



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**MIKROSFER KITOSAN SEBAGAI BAHAN PENYALUT UNTUK  
MENGONTROL PELEPASAN OBAT NATRIUM DIKLOFENAK**

**SKRIPSI**

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

**NANDA RIZKY AMALIA**

**0806368074**

**FAKULTAS TEKNIK**

**PROGRAM STUDI EKSTENSI TEKNIK KIMIA**

**UNIVERSITAS INDONESIA**

**DEPOK**

**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 : Nanda Rizky Amalia**

**NPM : 0808368074**

**Tanda Tangan :**

**Tanggal : Juni 2011**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Nanda Rizky Amalia  
NPM : 0806368074  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul Skripsi : Kitosan sebagai Bahan Penyalut untuk Mengontrol Pelepasan Obat Natrium Diklofenak

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia**

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Kamarza Mulia, PhD ( )  
Penguji : Dr. rer. Nat. Ir. Yuswan Muharam, MT ( )  
Penguji : Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA ( )  
Penguji : Dr. Eny Kusriani, S. Si ( )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 21 Juni 2011

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan seminar ini. Penulisan seminar ini dalam rangka untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan mata kuliah seminar dan agar dapat melaksanakan penelitian lanjut sebagai bahan Skripsi. Saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan seminar ini, sangatlah sulit untuk menyelesaikan seminar ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kamarza Mulia, PhD. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran, serta kesabaran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan seminar ini;
2. Orang tua, adik dan keluarga tercinta yang senantiasa memberikan dukungan moril dan materil;
3. Tating, Nova, Rahmi, Ani, Chairu dan Sandhy sahabat – sahabat yang selalu memotivasi dan membantu saya dalam penyusunan seminar ini;

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga seminar ini dapat membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, Juni 2011

Penulis

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

---

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

Nama : Nanda Rizky Amalia

NPM : 0806368074

Program Studi : Teknik Kimia

Departemen : Teknik Kimia

Fakultas : Teknik

Jenis Karya : Skripsi

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

**Kitosan sebagai Bahan Penyalut untuk Mengontrol Pelepasan Obat Natrium  
Diklofenak**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif itu Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/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 pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : Juni 2011

Yang Menyatakan,

(Nanda Rizky Amalia)

## ABSTRAK

Nama : Nanda Rizky Amalia  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul : Kitosan Sebagai Bahan Penyalut Untuk Mengontrol Pelepasan Obat Natrium Diklofenak

Pada penelitian ini kitosan digunakan sebagai bahan penyalut natrium diklofenak dalam bentuk mikrosfer, sehingga waktu pelepasan obat ini dapat diperlambat. Mikrosfer dari kitosan dan natrium diklofenak dibuat menggunakan metode taut silang dengan glutaraldehid sebagai senyawa penaut silang.

Preparasi enkapsulasi natrium diklofenak dengan kitosan dalam bentuk mikrosfer mengikuti metode Dubey (2003). Metode analisis yang digunakan adalah Spektrofotometri UV untuk menganalisis konsentrasi obat natrium diklofenak yang terdapat dalam mikrosfer selama pelepasan berlangsung. *Scanning Electron Microscope* untuk memastikan mikrosfer terbentuk dan melihat bentuk dari mikrosfer tersebut. Konsentrasi natrium diklofenak dalam mikrosfer sebesar 0,35 ; 0,46 dan 0,51 mg natrium diklofenak dalam mikrosfer per mg natrium diklofenak yang ditambahkan pada pembuatan mikrosfer.

Efisiensi penjeratan yang paling tinggi mikrosfer dengan konsentrasi obat natrium diklofenak 8 mg/mL sebesar 51 %. Pada penambahan obat 8 mg/mL memberikan profil pelepasan yang lebih lambat dengan rentang waktu yang sama, pada jam ke 12,5 profil pelepasan mulai stabil. Hal ini sesuai dengan waktu pencernaan manusia yaitu 8 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa kitosan dapat memperlambat pelepasan natrium diklofenak. Semakin tinggi konsentrasi obat maka semakin lambat pelepasan obat tersebut. Sebagai perbandingan dengan konsentrasi obat 2 mg/mL profil pelepasannya paling cepat dengan rentang waktu yang sama.

Kata Kunci :  
Kitosan, Natrium diklofenak, Mikrosfer.

## ABSTRACT

Name : Nanda Rizky Amalia  
Study Program : Chemical Engineering  
Title : Chitosan As Coating Materials For Controlled Release Of Sodium Diclofenac Drug

In this research, chitosan is used as a coating material in the form of sodium diclofenac microspheres, so the time of drug release can be slowed. Microspheres of chitosan and sodium diclofenac were made using the method of cross-link with glutaraldehyde as cross link compound.

The preparation of encapsulation of sodium diclofenac with chitosan in the form of microspheres follows Dubey method (2003). Analytical methods used are UV spectrophotometer to analyze the concentration of sodium diclofenac drug contained in microspheres during the release takes place. The Scanning Electron Microscope is to ensure the formed microspheres and see the shape of the microspheres. The concentration of sodium diclofenac in the microspheres of 0.35, 0.46 and 0.51 mg of sodium diclofenac in microspheres per mg of sodium diclofenac is added in the manufacture of microspheres.

The highest entrapment efficiency of microspheres with the concentration of the 8 mg / mL drug sodium diclofenac is 51%. In addition, the drug 8 mg / mL gives a slower release profile with the same time frame, while at the 12.5 release profile began to stabilize. This is consistent with human digestion time of 8 hours. These results suggest that chitosan can slow the release of sodium diclofenac. The higher concentration of the drug, the drug release is slower. As the comparison, the drug concentration of 2 mg/mL has the fastest release profiles with the same time frame.

Keywords:  
Chitosan, Sodium Diclofenac, Microspheres.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI .....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
1.5 Batasan Penelitian .....	2
1.6 Model Operasional Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Kitin.....	4
2.1.1 Struktur Kitin .....	6
2.2 Kitosan .....	7
2.2.1 Struktur Kitosan .....	8
2.2.2 Kelarutan Kitosan .....	9
2.2.3 Struktur Kitosan Sifat dan Kegunaan Kitosan .....	9
2.3 Mikroenkapsulasi .....	12
2.4 Mikrosfer Kitosan .....	14
2.5 Pembentukan Mikrosfer Kitosan.....	14
2.5.1 Metode Ionotropic Gelation.....	14
2.5.2 Metode Pengeringan Semprot.....	15
2.5.3 Metode Taut Silang dengan Bahan Kimia .....	15
2.6 Glutaraldehyd.....	16
2.7 Senyawa Bioaktif .....	18
2.7.1 Natrium Diklofenak .....	18
2.8 Mekanisme Pelepasan .....	18
2.8.1 Pelepasan Senyawa Bioaktif dari Obat .....	19
2.9 Analisis Sampel.....	21
2.9.1 Spektrofotometri UV .....	22
2.9.2 Scanning Electron Microscope (SEM) .....	22

2.10	Informasi yang Terkait .....	22
2.10.1	Waktu Pelepasan Kitosan .....	22
2.10.2	Variasi Pada Pembentukan Mikrosfer Kitosan .....	23
<b>BAB III METODELOGI PENELITIAN.....</b>		<b>27</b>
3.1	Rancangan Penelitian .....	27
3.2	Alat dan Bahan Penelitian .....	28
3.2.1	Alat.....	28
3.2.2	Bahan .....	28
3.3	Prosedur Penelitian.....	29
3.3.1	Pembuatan Larutan Kitosan.....	29
3.3.2	Pembuatan Mikrosfer Kitosan .....	29
3.3.3	Penambahan dengan Obat.....	30
3.3.4	Pembuatan Buffer Fosfat pH 7,4.....	30
3.3.5	Metode analisis .....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>35</b>
4.1	Pembuatan Mikrosfer .....	35
4.2	Penentuan Persentase Penjeratan Obat.....	35
4.3	Pelepasan In Vitro .....	38
4.4	Uji Scanning Electron Microscope (SEM).....	40
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>42</b>
5.1	Kesimpulan.....	42
5.2	Saran.....	42
<b>DAFTAR REFERENSI .....</b>		<b>43</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>47</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur selulosa (A) dan struktur kitin (B) ..	7
Gambar 2.2. Struktur kitosan .....	8
Gambar 2.3. Metode pembentukan mikrosfer kitosan .....	14
Gambar 2.4. Struktur kimia glutaraldehid .....	17
Gambar 2.5. Reaksi pembentukan ikatan silang kitosan dengan glutaraldehid .....	17
Gambar 2.6. Struktur natrium diklofenak .....	18
Gambar 2.7. Kurva % pelepasan terhadap waktu untuk kitosan dan kitosan – EDTA .....	23
Gambar 2.8. Hasil pengujian SEM dari mikrosfer kitosan dengan konsentrasi larutan kitosan yang berbeda dan kecepatan pengadukan yang berbeda.....	24
Gambar 2.9. Uji SEM dari kitosan yang mengandung 5-FU (A) dan MTX (B) .....	25
Gambar 2.10. Kurva % pelepasan terhadap waktu kitosan untuk obat 5-FU dan MTX .....	25
Gambar 3.1. Diagram alir penelitian mikrosfer kitosan untuk mengontrol pelepasan senyawa bioaktif .....	27
Gambar 3.2. Proses pembuatan mikrosfer .....	28
Gambar 4.1. Perubahan warna pada proses pembuatan mikrosfer untuk ( I ) kitosan 2%, ( II ) kitosan 2% dengan obat 2 mg/mL, ( III) kitosan 2% dengan obat 5 mg/mL, (IV) kitosan 2% dengan obat 8 mg/mL .....	36
Gambar 4.2. Kurva standar penentuan efisiensi penjeratan obat .....	37
Gambar 4.3. Efek konsentrasi obat dengan penjeratan obat pada mikrosfer .....	38
Gambar 4.4. Kurva standar natrium diklofenak dengan larutan buffer fosfat pH 7.4 ..	39

Gambar 4.5. Profil pelepasan mikrosfer kitosan dengan obat natrium diklofenak....  
.....41

Gambar 4.6. Hasil pengujian SEM dari mikrosfer, (i) kitosan 2% , (ii) kitosan 2%  
dengan obat 8 mg/mL .....41



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan kitin pada berbagai <i>Crustacea</i> .....	6
Tabel 2.2. Sifat biologi dan kimia kitosan .....	9
Tabel 2.3. Kualitas Standar Kitosan .....	11
Tabel 2.4. Bobot molekul dan viskositas intrinsik ( $\eta$ ) kitosan pada berbagai nilai DD dan DP .....	11
Tabel 3.1. Bahan dan Perincian Bahan yang Digunakan ....	28
Tabel 4.1. Penentuan Efisiensi Penjeratan Obat .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat yang digunakan .....	43
Lampiran 2. Penetapan kurva standar efisiensi penjeratan obat .....	44
Penetapan kurva standar natrium diklofenak dengan buffer fosfat pH 7,4 .....	44
Penentuan efisiensi penjeratan obat .....	44
Lampiran 3. Jumlah Pelepasan Obat Natrium Diklofenak dari Mikrosfer yang Terbentuk .....	45



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perairan Indonesia memiliki potensi yang cukup besar dengan berbagai jenis invertebrata. Salah satu komoditi yang menjadi primadona adalah udang dan kepiting. Udang yang akan diekspor mengalami proses *cold storage* melalui pembuangan bagian kepala, ekor, dan kulit. Hasil buangan ini dianggap sebagai limbah. Perlunya pemanfaatan limbah udang disebabkan limbah udang ini dapat mencemari lingkungan di sekitar pabrik/ areal pembuangan limbah sehingga perlu dimanfaatkan. Selama ini kulit udang hanya dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat kerupuk, terasi dan suplemen makanan ternak dan limbah kulit kepiting banyak yang terbuang begitu saja. Limbah tersebut dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan kitin yang dapat diubah menjadi kitosan (Hargono, 2004).

Pemanfaatan limbah kulit udang sebagai kitosan selain dapat mengatasi masalah lingkungan juga dapat menaikkan nilai tambah bagi petani udang. Hasil isolasi kulit udang akan menghasilkan senyawa kitin yang merupakan polimer dari glukosamin yaitu polisakarida yang mengandung gugus asetamida, sedangkan kitosan merupakan hasil deasetilasi kitin. Gugus asetamida pada kitin di gantikan menjadi gugus amina dengan nilai pKa ~ 6,5 sehingga dapat terprotonasi pada pH rendah dan larut dalam suasana asam.

Kitosan merupakan polisakarida yang banyak terdapat di alam setelah selulosa. Kitosan merupakan suatu senyawa poli (N-2 amino-2 deoksi-D-glukosa) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin/poli (N- 2 asetil-2 amino-2-deoksi-D-glukosa) yang diproduksi dalam jumlah besar di alam, yaitu terdapat pada limbah udang dan kepiting yang cukup banyak terdapat di Indonesia (Dubey, 2003).

Kitosan adalah polimer alam yang ramah lingkungan, dengan potensi yang besar untuk aplikasi farmasi karena sifat biokompatibel, biodegradabel, non-

toksisitas, dan mucoadhesion (Kaban, 2009). Kitosan dapat direkayasa dalam bentuk mikrosfer yang berfungsi sebagai depot untuk melepaskan senyawa bioaktif secara terkendali sehingga pelepasan bioaktif dapat dikontrol pada organ yang sakit (Prabaharan, 2008). Kualitas dan nilai ekonomi kitosan ditentukan oleh besarnya derajat deasetilasi. Kitosan yang digunakan pada penelitian ini memiliki derajat deasetilasi lebih dari 85 % pada spesifikasi untuk penggunaan obat – obatan dan makanan. Pada penelitian ini senyawa bioaktif berupa obat yaitu natrium diklofenak dengan konsentrasi tertentu yang akan disalut oleh kitosan. Hasil penelitian ini diharapkan mendapatkan mikrosfer dari kitosan dan natrium diklofenak. Mendapatkan profil pelepasan dari mikrosfer kitosan dan natrium diklofenak, sehingga pemberian obat natrium diklofenak dapat dilakukan seminimal mungkin.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan sebelumnya, maka permasalahan yang ada adalah bagaimana mengenkapsulasi natrium diklofenak dengan kitosan dalam bentuk mikrosfer. Selanjutnya menentukan apakah kitosan dapat digunakan sebagai penyalut obat, dilihat dari kesesuaian profil pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer kitosan dengan lamanya pencernaan dalam tubuh manusia yang kurang lebih adalah 8 jam.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini secara umum adalah untuk menghasilkan mikrosfer dari kitosan dan natrium diklofenak, dan mendapatkan profil pelepasan natrium diklofenak dari mikrosfer yang tersalut kitosan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Dapat mengetahui persiapan mikrosfer kitosan yang digunakan untuk bahan penyalut agar pelepasan obat menjadi terkontrol. Obat natrium diklofenak yang tersalut kitosan diharapkan dapat mengurangi pemberian obat.

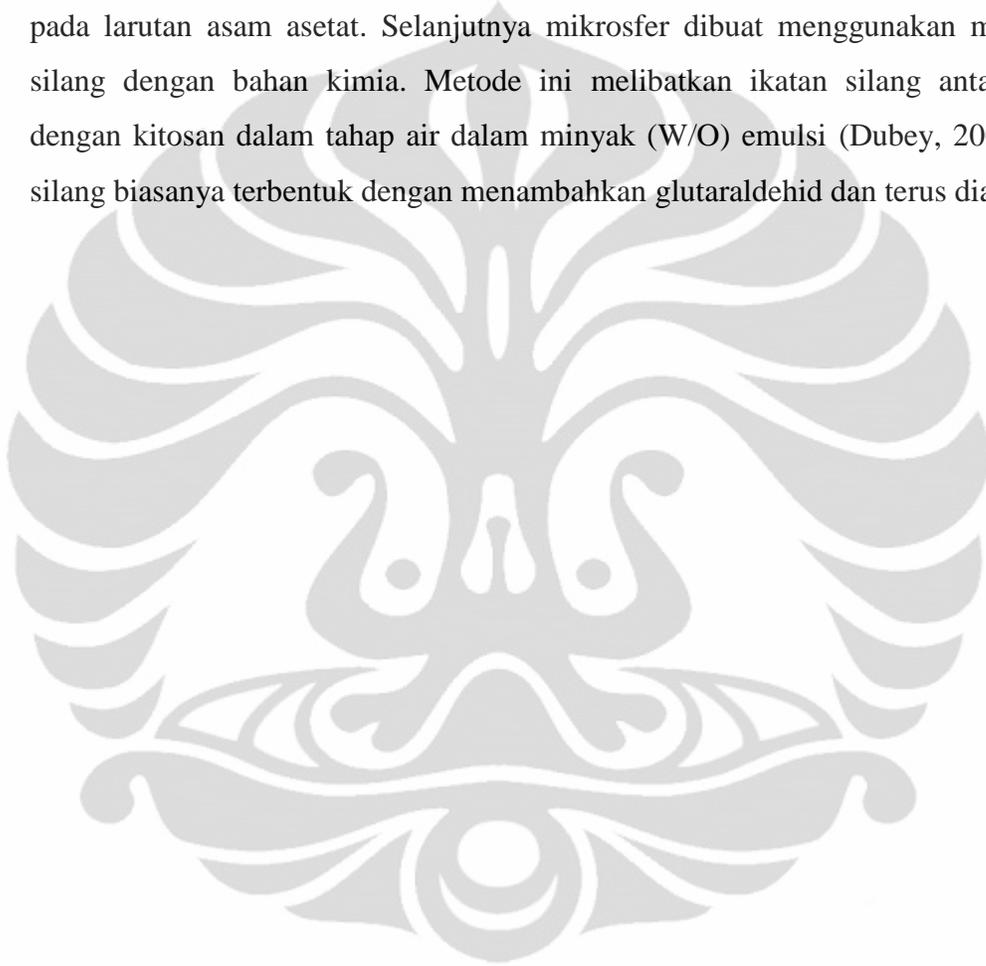
## **1.5 Batasan Penelitian**

1. Polimer bahan alam yang digunakan adalah kitosan,

2. Hasil yang diamati adalah profil pelepasan dari natrium diklofenak dan kitosan sebagai bahan penyalut.

### **1.6 Model Operasional Penelitian**

Pembuatan mikrosfer kitosan diawali dengan melarutkan kitosan dan obat pada larutan asam asetat. Selanjutnya mikrosfer dibuat menggunakan metode taut silang dengan bahan kimia. Metode ini melibatkan ikatan silang antara kitosan dengan kitosan dalam tahap air dalam minyak (W/O) emulsi (Dubey, 2003). Ikatan silang biasanya terbentuk dengan menambahkan glutaraldehid dan terus diaduk.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kitin

Kitin sebagai prekursor kitosan pertama kali ditemukan pada tahun 1811 oleh orang Prancis bernama Henri Braconnot sebagai hasil isolasi dari jamur. Kitin dapat dibuat dari kulit udang atau kulit kepiting atau bahkan dari kulit serangga. Kitin dari kulit serangga ditemukan kemudian pada tahun 1820 (Bimoharto, 2009).

Kitin merupakan polimer kedua terbesar di bumi setelah selulosa. Kitin berbentuk padatan amorf berwarna putih atau bubuk, larut dalam air, asam encer, alkali encer, alkali terkonsentrasi dan dalam solusi organik biasa. Kitin adalah senyawa amino polisakarida berbentuk polimer gabungan. Keberadaan kitin di alam umumnya terikat dengan protein, mineral dan berbagai macam pigmen. Sebagai contoh, kulit udang mengandung 25-40% protein, 40-50%  $\text{CaCO}_3$ , dan 15-20% kitin, tapi besarnya komponen tersebut masih bergantung pada jenis udangnya. Sebagian besar kelompok *Crustacea* seperti kepiting, udang dan lobster, merupakan sumber utama kitin komersial (Sugita et al., 2009). Di dunia, kitin yang diproduksi secara komersial 120 ribu ton per tahun. Kitin yang berasal dari kepiting dan udang sebesar 39 ribu ton (32,5%) dan dari jamur 32 ribu ton (26,7%) (Knorr, 1991). Kandungan kitin pada berbagai *Crustacea* dapat di lihat pada Tabel 2.1.

Umumnya kitin diisolasi melalui rangkaian proses produksi. Pertama, deproteinasi atau proses penghilangan protein menggunakan basa. Kedua, demineralisasi atau proses penghilangan mineral menggunakan asam. Ketiga, dekolorisasi atau proses penghilangan warna menggunakan oksidator atau pelarut organik. Deproteinasi kitin merupakan reaksi hidrolisis dalam suasana asam atau basa. Lazimnya hidrolisis dilakukan dalam suasana basa dengan menggunakan NaOH 2-3% pada suhu 63-65°C selama 1-2 jam, diikuti pencucian, pengubahan pH dan proses pengeringan. Pada tahap ini kitosan masih berbentuk kepingan kasar dan dapat

dihaluskan mengikuti ukuran tertentu (Agusnar, 2006). Efisiensi deproteinasi tidak hanya bergantung pada konsentrasi basa dan suhu, tetapi juga spesies sumber kitin. Demineralisasi secara umum dilakukan dengan larutan HCl atau asam lain seperti  $H_2SO_4$  pada kondisi tertentu. Keaktifan HCl dalam melarutkan kitin lebih tinggi daripada  $H_2SO_4$ . Efisiensi demineralisasi dapat diketahui dari kadar abu kitin pada proses demineralisasi, asam dapat terperjat dan berdifusi secara lambat dalam kisi – kisi kristal atau berasosiasi dengan asam amino bebas dan residu protein, sehingga dapat menimbulkan kerusakan (pemutusan rantai) selama pengeringan. Kerusakan ini dapat dicegah dengan pencucian hingga pH netral atau dengan menambahkan larutan basa berkonsentrasi rendah (Jhonson & Peniston, 1982). Urutan proses deproteinasi dan demineralisasi berperan penting. Knorr (1984) menyebutkan bahwa deproteinasi sebaiknya dilakukan terlebih dahulu jika protein yang terlarut akan dimanfaatkan lebih lanjut. Deproteinasi pada tahap awal dapat memaksimalkan hasil mutu protein serta mencegah kontaminasi protein pada proses demineralisasi. Dekolorisasi dapat dilakukan dengan menggunakan larutan pemucat natrium hipoklorit ( $NaHClO$ ), aseton absolut, hidrogen peroksida 3% atau etil asetat (Sugita et al., 2009).

Kitin termasuk polisakarida yang sangat sukar dilarutkan pada pH netral seperti air sehingga pelarutan dilakukan dalam suasana asam atau basa. Hal ini disebabkan karena kitin secara alami berbentuk kristal yang mengandung rantai-rantai polimer berkepadatan tinggi yang terikat satu sama lain dengan ikatan hidrogen yang sangat kuat. Kitin maupun kitosan tidak dapat larut hanya dalam air. Keduanya dapat larut dalam asam encer seperti asam asetat.

Sifat utama kitin adalah mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun, sangat susah larut dalam air dan beberapa pelarut organik tetapi larut dalam larutan dimetil asetamida dan litium klorida, rendahnya reaktivitas kimia dan sangat hidrofobik, karena ketiga sifat tersebut penggunaan kitin relatif lebih sedikit dibandingkan kitosan dan derivatnya. Aplikasi kitin yang utama adalah sebagai senyawa pengkhelet logam dalam instalasi pengolahan air bersih atau limbah, kosmetik, sebagai fungisida dan fungistatik penyembuh luka.

Tabel 2.1. Kandungan kitin pada berbagai *Crustacea*

Jenis Organisme	Kandungan Kitin (%)
Kepiting Cancer	72,1 <sup>c</sup>
Kepiting (Carcinus)	0,4 – 3,3
Kepiting Biru (Callinectes)	14 <sup>a</sup>
Kepiting Matsuba (Chionectes)	25,9 <sup>d</sup>
Kepiting (Erimacrus)	18,4 <sup>d</sup>
Hemigrapsus	10,6 <sup>d</sup>
Kepiting raja (Paralithodes)	35 <sup>b</sup> 10,4 <sup>a</sup>
Kepiting merah (Pleuroncodes)	1,3    1,8 <sup>b</sup>
Udang Alaska	28 <sup>d</sup>
Udang Crangon	5,8 <sup>b</sup> 11,6 <sup>d</sup> 69,1 <sup>c</sup>
Metapenaeus	32,4 <sup>d</sup>
Lobster (Nephrops)	69,8 <sup>c</sup>
Lobster (Homarus)	60,8 - 77,0 <sup>c</sup>
Penaeus	25 <sup>d</sup>
Remis Lepas	58,3 <sup>c</sup>

Sumber : (Hirano, 1986)

Keterangan : a : Berdasarkan bobot bahan basah

b : Berdasarkan bobot bahan kering

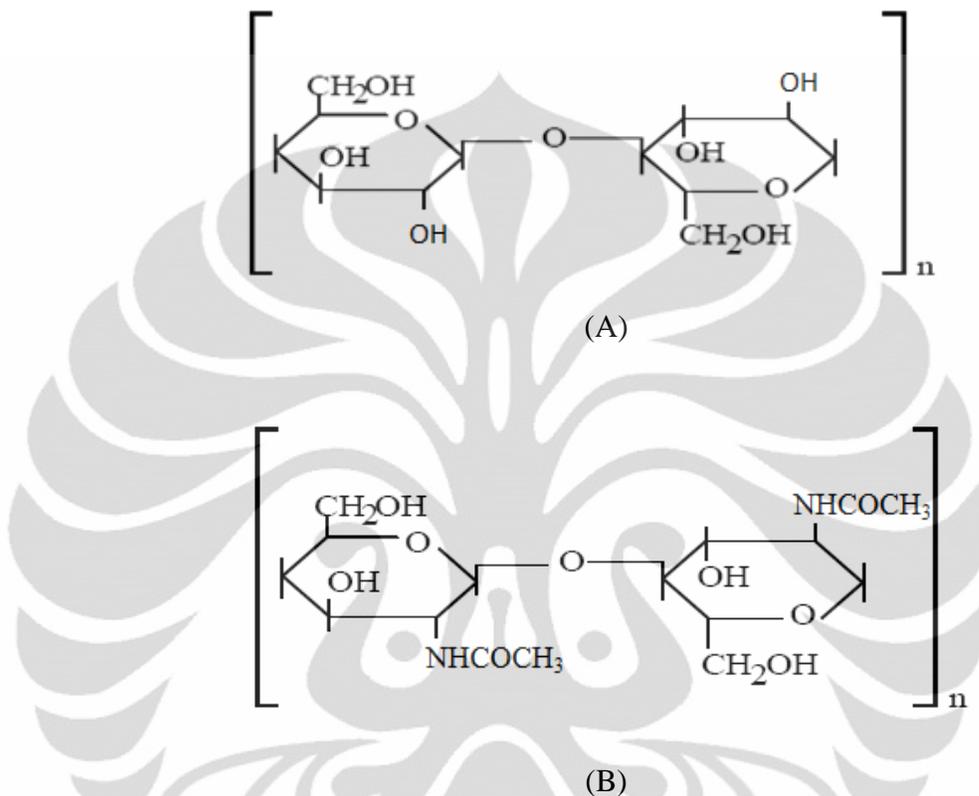
c : Berdasarkan bobot bahan organik pada kulit luar

d : Berdasarkan bobot bahan kering total kulit luar

### 2.1.1 Struktur Kitin

Struktur kitin sangat mirip dengan selulosa yaitu ikatan yang terjadi antara monomernya terangkai dengan ikatan glikosida pada posisi-1,4. Perbedaannya dengan selulosa adalah gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon yang kedua, pada kitin diganti oleh gugus asetamida (-NH-CO-CH<sub>3</sub>) sehingga kitin menjadi sebuah polimer berunit N-asetilglukosamin. Hal ini menyebabkan sifat kimia kitin

berbeda dengan selulosa di mana secara umum kitin kurang reaktif dibandingkan dengan selulosa (Muzzarelli, R. A. A., 1977). Struktur selulosa dan kitin dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur selulosa (A) dan struktur kitin (B) (Eijsink, 2008)

## 2.2 Kitosan

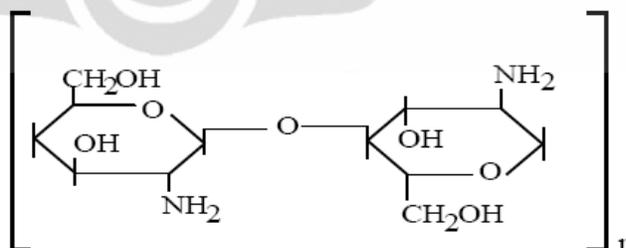
Kitosan ditemukan C. Rougnet pada tahun 1859 dengan cara memasak kitin dengan basa. Perkembangan penggunaan kitin dan kitosan meningkat pada tahun 1940-an, terlebih dengan makin diperlukannya bahan alami oleh berbagai industri sekitar tahun 1970-an. Penggunaan kitosan untuk aplikasi khusus, seperti farmasi dan kesehatan dimulai pada pertengahan 1980-1990. Kitosan merupakan produk deasetilasi kitin. Kualitas dan nilai ekonomi kitosan dan kitin ditentukan oleh besarnya derajat deasetilasi, semakin tinggi derajat deasetilasi semakin tinggi kualitas dan harga jualnya.

Perbedaan antara kitin dan kitosan didasarkan pada kandungan nitrogennya. Bila nitrogen kurang dari 7 %, maka polimer disebut kitin dan apabila kandungan total nitrogennya lebih dari 7 % maka disebut kitosan. Perbedaan lainnya antara kitin dan kitosan terdapat dalam derajat deasetilasinya. Kitosan mempunyai derajat deasetilasi 80–90%, akan tetapi kebanyakan publikasi menggunakan istilah kitosan apabila derajat deasetilasi lebih besar 70% (Kaban, 2009).

Produksi industri dan penggunaan kitosan telah meningkat dengan tajam sejak tahun 1970-an. Di Jepang produksi kitosan bertambah 37% tiap tahun dari 1978–1983, jumlah total tahunan mencapai 311 ton pada 1983 dan 1.270 ton tahun 1986. Pada saat itu, aplikasi utama dari kitosan diutamakan pada pengolahan makanan, dan pengkelatan ion logam. Kecenderungan setelah itu diarahkan dalam aplikasi industri untuk menghasilkan produk yang bernilai tinggi seperti kosmetik, pembawa obat, bahan tambahan makanan, membran semi permeabel dan farmasi (Kaban, 2009).

### 2.2.1 Struktur Kitosan

Kitosan adalah jenis polimer rantai yang tidak linier, bentuk kitosan padatan amorf berwarna putih dengan struktur kristal tetap dari bentuk awal kitin murni. Kitosan mempunyai rantai yang lebih pendek dari pada rantai kitin. Kitosan mempunyai rumus umum  $(C_6H_{11}NO_4)_n$  atau disebut sebagai (1,4)-2-Amino-2-Deoksi-D-Glukosa, yang mempunyai berat molekul rata-rata 120.000. Struktur kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur kitosan (Nair, 2009)

### 2.2.2 Kelarutan Kitosan

Kitosan merupakan senyawa yang sedikit larut dalam HCl, HNO<sub>3</sub>, dan 0.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dan tidak larut dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Kitosan tidak larut dalam air, pelarut-pelarut organik, juga tidak larut dalam alkali dan asam – asam mineral pada pH di atas 6,5. Dengan adanya sejumlah asam, maka dapat larut dalam air – methanol, air – etanol, air – aseton, dan campuran lainnya. Kelarutan kitosan dalam larutan asam serta viskositas larutannya tergantung dari derajat deasetilasi dan derajat degradasi polimer. Deasetilasi akan memotong gugus asetil pada kitin, menyisakan gugus amina. Adanya atom H pada amina memudahkan interaksi dengan air melalui ikatan hidrogen.

### 2.2.3 Struktur Kitosan Sifat dan Kegunaan Kitosan

Multiguna kitosan tidak terlepas dari sifat alaminya. Sifat alami tersebut dapat dibagi menjadi dua sifat besar yaitu, sifat biologi dan kimia yang dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Sifat biologi dan kimia kitosan

Sifat Biologi	Sifat Kimia
Biokompatibel : tidak mempunyai efek samping, tidak beracun, tidak dapat dicerna	Polimer poliamin berbentuk linear
Biodegradabel, mudah diuraikan oleh mikroba	Berat molekul tinggi, densitas tinggi, viskositas bervariasi
Anti kanker	Dapat dimodifikasi secara kimia
Anti Kolesterol	Mempunyai gugus amino aktif, dapat mengkhelat beberapa logam
Hemostatik, fungistatik, spermisidal, antitumor, antikolesterol	Kerapatan muatan tinggi pada pH < 6,5

Kitosan adalah polimer alam yang ramah lingkungan, dengan potensi yang besar untuk aplikasi farmasi karena sifat biokompatibel, non-toksitas, biodegradabel, dan mucoadhesion. Kitosan mempunyai kemampuan untuk

mengikat lipid dan lemak. Yang terpenting, karena kitosan tidak dicerna dalam konsumsinya, maka kitosan ini sendiri tidak mengandung kalori. Ketika diminum, kitosan melekatkan diri pada saluran usus, dan mengikat lemak yang lewat didalam usus sebelum diserap oleh darah, karena lemak yang diikat tidak memasuki aliran darah, maka lemak tersebut dianggap "tidak bisa dicerna" oleh tubuh, sehingga lemak tersebut akan dibuang melalui saluran pencernaan.

Kitosan juga bersifat polielektrolitik. Disamping itu kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik lainnya seperti protein, oleh karena itu kitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan industri kesehatan. Sifat-sifat kitosan dihubungkan dengan adanya gugus-gugus amino dan hidroksil yang terikat. Adanya gugus tersebut menyebabkan kitosan mempunyai reaktifitas kimia yang tinggi dan penyumbang sifat polielektrolit kation, sehingga dapat berperan sebagai amino pengganti (amino exchanger).

Kitosan banyak digunakan oleh berbagai industri, seperti industri farmasi, kesehatan, biokimia, bioteknologi, pangan, pengolahan limbah, kosmetik, agroindustri, industri tekstil, industri perkayuan, industri kertas dan industri elektronika. Aplikasi khusus berdasarkan sifat yang dimiliki antara lain untuk pengolahan limbah cair terutama bahan sebagai bersifat resin penukar ion untuk minimalisasi logam-logam berat, mengurangi kekeruhan penstabil minyak, rasa dan lemak dalam produk industri pangan (Kaban, 2009).

Pada bidang kesehatan, kualitasnya bergantung keperluannya. Sebagai contoh, untuk penjernihan air diperlukan mutu kitin dan kitosan yang tinggi sedangkan untuk penggunaan di bidang kesehatan diperlukan kemurnian yang tinggi. Besarnya nilai parameter standar yang dikehendaki untuk kitosan dalam dunia perdagangan dapat dilihat pada Tabel 2.3. Nilai viskositas intrinsik ( $\eta$ ) rantai polimer bergantung pada bobot molekulnya. Bobot molekul dan viskositas intrinsik kitosan berbeda-beda pada setiap nilai derajat deasetilasi (DD) dan derajat polimerisasi (DP). Bobot molekul dan viskositas intrinsik kitosan pada berbagai nilai DD dan DP dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.3. Kualitas standar kitosan

Parameter	Ciri
Ukuran partikel	Serpihan sampai bubuk
Kadar air (%)	$\leq 10,0$
Kadar abu (%)	$\leq 2,0$
Warna larutan	Tidak berwarna
N-deasetilasi (%)	$\geq 70,0$
Kelas viskositas :	
- Rendah	$< 200$
- Medium	200 - 799
- Tinggi pelarut organik	800 - 2000
- Sangaat tinggi	$>2000$

Sumber : Sugita et al., 2009

Tabel 2.4. Bobot molekul dan viskositas intrinsik ( $\eta$ ) kitosan pada berbagai nilai DD dan DP

DD	DP = 2000		DP = 5000	
	BM x $10^5$	$\eta$ (mL/g)	BM x $10^5$	$\eta$ (mL/g)
<b>69</b>	3,45	165	8,61	460
<b>84</b>	3,33	286	8,34	688
<b>91</b>	3,28	485	8,21	1047
<b>100</b>	3,22	552	8,05	1170

Sumber : Wang et al., 1991

Nilai DD yang tinggi, gugus asetil sedikit, menunjukkan bahwa sifat kitosan mendekati homopolimer ideal. Dalam hal ini viskositasnya juga semakin tinggi dalam pelarut asam organik (Sugita et al., 2009)

### 2.3 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi adalah suatu proses pembentukan dinding atau cangkang untuk menyelubungi suatu material inti. Proses mikroenkapsulasi akan menghasilkan

bentuk sediaan yang disebut mikrokapsul. Mikrokapsul didefinisikan sebagai suatu partikel kecil yang mengandung zat aktif atau material inti yang dikelilingi pelapis/penyalut. Mikrokapsul mempunyai diameter antara (3–800)  $\mu\text{m}$  dan mengandung (10–95) % berat inti. Penyalut kapsul terbuat dari polimer organik, lemak dan wax. Mikrokapsul dapat berupa *continous core/ shell microcapsule* atau *multinuclear microcapsule (microsphere)* (Benita, 1996). Bentuk mikrokapsul dengan struktur geometri sferis maupun tidak beraturan dengan daerah inti kontinu yang dikelilingi oleh penyalut kontinu disebut sebagai mikrokapsul, sedangkan mikrokapsul yang terdiri dari banyak droplet kecil atau partikel bahan inti yang terjepit dalam matriks penyalut disebut mikrosfer (Lachman, 1986 and Swarbrick, 1994).

Keuntungan mikroenkapsulasi diantaranya adalah melindungi dari pengaruh lingkungan, menjaga stabilitas, perubahan warna dan bau, serta dapat dicampur dengan komponen yang bereaksi dengan bahan inti. Kekurangannya adalah bila penyalutan kurang sempurna akan mempengaruhi pelepasan bahan inti dari mikrokapsul, diperlukan teknologi mikroenkapsulasi dan harus dilakukan pemilihan bahan penyalut dan pelarut yang sesuai dengan bahan inti agar didapat mikrokapsul yang bagus. Faktor – faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses mikroenkapsulasi adalah sifat fisiko kimia bahan inti dan bahan penyalut, tahap mikroenkapsulasi, sifat dan struktur dinding mikrokapsul serta kondisi pembentukan mikrokapsul. Ukuran diameter partikel yang terbentuk bergantung pada ukuran bahan inti, jenis dan konsentrasi yang digunakan. Bahan – bahan yang digunakan pada proses mikroenkapsulasi pada prinsipnya ada tiga jenis, yaitu :

#### 1. Bahan inti

Bahan inti dapat didefinisikan sebagai bahan spesifik yang akan disalut, dapat berupa padatan maupun cairan. Komposisi bahan inti dapat bervariasi, biasanya mengandung (10–95)% berat inti (Benita, 1996). Bahan – bahan yang digunakan sebagai inti adalah obat, enzim aktif, sel hidup, agrokimia, zat pemberi rasa, pewangi, dan tinta. Bahan inti yang tersalut dapat mencapai 99% (Benita, 1996). Tingkat melepaskan bahan inti, terutama ditentukan oleh struktur kimia,

ketebalan film kapsul dan ukuran mikrokapsul tersebut. Kecepatan pelepasan isi kapsul dapat dikontrol dengan mengontrol konsentrasi bahan penyalut yang dipakai (Lee et al., 1999). Pada penelitian ini, bahan inti yang digunakan adalah obat anti inflamasi yaitu natrium diklofenak.

## 2. Bahan Penyalut

Bahan penyalut yang digunakan untuk mikroenkapsulasi harus mampu memberikan suatu lapisan tipis yang kohesif dengan bahan inti, dapat bercampur secara kimia dan tidak bereaksi dengan bahan inti. Memberikan sifat penyalutan yang diinginkan, seperti kekuatan, fleksibilitas, impermeabilitas, sifat – sifat optik, dan stabilitas (Benita, 1996).

Contoh bahan penyalut yang biasa digunakan adalah golongan polimer, resin larut air, resin tidak larut air, resin enterik, serta lilin. Ketebalan penyalutan efektif bervariasi dari beberapa mikron, tergantung perbandingan penyalut terhadap inti dan ukuran partikel (luas permukaan) dari bahan inti (Benita, 1996). Bahan penyalut yang digunakan dalam penelitian ini adalah golongan polimer alam, yaitu kitosan.

## 3. Pelarut

Bahan penyalut perlu dilarutkan terlebih dahulu dalam suatu pelarut sebelum dilakukan proses penyalutan, kecuali untuk metode penyemprotan beku yang menggunakan lelehan penyalut. Pelarut yang digunakan dapat berupa pelarut tunggal maupun campuran (Lachman, 1986). Pemilihan pelarut biasanya berdasarkan sifat kelarutan dari bahan inti dan bahan penyalut. Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan untuk melarutkan kitosan adalah asam asetat 5%.

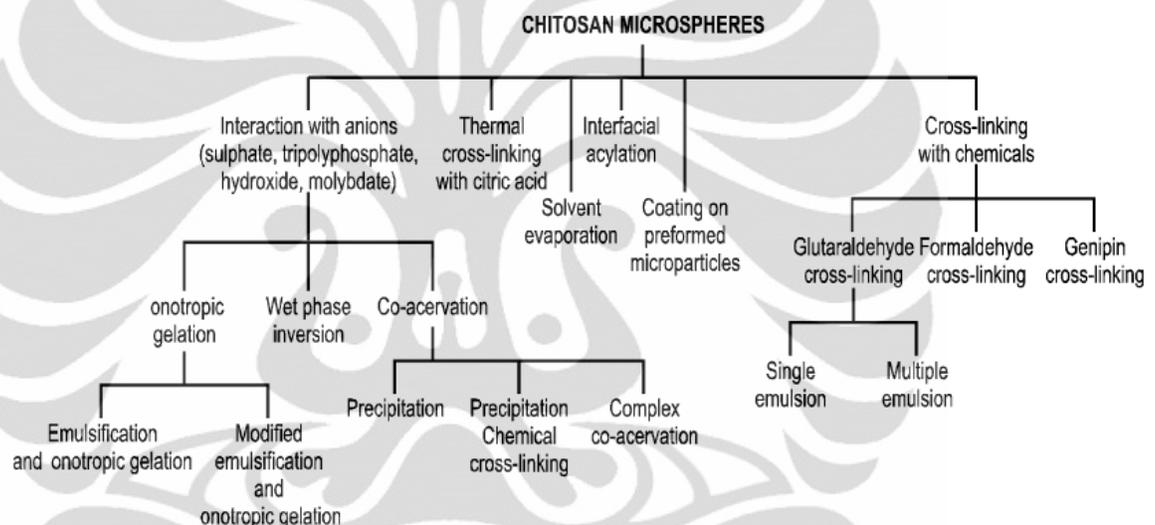
### 2.4 Mikrosfer Kitosan

Penggunaan kitosan berbasis mikrosfer pada obat akan memberikan efek pelepasan obat terkontrol dengan memberikan perlakuan khusus dan memperhatikan berbagai kombinasi antara obat – polimer. Sistem berbasis mikrosfer memiliki

permukaan yang besar untuk rasio volume, dapat meningkatkan umur konstituen aktif dan kontrol pelepasan senyawa bioaktif.

## 2.5 Pembentukan Mikrosfer Kitosan

Metode pembentukan mikrosfer yang sering digunakan adalah metode *crosslinking with chemical* (silang dengan bahan kimia), *ionotropic gelation* dan metode *spray drying* (pengeringan semprot) (Gibaly, 2002). Beberapa metode untuk membentuk mikrosfer kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Metode pembentukan mikrosfer kitosan (Gibaly, 2002)

### 2.5.1 Metode Ionotropic Gelation

Metode ionotropic gelation, mikrosfer yang dibuat dari polimer tipe gel (seperti alginat) dibuat dengan melarutkan polimer dalam larutan berair kemudian mensuspensikan bahan aktif dalam campuran, selanjutnya menggunakan alat untuk mendapatkan mikrodroplet. Mikrodroplet tersebut dijatuhkan ke *hardening bath* yang diaduk secara lambat. *Hardening bath* biasanya mengandung larutan kalsium klorida, dimana ion kalsium divalent menyambung silang polimer membentuk mikrosfer tergelatinasi. Metode ini melibatkan sistem semua cairan dan menghindari residu pelarut dalam mikrosfer.

### **2.5.2 Metode Pengeringan Semprot**

Metode pengeringan semprot obat dilarutkan atau dapat juga didispersikan dalam larutan polimer kemudian disemprot dan dikeringkan sekaligus. Metode ini meliputi dua tahapan, yaitu emulsifikasi minyak dengan larutan polimer dan penghilangan pelarut dengan udara panas. Umumnya teknik ini digunakan untuk zat inti yang berstosaifat air bercampur minyak, seperti fragrance, perasa makanan, dan vitamin yang nantinya akan teremulsi ke dalam bahan penyalut. Bahan penyalut yang digunakan umumnya adalah polimer larut air seperti gom arab, atau starch termodifikasi, layak sebagai bahan makanan, dan larut dalam air sehingga dapat melepaskan bahan inti tanpa adanya bahan penyalut yang mengendap. Mampu memproduksi kapsul dalam jumlah banyak. Metode ini juga cocok untuk bahan yang mudah teroksidasi seperti minyak (Fadri, 2009).

### **2.5.3 Metode Taut Silang dengan Bahan Kimia**

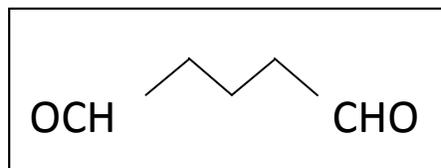
Metode taut silang dengan bahan kimia paling umum digunakan, metode ini melibatkan ikatan silang kitosan yang hadir dalam tahap air dalam minyak (W/O) emulsi. Metode taut silang dengan bahan kimia tergolong metode yang sangat sederhana. Ikatan silang biasanya dilakukan dengan menggunakan senyawa pengikat silang yang sesuai dengan terus diaduk atau dengan pemanasan. Tingkat pengadukan (yaitu, waktu dan kecepatan pengadukan selama emulsifikasi) menentukan ukuran mikrosfer. Dengan adanya glutaraldehid maka kitosan dengan kitosan akan terikat silang hingga membentuk suatu permukaan yang kaku. Metode ini memiliki kekurangan, yaitu bahan kimia (senyawa pengikat silang) yang digunakan memiliki toksisitas tinggi seperti formaldehid, akan tetapi toksisitas bahan kimia dapat disiasati dengan penggunaan glutaraldehid sebagai senyawa pengikat silang, karena glutaraldehid memiliki toksisitas yang tidak terlalu tinggi dibandingkan dengan formaldehid. Hal lainnya yang perlu dipertimbangkan untuk menggunakan metode taut silang dengan bahan kimia adalah senyawa pengikat silang yang digunakan stabil, persisten, dapat dibiodegradasi, dan cocok dengan beberapa material peralatan. Metode yang

akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode taut silang dengan bahan kimia dengan menggunakan glutaraldehid sebagai senyawa pengikat silang.

## 2.6 Glutaraldehid

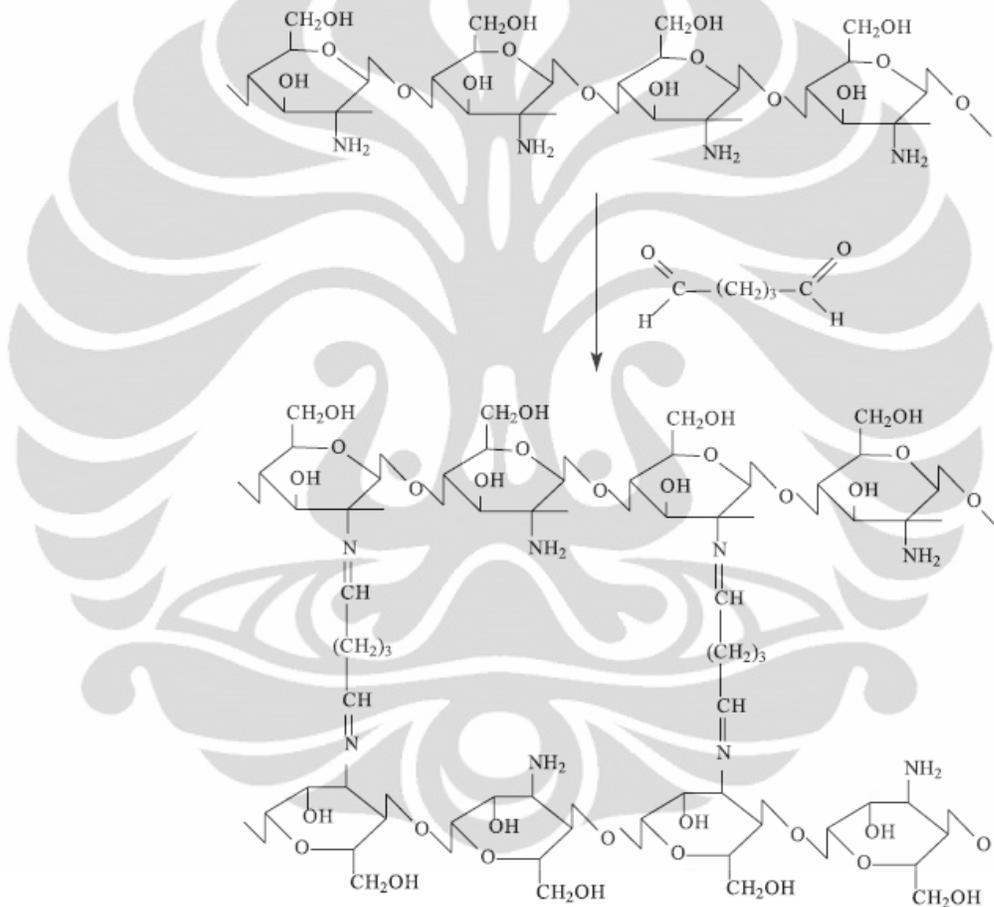
Nama lain glutaraldehid adalah glutardialdehid, 1,3-diformilpropan, glutaral, 1,5-pentanedial, 1,5-pentanedion, asep, cidex, jotacide, sonacide. Daya aksi berada dalam kisaran jam. Glutaraldehid memiliki daya aksi yang lebih efektif dibanding formaldehid, sehingga lebih banyak dipilih dalam bidang *virology* dan tidak berpotensi karsinogenik. Dalam banyak penelitian, senyawa pengikat silang seperti glutaraldehid, digunakan untuk mengatur ikatan antar molekul kovalen antara rantai polimer agar menjadi polimer lebih kaku untuk digunakan sebagai bahan inti dalam penelitian tentang pelepasan terkontrol. Sifat fisik kimia glutaraldehid ialah tidak berwarna, berminyak, berbentuk cair dengan bau menyengat, sangat reaktif, tidak dapat terbakar, penambahan methanol pada senyawa ini akan memperpanjang masa simpan senyawa ini. Biasanya digunakan untuk sejumlah aplikasi seperti antimikroba dalam sistem pengolahan air, biosida dalam pengerjaan logam cair dan saluran pipa minyak dan gas, dll.

Glutaraldehid paling sering digunakan dalam bentuk yang diencerkan dengan konsentrasi berkisar antara 0,1% sampai glutaraldehid 50% dalam air. Glutaraldehid ( $\text{CHO}-(\text{CH}_2)_3-\text{CHO}$ ) memiliki BM 100,1. Glutaraldehid bersifat sedikit asam, dan dalam larutan basa ( $\text{pH} = 7,5-8,5$ ) bersifat sebagai zat anti mikroba yang efektif, umum digunakan untuk sterilisasi alat-alat kesehatan, bedah dan dental. Struktur kimia glutaraldehid dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur kimia glutaraldehid (Helmenstine, 2011)

Dalam pembentukan mikro kapsul, glutaraldehid berfungsi sebagai zat pengikat silang berdasarkan reaksi pembentukan garam Schiff. Gugus aldehid dari glutaraldehid akan berikatan dengan gugus amino bebas dari kitosan dan membentuk ikatan silang yang membuat struktur dinding mikro kapsul kitosan yang terbentuk menjadi lebih kuat (Park, 1993). Reaksi pembentukan ikatan silang kitosan dengan glutaraldehid dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Reaksi pembentukan ikatan silang kitosan dengan glutaraldehid (Pedrosa et.al., 2005)

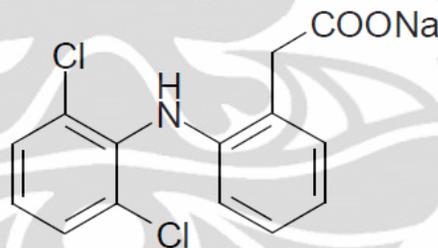
## 2.7 Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif yang digunakan adalah obat. Jenis obat yang digunakan adalah golongan obat anti inflamasi, yaitu natrium diklofenak. Dengan menjadikan

obat ini sebagai bahan inti pada pembentukan mikrosfer diharapkan intensitas pemakaian obat dapat dikurangi.

### 2.7.1 Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan suatu anti radang non steroid (*non steroid anti inflammatory drugs*, NSAIDs) yang merupakan suatu turunan asam fenil asetat (Kusumawati, 2009). Natrium diklofenak adalah obat anti-inflamasi nonsteroid yang membantu mengurangi rasa sakit, kekakuan, dan bengkak disebabkan oleh beberapa jenis radang sendi. Efek samping yang umum sering terjadi adalah sembelit, diare, dan mulas. Natrium diklofenak berupa serbuk serbuk berwarna kekuningan, berbau lemah, rasa pahit sedikit asam, larut dalam methanol, dan memiliki kelarutan yang kecil dalam air. Berat molekul natrium diklofenak adalah 318,13 dengan rumus molekul  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2Na$ . Struktur natrium diklofenak dapat dilihat pada Gambar 2.6. Absorpsi diklofenak pada saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dan memiliki waktu paruh singkat yakni 1-3 jam (Maharani,2009).



Gambar 2.6. Struktur natrium diklofenak (Idris, 2011)

## 2.8 Mekanisme Pelepasan

Peristiwa pelepasan obat atau zat aktif dari polimer dapat terjadi melalui tiga mekanisme yaitu difusi, degradasi dan pengembangan (*swelling*) yang diikuti dengan difusi. Difusi terjadi ketika sebuah obat atau zat aktif mengalir melalui pori – pori yang terdapat pada matrix polimer atau melalui ruang antara rantai – rantai polimer. Ukuran pori di dalam matrix polimer yang seragam serta ketebalan matrix yang tidak berubah menyebabkan proses pelepasan obat berjalan konstan sepanjang periode tertentu. Pelepasan zat aktif juga dapat terjadi ketika rantai – rantai polimer

mengalami pengembangan akibat kondisi tubuh yang berubah karena terjadinya perubahan pH, suhu, enzim atau stimulus – stimulus yang lain. Setelah rantai – rantai polimer mengembang maka zat aktif akan dengan mudah berdifusi dan setelah stimulusnya berkurang atau hilang akibat penyakitnya sudah disembuhkan maka rantai – rantai polimer akan kembali lagi ke konfigurasi awal dengan tidak mengeluarkan zat aktif kembali. Hal ini akan menghilangkan kemungkinan terjadinya overdosis obat. Setelah melepaskan semua zat aktif yang dikandungnya maka matrix polimer akan mengalami degradasi sebagai hasil dari hidrolisis rantai – rantai polimer menjadi molekul – molekul kecil yang dapat diterima oleh sistem tubuh kita. (Kusumastuti, 2009).

### **2.8.1 Pelepasan Senyawa Bioaktif dari Obat**

Pengembangan teknologi formulasi baru pada dua dekade terakhir banyak ditekankan pada pengembangan bentuk sediaan obat yang dapat melepaskan obat secara terkontrol. Salah satu di antaranya adalah pengembangan bentuk sediaan obat yang di desain untuk meningkatkan durasi aksi obat yang terkandung di dalamnya. Beberapa jenis bentuk sediaan obat yang dikembangkan untuk maksud ini adalah:

- Sediaan pelepasan lambat
- Sediaan aksi diperpanjang
- Sediaan aksi berulang

Ketiga jenis sediaan di atas dapat dibedakan sebagai berikut :

#### ➤ **Sediaan pelepasan lambat**

Obat dalam sediaan pelepasan lambat mempunyai sistem pelepasan obat yang unik, yaitu mula – mula dilepaskan kira – kira separuh dari dosis total yang merupakan dosis inisial, kemudian diikuti dengan pelepasan sisa obat secara bertahap dan seragam selama periode waktu tertentu. Tujuan sediaan ini adalah untuk memperoleh kadar terapeutik obat dalam darah dengan cepat, dan mempertahankan kadar tersebut selama periode waktu tertentu.

➤ **Sediaan aksi diperpanjang**

Sediaan ini melepaskan obat dengan laju pelepasan tertentu, yang dapat menghasilkan durasi aksi obat yang lebih panjang dibandingkan dengan pemberian dosis tunggal yang normal. Sediaan ini berbeda dengan sediaan pelepasan lambat yaitu tidak adanya dosis inisial.

➤ **Sediaan aksi berulang**

Sediaan aksi berulang didesain untuk melepaskan dengan segera satu dosis tunggal, kemudian diikuti dengan pelepasan dosis tunggal kedua, ketiga dan selanjutnya setelah interval waktu tertentu. Keuntungan utama dari sediaan ini adalah berkurangnya frekuensi pemberian obat. Tetapi kadar obat dalam darah sama dengan pemberian obat secara intermiten dengan dosis tunggal. Sediaan pelepasan lambat didesain untuk memberikan kadar obat dalam darah yang adekuat selama periode waktu tertentu untuk mendapatkan keuntungan - keuntungan klinik, yaitu :

- Meningkatkan hasil terapi obat, berupa peningkatan efektivitas dan penurunan efek samping serta efek toksik obat
- Meningkatkan kepatuhan penderita dengan aturan dosis yang lebih menyenangkan karena interval dosis yang lebih panjang maka pasien tidak akan mengalami gangguan waktu tidur.
- Untuk obat tertentu, dari segi ekonomi dapat diperoleh penghematan biaya pengobatan karena dosis tunggal obat lepas lambat akan lebih murah dibandingkan obat dengan dosis yang sebanding yang pemberiannya dengan dosis berganda.
- Memberikan kadar obat dalam darah yang konstan / berkelanjutan, sehingga menghasilkan respon klinis yang lebih panjang dan konsistensi pada pasien. Kadar obat dalam darah tidak mengalami fluktuasi antara suatu nilai maksimum dan minimum seperti yang terjadi pada pemberian dosis berganda.

Tetapi di samping keuntungan-keuntungan di atas, ada pula kerugian-kerugian dalam pemakaian sediaan pelepasan lambat yaitu:

- tidak adanya fleksibilitas aturan dosis
- untuk beberapa obat harganya semakin mahal oleh karena penerapan teknologi yang tinggi
- adanya risiko *over dosis*
- bila pasien mengalami efek samping obat yang merugikan atau tiba-tiba mengalami efek toksik, maka pembersihan atau pembuangan obat dari sistem sirkulasi akan lebih sulit bila dibandingkan produk biasa. Dengan jalur pemberian oral, dapat terjadi variabilitas dalam proses absorpsi obat yang disebabkan oleh interaksi obat dengan bahan-bahan yang ada dalam saluran cerna dan karena perubahan motilitas saluran cerna.
- dosis dalam obat-obat lepas lambat biasanya sangat besar (>500 mg) menyebabkan kesulitan dalam metode pembuatan bentuk sediaan. Dosis yang besar akan membutuhkan bentuk sediaan dengan ukuran yang cukup besar yang sulit untuk ditelan. Kesalahan dalam bentuk sediaan lepas lambat akan menimbulkan Dose Dumping yaitu pelepasan fraksi obat yang lebih dari biasanya atau kecepatan pelepasan obat yang jauh lebih besar dibanding jumlah yang biasa terjadi pada interval dosis dengan bentuk sediaan biasa, berpotensi menimbulkan kadar plasma yang merugikan (Kusumastuti, 2009).

## 2.9 Analisis Sampel

Analisis sampel yang dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV dan *Scanning Electron Microscope*.

### 2.9.1 Spektrofotometri UV

Spektrofotometer UV adalah analisa kuantitatif dan kualitatif spesies kimia dengan pengukuran absorbansi atau transmitansi dalam spektroskopi. Spektrofotometer UV adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar

ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel, biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks didalam larutan. Alat ini banyak bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa – senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet 200 – 400 nm (Sastrohamidjojo, 1991). Pada penelitian ini analisis spektrofotometer UV bertujuan untuk mengetahui profil pelepasan mikrosfer kitosan dan natrium diklofenak terhadap waktu.

### **2.9.2 Scanning Electron Microscope (SEM)**

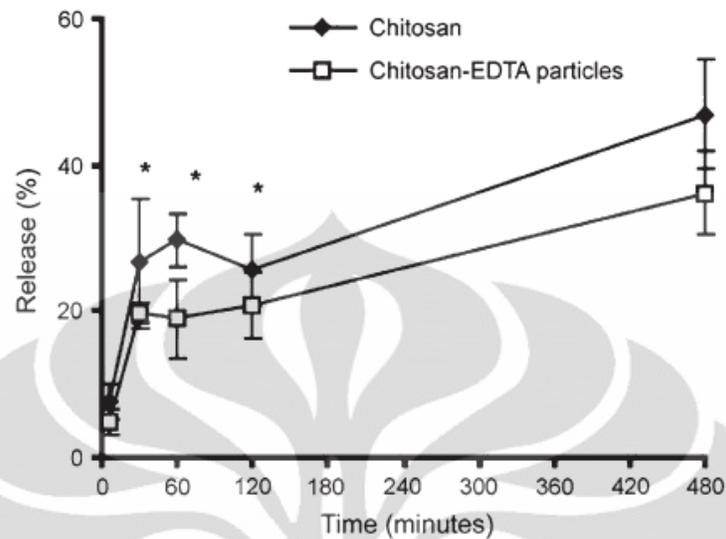
*Scanning Electron Microscope* menggunakan sinar elektron berenergi tinggi difokuskan untuk menghasilkan berbagai sinyal pada permukaan sampel padat. Sinyal yang berasal dari interaksi antara elektron – sampel mengungkapkan informasi tentang sampel morfologi eksternal (tekstur), komposisi kimia dan struktur kristal dan orientasi dari bahan yang membentuk sampel.

Pada analisis *Scanning Electron Microscope*, photomicrograph pemindaian elektron diambil pada tegangan permukaan 20 kV tekanan 88 Pa dan perbesaran 5000 kali. Analisis ini bertujuan mengetahui bentuk dan morfologi mikrosfer.

## **2.10 Informasi yang Terkait**

### **2.10.1 Waktu Pelepasan Kitosan**

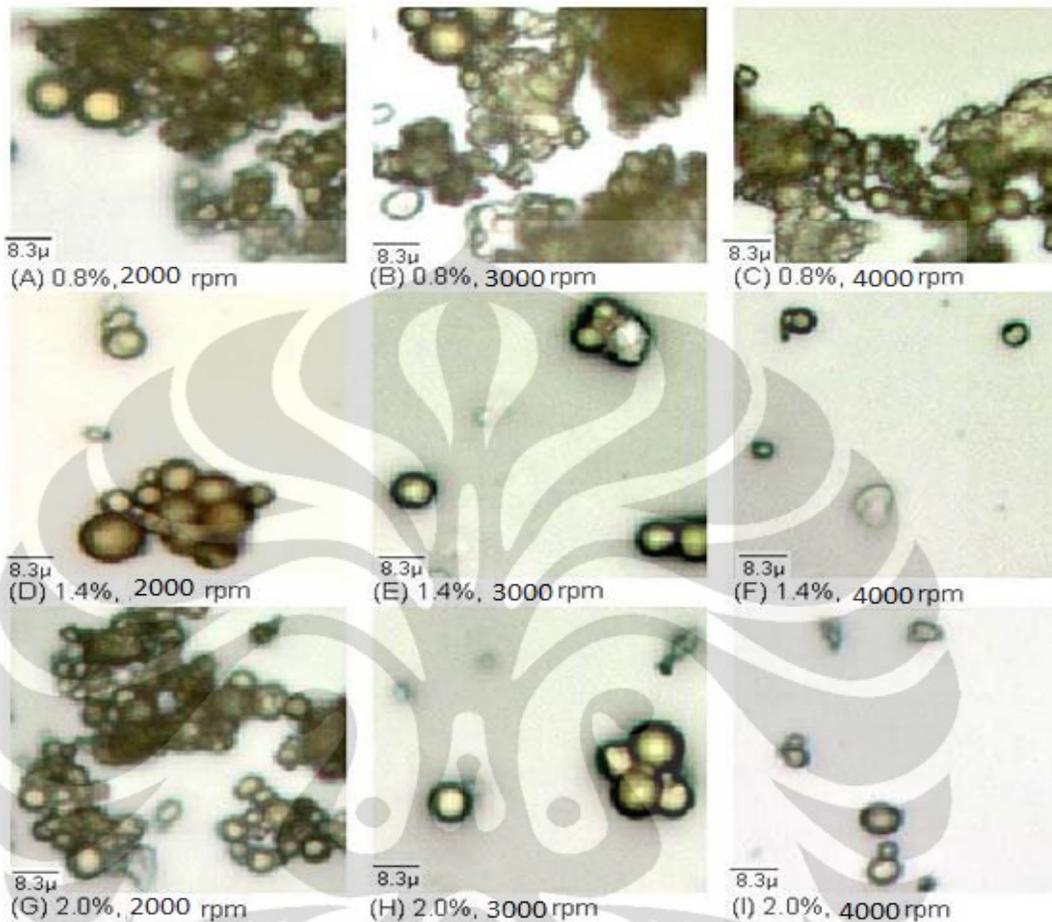
Kurva % pelepasan terhadap waktu untuk kitosan dan kitosan – EDTA (Lorets, 2006) dapat dilihat pada Gambar 2.7. Dari kurva tersebut dapat dilihat bahwa waktu pelepasan kitosan kurang lebih 480 menit atau 8 jam dengan pelepasan kitosan tidak mencapai 50%. pelepasan partikel kitosan dan kitosan – EDTA partikel ditampilkan bentuk sebanding. Perbedaannya adalah dalam EDTA – modifikasi kompleks kitosan menghasilkan pelepasan senyawa bioaktif yang sedikit lambat.



Gambar 2.7. Kurva % pelepasan terhadap waktu untuk kitosan dan kitosan – EDTA (Lorets, 2006)

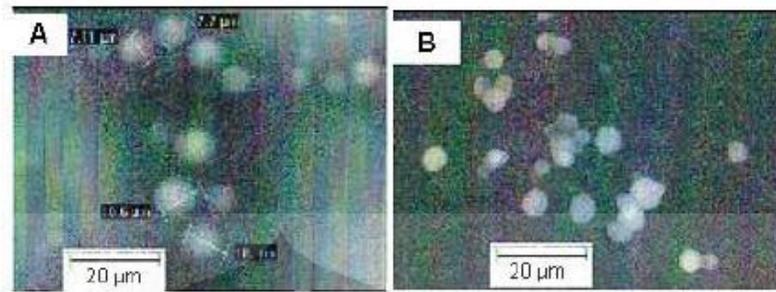
### 2.10.2 Variasi Pada Pembentukan Mikrosfer Kitosan

Kitosan digunakan sebagai bahan tambahan untuk mengontrol pelepasan senyawa bioaktif. Dubey (2003), menerangkan pembentukan mikrosfer kitosan dengan konsentrasi larutan kitosan dan kecepatan pengadukan yang dipakai bervariasi. Konsentrasi larutan kitosan yang digunakan adalah 0,8 ; 1,4 dan 1,8% (b/v) dan kecepatan pengadukannya 2000, 3000, dan 4000 rpm. Obat yang digunakan yaitu 5-FU yang kelarutan air yang cukup dan MTX yang tidak larut air. Penelitian tersebut menambahkan kitosan dengan masing – masing obat yang telah dijelaskan. Hasil pengujian SEM dari mikrosfer kitosan dengan konsentrasi larutan kitosan yang berbeda dan kecepatan pengadukan yang berbeda, dapat dilihat pada Gambar 2.8. Hasil uji SEM dari kitosan yang mengandung obat 5-FU dan MTX dapat dilihat pada Gambar 2.9., sedangkan Kurva % pelepasan terhadap waktu kitosan untuk obat 5-FU dan MTX dapat dilihat pada Gambar 2.10.

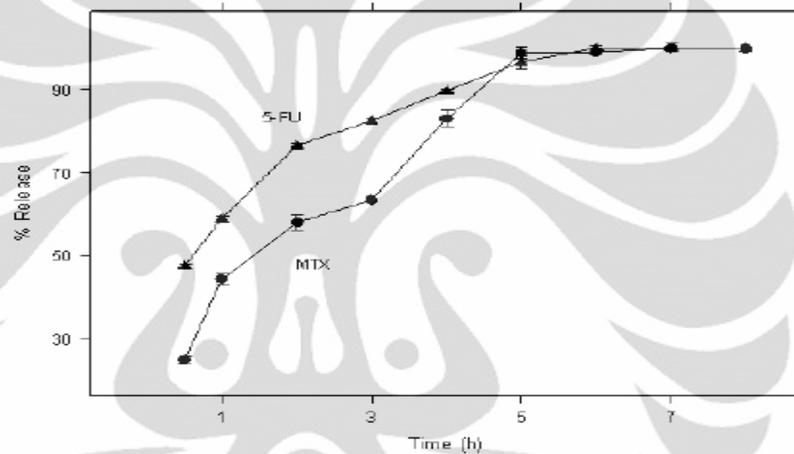


Gambar 2.8. Hasil pengujian SEM dari mikrosfer kitosan dengan konsentrasi larutan kitosan yang berbeda dan kecepatan pengadukan yang berbeda (Dubey, 2003)

Dari gambar diatas, dapat dilihat bahwa dengan kecepatan pengadukan meningkat, jumlah partikel berbentuk bola mulai menurun, dan mikrosfer sangat sedikit diperoleh bila kecepatan pengadukan meningkat menjadi 4000 rpm. Mikrosfer larutan kitosan memiliki konsentrasi yang lebih tinggi dari 1% b/v (yaitu 1,4% b/v dan 2% b/v) adalah bulat sempurna terlepas dari kecepatan pengadukan, sebuah gumpalan besar ditemukan dengan pengadukan pada kecepatan rendah. Mikrosfer menjadi lebih diskrit dengan bertambahnya kecepatan pengadukan.



Gambar 2.9. Uji SEM dari kitosan yang mengandung 5-FU (A) dan MTX (B)  
(Dubey, 2003)



Gambar 2.10. Kurva % pelepasan terhadap waktu untuk Obat 5-FU dan MTX yang tersalut kitosan (Dubey, 2003)

Dari Gambar 2.10., dapat dilihat bahwa mikrosfer diperoleh pada kedua mikrosfer kitosan yang mengandung 5-FU dan mengandung MTX. Ini berkaitan dengan sifat obat yang digunakan. Penggumpalan hadir dalam kasus mikrosfer kitosan yang mengandung MTX yang tidak larut dalam air, sedangkan kitosan mikrosfer mengandung 5-FU yang larut dalam air lebih terpisah.

Dari Gambar 2.11., pelepasan senyawa bioaktif pada mikrosfer kitosan obat akan naik menjadi hampir 100% dalam waktu 8 jam. Dari kurva tersebut dapat dilihat bahwa obat dengan kelarutan air yang cukup dapat menghasilkan pelepasan awal yang lebih besar dibandingkan obat yang tidak larut air. Otomatis pelepasan senyawa bioaktif pada obat yang kelarutan airnya cukup akan lebih tinggi daripada obat yang tidak larut air. Pelepasan awal lebih cepat pada obat 5-

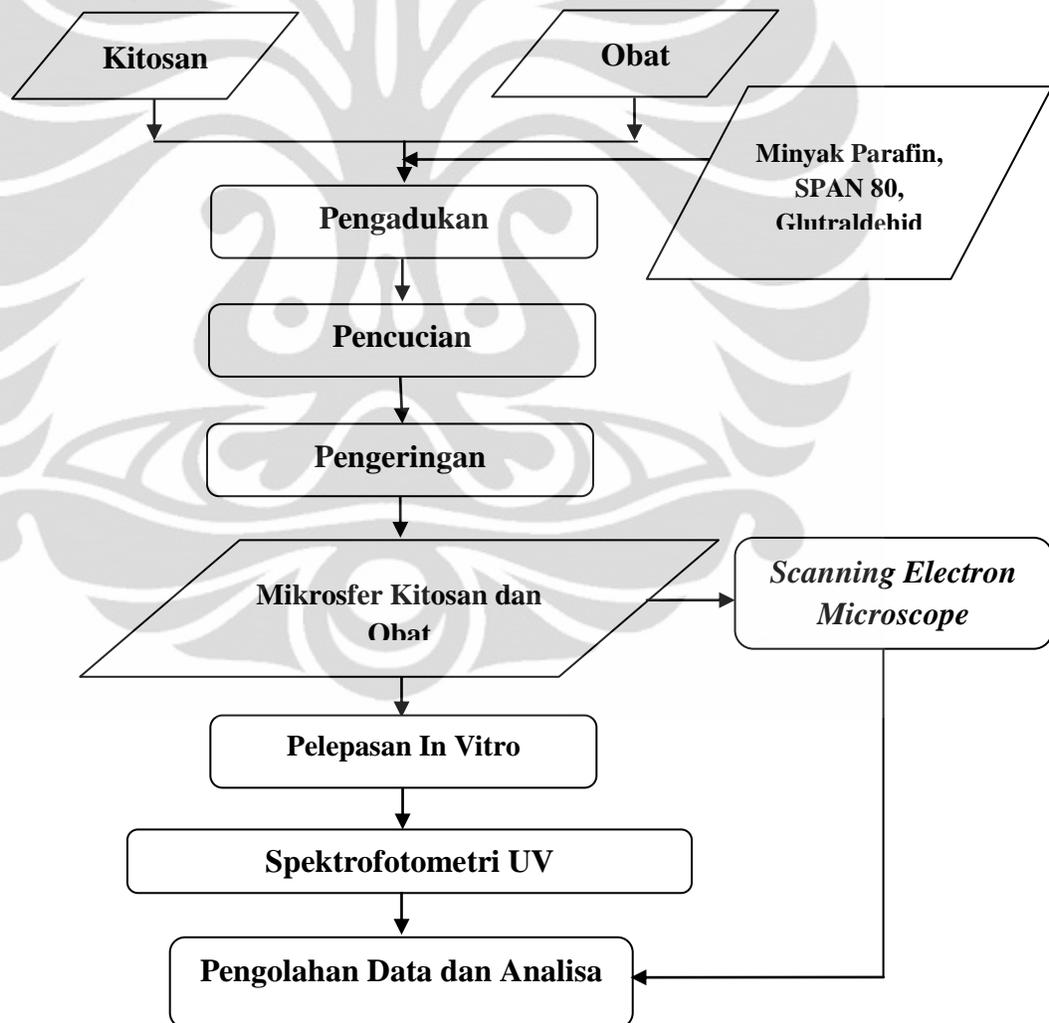
FU, mungkin karena pelepasan obat yang terletak di lapisan luar karena 5-FU mudah larut, maka 5-FU dilepaskan lebih cepat dari MTX, sehingga memberikan profil pelepasan yang lebih tinggi ( $> 50\%$ ) dari MTX ( $< 50\%$ ) pada 1 jam pertama. Peningkatan tajam dalam pelepasan MTX dalam tahap kedua mungkin karena erosi dari matriks yang mengarah ke penghabisan tiba-tiba obat dari matriks



### BAB III METODELOGI PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Energi Berkelanjutan Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia, Depok. Diagram alir penelitian mikrosfer kitosan sebagai bahan penyalut untuk mengontrol pelepasan obat natrium diklofenak, ditunjukkan Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram alir penelitian mikrosfer kitosan sebagai bahan penyalut untuk mengontrol pelepasan obat natrium diklofenak

Tahapan awal penelitian adalah studi literatur yang dilakukan dengan mempelajari jurnal publikasi nasional maupun internasional yang berkaitan dengan penelitian kitosan sebelumnya. Langkah berikutnya pencampuran kitosan dan obat. Keduanya dicampurkan, kemudian dilakukan pembentukan mikrosfer kitosan – obat. Setelah mikrosfer terbentuk, dilakukan analisis. Analisis yang akan dilakukan adalah *Scanning Electron Microscope* untuk mengetahui bentuk dan morfologi mikrosfer dan Spektrofotometri UV-Visible untuk mengetahui profil pelepasan mikrosfer kitosan dan obat terhadap waktu. Selanjutnya akan dilakukan analisa hasil melalui pembahasan untuk mencapai suatu kesimpulan.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Pada penelitian mikrosfer kitosan sebagai bahan penyalut untuk mengontrol pelepasan obat natrium diklofenak, digunakan alat dan bahan sebagai berikut :

#### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pengujian ini termasuk pada alat gelas, dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian dan perincian bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Bahan dan perincian bahan yang digunakan

Bahan	Perincian Bahan
Kitosan	sebagai bahan tambahan obat, konsentrasi kitosan yang dipakai dalam penelitian ini adalah 0,8 % (b/v)
Senyawa Bioaktif	Obat anti inflamasi yaitu natrium diklofenak
Petroleum eter	sebagai pencuci emulsi yang terbentuk
Air suling	sebagai pencuci emulsi yang terbentuk
Asam asetat 5%	sebagai pelarut kitosan
Glutaraldehyd 25%	sebagai senyawa pengikat silang

Minyak paraffin	Sebagai pembentuk emulsi air dalam minyak (W/O)
Surfaktan (SPAN 80)	sebagai penstabil mikrosfer yang terbentuk
Kertas saring Whatman 40 dan Whatman kelas 2	Sebagai penyaring
Methanol	sebagai pelarut
KCl, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , NaCl, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	Untuk membuat Buffer fosfat n-salin (pH 7,4) sebagai media disolusi

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Pembuatan Larutan Kitosan

Perincian pembuatan larutan kitosan dengan konsentrasi 2% (b/v), yaitu:

- Bubuk kitosan ditimbang sebanyak 2 gram,
- Dimasukkan ke dalam beker gelas,
- Ditambahkan asam asetat 5 % sedikit demi sedikit,
- Diaduk dengan kecepatan 1000 rpm, selama 15 menit
- Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL,
- Ditera dengan asam asetat 5 %,
- Dihomogenkan.

#### 3.3.2 Pembuatan Mikrosfer Kitosan

Mikrosfer yang dibuat menggunakan metode ikatan silang dengan bahan kimia glutaraldehid. Mikrosfer yang dibuat adalah campuran antara kitosan dan obat. Pada pembuatan mikrosfer ini dilakukan pengadukan dengan kecepatan 2000 rpm. Proses pembuatan mikrosfer dapat dilihat pada Gambar 3.2. Perincian pembuatan mikrosfer, yaitu :

- Sebanyak 50 mL minyak parafin ditempatkan dalam beker gelas 250 mL,
- Ditambahkan 1mL surfaktan jenis SPAN 80 disertai dengan pengadukan,
- Ditambahkan 3 mL larutan kitosan pada konsentrasi 2% (b/v),
- Diaduk dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit

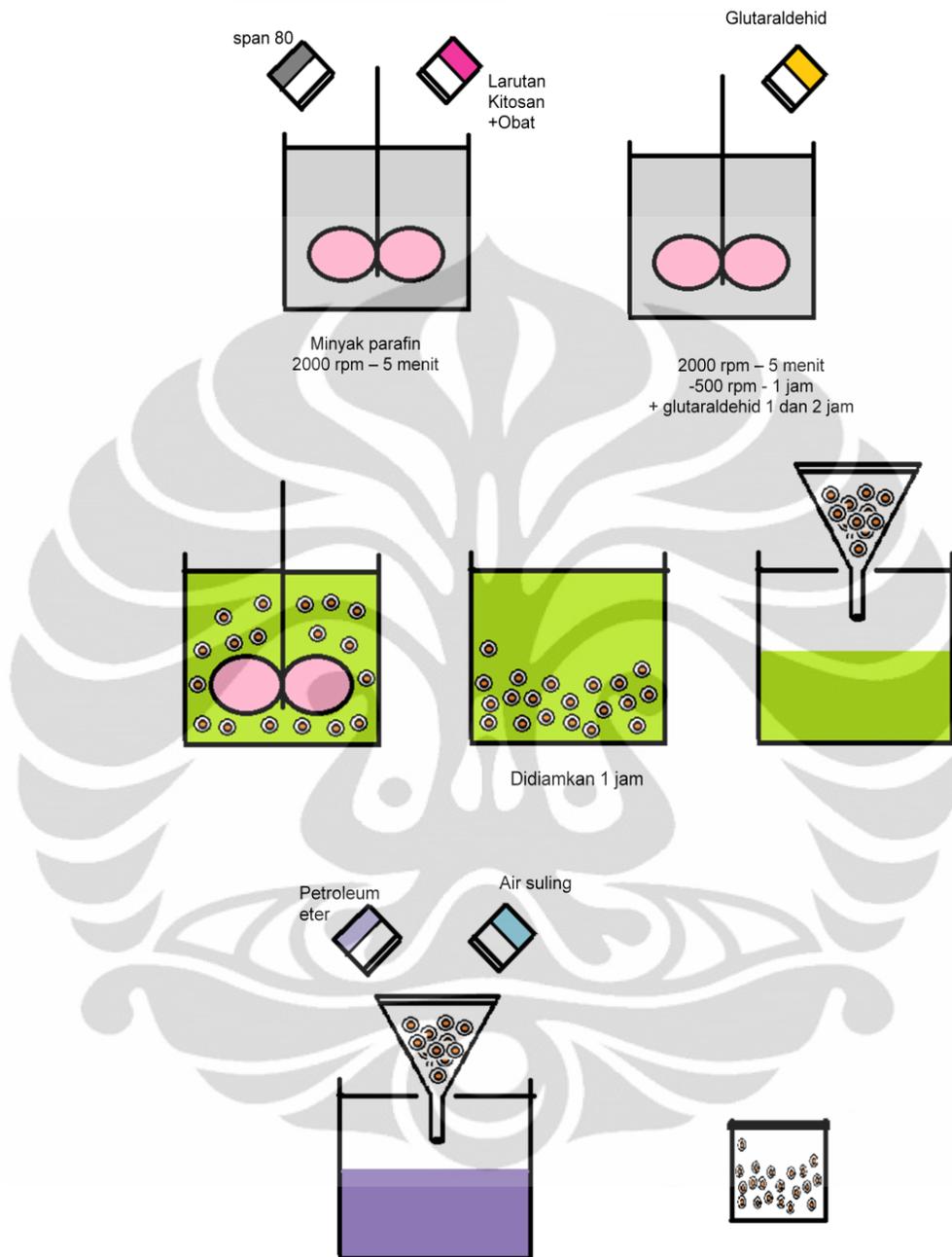
- Ditambahkan 0,25 mL larutan Glutaraldehyd 25% dalam air,
- Diaduk dengan kecepatan sama selama 5 menit, lalu kurangi kecepatan 500 rpm, diaduk selama 1 jam,
- Ditambahkan 0,25mL larutan Glutaraldehyd 25% dalam air dua kali (yang pertama) diaduk selama 1 jam,
- Ditambahkan 0,25mL larutan Glutaraldehyd 25% dalam air (yang kedua), diaduk selama 1 jam,
- Emulsi yang terbentuk di diamkan selama 1 jam
- Emulsi yang terbentuk disaring dengan kertas saring Whatman 40,
- Dicuci 4 kali dengan petroleum eter,
- Dicuci dengan air suling,
- Dikeringkan dalam udara terbuka,
- Disimpan pada desikator dengan suhu kamar.

### 3.3.3 Penambahan dengan Obat

Prosedurnya sama dengan pembuatan mikrosfer kitosan dengan penambahan kitosan yang mengandung obat pada konsentrasi (2, 5, 8) mg/mL disertai dengan pengadukan 1000 rpm selama 15 menit.

### 3.3.4 Pembuatan Buffer Fosfat pH 7,4

- Ditimbang sebanyak 0,1 g KCl ; 0,1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ; 4 g NaCl ; 1,08 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- Dimasukkan kedalam gelas ukur 500 mL
- Ditambahkan 250 mL air suling
- Distirrer
- Diatur pH dengan NaOH hingga mencapai pH 7,4
- Dimasukkan kedalam labu ukur 500 mL
- Ditera dengan air suling
- Dihomogenkan



Gambar 3.2. Proses pembuatan mikrosfer

### 3.3.5 Metode analisis

Analisis yang akan dilakukan adalah *Scanning Electron Microscope* dan Spektrofotometri UV-Visible.

## 1. Spektrofotometri UV

Pengujian spektrofotometri UV bertujuan untuk mengetahui profil pelepasan mikrosfer kitosan dan obat terhadap waktu. Untuk menganalisis sampel. Panjang gelombang yang dipakai adalah 280 nm (Goncalves, 2005).

### a. Penentuan Persentase Penjeratan Obat

Efisiensi jeratan obat dihitung dari segi persentase jeratan obat, sesuai dengan rumus berikut:

$$\begin{aligned} \text{Efisiensi Penjeratan (\%)} \\ = \frac{\text{Jumlah Obat yang Terjerat dalam Mikrosfer}}{\text{Jumlah Obat Teoritis dalam Mikrosfer}} \times 100\% \end{aligned}$$

Jumlah obat teoritis dalam mikrosfer ditentukan dengan perhitungan asumsi bahwa seluruh obat dalam larutan kitosan yang digunakan akan terperangkap dalam mikrosfer dan tidak terjadi kehilangan pada setiap tahap penyusunan mikrosfer. Perincian untuk mendapatkan jumlah obat yang terjerat dalam mikrosfer, yaitu :

- i. Ditimbang 25 mg mikrosfer,
- ii. Dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL,
- iii. Ditambahkan 25 mL methanol,
- iv. Diaduk dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar,
- v. Larutan disaring dan filtrat dianalisis untuk konten obat,
- vi. Dianalisis dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang yang telah ditentukan.

### b. Pembuatan kurva standar

Pembuatan kurva standar antara obat natrium diklofenak dengan metanol, untuk penentuan efisiensi penjeratan obat dan antara mikrosfer dengan bufer fosfat pH 7,4 untuk pengujian pelepasan *in vitro*. Konsentrasi deret standar yang dibuat yaitu (50, 100, 150, 200, 250) ppm. Kemudian di uji dengan spektrofotometri UV.

### **c. Pelepasan *In Vitro***

Formula yang digunakan pada pengujian pelepasan *in vitro*, dipilih yaitu yang memiliki efisiensi penjeratan yang paling tinggi untuk masing – masing konsentrasi obat. Perinciannya yaitu :

- i. Ditimbang sejumlah mikrosfer \*
- ii. Ditambahkan 30 mL buffer fosfat n-salin (pH 7,4) dalam suatu tabung kerucut,
- iii. Tabung ditutup dengan kapas plug,
- iv. Disimpan dalam inkubator pada suhu 37 ° C,
- v. Diambil 3 mL, dan digantikan dengan 3 mL media disolusi (buffer fosfat n-salin pH 7,4), dengan rentang waktu 0,5 jam sekali, selama 15 jam.
- vi. Disaring dengan kertas Whatman (Kelas 2),
- vii. Residu dikembalikan ke suspensi,
- viii. Filtrat digunakan untuk pengujian Spektrofotometri UV – Visible (setelah pengenceran bila diperlukan) pada panjang gelombang yang telah ditentukan, untuk penentuan kadar obat.

Keterangan : \*Jumlah yang ditimbang tergantung hasil efisiensi penjeratan.

### **2. Scanning Electron Microscope**

*Scanning Electron Microscope* (SEM) digunakan untuk mengetahui ukuran mikrosfer. Mikrosfer disebarkan ke dalam rintisan kaca, kemudian tempatkan pada mikroskop electron scanning. Pemindaian elektron photomicrograph diambil pada tegangan percepatan 20 kV tekanan 88 Pa dan perbesaran 5000 kali.

## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada bab ini akan dianalisa tentang hasil dan analisa mikrosfer yang terbentuk. Dimana dilakukan variasi konsentrasi obat natrium diklofenak yang ditambahkan, yaitu 2 mg/mL, 5mg/mL dan 8 mg/mL dengan kecepatan putaran 2000 rpm.

#### **4.1 Pembuatan Mikrosfer**

Mikrosfer yang dibuat adalah campuran antara kitosan dan obat. Kecepatan pengadukan ini yang paling optimum pada alat yang dipakai. Untuk menghilangkan minyak parafin, mikrosfer basah yang terbentuk dicuci dengan petroleum eter. Perubahan warna pada proses pembuatan mikrosfer dapat dilihat pada Gambar 4.1. Perubahan warna yang terjadi pada pembuatan mikrosfer disebabkan karena penambahan glutaraldehid. Dengan adanya glutaraldehid maka akan terjadi ikat silang antara kitosan dengan kitosan.

#### **4.2 Penentuan Persentase Penjeratan Obat**

Penentuan kandungan zat inti dan penentuan presentase zat inti yang tersalut penting untuk mengetahui efisiensi mikrokapsul. Untuk penentuan efisiensi penjeratan obat, sebelumnya di lakukan penentuan deret standar yang dapat dilihat pada Lampiran 2., dan kurva standar penentuan efisiensi penjeratan obat dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa persamaan linier yang didapat adalah  $y = 0,0064 x + 0,0476$  dengan nilai regresi linier sebesar 0,9964. Dengan Persamaan linier yang di dapat kita dapat menentukan konsentrasi obat natrium diklofenak yang terdapat pada mikrosfer kitosan. Penentuan efisiensi penjeratan obat dapat dilihat pada Tabel 4.1.



(a)

(b)

(c)

(d)

(I)



(a)

(b)

(c)

(d)

(II)

Keterangan :

- (a) Minyak parafin dan span 80 setelah ditambah larutan kitosan yang mengandung obat.
- (b) Setelah 1 jam penambahan glutaraldehid 25% yang ke-1
- (c) Setelah 1 jam penambahan glutaraldehid 25% yang ke-2
- (d) Setelah 1 jam penambahan glutaraldehid 25% yang ke-3 (Hasil akhir pengadukan)



(a)

(b)

(c)

(d)

( III )



(a)

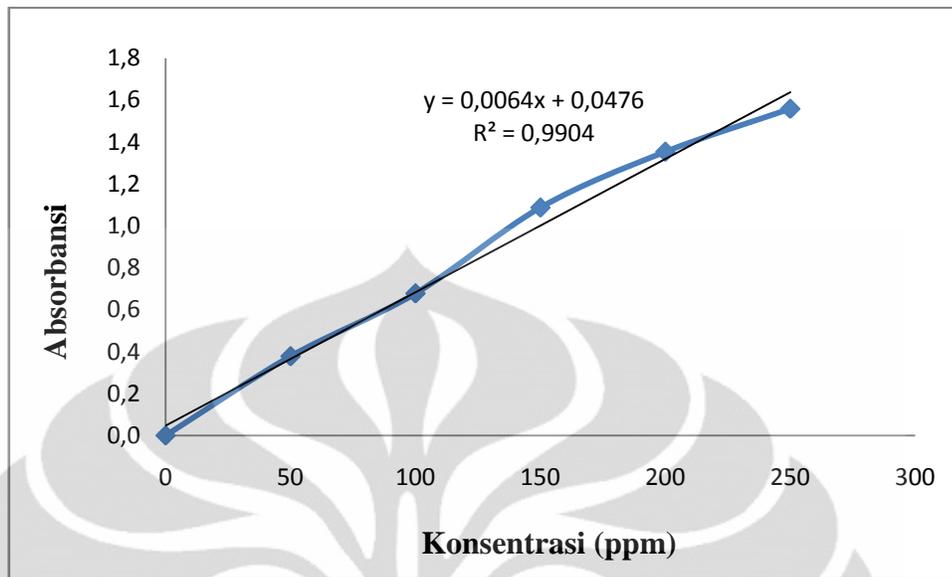
(b)

(c)

(d)

( IV )

Gambar 4.1. Perubahan warna pada proses pembuatan mikrosfer untuk ( I ) kitosan 2%, ( II ) kitosan 2% dengan obat 2 mg/mL, ( III ) kitosan 2% dengan obat 5 mg/mL, ( IV ) kitosan 2% dengan obat 8 mg/mL

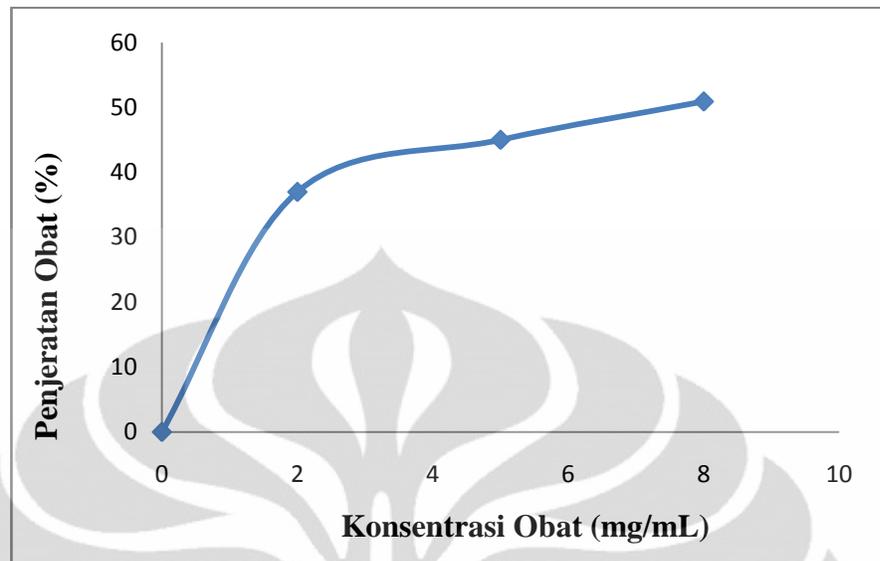


Gambar 4.2. Kurva standar penentuan efisiensi penjeratan obat

Tabel 4.1. Penentuan efisiensi penjeratan obat

No	Konsentrasi larutan obat yang ditambahkan (Teoritis) (mg/mL)	Konsentrasi larutan obat dalam mikrosfer (mg/mL)	Efisiensi Penjeratan (%)
1	2	0.7	35
2	5	2.3	46
3	8	4.1	51

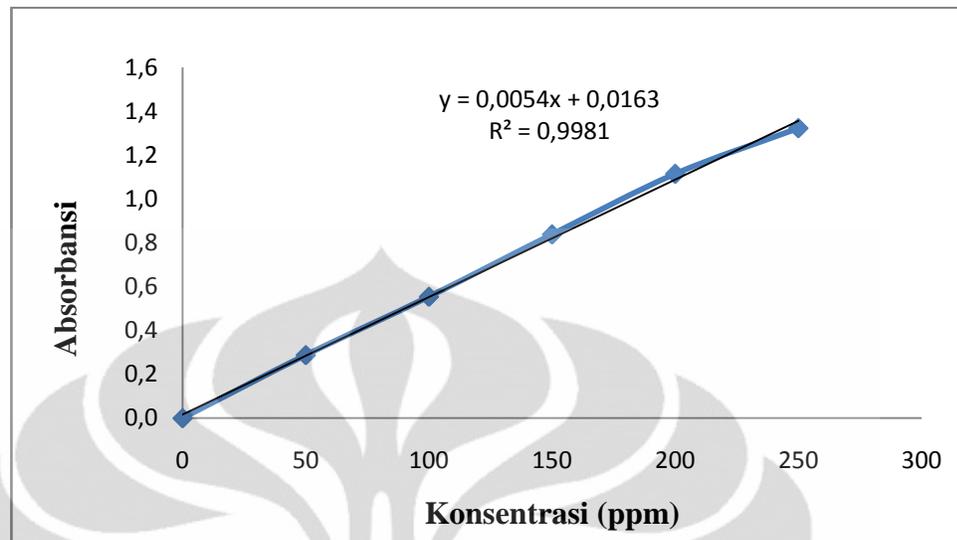
Penentuan efisiensi penjeratan obat ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui berapa banyak mikrosfer kitosan dan natrium diklofenak yang ditimbang untuk penentuan uji pelepasan *in vitro*. Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa efisiensi penjeratan yang paling tinggi yaitu mikrosfer kitosan 2% dan obat 8 mg/mL, yaitu sebesar 51%. Hubungan konsentrasi obat dengan penjeratan obat pada mikrosfer dapat dilihat pada Gambar 4.3. Dari gambar tersebut, dapat dilihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi maka efek penjeratan obat pun meningkat, hal ini sesuai dengan pernyataan Dubey (2003). Efek penjeratan obat yang meningkat dapat terjadi karena semakin banyak obat yang ditambahkan pada saat pembuatan mikrosfer, maka semakin besar pula kemungkinan obat tersebut untuk masuk ke dalam droplet – droplet mikrosfer yang sedang terbentuk.



Gambar 4.3. Efek konsentrasi obat dengan penjeratan obat pada mikrosfer

### 4.3 Pelepasan *In Vitro*

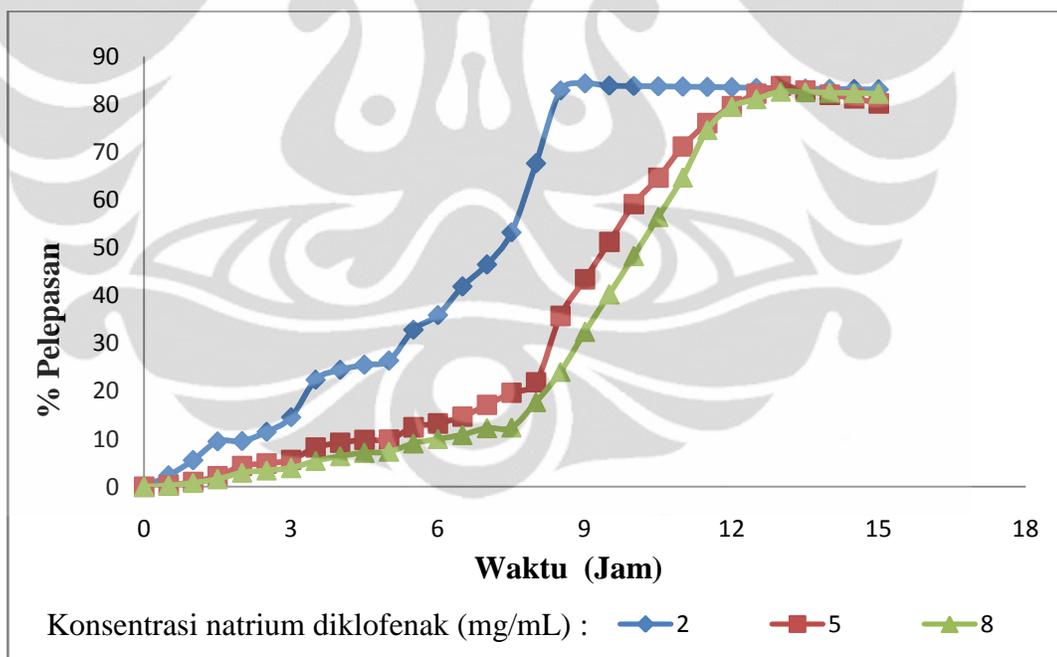
Tahap pertama yang dilakukan untuk pengujian ini adalah mengetahui penetapan kurva standar dari natrium diklofenak dan buffer fosfat pH 7,4 yang dapat dilihat pada Lampiran 2. Dari hasil pengukuran serapan natrium diklofenak pada berbagai konsentrasi dalam larutan buffer fosfat pH 7,4 maka dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi yang dapat dilihat pada Gambar 4.4. Grafik tersebut berbentuk garis lurus, hal ini menunjukkan bahwa dengan naiknya konsentrasi maka besarnya serapan juga akan naik. Persamaan regresi linier yang di dapatkan adalah  $y = 0,00536 x + 0,0163$  dengan nilai regresi linier sebesar 0,9981.



Gambar 4.4. Kurva standar natrium diklofenak dengan larutan buffer fosfat pH 7,4

Dengan mengetahui jumlah obat yang terperap dalam mikrosfer, maka dapat diketahui jumlah mikrosfer dan natrium diklofenak yang ditimbang. Pada pengujian pelepasan *in vitro* mikrosfer yang ditimbang untuk konsentrasi natrium diklofenak dalam mikrosfer sebesar 0,35 ; 0,46 dan 0,51 mg natrium diklofenak dalam mikrosfer per mg natrium diklofenak yang ditambahkan pada pembuatan mikrosfer, berturut – turut adalah 100 m g ; 50 mg ; dan 25 mg. Jumlah pelepasan obat natrium diklofenak dari mikrosfer yang terbentuk dapat dilihat pada Lampiran 3., sedangkan profil pelepasan kitosan dengan obat natrium diklofenak dapat dilihat pada Gambar 4.5. Efisiensi penjeratan yang paling tinggi mikrosfer dengan konsentrasi obat natrium diklofenak 8 mg/mL sebesar 51 %. Pada penambahan obat 8 mg/mL memberikan profil pelepasan yang lebih lambat dengan rentang waktu yang sama, pada jam ke 12,5 profil pelepasan mulai stabil. Hal ini sesuai dengan waktu pencernaan manusia yaitu 8 jam. Pelepasan obat dari mikrosfer meningkat dengan meningkatnya kandungan obat, namun pelepasan dari beberapa obat dari mikrosfer berkurang seiring dengan meningkatnya kandungan obat dalam mikrosfer dalam rentang waktu yang sama. Dimana konsentrasi obat 2 mg/mL pelepasannya akan lebih cepat daripada konsentrasi obat yang lebih tinggi dalam waktu yang sama disusul dengan konsentrasi obat 5 mg/mL dan 8 mg/mL. Penjeratan obat yang lebih tinggi

menandakan bahwa obat yang terdapat di dalam mikrosfer tersebut lebih tinggi sehingga pelepasan obat pada medium buffer fosfat pH 7,4 akan lebih lambat karena natrium diklofenak akan tertahan dengan adanya kitosan. Mula-mula kitosan akan mengembang sehingga natrium diklofenak yang tersalut kitosan akan melepas sedikit demi sedikit hingga konsentrasi yang di lepas akan sama hingga waktu tertentu sesuai dengan konsentrasi natrium diklofenak yang ditambahkan pada saat pembuatan mikrosfer. Pemakaian buffer fosfat pH 7,4 karena dianggap menyerupai cairan dalam tubuh, sehingga memaksimalkan asumsi bahwa obat akan terlepas dari mikrosfer seperti di dalam tubuh hampir sama dengan kondisi pelepasan obat di dalam tabung (*in vitro*). Dari gambar dibawah ini juga dapat dilihat bahwa waktu pelepasan dari obat natrium diklofenak hingga 15 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi obat maka semakin lambat pelepasan obat tersebut,

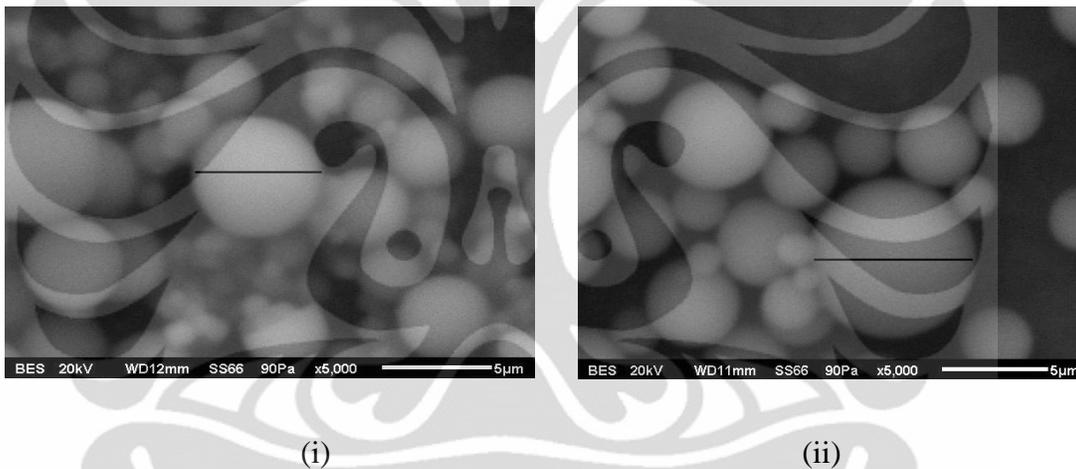


Gambar 4.5. Profil pelepasan mikrosfer kitosan dengan obat natrium diklofenak

#### 4.4 Uji Scanning Electron Microscope (SEM)

Pengujian SEM dilakukan di Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir (PTBIN – BATAN) dengan tegangan permukaan 20 kV tekanan 88 Pa dan perbesaran 5000

kali. Hasil SEM dari mikrosfer dapat dilihat pada Gambar 4.6. Pengujian SEM dilakukan untuk memastikan bahwa mikrosfer benar – benar terbentuk, dan melihat morfologi dari mikrosfer. Dari Gambar 4.6., dapat dilihat bahwa mikrosfer yang terbentuk bulat sempurna dengan permukaan mikrosfer yang mulus. Mikrosfer dengan bahan baku kitosan 2% didapatkan ukuran partikel 7  $\mu\text{m}$ , sedangkan untuk mikrosfer dengan bahan baku kitosan 2% dengan konsentrasi obat 8 mg/mL didapatkan ukuran partikel 8  $\mu\text{m}$ . Ukuran mikrosfer yang didapatkan hampir sama, hal ini karena perlakuan dan kecepatan pengadukan yang sama yang dilakukan untuk pembuatan mikrosfer.



Gambar 4.6. Hasil pengujian SEM dari mikrosfer, (i) kitosan 2% , (ii) kitosan 2% dengan obat 8 mg/mL

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan mengenai mikrosfer kitosan sebagai bahan penyalut untuk mengontrol pelepasan obat natrium diklofenak, maka dapat disimpulkan bahwa :

- Efisiensi penjeratan yang paling tinggi yaitu mikrosfer dengan konsentrasi obat 8 mg/mL, yaitu sebesar 50.9 %.
- Penjeratan obat dari mikrosfer meningkat dengan meningkatnya kandungan obat, namun pelepasan dari beberapa obat dari mikrosfer berkurang seiring dengan meningkatnya kandungan obat dalam mikrosfer dalam rentang waktu yang sama.
- Mikrosfer dengan konsentrasi obat 2 mg/mL pelepasannya akan lebih cepat daripada konsentrasi obat yang lebih tinggi dalam rentang waktu yang sama.
- Dari hasil SEM, mikrosfer yang dihasilkan memiliki ukuran yang hampir sama, dan memiliki bentuk bulat sempurna dengan permukaan mikrosfer yang mulus.
- Kitosan dapat digunakan sebagai penyalut obat, karena dapat memperlambat pelepasan natrium diklofenak hingga 15 jam , dengan begitu pemakaian obat natrium diklofenak dapat dikurangi.

#### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah perlunya pembuatan mikrosfer menggunakan kecepatan yang lebih tinggi dan pemeriksaan mikrosfer menggunakan *particel size distribution*, untuk mengetahui ukuran mikrosfer yang dihasilkan.

## DAFTAR REFERENSI

- Akamatsu, Kazuki, dkk. 2010. *Preparation of Monodisperse Chitosan Microcapsules with Hollow Structures Using the SPG Membrane Emulsification Technique*. Department of Chemical System Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan.
- Aminabhavi, T.M. & Aghinotri, S.A. 2004. *Controlled Release of Clozapine through Chitosan Microparticles Prepared by a Novel Method*. J. Controlled Release.
- Badarinath, Attuluri Venkata.dkk. 2009. *Microspheres as a Novel Drug Delivery System*. Annamacharya College of Pharmacy, Rajampet-516126, Andhra Pradesh State, India. International Journal of ChemTech Research CODEN( USA): IJCRGG ISSN : 0974-4290Vol.1, No.3 , pp 526-534.
- Bimoharto, Roland. 2009. Kitin dan kitosan. <http://rolandbimo.blogspot.com/2009/06/kitin-dan-kitosan.html>. Diakses tgl. 10 Oktober 2010 jam 11:43.
- Benita, S., B. Magenheim, and P. Wehrl. 1996. *The use of factorial design in the development of nanoparticulate dosage forms. Microencapsulation, Methods and Industrial Applications*. Mercel Ed. S. Benita. Marcel Dekker Inc. New York. Chap. 5, pp. 93-132.
- Dubey, Rajesh R., and Rajesh H. Parikh. 2003. *Two-Stage Optimization Process for Formulation of Chitosan Microspheres*. AAPS PharmSciTech 2004; 5 (1) Article 5 (<http://www.aapspharmscitech.org>). AR College of Pharmacy & GH Patel Institute of Pharmacy, Vallabh Vidyanagar, Gujarat, India. Page 1-8.
- Eijsink, Vincent G.H., et. al. 2008. *Towards new enzymes for biofuels: lessons from chitinase research*. Trends in Biotechnology 26 (5) 228-235.
- Fadri, Linda Gusrini. 2009. Proses Mikroenkapsulasi. <http://www.scribd.com/doc/33855579/Proses-Mikroenkapsulasi>. Diakses tgl. 10November 2010 jam 10:10.
- Gibaly, El. 2002. *Development and In Vitro Evaluation of Novel Floating Chitosan Microcapsules for Oral Use: Comparison With Non-Floating Chitosan Microspheres*. Int J Pharm. International Journal of Pharmaceutics, Volume 249, issue 1-2 p. 7 - 21. ISSN: 0378-5173

- Goncalves, Vanessa L, dkk.2005. *Effect of Crosslinking Agents of Chitosan in Controlled Release of Diclofenac Sodium*. Associacao Brasileira de Polimeros, Sao Carlos. Brasil pp.6-12.
- Hargono dan M.Djaeni. 2004. Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Udang sebagai Penjerap Logam Berat ( $Hg^{2+}$ ). Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. ISSN 1693-4393. Halaman C07-1.
- Hirano, S. 1986. *Chitin and Chitosan*. In *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Completely revised edition. New York : Weinheim.
- Helmenstine, Ph.D., Anne Marie. 2011. Glutaraldehyde Chemical Structure. <http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---G/Glutaraldehyde.htm>
- Idris, Abubakr M. 2011. *Screening of Conditions Controlling Spectrophotometric Sequential Injection Analysis*. Departement of Chemistry, College of Science, King Faisal University. Saudi Arabia. Chemistry Central Journal. 5:9. Page 2.
- Jhonson, E.L. dan Q.P. Peniston. 1982. *Utilization of Shellfish Wastes for Production of Chitin and Chitosan Production*. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Product*. AVI Publ., Westport Connecticut.
- Kaban, Jamaran. 2009. Modifikasi Kimia dari Kitosan dan Aplikasi Produk yang Dihasilkan. Universitas Sumatera Utara. Medan. [http://www.usu.ac.id/id/files/pidato/ppgb/2009/ppgb\\_2009\\_Jamaran\\_Kaban.pdf](http://www.usu.ac.id/id/files/pidato/ppgb/2009/ppgb_2009_Jamaran_Kaban.pdf). Diakses tgl. 9 Oktober 2010 jam 11:15.
- Knorr, D. 1984. *Use Chitinous in Food*. Food Tech. 38(1):85.
- Kusumastuti, Felisita Anesti dan Nyoman Valida Lendra. 2009. Pelepasan Zat Aktif Obat. Farmakoterapi-Info. <http://yosefw.wordpress.com/2009/03/20/557/>. Diakses tgl. 10 Oktober 2010 jam 09:47.
- Kusumawati, Ratna. 2009. Evaluasi Sifat Fisik dan Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Tablet Lepas Lambat Dengan Matriks Kombinasi Hidroksiopropil Metil Selulosa dan Xanthan Gum. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Lachman L., H.A. Lieberman & J.L. Kanig. 1986. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. Lea & Febringer. Philadelphia : Marcell Dekker, Inc. 860-892.

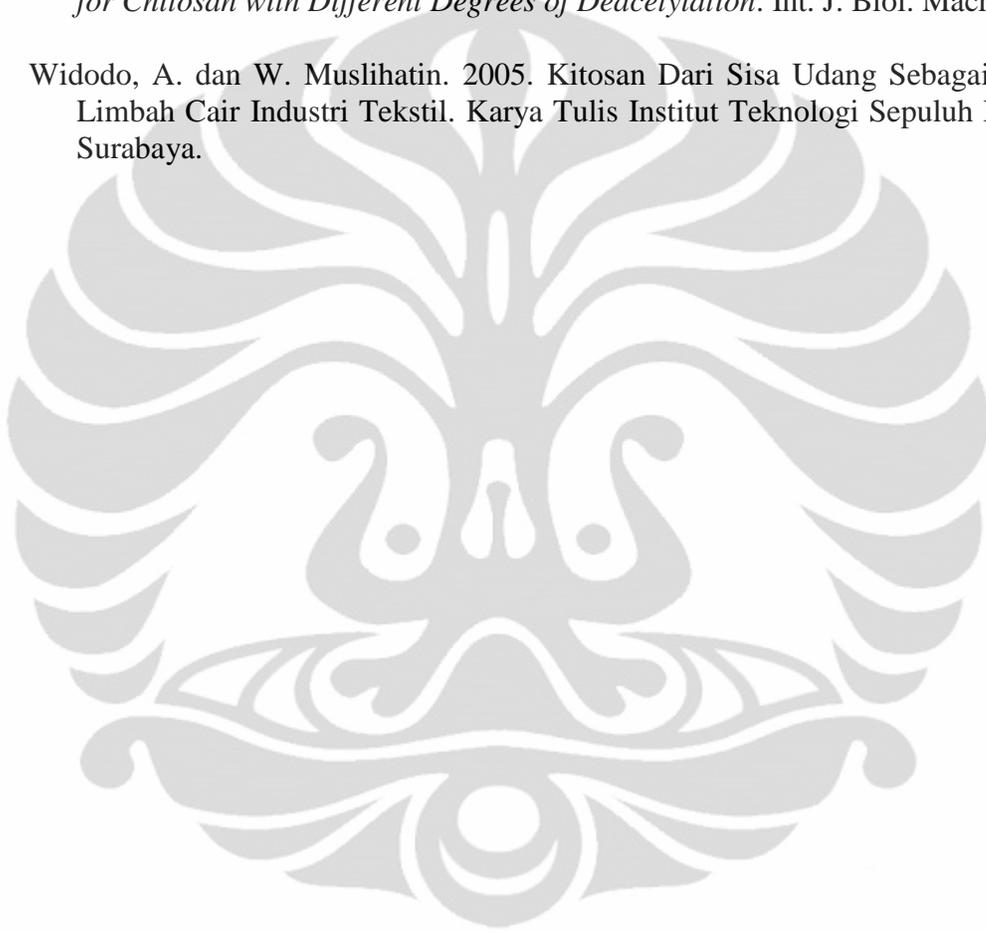
- Lee, Jung min, et. al. 1999. *Process For Preparing Controlled-Released Chitosan Microcapsule*.
- Loretz, Brigitta and Andreas Bernkop-Schnürch. 2006. *In Vitro Evaluation of Chitosan-EDTA Conjugate Polyplexes as a Nanoparticulate Gene Delivery System*. *The AAPS Journal* 2006; 8 (4) Article 85 (<http://www.aapsj.org>). Department of Pharmaceutical Technology, Institute of Pharmacy, Leopold-Franzens-University Innsbruck, 6020 Innsbruck, Austria. E762.
- Maharani, Roro Mega A.P. 2009. Efek Penambahan Berbagai Peningkat Penetrasi Terhadap Penetrasi Perkutaneum Gel Natrium Diklofenak Secara In Vitro. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. <http://etd.eprints.ums.ac.id/5210/1/K100050215.pdf>. Diakses tgl. 9 Desember 2010 jam 06:50.
- Muzzarelli, R. A. A., 1977. *Chitin*. Pergamon Press. New York. Page 309.
- Nair, Rahul, et. Al. 2009. *Application of Chitosan Microspheres as Drug Carriers : a Review*. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. Vol. 1 (2) page 1.
- Prabaharan, M., 2008. *Review Paper: Chitosan Derivatives as Promising Materials for Controlled Drug Delivery*. *J Biomater Appl* July Vol. 23 page.1, 5-36.
- Park, K., Shalaby & W. S. W., Park, H. 1993. *Biodegradable Hidrogel for drug delivery*. Technomic Publishing Co. Inc. Basel.
- Pedrosa, Rozângela C., Vanessa L. Gonçalves, Mauro C. M. Laranjeira, Valfredo T. Fávere. 2005. *Effect of Crosslinking Agents on Chitosan Microspheres in Controlled Release of Diclofenac Sodium*. *Departamento de Química*. Vol.15, page 6-12.
- Ravi Kumar, M. N. V., R. A. A. Muzzarelli, C. Muzzarelli, H. Sashiwa, and A. J. Domb. 2004. *Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives*. *Chemical Review*. 104 (12), 6017-6084.
- Sinha, V.R., dkk. 2003. *Chitosan Microspheres as a Potential Carrier for Drugs*. *International Journal of Pharmaceutics* 274 (2004) 1–33.
- Sugita, Purwantiningsih, et al. 2009. *Kitosan Sumber Biomaterial Masa Depan*. Bogor : IPB Press.
- Swarbrick, James, James C Boylon. 1994. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Vol 9. New York : Marcell Dekker, Inc. Page 423-439.

Suhartono, Maggy Thenawidjaja 2006. Pemanfaatan kitin, kitosan dan kitooligosakarida. Foodreview Indonesia edisi Juli 2006.

Tarirai, Clemence. 2005. *Cross – Linked Chitosan Matrix System For Sustained Drug Release*. Faculty of Health Sciences. Tshwane University of Technology.

Wang, W., S. Bo, S. Li and W. Qin. 1991. *Determination of Markhowink Equation for Chitosan with Different Degrees of Deacetylation*. Int. J. Biol. Macromol.

Widodo, A. dan W. Muslihatin. 2005. Kitosan Dari Sisa Udang Sebagai Koagulan Limbah Cair Industri Tekstil. Karya Tulis Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1

Alat yang digunakan

No.	Alat
1	Beker glass 250 mL
2	Beker glass 500 mL
3	Wadah pengadukan
4	Labu ukur 500 mL
5	Labu ukur 250 mL
6	Labu ukur 100 mL
7	Labu ukur 50 mL
8	Labu ukur 25 mL
9	Tabung glass besar
10	Kaca arloji
11	Desikator
12	Corong
13	Batang pengaduk
14	Mixer maksimal putaran : 2000 rpm
15	Timbangan
16	Kapas plug
17	Pipet tetes
18	Pipet ukur
19	Bulp
20	pH meter
21	Desikator vakum

## Lampiran 2.

## Deret Standar Penentuan Efisiensi Penjeratan Obat

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata Absorbansi
		1	2	3	
1	0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	50	0,378	0,377	0,379	0,378
3	100	0,678	0,678	0,678	0,678
4	150	1,092	1,090	1,081	1,088
5	200	1,352	1,354	1,356	1,354
6	250	1,559	1,559	1,559	1,559

## Penetapan Kurva Standar Natrium Diklofenak dengan Buffer Fosfat pH 7,4

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi
		1	2	3	
1	0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	50	0,287	0,289	0,287	0,288
3	100	0,553	0,555	0,554	0,554
4	150	0,840	0,842	0,833	0,838
5	200	1,110	1,113	1,121	1,115
6	250	1,324	1,322	1,323	1,323

## Penentuan efisiensi penjeratan obat

No	Ulangan	Bahan Baku	Absorbansi	Rata-Rata Absorbansi
1	1	Larutan kitosan 2% + obat 2mg/mL	0,050	0,052
	2		0,055	
	3		0,052	
2	1	Larutan kitosan 2% + obat 5mg/mL	0,061	0,062
	2		0,060	
	3		0,065	
3	1	Larutan kitosan 2% + obat 8mg/mL	0,070	0,074
	2		0,076	
	3		0,075	

## Lampiran 3.

Tabel Jumlah Pelepasan Obat Natrium Diklofenak dari Mikrosfer yang Terbentuk

No	Sampel	Waktu (jam)	Absorbansi		Rata-Rata Absorbansi	Konsentrasi Pelepasan	Jumlah Pelepasan	% Pelepasan	% Pelepasan Kumulatif
			1	2					
1	Mikrosfer Kitosan2%+ Obat (2mg/mL)	0	0.000	0.000	0.000	0	0	0	0
		0.5	0.027	0.024	0.026	1.7	1.7	2.3	2.3
		1	0.028	0.030	0.029	2.4	4.1	3.2	5.5
		1.5	0.031	0.033	0.032	2.9	7.0	4.0	9.5
		2	0.018	0.015	0.017	0.0	7.1	0.1	9.5
		2.5	0.024	0.024	0.024	1.4	8.5	1.9	11.5
		3	0.028	0.029	0.029	2.3	10.8	3.1	14.6
		3.5	0.047	0.048	0.048	5.8	16.6	7.9	22.4
		4	0.020	0.029	0.025	1.5	18.1	2.1	24.5
		4.5	0.020	0.021	0.021	0.8	18.9	1.1	25.6
		5	0.019	0.020	0.020	0.6	19.5	0.8	26.4
		5.5	0.041	0.043	0.042	4.8	24.3	6.5	32.8
		6	0.028	0.029	0.029	2.3	26.6	3.1	35.9
		6.5	0.039	0.041	0.040	4.4	31.0	6.0	41.9
		7	0.034	0.035	0.035	3.4	34.4	4.6	46.5
		7.5	0.041	0.045	0.043	5.0	39.4	6.7	53.2
		8	0.073	0.074	0.074	10.7	50.0	14.4	67.7
		8.5	0.076	0.078	0.077	11.3	61.4	15.3	83.0
		9	0.023	0.021	0.022	1.1	62.4	1.4	84.4
		9.5	0.015	0.014	0.015	-0.3	62.1	-0.5	84.0
10	0.015	0.017	0.016	-0.1	62.0	-0.1	83.9		
10.5	0.017	0.015	0.016	-0.1	62.0	-0.1	83.8		
11	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.9	-0.1	83.7		
11.5	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.9	-0.1	83.6		
12	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.8	-0.1	83.6		
12.5	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.8	-0.1	83.5		
13	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.7	-0.1	83.4		
13.5	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.6	-0.1	83.3		
14	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.6	-0.1	83.3		
14.5	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.5	-0.1	83.2		
15	0.017	0.015	0.016	-0.1	61.5	-0.1	83.1		

No	Sampel	Waktu (jam)	Absorbansi		Rata-Rata Absorbansi	Konsentrasi Pelepasan	Jumlah Pelepasan	% Pelepasan	% Pelepasan Kumulatif
			1	2					
2	Mikrosfer Kitosan2%+ Obat (5mg/mL)	0	0.000	0.000	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
		0.5	0.018	0.021	0.020	0.6	0.6	0.3	0.3
		1	0.022	0.029	0.026	1.7	2.3	0.8	1.0
		1.5	0.030	0.031	0.031	2.6	5.0	1.2	2.2
		2	0.042	0.042	0.042	4.8	9.8	2.1	4.3
		2.5	0.023	0.022	0.023	1.2	10.9	0.5	4.9
		3	0.026	0.025	0.026	1.7	12.6	0.8	5.6
		3.5	0.048	0.047	0.048	5.8	18.5	2.6	8.2
		4	0.029	0.028	0.029	2.3	20.7	1.0	9.2
		4.5	0.021	0.026	0.024	1.3	22.1	0.6	9.8
		5	0.015	0.019	0.017	0.1	22.2	0.1	9.9
		5.5	0.043	0.052	0.048	5.8	28.0	2.6	12.5
		6	0.025	0.027	0.026	1.8	29.8	0.8	13.3
		6.5	0.033	0.034	0.034	3.2	33.0	1.4	14.7
		7	0.045	0.047	0.046	5.5	38.6	2.5	17.1
7.5	0.048	0.046	0.047	5.7	44.3	2.5	19.7		
8	0.041	0.044	0.043	4.9	49.2	2.2	21.9		
8.5	0.185	0.183	0.184	31.3	80.5	13.9	35.8		
9	0.109	0.108	0.109	17.2	97.7	7.6	43.4		
9.5	0.112	0.110	0.111	17.7	115.4	7.9	51.3		
10	0.110	0.113	0.112	17.8	133.1	7.9	59.2		
10.5	0.082	0.084	0.083	12.4	145.6	5.5	64.7		
11	0.094	0.096	0.095	14.7	160.2	6.5	71.2		
11.5	0.075	0.076	0.076	11.0	171.3	4.9	76.1		
12	0.060	0.059	0.060	8.1	179.3	3.6	79.7		
12.5	0.048	0.047	0.048	5.8	185.2	2.6	82.3		
13	0.033	0.038	0.036	3.6	188.8	1.6	83.9		
13.5	0.005	0.005	0.005	-2.1	186.6	-0.9	83.0		
14	0.006	0.005	0.006	-2.0	184.6	-0.9	82.1		
14.5	0.007	0.007	0.007	-1.7	182.9	-0.8	81.3		
15	0.003	0.005	0.004	-2.3	180.6	-1.0	80.3		

No	Sampel	Waktu (jam)	Absorbansi		Rata-Rata Absorbansi	Konsentrasi Pelepasan	Jumlah Pelepasan	% Pelepasan	% Pelepasan Kumulatif
			1	2					
3	Mikrosfer Kitosan 2%+Obat (8mg/mL)	0	0.000	0.000	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0
		0.5	0.023	0.021	0.022	1.1	1.1	0.3	0.3
		1	0.028	0.030	0.029	2.4	3.4	0.6	0.8
		1.5	0.033	0.032	0.033	3.0	6.5	0.7	1.6
		2	0.048	0.045	0.047	5.6	12.1	1.4	3.0
		2.5	0.025	0.027	0.026	1.8	13.9	0.4	3.4
		3	0.028	0.027	0.028	2.1	16.0	0.5	3.9
		3.5	0.049	0.049	0.049	6.1	22.1	1.5	5.4
		4	0.038	0.038	0.038	4.0	26.1	1.0	6.4
		4.5	0.031	0.032	0.032	2.8	29.0	0.7	7.1
		5	0.024	0.020	0.022	1.1	30.0	0.3	7.4
		5.5	0.055	0.053	0.054	7.0	37.1	1.7	9.1
		6	0.035	0.037	0.036	3.7	40.7	0.9	10.0
		6.5	0.036	0.034	0.035	3.5	44.2	0.9	10.9
		7	0.047	0.047	0.047	5.7	50.0	1.4	12.3
7.5	0.019	0.020	0.020	0.6	50.6	0.1	12.4		
8	0.132	0.134	0.133	21.8	72.3	5.3	17.8		
8.5	0.154	0.155	0.155	25.8	98.1	6.3	24.1		
9	0.199	0.198	0.199	34.0	132.1	8.3	32.4		
9.5	0.188	0.188	0.188	32.0	164.1	7.9	40.3		
10	0.191	0.190	0.191	32.5	196.6	8.0	48.3		
10.5	0.196	0.194	0.195	33.3	230.0	8.2	56.5		
11	0.197	0.197	0.197	33.7	263.7	8.3	64.7		
11.5	0.232	0.235	0.234	40.5	304.2	9.9	74.7		
12	0.122	0.121	0.122	19.6	323.8	4.8	79.5		
12.5	0.053	0.052	0.053	6.8	330.6	1.7	81.2		
13	0.041	0.059	0.050	6.3	336.9	1.5	82.7		
13.5	0.015	0.013	0.014	-0.4	336.5	-0.1	82.6		
14	0.015	0.013	0.014	-0.4	336.0	-0.1	82.5		
14.5	0.015	0.013	0.014	-0.4	335.6	-0.1	82.4		
15	0.015	0.013	0.014	-0.4	335.2	-0.1	82.3		