, Cina), Standar Glukosamin HCl (Sigma Aldrich, Singapura), Asam oleat (penyalur Brataco Chemica, Indonesia), Propil paraben (penyalur Brataco Chemica, Indonesia), Metil paraben (penyalur Brataco Chemica, Indonesia), Propilen glikol (penyalur Brataco Chemica, Indonesia), HPMC (Dow Chemical Company, Jerman), Etanol 96% (Merck, Jerman), Lesitin (Lipoid), Kolesterol (Research Organic), Asam borat (Merck, Jerman), Kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), Natrium hidroksida (Merck, Jerman), Aquadest (Lab. Farmasi FMIPA UI), Kloroform (Merck, Jerman), Tetrahydrofloran (Merck, Jerman), Asetonitril (Merck, Jerman), O-ftalaldehid

(Sigma Aldrich, Singapura), Methanol (Merck, Jerman), 2-merkptoetanol (Merck, Jerman), Filter eluen, Kulit tikus betina *Rattus norvegicus* usia 2-3 bulan dengan berat \pm 150 gram.

2.3.1 Pembuatan Larutan Glukosamin HCl

Glukosamin HCl ditimbang sebanyak 300 mg dimasukkan dalam labu ukur 5,0 ml lalu dilarutkan dan dicukupkan volumenya dengan dapar fosfat pH 7,4 hingga batas.

1.3.2 Pembuatan Dapar Fosfat pH 7,4

Kalium dihidrogen fosfat ditimbang sebanyak 27,22 gram dilarutkan dalam aquadest bebas CO₂ hingga 1000 ml. 50 ml larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 200 ml lalu ditambahkan 39,1 ml natrium hidroksida 0,2 M dan dicukupkan volume dengan aquadest bebas CO₂, pH dicek pada nilai 7,4.

1.3.3 Pembuatan Dapar Borat pH 9,3

Asam borat ditimbang sebanyak 2,47 gram ditambahkan larutan natrium hidroksida jenuh hingga pH 9,3 kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume 100 ml.

1.3.4 Pembuatan Pereaksi O-Ftalaldehid/2-Merkptoetanol (OPA/2-ME)

Ditimbang 27 mg o-ftalaldehid kemudian ditambahkan 500 μ l etanol dan 20 μ l 2-merkptoetanol, kocok dengan vortek, kemudian diencerkan dengan dapar borat 9,3 sampai volume 5 ml. Larutan disimpan 24 jam dalam lemari pembeku sebelum digunakan.

1.3.5 Pembuatan Fase Gerak Tetrahidrofur 0,25% - Asetonitril (83:17)

1,25 ml tetrahidrofur dilarutkan dalam 500,0 ml aquadest. Larutan disaring dengan filter, kemudian ditambahkan 102 ml asetonitril *HPLC grade*

dalam larutan tersebut. Eluen ini dihomogenkan selama 5 menit dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm.

2.4 Cara kerja

2.4.1 Pembuatan Liposom Dengan Metode Lapis Tipis

Komposisi yang digunakan dalam formulasi ini adalah lesitin : kolesterol = 45 : 55; 50 : 50; 55 :45 rasio molar. Lesitin dan kolesterol dilarutkan dalam 10 ml kloroform pada labu bulat. Kloroform diuapkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 50°C , 150 rpm selama 2 jam sehingga terbentuk lapis tipis lipid di dalam dinding labu bulat (Margareth, 2005). Kemudian biarkan semalam dalam suhu 20°C (Miyajima et al. 1994). Diambil sebanyak 5,0 ml dapar fosfat pH 7,4 yang mengandung glukosamin HCl untuk menghidrasi lapis tipis. Suspensi dikocok dengan ultrasonikasi dengan sonikator selama 20 menit (Margareth, 2005).

3.4.2 Pemurnian Liposom (Ai-Hua Wen, Min-Koo Choi , dan Dae-Duk Kim)

Liposom di murnikan dengan cara memisahkan partikel liposom dari partikel glukosamin yang tidak terjerap menggunakan alat dialisis. Dengan dialisis dapat diketahui persentase penjerapan glukosamin setelah terjadi kesetimbangan obat bebas pada kompartemen dapar dan kompartemen liposom. Prinsip metode dialisis ini adalah perpindahan sejumlah obat yang tidak terjerap oleh liposom di dalam kompartemen donor ke dalam kompartemen reseptor yang dipisahkan oleh membran selofan karena adanya gradien konsentrasi.

Sejumlah 0,5 ml liposom dimasukkan kedalam kompartemen donor mesin dialisis, 0,5 ml larutan dapar fosfat pH 7,4 dimasukkan dalam kompartemen reseptor. Dialisis dilakukan sampai terjadi kesetimbangan lalu diambil 0,3 ml larutan kompartemen dapar lalu cukupkan volumenya dengan larutan dapar borat pH 9,3 hingga 25,0 ml. Dilakukan pengenceran sebanyak 200 µl dalam labu ukur 10 ml lalu cukupkan volume dengan larutan dapar borat pH 9,3. Sampel diambil 50 µl dan ditambahkan 50 µl pereaksi OPA/2-ME kemudian di vortek selama 20 detik dan biarkan bereaksi selama 2 menit dan di pipet sebanyak 20 µl dan ukur menggunakan KCKT. Presentasi penyerapan dapat dihitung menggunakan :

Universitas Indonesia

$$EP \% = \frac{C \text{ liposom} - C \text{ bebas}}{C \text{ liposom}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Liposom yang telah didialisis kemudian dicecilkan dan dihomogenkan ukurannya dengan mengekstruksi liposom dengan cara melewati liposom pada membran Whatman Nuclepore 0,2 mikron, lalu disimpan dalam vial.

2.4.3 Pembuatan Sediaan Gel Liposom

HPMC ditaburkan sedikit-sedikit ke dalam aquadest yang telah dipanaskan hingga suhu 80°C. Dan kemudian di homogenkan dengan homogenizer pada kecepatan 300 rpm hingga terbentuk fase gel. Selanjutnya liposom yang telah terbentuk tersebut kemudian di campurkan kedalam fase gel agen. Asam oleat dan etanol dilarutkan kedalam propilen glikol terlebih dahulu selanjutnya senyawa peningkat penetrasi ditambahkan kedalam fase gel yang telah terbentuk.

Tabel 3. 1. Formulasi Gel Liposom Glukosamin

BAHAN	Kontrol	Formula 1	Formula 2
glukosamin	0,03%	0,03%	0,03%
HPMC	2,5%	2,5%	2,5%
Propilen Glikol	3,5%	3,5%	3,5%
Propil Paraben	0,02%	0,02%	0,02%
Metil Paraben	0,18%	0,18%	0,18%
Etanol 96%	-	5%	-
Asam oleat	-	-	5%
Aquadest	ad 100%	ad 100%	ad 100%

3.5 Evaluasi Sediaan Gel (Christina, 2010)

3.5.1 Uji Organoleptis

Sediaan diamati terjadinya sineresis atau tidak, kejernihan, bau, serta perubahan warna.

1.5.2 Uji Konsistensi

Sediaan dievaluasi dengan dimasukkan kedalam wadah khusus dan diletakkan pada penetrometer. Batang pendorong dilepas dengan menekan tombol start, angka penetrasi dibaca setelah kerucut menembus sediaan.

1.5.3 Pengukuran pH

Uji pH dapat dilakukan menggunakan indikator universal atau pH meter. pH sediaan semi solid disesuaikan dengan pH kulit, yaitu 4,5 - 6,5. Jika terlalu asam, maka akan menyebabkan iritasi kulit. Jika terlalu basa, maka akan menyebabkan gatal-gatal dan kulit bersisik. Pertama kali elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan 7. Kemudian elektroda dicelupkan kedalam sediaan, catat angka yang tertera.

1.5.4 Pengukuran Viskositas Gel

Viskositas adalah ukuran tahanan suatu cairan untuk mengalir. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield. Sediaan gel dimasukkan kedalam beaker glass 500 ml. Spindel yang sesuai diturunkan hingga batas spindel tercelup kedalam gel. Kemudian motor dinyalakan dan spindel dibiarkan berputar. Pengamatan dilakukan pada kecepatan motor 0,5; 1; 2;; 2,5; 5; 10; 20; 50 rpm, kemudian dilakukan berulang dengan kecepatan dari yang tercepat ke yang terkecil. Angka *dial reading* dikalikan dengan faktor yang dilihat pada tabel yang terdapat pada brosur alat untuk mendapatkan nilai viskositas.

1.5.5 Stabilitas Fisik Sediaan

a. Penyimpanan pada suhu kamar

Sediaan disimpan pada suhu $\pm 28^{\circ}\text{C}$ selama 4 minggu dengan pengamatan selama 2 minggu sekali. Pengamatan meliputi organoleptis dan pH.

b. Penyimpanan pada suhu tinggi

Sediaan disimpan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 4 minggu dengan pengamatan selama 2 minggu sekali. Pengamatan meliputi organoleptis dan pH.

c. Penyimpanan pada suhu rendah

Sediaan disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 4 minggu dengan pengamatan selama 2 minggu sekali. Pengamatan meliputi organoleptis dan pH.

1.5.6 Uji Siklus

Sediaan disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam kemudian dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Pengamatan meliputi organoleptis, dan pH.

3.5.7 Uji Penetrasi Perkutan (Christina, 2010, Purwadi, 2007)

1.5.7.1 Pembuatan kurva kalibrasi glukosamin dapar fosfat 7,4 dan dapar borat pH 9,3

Standar glukosamin HCl ditimbang sebanyak $\pm 15,0$ mg lalu dilarutkan dengan dapar fosfat pH 7,4 dalam labu ukur hingga 25,0 ml. Akan didapatkan larutan dengan konsentrasi 500 ppm dihitung terhadap glukosamin base. Larutan ini dipipet masing-masing 40,0; 80,0; 120,0; 500,0 μl lalu diencerkan dengan dapar borat pH 9,3 hingga volume 5,0 ml. Larutan ini mempunyai konsentrasi 4; 8; 12; 16; dan 50 ppm dihitung terhadap glukosamin base. Dari larutan 50 ppm dipipet 40,0; 80,0; 100,0 μl kemudian dilarutkan dengan dapar pH 9,3 hingga 5,0 ml sehingga didapat konsentrasi 0,4; 0,8 dan 1 ppm dihitung terhadap glukosamin base. Sehingga larutan yang digunakan dalam kurva kalibrasi adalah 0,4; 0,8; 1; 4; 8; 12 ppm. Masing-masing larutan standar tersebut dipipet 50,0 μl dan direaksikan dengan 50,0 μl OPA/2-ME kemudian di vortek selama 20 detik dan biarkan bereaksi selama 2 menit dan di pipet sebanyak 20 μl . Kemudian larutan tersebut dianalisis dengan KCKT detektor fluoresensi pada panjang gelombang eksitasi 336 nm dan emisi 451 nm dengan laju alir eluen 1,0 ml/menit dan dihitung persamaan regresi linearnya (Christina, 2010).

1.5.7.2 Uji Penetrasi Glukosamin

Membran yang digunakan adalah membran abdomen kulit tikus betina *Rattus norvigicus* usia 2-3 bulan dengan berat ± 150 gram. Pertama-tama tikus

dibus dengan eter hingga mati kemudian di posisikan terlentang. Bulu tikus dicukur dengan hati-hati kemudian kulit tikus disayat pada bagian perut dengan ketebalan $0,6 \pm 0,1$ mm. Kemudian kulit tikus direndam dalam dapar fosfat pH 7,4 selama 30 menit dan dapat langsung digunakan. Kulit abdomen tikus diletakkan diantara kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan posisi stratum korneum menghadap ke atas. Sampel sebanyak 1 gram diaplikasikan pada permukaan kulit, kemudian diambil sampel sebanyak 0,5 ml pada menit ke-30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 dari kompartemen reseptor menggunakan syring dan segera digantikan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sejumlah volume yang diambil. Sampel yang diambil tersebut dimasukkan kedalam labu ukur 5,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan dapar borat pH 9,3. Larutan sampel tersebut dipipet 50,0 μ l dan direaksikan dengan 50,0 μ l pereaksi OPA/2-ME kemudian di vortek selama 20 detik dan biarkan bereaksi selama 2 menit dan di pipet sebanyak 20 μ l. Sampel dianalisis dengan KCKT detektor fluoresensi pada panjang gelombang eksitasi 336 nm dan emisi 451 nm dengan laju alir eluen 1,0 ml/menit kemudian dihitung kadarnya menggunakan persamaan kurva kalibrasi glukosamin dalam dapar fosfat pH 7,4 dan dapar borat pH 9,3 (Christina, 2010). Percobaan dilakukan sebanyak dua kali.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Pembuatan Liposom

Metode pembuatan liposom menggunakan metode hidrasi lapis tipis ini memiliki keunggulan dibandingkan metode lain, yaitu lebih praktis dan sederhana. Model obat yang digunakan adalah glukosamin HCl, obat ini bersifat hidrofil sehingga sulit menembus lapisan kulit hingga lapisan dermis, dengan menggunakan liposom sebagai pembawa obat maka glukosamin akan mampu menembus lapisan dermis.

Langkah pertama dalam pembuatan liposom ialah dengan melarutkan lesitin dan kolesterol secara bersamaan dalam 5 ml kloroform dalam labu bulat. Pemilihan kloroform didasarkan kepada kelarutan bahan yang baik sehingga dibutuhkan pelarut dalam jumlah lebih sedikit. Larutan lemak tersebut di rotavapor pada suhu penguapan yang tidak terlalu tinggi yaitu 50°C, Pada suhu tersebut panas yang dihasilkan berperan untuk terbentuknya lamelar pada dinding labu dan membantu penguapan kloroform. Kecepatan rotavapor yang digunakan adalah 150 rpm diharapkan memberikan gaya menyebar yang lebih besar sehingga larutan tersebar lebih luas yang membuat lapisan yang terbentuk menjadi lebih tipis dan mudah dihidrasi. Setelah 2 jam seluruh pelarut telah menguap dan terbentuk lapisan tipis di dasar labu. Lapis tipis tersebut disimpan dalam desikator selama 24 jam untuk menjamin penghilangan pelarut dengan sempurna.

Hidrasi lapis tipis glukosamin HCl dalam dapar fosfat pH 7,4 dilakukan pada suhu 60°C yang merupakan suhu transisi lapis ganda liposom dimana sifat dasar fosfolipid dalam media air pada suhu transisi akan membentuk vesikel. konsentrasi glukosamin HCl adalah 30000 ppm dan jumlah dapar fosfat yang digunakan adalah 5 ml. Jumlah larutan untuk menghidrasi yang sedikit ini dimaksudkan untuk meminimalkan jumlah air dalam liposom waktu diformulasikan ke dalam sediaan, namun kadar glukosamin tetap tinggi. Setelah itu divortek selama 10 menit dengan maksud untuk menghomogenkan ukuran liposom, kemudian dilakukan sonikasi sonikasi selama 20 menit untuk

meningkatkan penyerapan fase air pada lipid bilayer. Sonikasi dilakukan selama 20 menit merupakan waktu yang optimum dalam meningkatkan penyerapan, jika terlalu cepat jumlah glukosamin yang dapat dijerap masih sedikit sedangkan jika terlalu lama ditakutkan jumlah glukosamin yang sudah dijerap akan kembali keluar (Margareth, 2005). Liposom yang terbentuk masih bercampur dengan glukosamin yang tidak dijerap sehingga dilakukan pemisahan partikel liposom dengan glukosamin yang tidak dijerap.

2.1.1 Pemurnian Liposom

Liposom yang dihasilkan kemudian dipisahkan dari obat bebas dengan metode dialisis, dimana kompartemen donor diisi dengan liposom dan kompartemen reseptor diisi dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4. Glukosamin yang dijerap di dalam liposom dapat ditetapkan bila sudah terjadi kesetimbangan antara kompartemen donor dengan kompartemen reseptor, hal ini dapat diketahui dari hasil penetapan kadar yang berdekatan nilainya.

Tabel 4. 1. Data Persentase Efektifitas Penjerapan

Formula	Kadar (ppm)	EP %
1	10079,3	64,62
2	16576,7	41,81
3	20908,3	26,61

Dari hasil orientasi diperoleh bahwa setiap formula memiliki waktu kesetimbangan yang berbeda dimana formula 1 kesetimbangan terjadi pada jam ke 5, sedangkan pada formula 2 kesetimbangan terjadi pada jam ke 6 dan formula ke 3 kesetimbangan terjadi pada jam ke 5. Efisiensi penyerapan rata-rata yang diperoleh adalah sebesar 64,62 %, 41,81 %, 26,61 %, masing-masing untuk formula 1, 2, 3. Dari hasil dialisis ketiga formula ini dapat disimpulkan bahwa semakin meningkatnya kolesterol yang digunakan akan semakin meningkat pula efisiensi penyerapan obat. Hal ini dikarenakan kolesterol berfungsi sebagai penstabil liposom yang menurunkan permeabilitas sehingga mencegah kebocoran obat (Utser et al, 1991). Contoh perhitungan EP% dapat dilihat pada lampiran 1.

Setelah proses dialisis, dilakukan ekstruksi terhadap liposom. Proses ekstruksi dapat memperkecil dan menyeragamkan ukuran partikel. Ekstruksi dilakukan dengan menggunakan membran whatman 0,2 mikro nucleopore polikarbonat menghasilkan ekstruksi yang tidak begitu kental bila dibandingkan dengan liposom yang belum mengalami ekstruksi, dapat dilihat pada gambar 4.3. Untuk mengetahui ukuran partikel hasil ekstruksi, dilakukan penetapan distribusi ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* LS 100 Coulter yang memiliki persentase jerapan terbesar yaitu pada formula 1 diperoleh rentang distribusi ukuran partikel sesudah ekstruksi lebih sempit dibandingkan rentang ukuran partikel sebelum ekstruksi. Ukuran partikel rata-rata setelah ekstruksi adalah 0,465 μm . Hal ini mungkin disebabkan proses ekstruksi yang tidak sempurna, agregasi dari partikel liposom yang sudah diekstruksi, atau kebocoran membran dari alat ekstruksi yang dipakai. Data hasil ekstruksi dapat dilihat pada gambar 4.19.

1.1.2 Pembuatan Gel Liposom

Pemilihan jenis sediaan gel sebagai basis didasari pada proses pembuatan yang lebih mudah dan mudah dibersihkan. Basis gel yang digunakan sebagai gel agen adalah HPMC kerana memberikan viskositas yang lebih baik pada konsentrasi rendah, dan stabilitas yang cukup baik.

Dalam sediaan ini digunakan bahan tambahan untuk mendapatkan hasil yang lebih baik. Metil paraben dan propil paraben digunakan sebagai pengawet pada konsentrasi yang memberikan aktivitas anti mikroba yang optimal. Basis gel memerlukan pengawet karena gel mengandung air dalam jumlah tinggi yang merupakan medium pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba dapat merusak stabilitas gel (Rowe, Sheskey, & Owen, 2006). Propilen glikol digunakan sebagai humektan dan kosolven untuk melarutkan metil paraben dan propil paraben. Pada formula ke-2 propilen glikol digunakan juga untuk melarutkan asam oleat.

Pembentukan gel oleh HPMC dilakukan dengan mendispersikan HPMC dengan aquadest yang telah di panaskan pada suhu 80°C yang merupakan angka pembentukan gel dari HPMC pada suhu sekitar 80 - 90°C dan di aduk menggunakan homogenizer hingga dingin. Pengadukan menggunakan kecepatan

300 rpm untuk meminimalisir terperangkapnya gelembung udara. Liposom glukosamin dimasukkan kedalam basis gel, kemudian diikuti penambahan salah satu senyawa peningkat penetrasi, yaitu etanol atau asam oleat. Karena asam oleat larut dalam golongan fenol, maka asam oleat dilarutkan dahulu kedalam propilen glikol dahulu. Untuk memberikan perlakuan yang sama, maka etanol dilarutkan juga didalam propilen glikol kemudian dimasukkan kedalam basis gel.

1.2 Evaluasi Sediaan Gel

Ketiga formula dievaluasi segera setelah selesai dibuat. Hasil evaluasi pada minggu ke-0 akan digunakan sebagai perbandingan terhadap perubahan yang terjadi pada ke-3 formula setelah disimpan pada kondisi suhu yang berbeda-beda.

1.2.1 Pengamatan Organoleptis

Pada minggu ke-0 sediaan kontrol, formula 1 dan formula 2 menghasilkan gel masih banyak terperangkap gelembung udara karena proses kecepatan pengadukan, berwarna putih tidak jernih karena penambahan liposom. Sedangkan pada formula 2 berwarna putih susu karena ada pengaruh asam oleat. Data pengamatan organoleptis ketiga formula dapat dilihat pada tabel 4.4.

Pengamatan fisik terhadap sediaan kontrol, formula 1 menunjukkan gel yang tidak bening. Hal ini disebabkan oleh terperangkapnya udara dan liposom yang berwarna krem. Formula 2 tidak terlihat adanya gelembung udara karena tertutupi oleh warnanya yang putih yang muncul karena adanya asam oleat. Asam oleat ini juga memberikan bau pada sediaan, sedangkan pada sediaan kontrol dan formula 1 tidak berbau. Pada ketiga formula tidak mengalami sineresis berarti HPMC sebagai gel agen mampu menahan penjerapan air.

4.2.2 Uji Konsistensi

Penetrometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur konsistensi atau kekerasan sediaan semisolid, Yield value merupakan nilai tertentu untuk sediaan dapat mengalir. Sediaan yang baik memiliki nilai yield value diantara 100 – 1000 dyne/cm² (Zats & Kushla, 1996). Semakin rendah nilai yield value, semakin

mudah sediaan menyebar. Sebaliknya semakin tinggi nilai yield value maka semakin sulit sediaan tersebar ketika diaplikasikan pada kulit (Christina, 2010).

Tabel 4. 2. Hasil pemeriksaan konsistensi kedua formula pada minggu ke-0

Sediaan	Penetrasi (1/10 mm)	Yield value (dyne/cm ²)
Kontrol	408	2217,62
Formula 1	384	2503,48
Formula 2	365	2770,91

Hasil evaluasi konsistensi sediaan kontrol menunjukkan angka kedalaman penetrasi sebesar 40,8 mm dan yield value sebesar 2217,62 dyne/cm². Formula-2 menunjukkan angka kedalaman penetrasi sebesar 38,4 mm dan yield value sebesar 2503,48 dyne/cm². Pada formula ke-3 menunjukkan angka kedalaman penetrasi sebesar 36,5 mm dan yield value sebesar 2770,91 dyne/cm². Ketiga formula tersebut menunjukkan bahwa sediaan ini tidak mudah tersebar. Contoh perhitungan konsistensi dapat dilihat pada lampiran 2.

4.2.3 Pengukuran pH

pH pada sediaan kontrol, formula 1 dan formula 2 secara berturut-turut adalah 4,97; 5,29; 4,84. Ke-3 sediaan ini berada pada rentang pH kulit, yaitu 4,5 – 6,5. Kondisi pH ketiga formula ini dipengaruhi oleh glukosamin HCl yang bersifat asam dalam larutan sehingga pH menjadi asam serta adanya penambahan senyawa peningkat penetrasi.

4.2.4 Pengukuran Viskositas Gel

Data hasil pengukuran viskositas dapat dilihat pada tabel 4.13 – 4.15 dan grafik rheologinya dapat dilihat pada gambar 4.10 – 4.12. Berdasarkan grafik rheologi dapat disimpulkan bahwa ke-3 sediaan mempunyai sifat aliran pseudoplastis.

Penambahan senyawa peningkat penetrasi mempengaruhi viskositas masing-masing formula. Etanol pada formula 1 menurunkan viskositas gel karena terjadi pengenceran. Sebaliknya asam oleat meningkatkan viskositas gel. Semakin

tinggi nilai viskositas maka semakin besar tahanannya sehingga sediaan semakin sulit mengalir.

1.3 Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel

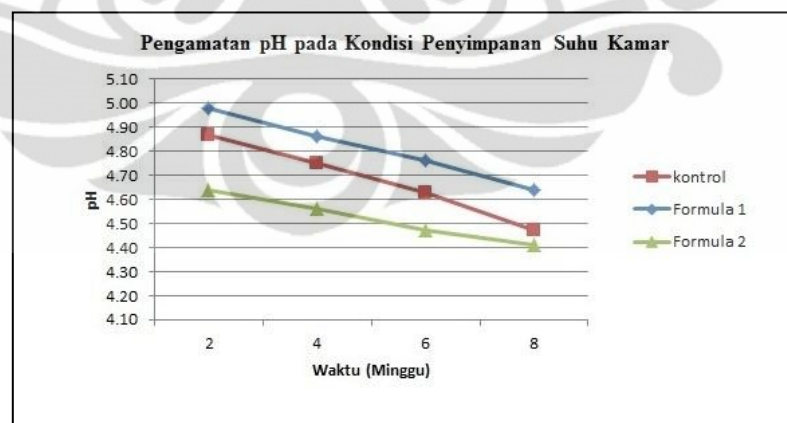
Pengujian ini dimaksudkan untuk melihat stabilitas fisik ketiga sediaan selama penyimpanan pada kondisi suhu yang berbeda, yaitu pada suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$), dan suhu rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$).

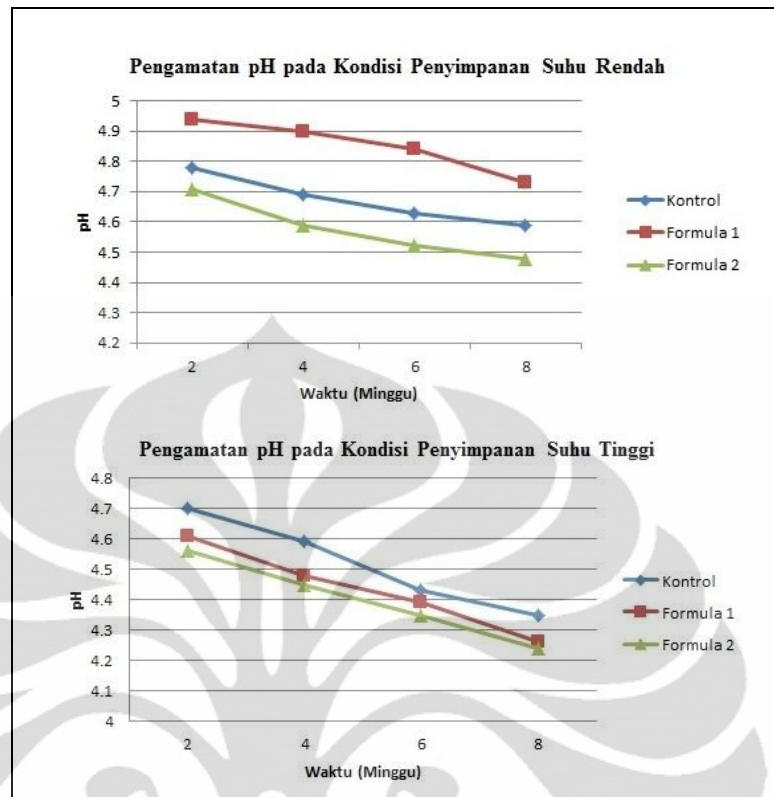
1.3.1 Penyimpanan pada Suhu Kamar, Suhu Tinggi, dan Suhu Rendah

1.3.1.1 Pengamatan Organoleptis

Ketiga formula secara organoleptis pada ketiga suhu penyimpanan menunjukkan kestabilan. Perubahan yang terlihat dari sediaan hanyalah hilangnya gelembung udara yang terperangkap didalam gel. Selama penyimpanan 8 minggu tidak terjadi sineresis pada ketiga formula. Data pengamatan organoleptis dapat dilihat pada tabel 4.5 – 4.7. dan dilihat pada gambar 4.4 – 4.6.

1.3.1.2 Pengukuran pH





Gambar 4. 1. Grafik Hubungan Antara Waktu Penyimpanan Dengan pH Ketiga Formula Selama 8 Minggu.

Pengukuran pH pada ke-3 sediaan selama 8 minggu menunjukkan terjadinya penurunan pH hal ini disebabkan pada pengamatan awal pH sediaan tidak memberikan kondisi pH yang baik bagi glukosamin. Glukosamin mempunyai stabilitas yang baik pada pH 5,0 (Kanwischer et al., 2005). Dari pengukuran tersebut, dapat disimpulkan bahwa kondisi terbaik untuk penyimpanan adalah pada suhu rendah. Data pengamatan stabilitas pH dapat dilihat pada tabel 4.8 – 4.10.

1.3.1.3 Pengukuran Viskositas Gel

Tabel 4. 3. Data Viskositas rata-rata

Sediaan	Viskositas rata-rata minggu ke-0	Viskositas rata-rata minggu ke-8
Kontrol	22929	29214
Formula 1	32799	21357
Formula 2	24164	37657

Hasil evaluasi viskositas ketiga formula pada penyimpanan suhu kamar menunjukkan nilai yang berbeda, pada sediaan kontrol dan formula 2 mengalami kenaikan karena setelah disimpan beberapa lama setelah dibuat pengaruh pengadukan yang menyebabkan penurunan viskositas sudah menurun sehingga struktur lapisan cairan kembali tersusun teratur sehingga viskositas naik kembali sedangkan pada formula 1 mengalami penurunan yang menunjukkan bahwa sediaan tersebut semakin menjadi encer seiring dengan waktu penyimpanan yang lama. Penurunan viskositas ini terjadi karena terjadinya suhu kamar yang cukup tinggi. Semakin tinggi suhu, viskositas akan menurun dan sediaan menjadi encer.

1.3.2 Uji Siklus

Uji Siklus dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel agen dalam menjaga penyerapan air dalam gel. Uji dilakukan dengan menyimpan masing-masing formula dalam suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam kemudian dipindahkan ke penyimpanan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Hasil pengamatan menunjukkan gel tidak mengalami sineresis menunjukkan gel agen HPMC stabil dan mampu mempertahankan penyerapan air dalam matriks.

Data pengamatan Uji Siklus dapat dilihat pada tabel 4.11. dan Foto hasil pengamatan Uji Siklus dapat dilihat pada gambar 4.7.

1.4 Uji Penetrasi Perkutan secara *In Vitro*

Penetapan kadar glukosamin dilakukan dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Kolom yang digunakan adalah C-18 dengan fase gerak THF 0,25%-asetonitril (83:17). Detektor yang digunakan adalah detektor fluoresensi. Sebelum di injek sampel glukosamin diderivatisasi dahulu dengan pereaksi o-ftalaldehid/2-merkaptotanol (OPA/2-ME) agar dapat berfluoresensi dan dibiarkan bereaksi selama 2 menit agar didapat derivat yang maksimum. Gambar reaksi derivatisasi glukosamin dapat dilihat pada gambar 4.8.

Pengukuran area derivat glukosamin dilakukan pada panjang gelombang eksitasi maksimum 336 nm dan panjang gelombang emisi maksimum 451 nm (Christina, 2010). Analisis dilakukan terhadap glukosamin dalam bentuk base,

bukan dalam bentuk garam HCl. Oleh karena itu glukosamin HCl harus diubah dahulu menjadi glukosamin base dengan cara menyesuaikan pH larutan menggunakan dapar borat pH 9,3.

Pada kromatogram yang dihasilkan, terdapat peak dengan waktu retensi yang bergeser, hal ini dapat terjadi bila komposisi fase gerak mengalami perubahan, baik sejak awal pembuatan terjadi pada saat penimbangan atau pembuatan komposisi fase gerak yang kurang kuantitatif maupun secara tidak sengaja karena waktu penyimpanan menyebabkan asetonitril menguap sehingga waktu retensi bergeser ke kanan. Komposisi fase gerak yang lebih non polar akan membuat analit akan lebih lama tertahan dan waktu analisisnya akan semakin lama (Fakheni, 2008).

Pada kromatogram terlihat juga peak yang pecah, hal ini dikarenakan tingkat kepolaran yang tidak berbeda jauh, sehingga didapatkan peak yang tergabung atau terlalu dekat. Bentuk peak yang tidak lancip, hal ini kemungkinan terjadi adanya THF yang menguap atau juga disebabkan oleh analit yang terurai. Waktu bereaksi dengan OPA/2-ME sangat cepat, sehingga bila terjadi keterlambatan dalam penyuntikan sampel kedalam injektor dapat menyebabkan sampel terurai (Fakheni, 2008).

1.4.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Glukosamin dalam Dapar Fosfat pH 7,4 dan Dapar Borat pH 9,3

Data kurva kalibrasi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 4.12 dan grafik dapat dilihat pada gambar 4.16. Persamaan regresi yang diperoleh yaitu:

$$y = 1079,9 + 26742x \text{ dengan } r = 0,9965$$

1.4.2 Uji Penetrasi Gel Liposom Glukosamin

Untuk membandingkan pengaruh etanol dan asam oleat terhadap laju penetrasi glukosamin dilakukan uji penetrasi perkutan secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz. Membran yang digunakan adalah kulit tikus putih *Rattus norvegicus* yang telah dicukur bulunya. Pencukuran bulu pada kulit yang digunakan dimaksudkan agar tidak mengganggu penetrasi glukosamin melewati membran (Walters, 2002). Pencukuran harus dilakukan dengan hati-hati agar tidak

melukai membran. Lapisan lemak subkutan tidak dihilangkan karena dalam penelitian ingin melihat kemampuan glukosamin menembus lapisan kulit hingga mencapai pembuluh darah (Walters, 2002). Kemudian kulit dihidrasi dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 selama 30 menit.

Kulit dipasang secara hati-hati dalam sel difusi franz dan diusahakan tidak ada udara yang terperangkap di antara membran dan cairan penerima. Udara yang terperangkap dapat menghambat penetrasi glukosamin karena menghalangi kontak antara membran dengan cairan penerima (Walters, 2002) sehingga mengurangi area membran.

Sistem difusi diatur suhu sesuai suhu tubuh, yaitu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ dengan mengalirkan air disekeliling kompartemen reseptor. Suhu kompartemen harus dijaga karena perubahan suhu bisa mengakibatkan perubahan laju difusi glukosamin menembus membran (Sinko, 2006). Kompartemen reseptor diaduk dengan magnetik stirer pada kecepatan 500 rpm untuk menjaga cairan kompartemen tetap homogen. Penggunaan kecepatan yang lebih tinggi dapat menyebabkan timbulnya gelembung gas diantara membran dan cairan kompartemen reseptor (Christina, 2010).

Sampel gel ditimbang sebanyak $\pm 1,0$ gram dan dimasukkan ke dalam kompartemen donor. Dalam memasukkan sampel gel ini diusahakan agar gel tidak menempel pada dinding kompartemen yang dapat mengurangi jumlah gel yang diuji.

Sampling dilakukan pada menit ke-10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 sebanyak 0,5 ml. Setiap sampel yang diambil harus segera digantikan dengan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 yang baru untuk menjaga agar volume difusi tetap konstan. Masing-masing sampel diencerkan dengan dapar borat pH 9,3.

Hasil penetrasi glukosamin pada ketiga formula tidak mencapai menit ke 480 karena hasil sampling yang dilakukan tidak memberikan peak pada kromatogram. Penetrasi glukosamin pada sediaan kontrol setelah 4 jam menunjukkan hasil yang paling banyak dengan jumlah kumulatif glukosamin per area difusi sebesar $83,225 \pm 0,45 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, akan tetapi nilai ini menurun bila dibandingkan dengan jam ke-3 sebesar $175,705 \pm 0,95 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Begitu juga pada

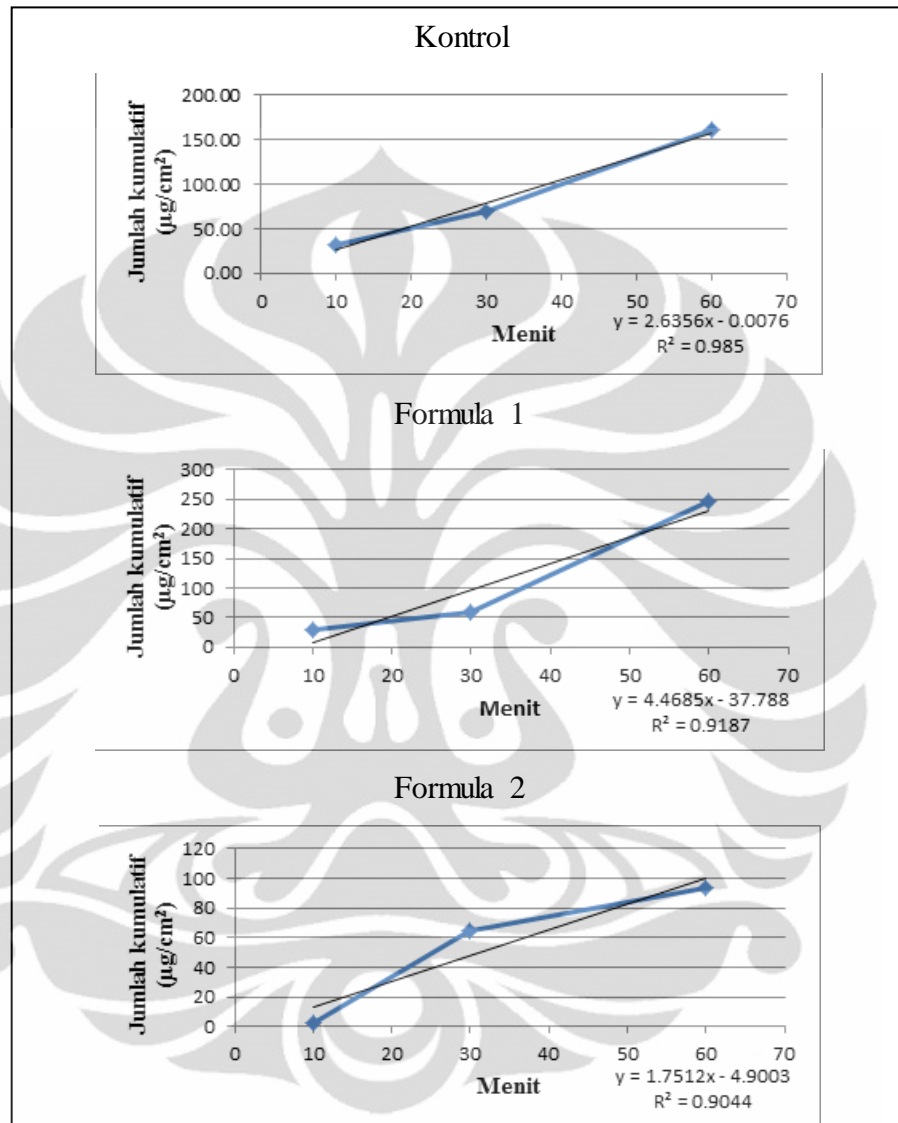
formula 2 yang memperlihatkan jumlah kumulatif maksimal pada menit ke-90 sebesar $164,455 \pm 3,61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan setelah itu menurun jumlah kumulatif hingga jam ke 5 sebesar $4,17 \pm 0,28 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Formula 1 juga memberikan jumlah kumulatif maksimal pada menit ke-60 sebesar $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan selanjutnya mengalami penurunan menjadi $4,72 \pm 0,13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pada jam ke-4.

Penurunan jumlah kumulatif glukosamin yang terpenetrasi pada ketiga formula dapat terjadi karena glukosamin yang berada dalam kompartemen reseptor sudah terdegradasi menjadi senyawa furfural. Senyawa furfural tidak memiliki gugus amin primer sehingga tidak terdeteksi dengan metode analisis yang digunakan. Karena gugus amin dari glukosamin akan berikatan dengan pereaksi 0-ftalaldehid /2-Merkaptoetanol (OPA/2-ME) menghasilkan senyawa yang dapat berfluoresensi (Purwadi, 2007). Hilangnya gugus amin primer akibat degradasi glukosamin menjadi senyawa furfural ini menyebabkan hasil degradasi glukosamin tidak terdeteksi lagi dan akibatnya terjadi penurunan jumlah kumulatif glukosamin yang terpenetrasi. Gambar degradasi glukosamin dapat dilihat pada gambar 4.9.

Formula 1 mengandung etanol 5% sebagai senyawa peningkat penetrasi memberikan laju penetrasi tinggi dibandingkan asam oleat. Laju penetrasi tertinggi dicapai pada menit ke-60 sebesar $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.jam. Laju penetrasi tertinggi secara cepat merupakan keuntungan bagi sediaan gel karena sediaan topikal mudah tercuci sehingga penetrasi tidak berlangsung maksimal. Dalam penelitian ini etanol merupakan senyawa peningkat penetrasi yang baik bagi glukosamin. Glukosamin merupakan senyawa hidrofilik sehingga sulit untuk menembus barrier lipid stratum korneum (Kanwischer et al, 2005). Etanol mengubah sifat melarutkan stratum korneum membuat liposom glukosamin lebih banyak terlarut kedalam stratum korneum dan dengan adanya liposom yang menembus sampai batas tertentu kemudian berinteraksi dengan kulit lipid untuk melepaskan obat (Barry, 1987).

Penggunaan asam oleat sebagai senyawa peningkat penetrasi pada formula 2 tidak meningkatkan laju penetrasi glukosamin. Dengan adanya asam oleat sebagai fase minyak justru menurunkan penetrasi dibandingkan sediaan kontrol. Laju tertinggi pada formula 2 terjadi pada menit ke-30 sebesar $128,14 \pm 13,60$

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Asam oleat meningkatkan penetrasi obat dengan cara mengganggu susunan lapisan lipid *bilayer* stratum korneum (Touitou & Barry, 2007).



Gambar 4. 2. Grafik Hubungan Antara Linieritas Fluks dan Formulasi Gel.

Berdasarkan grafik hubungan nilai linieritas terhadap formula gel terlihat bahwa formula F1 yang mengandung senyawa peningkat penetrasi etanol memiliki nilai fluks tertinggi yang berarti memiliki kecepatan penetrasi tertinggi sehingga merupakan formula yang terbaik untuk glukosamin.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

1.1 Kesimpulan

Berdasarkan uji penetrasi secara *in vitro* dengan sel difusi Franz menggunakan membran abdomen tikus *Rattus norvegicus* diperoleh hasil jumlah kumulatif glukosamin yang terpenetrasi tertinggi pada formula 1 (etanol) terjadi pada menit ke-60 sebesar $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dengan laju penetrasi $245,67 \pm 2,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$; pada formula 2 (asam oleat) terjadi pada menit ke-90 sebesar $164,455 \pm 3,61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dengan laju penetrasi $109,64 \pm 2,41 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$.

Berdasarkan Hubungan Antara Linieritas Fluks dan Formulasi Gel maka dapat disimpulkan bahwa formula yang tepat untuk sediaan adalah formula yang menggunakan senyawa peningkat penetrasi etanol.

1.2 Saran

Perlu ditambahkan dapar pada sediaan gel untuk meningkatkan kestabilan pH serta perlu dilakukan uji stabilitas kimia glukosamin karena uji stabilitas fisik hanya merupakan uji pendahuluan saja.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, Marline. (2004). *Liposom Sebagai Sistem Penghantaran Obat kanker: Review Artikel*. Vol2. No.3 Dalam: Jurnal Farmaka, 2-7
- Aku, A.S. dkk. (2007). *Manfaat Lesitin Nabati pada Preservasi dan Kriopreservasi Semen* dalam: Jurnal Animal Production. Vol.9.No.1. LIPI, 49-52.
- Ai-Hua Wen, Min-Koo Choi 1, and Dae-Duk Kim. 2006. Liposome for Topical Delivery of Arbutin. *Arch Pharm Res Vol 29, No 12, 1187-1192*
- Barry, B. W. (1987). Mode of action of penetration enhancers in human skin. Dalam: Anderson, James M & Sung Wan Kim (ed.). 1987. *Advances In Drug Delivery System*. Amsterdam. Elsevier, 85-97.
- Blau, Karl, and John M. Halket. (1993). Handbook of derivates for Chromatography (2nd ed). England. John Wiley & Sons. 193-194
- Boylan, J.C. (1994). Liposomes as Pharmaceutical Dosage Form to Microencapsulation - *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. vol.9. New York. Marcel Dekker Inc., 1-30
- Christina. (2010). *Pengaruh Mentol, Etanol, dan Propilen Glikol Terhadap Profil Penetrasi Perkutan Glukosamin Secara In Vitro Menggunakan Sel Difusi Franz*. Skripsi Sarjana Farmasi. FMIPA UI, Depok, 12-53
- Crommelin, DJA. Schreirer, H. (1994). *Colloidal Drug Delivery System*. New York. Marcel Dekker, 72-190.
- Delgado, M. Begoña & Richard.H, Guy. Transdermal Drug Delivery. Dalam: Anya M.Hillery, Andrew W.Lloyd & James Swarbrick. (2001). *Drug Delivery and Targeting for Pharmacists and Pharmaceutical Scientists*. London and New York. Taylor and Franchis, 197-198.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). Farmakope Indonesia (edisi 4). Jakarta, 1144
- Harmita, (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Departemen Farmasi FMIPA UI. Depok, 115-129

- Kurihara, Tamie & William, R. Good. (1994). Barrier Properties of the Skin: Skin Development and Permeation Dalam: Hsieh, D.S., *Drug Permeation Enhancement: Theory and Applications*. Ney York. Marcel Dekker, Inc., 199-200
- Lachman, L., & Lieberman, H. A., (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, Diterjemahkan oleh Siti Suyatni, Jakarta. UI Press, 111
- Lasic, D.D., & Papahadjopoulos, D. (1998). Medical Applications of Liposomes. Amsterdam. Elsevier, 1-2
- Margareth, Rachel. (2005). Formulasi Lipstik Menggunakan Liposom Magnesium Askorbil Forfat Dengan Metode Lapis Tipis Skripsi Sarjana Farmasi. FMIPA UI, Depok, 26-31
- Martin, A., J. Swarbrick & A. Cammarata. (1983). Farmasi Fisik jilid II. ed.III. Ed. Joshita. UI press. Jakarta, 1170-1171
- Miyajima et al. (1994). *Glucosamine Derivative and Liposome Containing The Same As Membrane Constituent*. United States Patent, 18-20
- Oegema, Theodore R., et al. (2002). Effect of Oral Glucosamine on Cartilage and Meniscus in Normal and Chymopapain-Injected Knees of Young Rabbits. *Arthritis and Rheumatism* 46(9): 2495-2503
- Permegear franz cell, (2005). Diunduh pada tanggal 20 Agustus 2010. <http://www.permegear.com/franz.htm>
- Pena, Lorraine E. (1990). Gel Dossage Forms: Theory, Formulation, and Processing. Dalam : Osborne, David W & Anton H. Aman (ed.). 1990. *Topical Drug Delivery Formulations*. New York. Marcel Dekker, 381-388.
- Poedjiadi, Anna. (1994). Dasar-Dasar Biokimia. Depok. Universitas Indonesia, 63-66.
- Purwadi. (2007). Pengembangan metode kromatografi cair kinerja tinggi untuk analisis glukosamin dalam plasma darah. Tesis Magister Farmasi. Bandung: Sekolah Farmasi ITB, 2-18

- Redelmeier, Thomas.E., Neil, Kitson. Dermatological Applications of Liposomes. Dalam: Janoff. Andrew S. *Liposomes Rational Design*. New York. Marcel Dekker Inc., 283-304
- Riaz, Muhammad. (1996). *Liposomes Preparation Methods*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences Vol 19(1), 69-70
- Rowe, R.C., Sheskey, P, & Owen, S.C.(Ed.). (2009). *Handbook of Pharmaceutical Exipients* (ed. 6). London: Pharmaceutical Press, 326, 385, 441, 466, 592, 596
- Parker, Steve. (2009). Ensiklopedia Tubuh Manusia, terjemahan *The Human Body Book*. Erlangga. 148-153
- Pavelká, K., et al. (2002), Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: A 3-years, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Arch Intern med*, 162, 2113-2123
- Fakheni, Tesha N., (2008), Analisis glukosamin HCl dalam sediaan kaplet dank rim. Skripsi Sarjana Farmasi. FMIPA UI, Depok, 11-15
- Touitou, Elka & Brian W. Barry (ed.). (2007). *Enhancement In Drug Delivery*. USA. CRC Press, 240-243
- Uster et al. (1991). *Liposome Gel Composition and Method*. United States Patent, 3-5
- Walters. K.A. (2002). *Dermatological and Transdermal Formulations*. New York. Marcel Dekker, 1-4
- Wells, B.G., et al. (2009). *Pharmacotherapy handbook* (7th ed). New York: McGraw-Hill
- Williams, A.C., & Barry, B.W. (2007). Chemical Permeation Enhancement in Elka Toitou & Brian w. Barry (Ed.). *Enhancement in Drug Delivery*. United States of America. CRC Press, 233-248

Tabel 4.4. Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada minggu ke-0

Sediaan	Warna	Kejernihan	Bau	Sineresis	Gelembung Udara
Kontrol	Putih bening	tidak	tidak	tidak	Banyak terperangkap
Formula 1	Putih bening	tidak	tidak	tidak	Banyak terperangkap
Formula 2	Putih susu	tidak	Asam oleat	tidak	Banyak terperangkap

Tabel 4.5. Hasil pemeriksaan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.

Sediaan	Minggu Ke-	Warna	Kejernihan	Bau	Sineresis	Gelembung Udara
Kontrol	2	Putih bening	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	4		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	6		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	8		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
Formula 1	2	Putih bening	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	4		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	6		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	8		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
Formula 2	2	Putih susu	tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	4		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	6		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	8		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada

Tabel 4.6. Hasil pemeriksaan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.

Sediaan	Minggu Ke-	Warna	Kejernihan	Bau	Sineresis	Gelembung Udara
Kontrol	2		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	4	Putih	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	6	bening	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	8		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
Formula 1	2		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	4	Putih	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	6	bening	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	8		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
Formula 2	2		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	4	Putih	tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	6	susu	tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	8		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada

Tabel 4.7. Hasil pemeriksaan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.

Sediaan	Minggu Ke-	Warna	Kejernihan	Bau	Sineresis	Gelembung Udara
Kontrol	2		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	4	Putih	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	6	bening	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	8		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
Formula 1	2		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	4	Putih	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	6	bening	tidak	tidak	tidak	Tidak ada
	8		tidak	tidak	tidak	Tidak ada
Formula 2	2		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	4	Putih	tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	6	susu	tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada
	8		tidak	Asam oleat	tidak	Tidak ada

Tabel 4.8. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.

Minggu ke-	pH Sediaan		
	Blanko	formula 1	formula 2
0	4,97	5,29	4,84
2	4,87	4,98	4,64
4	4,75	4,86	4,56
6	4,63	4,76	4,47
8	4,47	4,64	4,41

Tabel 4.9. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.

Minggu ke-	pH Sediaan		
	Blanko	formula 1	formula 2
0	4,97	5,29	4,84
2	4,78	4,94	4,71
4	4,69	4,90	4,59
6	4,63	4,84	4,52
8	4,59	4,73	4,48

Tabel 4.10. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.

Minggu ke-	pH Sediaan		
	Blanko	formula 1	formula 2
0	4,97	5,29	4,84
2	4,70	4,61	4,56
4	4,59	4,48	4,45
6	4,43	4,39	4,35
8	4,35	4,26	4,24

Tabel 4.11. Hasil pengamatan organoleptis, pH, dan viskositas kedua formula setelah dilakukan Uji Siklus

Sediaan	Warna	Kejernihan	Bau	Sineresis	Gelembung Udara	pH
Kontrol	putih	tidak	tidak	tidak	tidak	4,69
F1	putih	tidak	tidak	tidak	tidak	5,14
F2	Putih susu	tidak	Asam oleat	tidak	tidak	4,43

Tabel 4.12. Data Kurva Kalibrasi Glukosamin HCl dalam Pelarut Dapar Fosfat pH 7,4 dan Dapar Borat pH 9,3

Kadar Glukosamin HCl (ppm)	Area
0,4	15054
0,8	18901
1	22683
4	105817
8	234114
12	310557

Tabel 4.13. Hasil pengukuran viskositas sediaan kontrol pada minggu ke-0

Hasil pengukuran viskositas sediaan kontrol pada minggu ke-0						
Spinde 1	Kecepatan putaran (rpm)	dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	viskositas ($\eta = dr * f$)	shearing stress ($F/A = dr * 14.374$)	rate of shear ($dv/dr = F/A * 1/ \eta$)
4	0,5	4,5	8000	36000	64,683	1,796
	1	7,0	4000	28000	100,618	3,595
	2	13	2000	26000	186,62	7,187
	2,5	15,5	1600	24800	222,797	8,983
	5	26,5	800	21200	380,911	17,967
	10	43	400	17200	618,082	35,935
	20	67	200	13400	963,058	71,870
	20	66	200	13200	948,684	71,870
	10	42	400	16800	603,708	35,935
	5	25,5	800	20400	366,537	17,967
	2,5	15	1600	24000	215,61	8,937
	2	12,5	2000	20000	179,675	8,983
	1	7,0	4000	28000	100,618	3,595
	0,5	4,0	8000	32000	57,496	1,796

Tabel 4.14. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 1 pada minggu ke-0

Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 1 pada minggu ke-0						
Spinde 1	Kecepatan putaran (rpm)	dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	viskositas ($\eta = dr * f$)	shearing stress ($F/A = dr * 14.374$)	rate of shear ($dv/dr = F/A * 1/ \eta$)
5	1	6,5	8000	52000	93,431	1,796
	2	11,0	4000	44000	158,114	3,593
	2,5	13,0	3200	41600	186,862	4,491
	5	21,5	1600	34400	309,041	8,983
	10	34,5	800	27600	495,903	17,967
	20	52,5	400	21000	754,635	35,935
	50	85,5	160	13696	1228,977	89,732
	50	85,5	160	13696	1228,977	89,732
	20	52,0	400	20800	747,448	35,935
	10	33,5	800	26800	481,529	16,836
	5	21,0	1600	33600	301,854	8,983
	2,5	12,5	3200	40000	179,675	4,491
	2	10,5	4000	42000	150,927	3,593
	1	6,0	8000	48000	86,244	1,796

Tabel 4.15. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 2 pada minggu ke-0

Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 2 pada minggu ke-0						
Spinde 1	Kecepatan putaran (rpm)	dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	viskositas ($\eta = dr * f$)	shearing stress ($F/A = dr * 14.374$)	rate of shear ($dv/dr = F/A * 1/ \eta$)
4	0,5	4,5	8000	36000	64,683	1,796
	1	7,5	4000	30000	107,805	3,593
	2	13,5	2000	27000	194,049	7,187
	2,5	16,0	1600	25600	229,984	8,983
	5	26,5	800	21200	380,911	17,967
	10	43	400	17200	618,082	35,935
	20	67	200	13400	963,058	71,870
	20	66,5	200	13300	955,871	71,870
	10	42,5	400	17000	610,895	35,935
	5	26,0	800	20800	373,724	17,967
	2,5	15,5	1600	24800	222,797	8,983
	2	13,0	2000	26000	186.862	7,187
	1	7,5	4000	30000	107.805	3,593
	0,5	4,5	8000	36000	64.683	1,796

Tabel 4.16. Hasil pengukuran viskositas sediaan kontrol pada minggu ke-8

Hasil pengukuran viskositas sediaan kontrol pada minggu ke-8						
Spinde 1	Kecepatan putaran (rpm)	dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	viskositas ($\eta = dr * f$)	shearing stress ($F/A = dr * 14.374$)	rate of shear ($dv/dr = F/A * 1/ \eta$)
4	0,5	6,5	8000	52000	93,431	1,796
	1	8,5	4000	34000	122,179	3,593
	2	15,5	2000	31000	222,797	7,187
	2,5	19	1600	30400	273,106	8,983
	5	31,5	800	25200	452,781	17,967
	10	51	400	20400	733,074	35,935
	20	73	200	14600	1049,302	71,87
	20	73	200	14600	1049,302	71,87
	10	49,5	400	19800	711,513	35,935
	5	30,5	800	24400	433,407	17,762
	2,5	18,5	1600	29600	265,919	8,983
	2	14,5	2000	29000	208,423	7,187
	1	8	4000	32000	114,992	3,593
	0,5	6,5	8000	52000	93,431	1,796

Tabel 4.17. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 1 pada minggu ke-8

Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 1 pada minggu ke-8						
Spinde 1	Kecepatan putaran (rpm)	dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	viskositas ($\eta = dr * f$)	shearing stress ($F/A = dr * 14.374$)	rate of shear ($dv/dr = F/A * 1 / \eta$)
5	1	4,5	8000	36000	64,683	1,796
	2	7,0	4000	28000	100,618	3,593
	2,5	8,5	3200	27200	122,179	4,491
	5	13,5	1600	21600	194,049	8,983
	10	22	800	17600	316,228	17,967
	20	34	400	13600	488,716	35,935
	50	57,5	160	9200	826,505	89,837
	50	57,5	160	9200	826,505	89,837
	20	34,5	400	13800	495,903	35,935
	10	22	800	17600	316,228	17,967
	5	13,5	1600	21600	194,049	8,983
	2,5	8,0	3200	25600	114,992	4,491
	2	6,5	4000	26000	93,431	3,593
	1	4,0	8000	32000	57,496	1,796

Tabel 4.18. Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 2 pada minggu ke-8

Hasil pengukuran viskositas sediaan formula 2 pada minggu ke-8						
Spindel	Kecepatan putaran (rpm)	dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	viskositas ($\eta = dr * f$)	shearing stress ($F/A = dr * 14.374$)	rate of shear ($dv/dr = F/A * 1/ \eta$)
4	0,5	7,0	8000	56000	100,618	1,796
	1	12	4000	48000	172,488	3,593
	2	21	2000	42000	301,854	7,187
	2,5	25	1600	40000	359,350	8,983
	5	42	800	33600	603,708	17,967
	10	68	400	27200	977,432	35,935
	20	98,5	200	19700	1415,839	71,87
	20	98,5	200	19700	1415,839	71,87
	10	68	400	27200	977,432	35,935
	5	42	800	33600	603,708	17,967
	2,5	24,5	1600	39200	352,163	8,983
	2	20,5	2000	41000	294,667	7,187
	1	12	4000	48000	172,488	3,593
	0,5	6,5	8000	52000	93,431	1,796

Tabel 4.19. Jumlah kumulatif hasil uji penetrasi glukosamin HCl dalam dapar fosfat pH 7,4 dari masing-masing formulasi

waktu (menit)	Jumlah kumulatif ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		
	Kontrol	Formula 1	Formula 2
10	$31,98 \pm 1,46$	$29,92 \pm 7,3$	$2,75 \pm 0,00$
30	$69,66 \pm 0,43$	$57,89 \pm 9,52$	$64,07 \pm 6,8$
60	$161,88 \pm 1,41$	$245,67 \pm 2,56$	$93,59 \pm 7,04$
90	$105,85 \pm 6,87$	$228,77 \pm 6,92$	$164,45 \pm 3,61$
120	$154,81 \pm 0,75$	$93,38 \pm 5,61$	$113,49 \pm 3,07$
180	$175,70 \pm 0,95$	$54,51 \pm 3,20$	$40,91 \pm 4,98$
240	$83,22 \pm 0,45$	$4,72 \pm 0,13$	$35,11 \pm 3,22$
300	$5,69 \pm 0,02$	$3,07 \pm 0,00$	$4,17 \pm 0,28$

Tabel 4.20. Hasil perhitungan fluks atau laju penetrasi glukosamin HCl dari masing-masing formulasi

waktu (menit)	Fluks ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$)		
	Kontrol	Formula 1	Formula 2
10	$199,91 \pm 9,15$	$187,00 \pm 45,61$	$17,19 \pm 0,00$
30	$139,33 \pm 0,86$	$115,79 \pm 19,05$	$128,14 \pm 13,60$
60	$161,89 \pm 1,41$	$245,67 \pm 2,56$	$93,60 \pm 7,04$
90	$70,57 \pm 4,58$	$152,52 \pm 4,62$	$109,64 \pm 2,41$
120	$77,41 \pm 0,37$	$46,69 \pm 2,80$	$56,75 \pm 1,53$
180	$58,57 \pm 0,32$	$18,17 \pm 1,07$	$13,64 \pm 1,50$
240	$20,81 \pm 0,11$	$1,18 \pm 0,03$	$8,78 \pm 0,69$
300	$1,14 \pm 0,00$	$0,61 \pm 0,00$	$0,83 \pm 0,06$

Tabel 4.21. Data hasil dialisis liposom pada berbagai komposisi

(a)		
menit	area	x
60	56497	2,07
120	56567	2,07
180	62060	2,28
240	64785	2,38
300	65712	2,42

(b)		
menit	area	x
60	54154	1,98
120	93481	3,45
180	101759	3,76
240	101785	3,76
300	105899	3,92
360	107634	3,98

(c)		
menit	area	x
60	112370	4,16
120	112241	4,16
180	114421	4,24
240	131287	4,86
300	135239	5,02

Keterangan :

- (a) liposom dengan komposisi lesitin: kolesterol 45 : 55
- (b) liposom dengan komposisi lesitin: kolesterol 50 : 50
- (c) liposom dengan komposisi lesitin: kolesterol 55 : 45