



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL
SAMBUNG SILANG KITOSAN-NATRIUM TRIPOLIFOSFAT
DALAM SEDIAAN FILM BUKAL VERAPAMIL
HIDROKLORIDA**

SKRIPSI

WISNU AJENG RAKHMANINGTYAS

0906601733

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL
SAMBUNG SILANG KITOSAN-NATRIUM TRIPOLIFOSFAT
DALAM SEDIAAN FILM BUKAL VERAPAMIL
HIDROKLORIDA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

WISNU AJENG RAKHMANINGTYAS

0906601733

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 26 Juni 2012



(Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas)

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas

NPM : 0906601733

Tanda Tangan : 

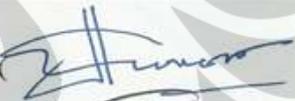
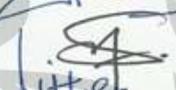
Tanggal : 26 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas
NPM : 0906601733
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Sambung
Silang Kitosan-Natrium Tripolifosfat dalam Sediaan
Film Bukal Verapamil Hidroklorida

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dr. Effionora Anwar ()
Penguji I : Sutriyo, M.Si. ()
Penguji II : Dra. Sabarijah, WE, SKM ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 26 Juni 2012

KATA PENGANTAR

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

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

- (1) Prof. Dr. Effionora Anwar selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini
- (2) DR. Katrin M.S., Apt selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan selama masa perkuliahan
- (3) Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt sebagai Kepala Departemen Farmasi FMIPA UI.
- (4) Dra. Azizahwati, M.S, Apt. sebagai Ketua Program Studi Farmasi Ekstensi FMIPA UI.
- (5) Seluruh dosen/staf pengajar di Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu dan didikan yang telah diberikan selama ini.
- (6) Seluruh laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI atas seluruh waktu dan bantuannya selama masa pendidikan dan penelitian.
- (7) Distributor bahan – bahan kimia, khususnya PT. Kimia Farma, Tbk atas bantuan bahan yang diberikan.
- (8) Keluarga tercinta, Papa, Mama, Mas Agung dan Mutia atas kesabaran, kasih sayang, dukungan material dan moral, perhatian dan doanya yang luar biasa untuk menyelesaikan pendidikan dan penelitian di farmasi dengan sebaik mungkin.

- (9) Rekan – rekan keluarga ekstensi farmasi UI 2009 atas persaudaraan yang indah selama masa perkuliahan, semoga bisa berucap salam suatu saat nanti.
- (10) Kepada kakak – kakak kelas dan adik – adik kelas atas persaudaraan baru di farmasi, terima kasih atas segenap bantuan, pinjaman buku serta diktat kuliah yang sangat membantu penulis selama menempuh studi di farmasi.
- (11) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

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

Penulis
2012

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas
NPM : 0906601733
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

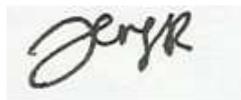
Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Sambung Silang Kitosan-Natrium Tripolifosfat dalam Sediaan Film Bukal Verapamil Hidroklorida

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 26 Juni 2012

Yang menyatakan



(Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas)

ABSTRAK

Nama : Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas
Program Studi : Farmasi
Judul : Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Sambung Silang Kitosan-Natrium Tripolifosfat dalam Sediaan Film Bukal Verapamil Hidroklorida

Kitosan merupakan polimer alam yang bersifat kationik. Sifat kationik tersebut membuat kitosan dapat berinteraksi dengan senyawa anionik melalui ikatan taut silang dan membentuk partikel dalam ukuran nano. Dalam penelitian ini, natrium tripolifosfat digunakan sebagai agen penaut silang. Tujuan penelitian ini adalah membuat dan mengkarakterisasi nanopartikel kitosan-tripolifosfat dalam sediaan film yang mengandung verapamil HCl. Nanopartikel dibuat dengan menggunakan metode gelas ionik. Untuk mendapatkan metode preparasi nanopartikel yang optimal maka penambahan larutan tripolifosfat dilakukan dengan 3 metode. Dari ketiga metode tersebut, metode ketiga dipilih dan memberikan hasil ukuran partikel sebesar 62,2 nm, indeks polidispersitas sebesar 0,293, potensial zeta sebesar +26,05 mV, efisiensi penjerapan sebesar 16,42 % dan berbentuk sferis. Nanopartikel yang dihasilkan kemudian dibuat dalam bentuk sediaan film dengan menggunakan eksipien kitosan-tripolifosfat kemudian dibandingkan dengan film yang mengandung verapamil HCl standar dan dilihat profil pelepasannya. Film yang mengandung nanopartikel verapamil HCl memiliki pelepasan yang lebih cepat dibandingkan film standar. Selain itu, film yang mengandung nanopartikel memiliki sifat mekanis yang lebih baik dibandingkan film standar.

Kata Kunci : film bukal, gelas ionik, kitosan, nanopartikel, natrium tripolifosfat
xvi+79 halaman : 18 gambar; 5 tabel; 30 lampiran
Daftar acuan : 50 (1979-2011)

ABSTRACT

Name : Wisnu Ajeng Rakhmaningtyas
Program of study : Pharmacy
Title : Preparation and Characterization of Cross-linked Nanoparticles Chitosan-sodium tripolyphosphate in Buccal Films Containing Verapamil Hydrochloride

Chitosan is a cationic natural polymers. Cationic properties make chitosan can interact with anionic compounds via cross-linked bond and form particles in nano size. In this research, sodium tripolyphosphate is used as a crosslinked agent. The purpose of this research is to create and characterize chitosan-tripolyphosphate nanoparticles in the preparation of buccal films containing verapamil hydrochloride. Nanoparticles prepared by using ionic gelation method. To obtain the optimal preparation method of nanoparticles, the addition of tripolyphosphate solution made by 3 methods. The third method chosen and nanoparticles obtained has a particle size of 62,2 nm, polydispersity index of 0,293, zeta potensial of +25,27 mV, entrapment efficiency of 16,42 % and spherical. The resulting nanoparticles are then made in the dosage form film using excipient chitosan-tripolyphosphate then compared with film containing verapamil HCl standard and view the profile of released. Film containing nanoparticles verapamil HCl has a faster release than the standard film. In addition, the film containing nanoparticle has better mechanical properties than standard film.

Keywords : buccal film, chitosan, ionic gelation, nanoparticles, natrium tripolyphosphate
xvi+79 pages : 18 pictures; 5 tables; 30 appendixes
Bibliography : 50 (1979-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR RUMUS	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Nanopartikel.....	4
2.2 Kitosan.....	11
2.3 Natrium Tripolifosfat.....	12
2.4 Kitosan-Tripolifosfat.....	12
2.5 Morfologi dan sistem penghantaran obat bukal.....	14
2.6 Mukoadhesif.....	20
2.7 Verapamil Hidroklorida.....	23
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Lokasi Penelitian.....	25
3.2 Alat.....	25
3.3 Bahan.....	25
3.4 Cara kerja.....	25
3.4.1 Pembuatan larutan asam asetat 1 %.....	25
3.4.2 Pembuatan larutan dapar fosfat pH 6,8.....	26
3.4.3 Pembuatan larutan dapar alkali borat pH 9,7.....	26
3.4.4 Optimasi pembuatan nanopartikel.....	26
3.4.5 Karakterisasi nanopartikel.....	27
3.4.6 Pembuatan eksipien kitosan-tripolifosfat.....	29
3.4.7 Pembuatan larutan verapamil pembanding.....	30
3.4.8 Preparasi film.....	30
3.4.9 Evaluasi film.....	31

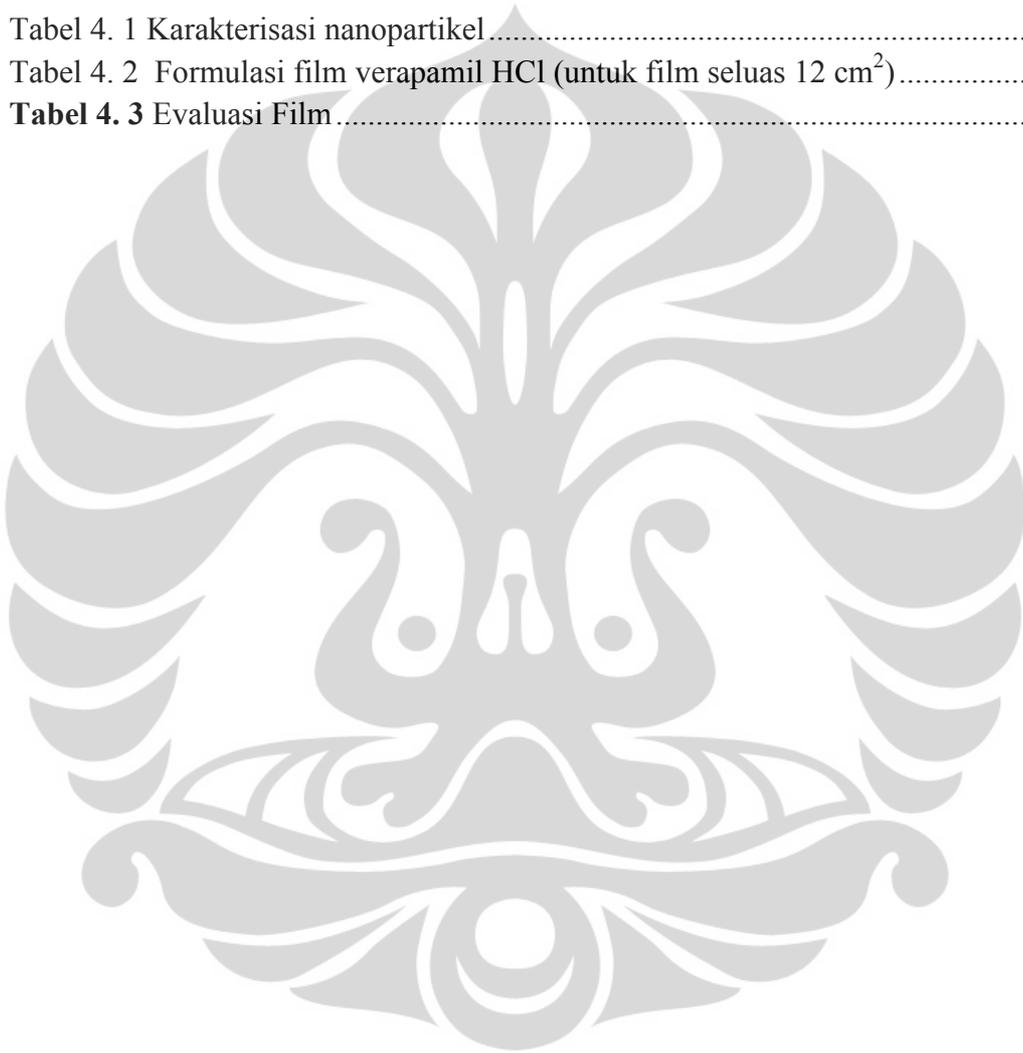
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Preparasi nanopartikel	35
4.2. Karakterisasi nanopartikel	36
4.2.1. Ukuran dan distribusi ukuran partikel	36
4.2.2. Potensial zeta	37
4.2.3. Morfologi nanopartikel	37
4.2.4. Uji penjerapan	38
4.2.5. Pengeringan nanopartikel	39
4.2.6. Morfologi serbuk nanopartikel dengan SEM	39
4.2.7. Analisis gugus fungsi	39
4.3. Pembuatan eksipien kitosan-tripolifosfat	40
4.4. Pembuatan film bukal	43
4.5. Evaluasi film bukal	44
4.5.1. Bentuk permukaan film	45
4.5.2. Uji sifat mekanis film	45
4.5.3. Uji mukoadhesif	46
4.5.4. Uji daya mengembang	49
4.5.5. Uji pelepasan obat secara <i>in vitro</i>	50
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1. Kesimpulan	52
5.2. Saran	52
DAFTAR ACUAN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 (A) Nanosfer (B) Nanokapsul.....	5
Gambar 2. 2 Struktur kitosan.....	11
Gambar 2. 3 Struktur natrium tripolifosfat.....	12
Gambar 2. 4 Disosiasi natrium tripolifosfat dalam air	13
Gambar 2. 5 Proses a) Deprotonasi b) Taut silang ionik kitosan dengan TPP.....	13
Gambar 2. 6 Penampang rongga mulut.....	14
Gambar 2. 7 Struktur membran mukosa mulut.....	15
Gambar 2. 8 Struktur verapamil HCl.....	23
Gambar 4. 3 Serbuk nanopartikel.....	39
Gambar 4. 4 Hasil SEM serbuk nanopartikel	39
Gambar 4. 5 Spektrum IR kitosan dan kitosan-tripolifosfat.....	40
Gambar 4. 6 Larutan kitosan sebelum dan sesudah ditambahkan tripolifosfat.....	42
Gambar 4. 7 Serbuk kitosan dan kitosan tripolifosfat.....	42
Gambar 4. 8 (A) Film nanopartikel (B) Film pembanding	44
Gambar 4. 9 Bentuk permukaan (A) Film nanopartikel (B) Film pembanding ...	45
Gambar 4. 10 Evaluasi daya mengembang film bukal.....	50
Gambar 4. 11 Profil disolusi film bukal dengan metode 1.....	51
Gambar 4. 12 Profil disolusi film bukal dengan metode 2.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Formulasi nanopartikel.....	27
Tabel 3. 2 Formulasi film verapamil HCl	30
Tabel 4. 1 Karakterisasi nanopartikel.....	38
Tabel 4. 2 Formulasi film verapamil HCl	43
Tabel 4. 3 Evaluasi Film.....	47
Tabel 4. 1 Karakterisasi nanopartikel.....	38
Tabel 4. 2 Formulasi film verapamil HCl (untuk film seluas 12 cm ²).....	43
Tabel 4. 3 Evaluasi Film.....	47



DAFTAR RUMUS

Rumus 2.1 Persamaan difusi Fick	18
Rumus 3.1 Efisiensi penjerapan nanopartikel	28
Rumus 3.2 Indeks mengembang film.....	32
Rumus 3.3 Persen pemanjangan film.....	32
Rumus 3.4 Kekuatan peregangan.....	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Spektrum serapan verapamil HCl dalam aquademineralisata	60
Lampiran 2 Spektrum serapan verapamil HCl dalam dapar fosfat pH 6,8	60
Lampiran 3 Kurva kalibrasi verapamil HCl dalam aquademineralisata	61
Lampiran 4 Kurva kalibrasi verapamil HCl dalam dapar fosfat pH 6,8	61
Lampiran 5 Data distribusi ukuran partikel formula 1 percobaan 1	62
Lampiran 6 Data distribusi ukuran partikel formula 1 percobaan 2	63
Lampiran 7 Data distribusi ukuran partikel formula 2 percobaan 1	64
Lampiran 8 Data distribusi ukuran partikel formula 2 percobaan 2	65
Lampiran 9 Data distribusi ukuran partikel formula 3 percobaan 1	66
Lampiran 10 Data distribusi ukuran partikel formula 3 percobaan 2	67
Lampiran 11 Data potensial zeta formula 1 percobaan 1	68
Lampiran 12 Data potensial zeta formula 1 percobaan 2	68
Lampiran 13 Data potensial zeta formula 2 percobaan 1	69
Lampiran 14 Data potensial zeta formula 2 percobaan 2	69
Lampiran 15 Data potensial zeta formula 3 percobaan 1	70
Lampiran 16 Data potensial zeta formula 3 percobaan 2	70
Lampiran 17 Film bukal setelah uji daya mengembang	71
Lampiran 18 Alat <i>texture analyzer</i>	71
Lampiran 19 Alat <i>tensile strength</i>	72
Lampiran 20 Alat disolusi termodifikasi metode 1 untuk film bukal	72
Lampiran 21 Alat disolusi termodifikasi metode 2 untuk film bukal	73
Lampiran 22 Data serapan verapamil HCl dalam aquademineralisata	73
Lampiran 23 Data serapan verapamil HCl dalam dapar fosfat pH 6,8	74
Lampiran 24 Data pelepasan verapamil HCl menggunakan metode 1	74
Lampiran 25 Data pelepasan verapamil HCl menggunakan metode 2	75
Lampiran 26 Data evaluasi daya mengembang film	75
Lampiran 27 Contoh perhitungan jumlah kumulatif pelepasan verapamil HCl ...	76
Lampiran 28 Contoh perhitungan penyerapan nanopartikel verapamil HCl	77
Lampiran 29 Sertifikat analisis kitosan	78
Lampiran 30 Sertifikat analisis verapamil HCl	79

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki wilayah perairan yang sangat luas dan sumber daya alam yang melimpah. Salah satu hasil sumber daya alam tersebut adalah kitosan yang merupakan polisakarida linear yang dihasilkan dari deasetilasi senyawa kitin yang terkandung dalam cangkang suku crustaceae seperti udang, lobster, kepiting dan sebagainya. Saat ini kitosan merupakan bahan yang diminati dalam dunia industri. Kitosan banyak digunakan dalam berbagai industri antara lain industri farmasi, kesehatan, bioteknologi, pangan, kosmetik, dan sebagainya (Illum,1998). Kitosan memiliki sifat biokompatibilitas yang baik, toksisitas yang rendah dan biodegradabel (Sakkinen,2003). Kitosan memiliki efek daya mengembang yang baik, namun kitosan hanya mengembang pada suasana asam seperti di lambung yaitu pada pH 1-2 (Sakkinen,2003) sehingga penggunaan kitosan tidak cocok untuk sediaan yang diaplikasikan pada pH yang netral seperti sediaan oral transmukosa. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya interaksi ionik antara muatan positif gugus amino pada kitosan dengan muatan negatif lapisan mukosa (Sakkinen, 2003).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memperbaiki sifat kitosan. Penelitian-penelitian tersebut didukung oleh struktur kimia kitosan yang berupa poliaminoglikosida yang memungkinkan terjadinya ikatan kovalen antara gugus amino dari kitosan dengan gugus karbonil dari anhidrida asam sehingga membentuk ikatan amida (Aiedeh dan Taha, 1999). Salah satu hasil modifikasi kitosan adalah kitosan-tripolifosfat yang merupakan hasil interaksi ionik antara gugus amin dari kitosan dengan gugus fosfat dari natrium tripolifosfat. Penelitian terkait tentang preparasi dan karakterisasi kitosan-tripolifosfat sebagai eksipien farmasi telah dilakukan. Eksipien kitosan-tripolifosfat memiliki potensi untuk digunakan pada sediaan film oral transmukosa (Ifthah, 2011).

Rute pemberian obat secara oral transmukosa merupakan suatu alternatif penghantaran obat untuk aplikasi sistemik karena obat tidak terdegradasi oleh

asam lambung ataupun oleh efek metabolisme lintas pertama. Salah satu contoh sediaan oral transmukosa yaitu sediaan film yang digunakan melalui rute bukal. Semakin banyak jumlah zat aktif yang masuk ke sirkulasi sistemik maka bioavaibilitas zat aktif juga akan meningkat. Salah satu cara untuk meningkatkan bioavaibilitas ini adalah dengan membuat partikel obat sekecil mungkin karena semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar luas permukaannya.

Dalam beberapa dekade terakhir, telah banyak penelitian yang dilakukan untuk penggunaan nanopartikel sebagai aplikasi penghantaran obat. Nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran diantara 10-1000 nm dan obat dapat dienkapsulasi, diabsorpsi ataupun didispersikan didalam nanopartikel tersebut (K.,Umasankar dan Reddy,2010). Nanopartikel yang dibuat dari reaksi sambung silang antara kitosan dengan natrium tripolifosfat telah banyak diteliti. Penelitian yang dilakukan oleh Yu-Hsin Lin et al menunjukkan nanopartikel yang dihasilkan dengan sambung silang multi-ion kitosan-natrium tripolifosfat memiliki efisiensi penyerapan yang tinggi (>60 %), kandungan zat aktif yang tinggi (>15 %) dan kestabilan yang baik (stabil pada pH 2-7,2).

Pada penelitian ini dibuat nanopartikel dari kitosan dan natrium tripolifosfat menggunakan metode gelasi ionik. Nanopartikel yang diperoleh akan dikarakterisasi dan dibuat dalam bentuk sediaan film menggunakan eksipien kitosan-tripolifosfat. Sediaan film bukal yang dibuat akan dievaluasi dan dilihat profil pelepasan obatnya pada pH saliva 6,8. Dengan pembentukan nanopartikel ini diharapkan adanya peningkatan waktu pelepasan obat pada film bukal yang dibuat ketika diuji pada pH saliva 6,8. Sebagai model obat, zat aktif yang digunakan adalah verapamil hidroklorida. Verapamil hidroklorida diserap sempurna oleh saluran pencernaan, namun obat ini merupakan subjek yang dapat berikatan dengan jaringan hati dan pada metabolisme lintas pertama mengalami degradasi (Martindale,1982). Oleh karena itu, obat ini cocok dijadikan model obat pada sediaan film bukal.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan preparasi dan karakterisasi nanopartikel verapamil hidroklorida melalui proses gelasi ionik antara kitosan-natrium tripolifosfat serta evaluasi sediaan film bukal yang mengandung nanopartikel tersebut.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanopartikel

2.1.1 Definisi nanopartikel

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel dengan ukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006)

2.1.2 Jenis nanopartikel

Pada dasarnya, nanopartikel dapat dibagi menjadi dua yaitu nanokristal dan *nanocarrier*. *Nanocarrier* memiliki berbagai macam jenis seperti nanotube, liposom, nanopartikel lipid padat (*solid lipid nanoparticles*/SLN), misel, dendrimer, nanopartikel polimerik dan lain-lain (Rawat et al., 2006)

2.1.2.1. Nanokristal

Nanokristal adalah penggabungan dari ratusan atau ribuan molekul yang membentuk kristal, terdiri dari senyawa obat murni dengan penyalutan tipis dengan menggunakan surfaktan. Pembuatan nanokristal disebut nanonisasi. Tidak seperti *nanocarrier*, nanokristal hanya memerlukan sedikit surfaktan untuk stabilisasi permukaan karena gaya elektrostatik sehingga mengurangi kemungkinan keracunan karena bahan tambahan untuk pembawa (Rawat et al., 2006)

2.1.2.2. *Nanocarrier*

a. Nanotube

Nanotube adalah lembaran atom yang diatur dalam bentuk tube atau struktur menyerupai benang dalam skala nanometer. Struktur ini memiliki rongga di tengah, dan memiliki struktur menyerupai sangkar yang berbahan dasar karbon. Nanotube terdiri dari dua jenis yaitu nanotube berdinding tunggal dan nanotube berdinding ganda. Nanotube berdinding tunggal dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat dan gen karena bentuk fisiknya yang menyerupai asam nukleat. Nanotube berdinding ganda dapat pula digunakan sebagai sistem pembawa untuk transformasi khususnya untuk sel bakteri (*E. coli*) dan untuk elektroporasi sel dalam skala nano (Rawat et al., 2006)

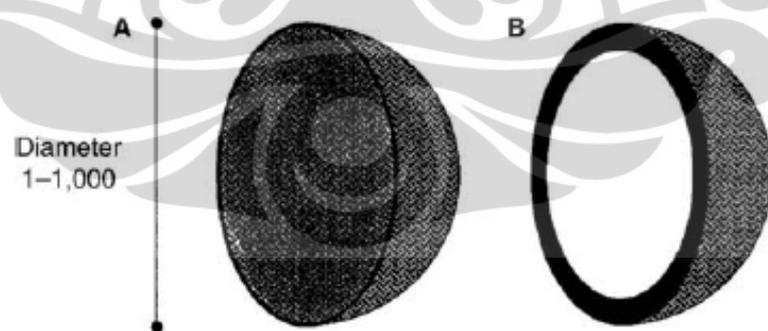
b. Nanopartikel lipid padat (*Solid Lipid Nanoparticles/SLN*)

SLN merupakan pembawa koloidal berbahan dasar lipid padat berukuran submikronik (50-1000 nm) yang terdispersi dalam air atau dalam larutan surfaktan dalam air. SLN berisi inti hidrofob yang padat dengan disalut oleh fosfolipid lapis tunggal. Inti padat berisi senyawa obat yang dilarutkan atau didispersikan dalam matriks lemak padat yang mudah mencair. Rantai hidrofob fosfolipid ditanamkan pada matriks lemak. Emulgator ditambahkan pada sistem sebagai penstabil fisik. SLN dibuat dengan berbagai macam teknik seperti homogenisasi tekanan tinggi, pembentukan mikroemulsi, presipitasi dan sebagai nanopelet lipid dan liposfer (Rawat et al.,2006)

c. Nanopartikel polimerik

Nanopartikel adalah struktur koloidal berukuran nanometer yang terdiri dari polimer sintesis atau semisintesis dengan rentang ukuran 10-1000 nm. Berdasarkan metode pembuatannya, dapat diperoleh nanosfer atau nanokapsul yang didalamnya terdapat obat baik dengan cara dilarutkan, dijerat, dikapsulasi atau diikat pada matrik nanopartikel (Rawat et al,2006)

Nanopartikel polimerik meliputi nanokapsul dan nanosfer. Nanokapsul terdiri atas polimer yang membentuk dinding yang melingkupi inti dalam tempat dimana senyawa obat dijerat. Nanosfer dibuat dari matrik polimer padat dan didalamnya terdispersi senyawa obat (Delie dan Blanco,2005).



[Sumber : Fattal dan Vauthier,2007)

Gambar 2. 1 (A) Nanosfer (B) Nanokapsul

Polimer sintesis yang biasa digunakan sebagai bahan untuk nanopartikel polimerik antara lain poli(asam laktat) (PLA), poli(asam glikolat) (PGA), poli(asam laktat-glikolat) (PLGA), poli(metilmetakrilat) (PMMA), poli(alkilsianoakrilat) (PACA) dan poli(metilidemanolat) (PMM). Beberapa polimer alam juga digunakan sebagai bahan dasar pembuatan nanopartikel polimerik. Polimer alam tersebut antara lain kitosan, gelatin, albumin dan natrium alginat (Rawat et al.,2006 ; Delie and Blanco,2005).

Material polimer memiliki sifat-sifat yang menguntungkan meliputi kemampuan terdegradasi dalam tubuh, modifikasi permukaan, dan fungsi yang dapat disesuaikan dengan keinginan. Sistem polimerik dapat mengatur sifat farmakokinetik dari obat yang dimuatkan yang mengakibatkan obat berada dalam keadaan stabil. Kelebihan-kelebihan tersebut membuktikan bahwa nanopartikel polimerik merupakan sistem yang efektif dalam menjerat atau mengenkapsulasi obat-obat bioteknologi yang biasanya sensitif terhadap perubahan lingkungan. Nanopartikel polimerik yang mengikat peptida dapat digunakan sebagai penghantaran melalui oral yang diperpanjang dan dapat meningkatkan penyerapan dan ketersediaan hayati (Rawat et al., 2006)

d. Nanopartikel sambung silang

Nanopartikel sambung silang merupakan nanopartikel yang terbentuk dari proses sambung silang antara elektrolit dengan pasangan ionnya. Ikatan sambung silang ini dapat terjadi secara ionik maupun kovalen. Pembuatan nanopartikel sambung silang dapat dilakukan dengan metode sambung silang konvensional menggunakan senyawa penyambung silang konvensional (misalnya glutaraldehid sebagai senyawa penyambung silang untuk kitosan) atau dengan menggunakan metode gelasi ionik (Vauthier, Bravo-Osuna dan Ponchel,2007).

Metode sambung silang konvensional kurang disukai karena senyawa penyambung silang konvensional (misalnya glutaraldehid) harus dihindari dengan alasan senyawa penyambung silang konvensional menyebabkan kerusakan struktur peptida dan juga toksisitas seluler. Oleh karena itu, metode gelasi ionik lebih disukai karena menggunakan pasangan ion yang lebih sesuai untuk protein (tripolifosfat, dekstran sulfat) dan juga menghindari pengadukan berlebihan, panas

tinggi dan penggunaan pelarut organik (Vauthier, Bravo-Osuna dan Ponchel, 2007).

2.1.3 Manfaat pembuatan nanopartikel

Manfaat utama dalam melakukan rancangan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat adalah untuk mengatur ukuran partikel, sifat-sifat permukaan, dan pelepasan zat aktif pada tempat yang spesifik di dalam tubuh sebagai sasaran pengobatan. Kelebihan menggunakan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat antara lain ukuran partikel dan karakteristik permukaan nanopartikel dapat dengan mudah dimanipulasi sesuai dengan target pengobatan, nanopartikel mengatur dan memperpanjang pelepasan obat selama proses transpor obat ke sasaran, obat dapat dimasukkan ke dalam sistem nanopartikel tanpa reaksi kimia dan sistem nanopartikel dapat diterapkan untuk berbagai sasaran pengobatan karena nanopartikel masuk ke dalam sistem peredaran darah dan dibawa oleh darah menuju target pengobatan (Mohanraj dan Chen, 2006)

2.1.4 Preparasi nanopartikel (Mohanraj dan Chen, 2006)

Nanopartikel dapat dipreparasi dari beberapa material seperti protein, polisakarida dan polimer sintetik. Pemilihan dari material matriks bergantung pada beberapa faktor seperti (a) ukuran dari partikel yang dibutuhkan; (b) karakteristik dasar dari obat seperti kelarutan dan kestabilan; (c) karakteristik permukaan seperti permeabilitas; (d) derajat biodegradabel, biokompatibilitas dan toksisitas; dan (e) profil pelepasan obat yang diinginkan.

Nanopartikel banyak dipreparasi dengan menggunakan 4 metode, yaitu :

2.1.4.1. Metode penguapan pelarut

Dalam metode ini, polimer dilarutkan dalam pelarut organik seperti diklormetan, kloroform atau etil asetat dimana biasa digunakan juga sebagai pelarut dalam melarutkan obat yang bersifat hidrofob. Campuran dari polimer dan larutan obat ini lalu diemulsifikasi dalam larutan yang mengandung surfaktan atau *emulsifying agent* dan menjadi bentuk emulsi minyak dalam air (o/w). Setelah terbentuk emulsi yang stabil, pelarut organik kemudian diuapkan dengan ditekan atau diputar secara terus menerus menggunakan *stirrer*. Ukuran partikel dipengaruhi oleh tipe dan konsentrasi penstabil yang digunakan, kecepatan homogeniser dan konsentrasi polimer. Untuk menghasilkan ukuran partikel yang

Universitas Indonesia

kecil, sering digunakan homogenisasi dengan kecepatan tinggi atau ultrasonifikasi.

2.1.4.2. Emulsifikasi spontan atau metode difusi pelarut

Metode ini merupakan modifikasi dari metode penguapan pelarut. Dalam metode ini air yang larut dalam pelarut dalam jumlah kecil dari air yang tidak larut dalam pelarut organik digunakan sebagai fase minyak. Karena difusi spontan dari pelarut menyebabkan turbulensi antarmuka antara 2 fase yang membentuk partikel kecil. Semakin banyak konsentrasi air yang larut dalam pelarut, ukuran dari partikel yang dihasilkan akan semakin kecil.

Kedua metode di atas dapat digunakan untuk obat-obat yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik. Untuk obat yang bersifat hidrofil, emulsi w/o/w diperlukan agar obat larut dalam fase air internal.

2.1.4.3. Metode polimerisasi

Pada metode ini, monomer-monomer dipolimerisasi menjadi bentuk nanopartikel di dalam larutan. Obat akan dimasukkan dengan cara dilarutkan dalam medium polimerisasi atau dengan adsorpsi ke dalam nanopartikel setelah polimerisasi selesai. Suspensi nanopartikel ini kemudian dimurnikan untuk menghilangkan aneka penstabil dan surfaktan yang digunakan untuk polimerisasi dengan cara ultrasentrifugasi. Bentuk nanokapsul dan ukuran partikelnya bergantung pada konsentrasi dari surfaktan dan penstabil yang digunakan.

2.1.4.4. Metode gelasi ionik

Banyak penelitian yang difokuskan pada preparasi nanopartikel dengan menggunakan polimer hidrofilik biodegradabel seperti kitosan, gelatin dan natrium alginat. Metode ini terdiri dari campuran 2 fase yang mana salah satunya adalah polimer kitosan dan yang lain adalah polianion natrium tripolifosfat. Dalam metode ini bagian positif grup amin dari kitosan berinteraksi dengan bagian negatif dari tripolifosfat sehingga membentuk partikel dalam ukuran nanometer.

Metode gelasi ionik melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Gelasi ionik seringkali diikuti dengan kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Pembentukan ikatan sambung silang ini akan memperkuat kekuatan mekanis dari

Universitas Indonesia

partikel yang terbentuk. Contoh pasangan polimer yang dapat digunakan untuk gelasi ionik ini antara lain kitosan dengan tripolifosfat dan kitosan dengan karboksimetilselulosa (Park dan Yeo,2007)

Kitosan yang merupakan polimer kationik dapat bereaksi dengan anion multivalen seperti tripolifosfat. Pembentukan mikropartikel dengan metode gelasi ionik dapat dilakukan antara lain dengan pengerasan tetesan cair yang didispersikan pada fase minyak atau organik. Prosedur sederhana tersebut meliputi pencampuran dua fase cair dimana fase yang satu mengandung kitosan dan fase yang satu mengandung anion multivalen.

Kitosan memiliki kemampuan untuk membentuk gel secara spontan setelah kontak dengan polianion multivalen sehingga membentuk inter- dan intramolekuler multi ion dengan polianion tersebut. Dari beberapa polianion yang diteliti, tripolifosfat (TPP) merupakan yang paling populer karena sifatnya yang tidak beracun dan memiliki kemampuan membentuk gel dengan cepat. (Moura et al.,2008)

2.1.5 Karakterisasi nanopartikel

Sifat unik yang dimiliki nanopartikel disebabkan langsung oleh sifat fisiko kimianya. Karena itu penentuan karakteristik nanopartikel diperlukan untuk mendapatkan pengertian mekanis dari nanopartikel. Karakteristik dari suatu nanopartikel ini dapat digunakan untuk pengembangan formulasi, memperkirakan kinerja secara *in vivo* dan untuk mengatasi masalah-masalah dalam proses pembuatan nanopartikel.

Karakteristik dari nanopartikel yang perlu diketahui antara lain :

2.1.5.1. Ukuran, distribusi dan morfologi partikel

Ukuran dan distribusi partikel merupakan karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel. Hal ini dapat digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, biologis, toksisitas dan kemampuan untuk *targetting* dari sistem nanopartikel. (Mohanraj dan Chen, 2006)

Pelepasan obat juga dipengaruhi dari ukuran partikel. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar luas area permukaannya. Namun, semakin banyak obat yang bergabung menjadi atau mendekati permukaan partikel, akan menyebabkan pelepasan obat yang cepat. Bagaimanapun, partikel yang lebih

Universitas Indonesia

besar memiliki inti yang besar dimana akan memungkinkan lebih banyak obat yang dapat dienkapsulasi dan sedikit demi sedikit berdifusi keluar. Partikel-partikel yang memiliki ukuran kecil juga memiliki resiko tinggi mengalami agregasi selama penyimpanan dan distribusi. Hal ini selalu menjadi tantangan dalam memformulasikan nanopartikel dengan ukuran yang paling kecil namun dengan stabilitas yang paling maksimum. (Mohanraj dan Chen, 2006)

Morfologi dari nanopartikel juga penting untuk diketahui untuk mengetahui pelepasan obat dari sistem nanopartikel yang dibuat. Beberapa metode dapat digunakan untuk mengetahui morfologi nanopartikel seperti *scanning electron microscopy* (SEM), *transmission electronic microscopy* (TEM), difraksi elektron, *scanning tunneling microscopy*, dan *atomic force microscopy*. (Thassu, Deleers dan Pathak, 2007)

2.1.5.2. Drug loading dan efisiensi penyerapan

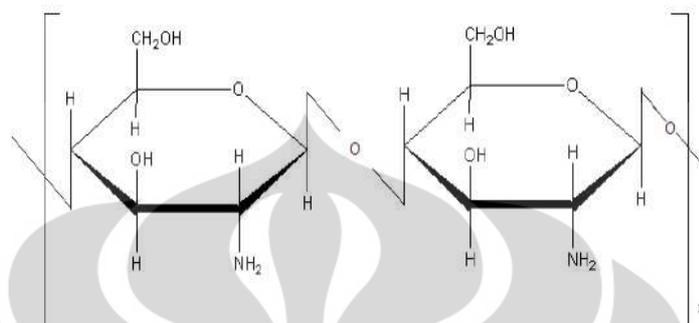
Idealnya, sebuah sistem nanopartikel yang sukses adalah yang memiliki kapasitas pembawa obat yang tinggi sehingga akan mengurangi jumlah material matriks yang digunakan. Drug loading dan efisiensi penyerapan sangat bergantung pada kelarutan obat yang stabil dalam material matriks atau polimer, dimana akan berkaitan dengan komposisi polimer, bobot molekul, dan interaksi antara obat dengan polimer (Mohanraj dan Chen, 2006)

2.1.5.3. Potensial zeta

Potensial zeta dari sebuah nanopartikel biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan partikel yang berkaitan dengan interaksi elektrostatis nanopartikel. Partikel-partikel yang terdiri dari molekul heteroatomik biasanya memiliki muatan permukaan, yang mungkin menjadi positif atau negatif, tergantung pada orientasi dan ionisasi komponen partikel. Interaksi elektrostatis antara partikel akan menentukan kecenderungan agregasi dan fenomena tolak menolak. Potensial zeta adalah ukuran permukaan muatan partikel yang tersebar dalam kaitannya dengan medium pendispersi. Idealnya, partikel harus memiliki muatan atau potensial zeta yang tinggi dibandingkan dengan medium pendispersi untuk mencegah agregasi. Kekuatan tolak menolak yang dibawa oleh muatan ion serupa pada partikel permukaan akan mencegah gaya tarik menarik yang ditentukan oleh ikatan hidrogen dan ikatan van der

Waals. Dengan mengendalikan zeta potensial akan didapatkan kondisi yang ideal untuk tidak terjadi agregasi. (Vaughn dan Williams, 2007).

2.2 Kitosan



[Sumber :Bodnar, Hartmann dan Borbely, 2005]

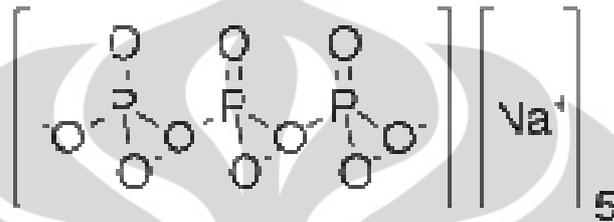
Gambar 2. 2 Struktur kitosan (telah diolah kembali)

Kitosan merupakan polisakarida linear yang dihasilkan dari deasetilasi senyawa kitin yang terkandung dalam cangkang suku crustaceae seperti udang, lobster, kepiting dan lain-lain. Derajat deasetilasi untuk kitosan umumnya berkisar antara 70% - 95% dengan bobot molekul sekitar 10-1000 kDa (Sakkinen, 2003). Kitosan terdapat dalam bentuk serbuk atau serpihan berwarna putih atau putih kecoklatan dan tidak berbau. Kitosan memiliki sifat tidak toksik, tidak mengiritasi, biokompatibel dan biodegradabel (Rowe, Sheskey, dan Owen, 2006).

Pada dasarnya kitosan tergantung dari derajat deasetilasinya. Unit D-glukosamin pada kitosan mempunyai nilai pKa 7,5, sedangkan nilai pKa dari polimernya sekitar 6,5 (Sakkinen, 2003). Kitosan mudah larut dalam larutan asam organik encer maupun pekat. Kitosan akan bersifat polikationik dalam lingkungan asam. Hal ini dikarenakan kitosan memiliki gugus amin yang dapat terprotonasi oleh H^+ dari asam (Rowe, Sheskey, dan Owen, 2006). Meskipun kitosan mempunyai rantai polimer yang terdiri dari gugus hidrofilik dan bersifat hidrofobik pada dasarnya, kitosan tidak dapat larut dalam air dan pada pelarut organik umumnya (misalkan DMSO, DMF, NMP, alkohol dan piridin). Ini disebabkan oleh struktur kristal kitosan yang berasal dari ikatan hidrogen intramolekul dan intermolekul (Champagne, 2008) Kitosan dapat menahan air di dalam strukturnya dan membentuk gel secara spontan. Pembentukan gel terjadi

pada lingkungan pH asam. Penurunan pH akan menyebabkan peningkatan viskositas. Hal ini disebabkan karena terjadi perpanjangan konformasi kitosan pada pH rendah karena adanya gaya tolak menolak antara gugus amino yang bermuatan. Viskositas juga akan meningkat bila derajat deasetilasi meningkat (Sakkinen, 2003).

2.3 Natrium Tripolifosfat



Gambar 2.3 Struktur Natrium Tripolifosfat

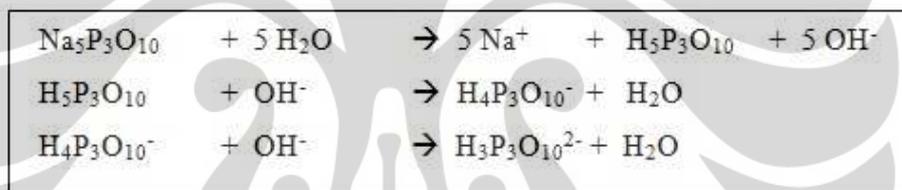
Tripolifosfat dalam nanopartikel sambung silang multi ion digunakan sebagai pasangan ion dari kitosan. Alasan penggunaan tripolifosfat antara lain karena sifatnya sebagai anion multivalen yang dapat membentuk ikatan sambung silang dengan kitosan. Penelitian dari Yu-Hsin Lin et al (2008) menyebutkan bahwa dengan digunakannya tripolifosfat sebagai salah satu pasangan ion kitosan, hasil nanopartikel yang didapat lebih stabil dan memiliki karakter penembusan membran yang lebih baik.

Pada nanopartikel sambung silang multi ion, tripolifosfat berperan sebagai salah satu komponen anion multivalen yang nantinya akan membentuk ikatan sambung silang dengan kitosan yang bersifat kationik (Yu-Shin Lin et al,2008)

2.4 Kitosan-Tripolifosfat

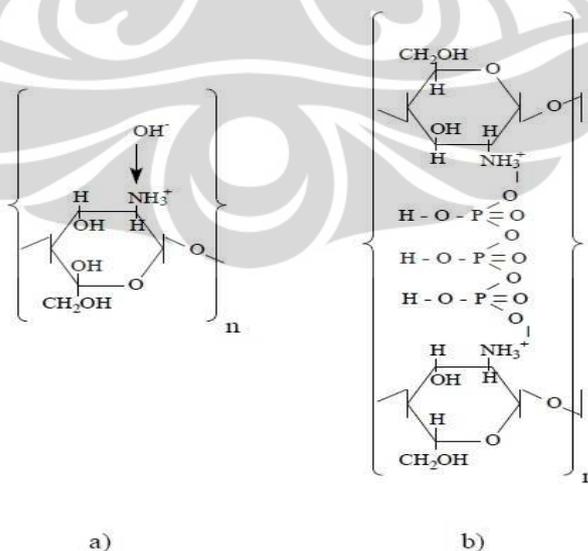
Kitosan-tripolifosfat adalah senyawa turunan dari kitosan yang dihasilkan dari proses taut silang ionik kitosan dengan senyawa tripolifosfat, seperti natrium tripolifosfat. Proses modifikasi kitosan dengan natrium tripolifosfat bergantung pada beberapa faktor, yaitu konsentrasi kitosan, pH dari natrium tripolifosfat dan waktu terjadinya taut silang (J.A. Ko, H.J. Park, Y.S. Park, S.J. Hwang, dan J.B. Park, 2003).

Kitosan dengan pKa 6,5 merupakan polikationik, ketika dilarutkan dalam asam, amin bebas dari kitosan akan terprotonasi menghasilkan $-\text{NH}_3^+$. Natrium tripolifosfat ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) dilarutkan dalam air hingga didapatkan ion hidroksil dan ion tripolifosfat. Ion tersebut dapat bergabung dengan struktur dari kitosan. Bhumkar dan Pokharkar (2006) menyatakan bahwa derajat taut silang kitosan dengan natrium tripolifosfat dipengaruhi oleh keberadaan sisi kationik dan senyawa anionik sehingga pH dari natrium tripolifosfat memiliki peran penting selama proses taut silang. Proses taut silang dilakukan pada dua kondisi pH, yaitu pH 3 dan 9. Pada pH 3 hanya dihasilkan ion tripolifosfat yang akan berinteraksi dengan $-\text{NH}_3^+$ dari kitosan sehingga pada kondisi tersebut didapatkan kitosan-TPP yang didominasi oleh interaksi ionik. Pada pH 9, dihasilkan ion hidroksil dan tripolifosfat. Kedua ion tersebut berkompetisi untuk berinteraksi dengan $-\text{NH}_3^+$. Pada kondisi tersebut, taut silang kitosan didominasi oleh deprotonasi oleh ion hidroksil (Bhumkar dan Pokharkar, 2006).



[Sumber: Sung-Tao Lee, Fwu-Long Mi, Yu-Ju Shen, dan Shin-Shing Shyu, 2001]

Gambar 2. 4 Disosiasi Natrium Tripolifosfat dalam Air



[Sumber: Bhumkar dan Pokharkar, 2006]

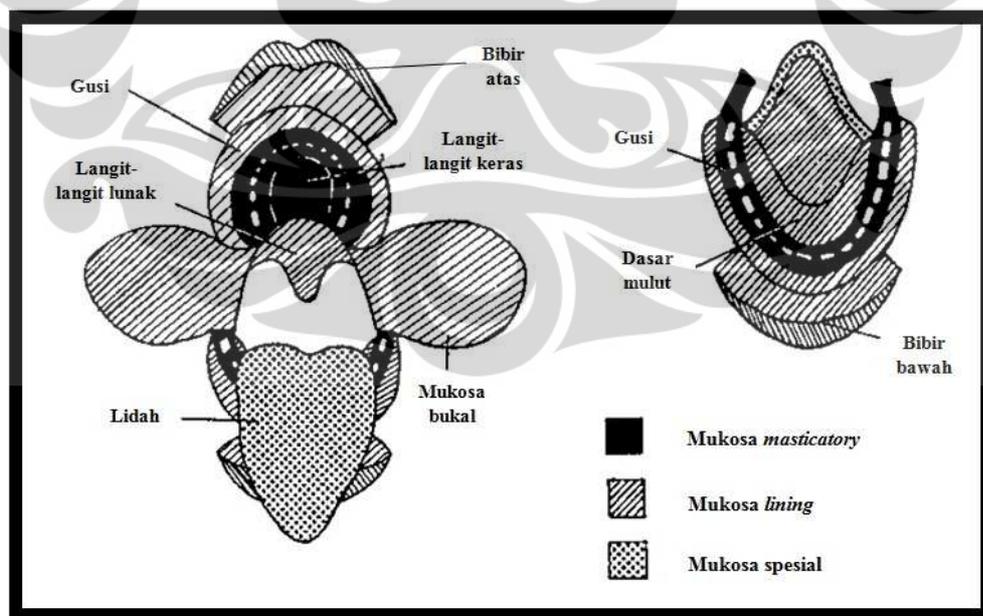
Gambar 2. 5 Proses a) Deprotonasi b) Taut Silang Ionik Kitosan dengan TPP

Universitas Indonesia

2.5 Morfologi dan sistem penghantaran obat bukal

2.5.1. Membran Mukosa Mulut dan Bukal

Membran mukosa mempunyai permukaan yang lembab yang terbentang pada dinding organ saluran pencernaan dan pernapasan, bagian dalam mata, nasal, rongga mulut dan organ genital. Permukaan lembab pada jaringan mukosa adalah akibat adanya mukus yang berlendir, kental dan terdiri dari glikoprotein, lipid, garam inorganik dan lebih dari 95% air (S., Punitha dan Girish, 2010). Ada tiga tipe mukosa mulut yaitu mukosa *masticatory*, *lining* dan mukosa spesial. Mukosa *masticatory* menutupi gingiva dan palatal. Mukosa ini menekan epitelium yang berkeratinin ke jaringan dibawahnya dengan bantuan jaringan kolagen penghubung yang dapat menahan abrasi dan gaya tekan dari proses mengunyah. Mukosa *lining* menutupi semua area kecuali permukaan dorsal lidah dan ditutupi oleh epitelium nonkeratin sehingga menjadi lebih permeabel. Mukosa ini dapat berubah elastis dan dapat meregang untuk membantu berbicara dan mengunyah. Mukosa spesial yang berada di belakang lidah merupakan gabungan mukosa *masticatory* dan *lining* yang terdiri dari sebagian mukosa berkeratin dan sebagian mukosa nonkeratin (Kellaway, Ponchel dan Duchene, 2003).

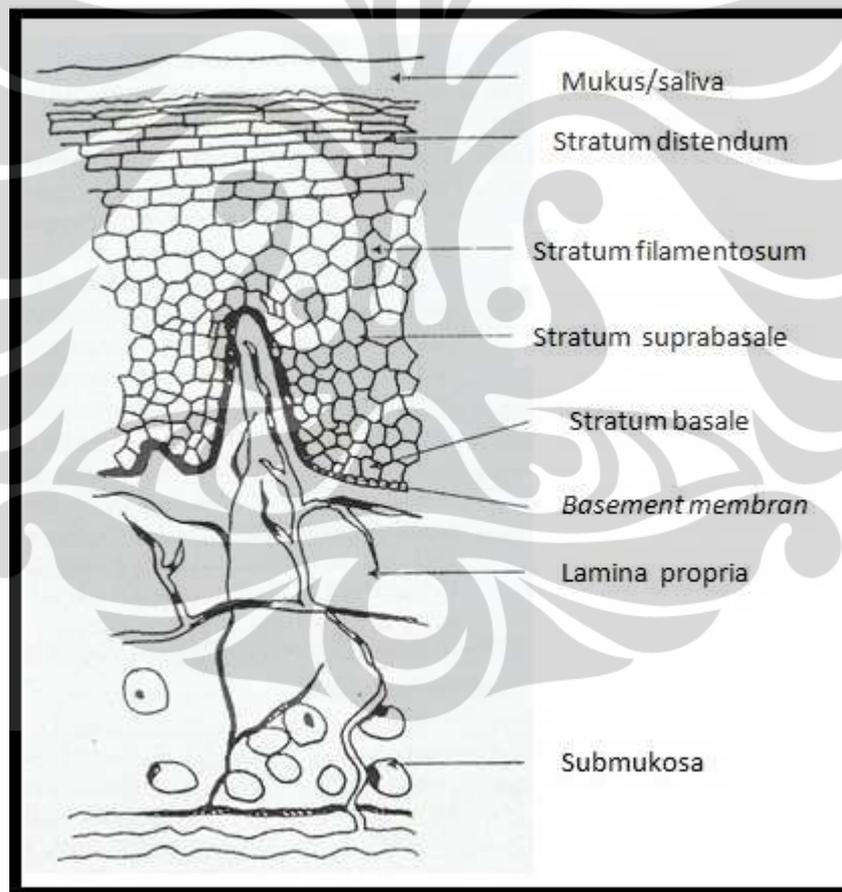


[Sumber : Kellaway, Ponchel dan Duchene, 2003)

Gambar 2. 6 Penampang rongga mulut (telah diolah kembali)

Universitas Indonesia

Mukosa mulut terdiri dari epitelium yang ditutupi mukus dan terdiri dari stratum distendum, stratum filamentosum, stratum suprabasale dan stratum basale. Epitelium bisa terdiri dari lapisan tunggal (*single layer*) yang terdapat pada lambung, usus kecil dan usus besar serta bronkus ataupun lapisan ganda (*multiple layer*) seperti pada esofagus dan vagina. Lapisan paling atas terdiri dari goblet sel yang mensekresikan mukus ke permukaan epitelium. Dibawah epitelium terdapat basal lamina, lamina propria dan submukosa. Epitelium memberikan barrier mekanis yang dapat melindungi jaringan di bawahnya, lamina propria bertindak sebagai penahan mekanis dan juga membawa pembuluh darah dan sel saraf. Tebal lapisan mukus bervariasi pada tiap-tiap jaringan mukosa, biasanya antara 50-500 μm pada saluran cerna dan kurang dari 1 μm pada rongga mulut (S., Punitha dan Girish,2010).



[Sumber : Hoogstraate, Benes, Burgaud, Horriere dan Seyler, 2005]

Gambar 2. 7 Struktur membran mukosa mulut (telah diolah kembali)

Bukal adalah bagian dari mulut yang membatasi secara anterior dan lateral antara bibir dan pipi, secara posterior dan medial (tengah) antara gigi dan gusi serta di atas dan di bawah dari mukosa yang terbentang antara mulut, pipi dan gusi (S., Punitha dan Girish, 2010). Mukosa bukal terdiri dari beberapa lapisan sel yang berbeda. Epitel mirip dengan epitel skuamosa bertingkat yang ditemukan di seluruh tubuh. Lapisan sel epitel dari mukosa bukal memiliki ketebalan sekitar 500-600 μ dan luas permukaan sebesar 50 cm^2 serta memiliki permukaan yang kasar yang cocok untuk sistem penghantaran obat yang bersifat retensif. Membran dasar, lamina propria diikuti oleh submukosa terdapat di bawah lapisan epitel. Lamina propria kaya dengan pembuluh darah dan pembuluh kapiler yang terbuka untuk vena jugularis internal. (Verma dan Chattopadhyay, 2011).

Pembuluh arteri maksilaris mengedarkan darah ke mukosa bukal dan darah mengalir lebih cepat dan lebih banyak ($2,4 \text{ mL/min/cm}^2$) daripada daerah sublingual, gingival dan palatal sehingga memfasilitasi difusi pasif molekul obat melewati mukosa. Pergantian epitelium bukal antara 5-6 hari (S., Punitha dan Girish, 2010)

2.5.2. Saliva dan mukus

Saliva diproduksi paling banyak 750 ml setiap harinya dengan 60% dari kelenjar submandibular, 30 % dari kelenjar parotids, kurang dari 5% dari kelenjar sublingual dan sekitar 6% dari kelenjar saliva kecil yang terdapat di bawah epitelium mukosa mulut. Saliva mempunyai pH sekitar 6,5-7,5 yang berfungsi sebagai buffer untuk sistem bikarbonat dan mengurangi batas buffer fosfat dan buffer protein. Tebal lapisan saliva kira-kira 0,07-0,10 mm dan musin yang terdapat pada saliva memungkinkan adanya pengikatan sistem penghantaran obat dengan pengembangan polimer mukoadhesif. Penggabungan interfisial antara polimer dan mucin memberikan ikatan dan retensi sediaan pada tempat penghantaran. Komponen utama dari sekresi mukus adalah musin yang larut yang bergabung untuk membentuk oligomer musin. Struktur ini mempunyai bentuk yang viskoelastis dan berminyak. Mucin saliva punya fungsi perlindungan termasuk diantaranya pembentukan barier permeabel epitelium, meminyaki permukaan jaringan dan perubahan kolonisasi mikroorganisme mulut (Kellaway, Ponchel dan Duchene, 2003).

Glikoprotein merupakan komponen yang penting pada mukus dan bertanggung jawab atas sifat bentuk berlendir, kohesi dan antiadhesif. Walaupun tergantung dari bagian tubuh mana yang mensekresikan mukus, biasanya glikoprotein mempunyai struktur yang sama. Glikoprotein biasanya mempunyai tiga cabang yang terhubung secara dimensional. Rantai polipeptida terdiri dari 800–4500 residu asam amino dan dikarakterisasi dengan dua tipe area, yaitu area terglisosilasi kuat dan area terglisosilasi lemah. Glikosilasi meningkatkan resistensi molekul terhadap hidrolisis proteolisis. Terminal dari glikoprotein (C- dan N-) merupakan daerah yang mengandung 10 % sistein. Daerah inilah yang bertanggung jawab terhadap terbentuk ikatan disulfida pada oligomer mucin. Sekuen oligosakarida melekat pada 63% inti protein sehingga lebih dari 200 ikatan karbohidrat / molekul glikoprotein. Rantai samping polisakarida biasanya berakhir pada fukosa atau asam sialat (asam N-asetilneuraminat, pKa = 2,6) sehingga glikoprotein bermuatan negatif pada pH fisiologis tubuh (S., Punitha dan Girish, 2010).

Saliva dan mukus penting untuk membantu absorpsi obat, yaitu dengan alasan sebagai berikut (McElnay dan Hughes, 2007) :

- a. Permeasi obat melewati membran bermukus terjadi lebih mudah dibandingkan dengan membran tanpa mukus.
- b. Obat yang dihantarkan lewat bukal pada umumnya merupakan sediaan padat sehingga obat perlu didisolusikan di saliva terlebih dahulu sebelum diabsorpsi melewati mukosa mulut.

2.5.3. Sistem penghantaran obat bukal

Penghantaran obat melalui bukal adalah penghantaran melalui mukosa bukal, yang terletak di sepanjang pipi, untuk mencapai sirkulasi sistemik. Mukosa bukal kurang permeabel jika dibandingkan dengan mukosa sublingual dan biasanya kurang bisa mencapai absorpsi obat dalam waktu cepat ataupun mencapai bioavailabilitas yang bagus, namun lebih permeabel jika dibandingkan dengan kulit ataupun sistem penghantaran lainnya. Membran lipid pada mukosa mulut menahan masuknya makromolekul sehingga molekul – molekul kecil yang tidak terionisasi dapat melintasi membran ini dengan mudah (Mathiowitz, 1999).

Mekanisme melintasnya obat melintasi membran lipid biologis diantaranya adalah difusi pasif, difusi terfasilitasi, transport aktif dan pinositosis. Mekanisme penghantaran obat pada mukosa bukal adalah difusi pasif yang melibatkan perpindahan dari zat terlarut dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah pada jaringan bukal. Absorpsi obat dari rongga mulut tidak sama dengan masuknya obat secara langsung ke sirkulasi sistemik karena obat seperti di simpan dalam membran bukal atau lebih dikenal dengan efek reservoir bukal (McElnay dan Hughes, 2007).

Transport obat melintasi membran mukosa bukal dapat dijelaskan dalam persamaan difusi Fick, yaitu :

$$J = \frac{D K_p}{h} \Delta C_e \quad (2.1)$$

Pada persamaan tersebut, J adalah laju obat, D adalah konstanta difusi, K_p adalah koefisien partisi, ΔC_e adalah gradient konsentrasi dan h adalah panjang membran difusi. Dari persamaan tersebut, dapat dilihat bahwa laju difusi obat melalui membran mukosa bukal dapat ditingkatkan dengan mengurangi resistensi difusi pada membran dengan membuat obat lebih cair, meningkatkan kelarutan obat dalam saliva yang berdekatan dengan epitelium atau meningkatkan lipofilisitas dengan modifikasi *prodrug* (McElnay dan Hughes, 2007).

Dua jalur lainnya untuk melintasi mukosa bukal adalah melalui jalur transeular (jalan masuk obat melintasi sel mukosa bukal) dan jalur paraselular (jalan masuk obat melewati tautan interselular mukosa). Koefisien permeabilitas untuk mukosa mulut antara $1 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-9}$ cm/s. Transport masuk obat melewati mukosa mulut dapat dipelajari dengan teknik mikroskopis dengan fluoresensi, autoradiografi dan prosedur *confocal laser scanning microscopic* (Mitra, Alur dan Johnston, 2007).

Hal-hal yang mempengaruhi molekul obat melewati mukosa bukal adalah sebagai berikut ini (Mitra, Alur dan Johnston, 2007) :

- a. Ukuran molekul, untuk senyawa hidrofilik hal – hal seperti berat molekul dan ukuran molekul yang meningkat, akan mengurangi permeabilitas obat. Molekul dengan berat yang kecil (BM < 100 kDa) dapat dengan mudah melewati mukosa bukal.

- b. Kelarutan dalam lipid, untuk senyawa yang tidak terionisasi, seperti lipofilisitas yang meningkat, permeabilitas obat juga akan meningkat.
- c. Ionisasi, untuk obat – obat yang terionisasi, permeasi maksimal obat terjadi pada pH obat terionisasi paling sedikit, misalkan pada pH obat berbentuk tidak terion.

Sistem penghantaran obat bukal mukoadhesif memiliki sifat antara lain (Mitra, Alur dan Johnston, 2007) :

- a. Nyaman dan tidak menonjol terlalu jelas pada tempat aplikasi
- b. Tidak cocok untuk obat yang berasa pahit
- c. Lebih baik untuk obat – obat yang dilepaskan secara perlahan
- d. Menggunakan eksipien yang tidak mengiritasi ataupun merusak mukosa mulut

Ukuran sediaan bervariasi tergantung dari formulasi, misalkan bukal tablet memiliki ukuran diameter paling besar 5-8 mm dan film bukal memiliki luas 10-15 cm². Film bukal mukoadhesif dengan luas area 1-3 cm² biasanya digunakan. Ini dapat menjelaskan bahwa jumlah obat yang dapat dihantarkan melintasi mukosa bukal untuk luas area 2 cm² adalah 10-20 mg setiap harinya. Bentuk sediaan juga bervariasi, meskipun biasanya menggunakan bentuk bulat lonjong. Durasi maksimal dari retensi dan absorpsi obat bukal biasanya 4-6 jam karena makanan dan cairan dapat memindahkan sediaan yang digunakan (Mitra, Alur dan Johnston, 2007).

Beberapa keuntungan dalam penghantaran obat secara bukal adalah sebagai berikut (Mitra, Alur dan Johnston, 2007) :

- a. Mudah dalam pemberian dan penghentian terapi
- b. Memungkinkan terjadi lokalisasi obat pada rongga mulut untuk periode waktu yang panjang
- c. Dapat diberikan pada pasien yang tidak sadar
- d. Merupakan rute yang cocok untuk obat – obat yang mengalami efek metabolisme lintas pertama yang tinggi sehingga obat tersebut dapat mencapai bioavailabilitas yang lebih baik
- e. Dosis obat dapat diturunkan sehingga memperkecil terjadinya efek samping
- f. Obat yang tidak stabil pada pH asam lambung ataupun yang tidak stabil pada pH basa usus dapat diberikan melalui penghantaran bukal

- g. Obat dengan bioavailabilitas yang rendah dapat diberikan dengan mudah
- h. Adanya saliva yang menyediakan sejumlah air yang cukup untuk disolusi dibandingkan dengan pemberian rektal dan transdermal
- i. Alternatif pemberian untuk obat – obat hormon, analgesik narkotik, enzim, steroid, obat jantung dan sebagainya

Sedangkan beberapa kekurangan pada sistem penghantaran bukal adalah sebagai berikut (Mitra, Alur dan Johnston, 2007) :

- a. Obat yang dapat mengiritasi mukosa mulut, berasa pahit dan berbau tidak dapat dihantarkan dengan sistem bukal
- b. Obat yang tidak stabil pada pH bukal tidak dapat dihantarkan dengan sistem ini
- c. Hanya untuk obat yang memiliki dosis rendah
- d. Obat dapat mengembang oleh saliva dan kehilangan efeknya dengan rute bukal
- e. Makan dan minum dapat membatasi penghantaran obat
- f. Dapat membentuk struktur permukaan yang licin dan integritas struktur formulasi dapat tergantung akibat pengembangan dan hidrasi polimer bioadhesif.

2.6 Mukoadhesif

2.6.1. Sistem bioadhesif

Bioadhesif dapat diartikan sebagai kondisi dua material, salah satunya adalah jaringan biologi, saling menempel antara satu sama lainnya untuk beberapa waktu yang disebabkan adanya gaya antar muka. Jika material tersebut berikatan dengan mukosa atau lapisan mukus, maka fenomena ini dikenal sebagai mukoadhesif (Carvalho, Bruschi, Evangelista, dan Gremiao, 2010). Formulasi bioadhesif menggunakan polimer sebagai komponen perekat (*adhesive*). Formulasi ini biasanya dapat larut air dan bila dalam bentuk kering dapat menarik air dari permukaan biologi dan perpindahan air ini menuntun terjadinya interaksi yang kuat. Polimer dapat menyerap cairan ketika terhidrasi pada organ tubuh, akibatnya menghasilkan massa yang kental sehingga meningkatkan waktu retensinya pada permukaan mukosa. Polimer bioadhesif harus mempunyai sifat

fisikokimia tertentu seperti hidrofilisitas, dapat membentuk ikatan hidrogen, fleksibel untuk interpenetrasi dengan mukus dan jaringan epitelium, dan mempunyai sifat viskoelastik (S., Punitha dan Girish, 2010).

Karakteristik ideal polimer bioadhesif untuk penghantaran bukal diantaranya (S., Punitha dan Girish, 2010) :

- a. Polimer dan hasil degradasinya tidak toksik, tidak mengiritasi dan bebas dari pengotor yang dapat larut
- b. Mampu menyebar, terbasahi, mengembang, terlarut dan memiliki sifat biodegradasi
- c. Memiliki sifat biokompatibel dan viskoelastik
- d. Memiliki sifat dapat melekat pada mukosa bukal
- e. Polimer mudah didapat dan harganya terjangkau
- f. Mempunyai sifat bioadhesif dalam bentuk kering ataupun cair

Faktor yang dapat mempengaruhi karakteristik sifat bioadhesif antara lain sebagai berikut (Mitra, Alur dan Johnston, 2007) :

- a. Berat molekul dan konformasi polimer

Kekuatan pelekatan polimer meningkat dengan meningkatnya berat molekul melebihi 100.000 kDa.

- b. Densitas taut – silang polimer

Kekuatan mukoadhesif menurun dengan meningkatnya tautan silang karena menurunkan koefisien difusi polimer serta fleksibilitas dan mobilitas rantai polimer.

- c. Muatan dan ionisasi polimer

Polimer anionik lebih efisien daripada polimer kationik dan polimer yang tidak bermuatan untuk daya lekat dan toksisitas. Selain itu, polimer dengan gugus karboksil lebih dipilih daripada polimer dengan gugus sulfat.

- d. Konsentrasi polimer

Konsentrasi polimer yang terlalu tinggi akan mengurangi sifat bioadhesif. Molekul akan menggulung dan lebih sukar larut sehingga akan mengurangi interpenetrasi rantai polimer ke lapisan mukus.

e. pH medium

Pengaruh pH medium adalah dapat mempengaruhi muatan pada permukaan mukus dan polimer. Jumlah muatan bervariasi tergantung pH yang dapat menyebabkan disosiasi pada gugus karbohidrat dan asam amino.

2.6.2. Mekanisme mukoadhesif

Secara umum mekanisme mukoadhesif dapat dibagi menjadi dua langkah, yaitu tahap kontak dan tahap konsolidasi. Tahap kontak biasanya terjadi antara polimer mukoadhesif dan membran mukosa. Dengan menyebar dan mengembangnya sediaan maka akan terjadi kontak yang lebih kuat terhadap lapisan mukus. Pada tahap konsolidasi, polimer mukoadhesif diaktifkan dengan adanya kelembaban. Kelembaban melenturkan sistem sehingga memudahkan molekul obat terbebas dan dapat berikatan secara Van der Waals dan ikatan hidrogen (Carvalho, Bruschi, Evangelista, dan Gremiao, 2010).

Ada dua teori yang menjelaskan tahap konsolidasi, yaitu teori difusi dan teori dehidrasi. Berdasarkan teori difusi, molekul mukoadhesif dan glikoprotein mukus saling berinteraksi dengan adanya interpenetrasi ikatan dan membentuk ikatan sekunder. Dengan kata lain, sediaan mukoadhesif akan mengalami interaksi kimia dan mekanis. Berdasarkan teori dehidrasi, bahan mukoadhesif akan mengalami dehidrasi ketika kontak dengan mukus sebagai akibat dari perbedaan tekanan osmotik. Perbedaan gradient konsentrasi ini menyebabkan air berpindah dari mukus ke sediaan sampai keseimbangan osmotik tercapai. Proses ini menyebabkan terjadinya pencampuran sediaan dan mukus yang meningkatkan waktu kontak dengan membran mukosa (Carvalho, Bruschi, Evangelista, dan Gremiao, 2010).

Mekanisme pelekatan polimer mukoadhesif dapat dijelaskan dengan berbagai teori, diantaranya adalah sebagai berikut (Carvalho, Bruschi, Evangelista, dan Gremiao, 2010; S., Punitha dan Girish, 2010) :

a. Teori Elektronik

Teori elektronik didasari oleh anggapan bahwa bahan mukoadhesif dan mukus mempunyai struktur elektronik yang berlawanan. Ketika terjadi kontak antara keduanya maka akan terjadi perpindahan elektron yang menyebabkan terbentuknya lapisan ganda dari elektronik bermuatan pada antar muka keduanya.

Universitas Indonesia

b. Teori Adsorpsi

Berdasarkan teori adsorpsi, polimer mukoadhesif melekat pada mukus melalui interaksi kimia sekunder, misalnya ikatan Van der Waals, ikatan hidrogen, gaya tarik elektrostatik atau interaksi hidrofobik.

c. Teori Pembasahan

Teori pembasahan biasanya berlaku untuk sediaan cair yang mempunyai afinitas untuk dapat menyebar pada permukaan mukosa. Afinitas ini dapat dilihat dengan teknik pengukuran, misalkan melalui sudut kontak, dimana sudut kontak yang lebih kecil mengidentifikasi afinitas yang lebih besar.

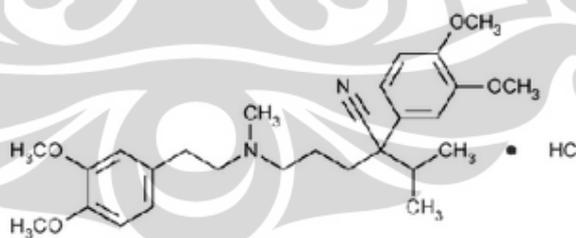
d. Teori Difusi

Teori difusi menggambarkan bahwa interpenetrasi rantai polimer dan mukus menghasilkan ikatan adhesif semi permanen sehingga gaya adhesi akan meningkat dengan peningkatan derajat penetrasi rantai polimer. Laju penetrasi ini tergantung pada koefisien difusi, fleksibilitas dan sifat dasar rantai polimer mukoadhesif, mobilitas dan waktu kontak.

e. Teori Mekanik

Teori mekanik berdasarkan pada adhesi untuk mengisi permukaan yang tidak rata dengan cairan polimer mukoadhesif. Di samping itu, ketidakrataan meningkatkan daerah antar muka yang dapat berinteraksi.

2.7 Verapamil Hidroklorida



[Sumber : USP 30-NF25]

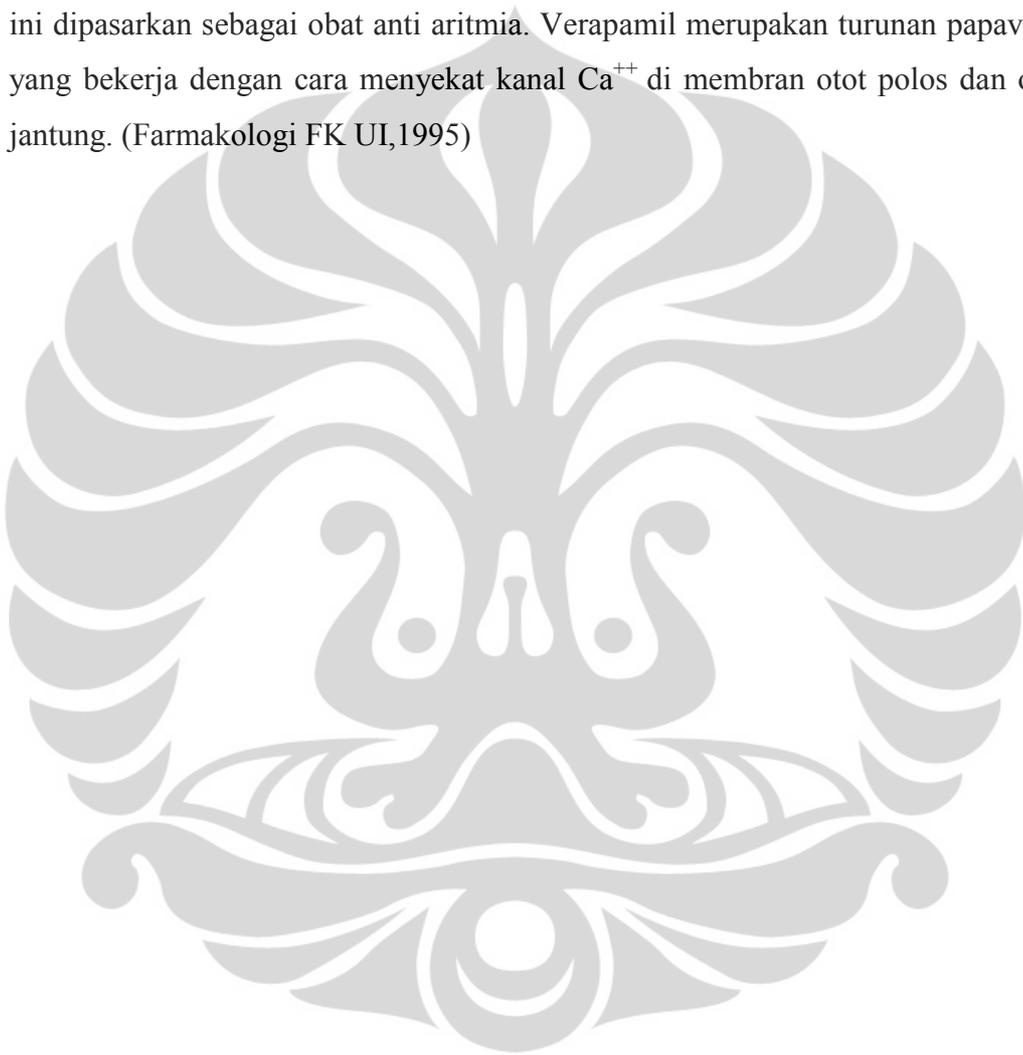
Gambar 2. 8 Struktur Verapamil HCl

Verapamil memiliki nama kimia 5-[N-(3,4-Dimetoksifenil)metilamino]-2-(3,4-dimetoksifenil)-2isopropilvaleronitril monohidroklorida dengan BM sebesar 491,07. Bentuk dari verapamil berupa serbuk hablur, putih atau hampir putih, praktis tidak berbau dan rasa pahit. Verapamil HCl larut dalam air, mudah

Universitas Indonesia

larut dalam kloroform, agak sukar larut dalam etanol dan praktis tidak larut dalam eter. (DepKes RI,1995)

Verapamil merupakan obat aritmia kelas IV yang merupakan penghambat kanal Ca^{++} . Efek klinis penting dari antagonis Ca^{++} untuk pengobatan aritmia adalah penekanan potensial aksi yang *Ca⁺⁺ dependent* dan perlambatan konduksi di nodus AV. Verapamil adalah satu-satunya penghambat kanal Ca^{++} yang dewasa ini dipasarkan sebagai obat anti aritmia. Verapamil merupakan turunan papaverin yang bekerja dengan cara menyekat kanal Ca^{++} di membran otot polos dan obat jantung. (Farmakologi FK UI,1995)



BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium farmasetika universitas Indonesia, Depok.

3.2. Alat

Oven (Mettler, Jerman), pH meter (Eutech Instrumen pH 510, Singapura), ayakan (Retsch Technology, USA), pengaduk magnetik stirrer (Ika, Jerman), *transmission electron microscope*, *particle size analyzer* (Delsa Nano, USA), *zetasizer* (Delsa Nano, USA), ultrasentrifugator, Spektrofotometer UV-1601 (Shimadzu, Jepang), Spektrofotometer IR Tipe 8400S (Shimadzu, Jepang), mikrometer (micrometer Din, Inggris), texture analyzer (TA.XT2 Rheoner 3305, Jerman), *freeze dryer*, *scanning electron microscope* (Jeol JSM-5310 LV, Inggris), *tensile strength* (Comten, AS), neraca analitik (Shimadzu EB-330, Jepang), homogenizer (Multimix, Malaysia), desikator, termometer dan alat-alat gelas.

3.3. Bahan

Kitosan (Biotech Surindo, Indonesia), natrium tripolifosfat (Wako, Jepang), verapamil HCl (Recordati, Italia), natrium hidroksida (Merck, Jerman), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), asam asetat (Merck, Jerman), jaringan bukal kambing (rumah penjalangan, Depok) dan aqua demineralisata (Brataco, Indonesia)

3.4. Cara kerja

3.4.1. Pembuatan larutan asam asetat 1 %

Cara pembuatan asam asetat 1% adalah sebanyak 10,0 mL asam asetat glasial dicampurkan ke dalam aquademineralsata hingga 1000,0 mL.

3.4.2. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 6,8

Kalium dihidrogen fosfat ditimbang sebanyak 27,218 g lalu ditambahkan aquadest bebas karbondioksida sampai volume 1000,0 mL. Larutan tersebut diambil sebanyak 50,0 mL dan ditambahkan dengan natrium hidroksida (NaOH) 0,2 N sebanyak 22,4 mL. Setelah itu larutan tersebut diencerkan dengan aquadest bebas karbondioksida sampai volume 200,0 mL (DepKes RI,1979)

3.4.3. Pembuatan larutan alkali borat pH 9,7

Asam borat ditimbang sebanyak 12,4 g lalu dilarutkan di dalam 100,0 mL larutan NaOH 4% b/v. Larutan tersebut diambil sebanyak 70,0 mL dan dicampurkan dengan 30,0 mL larutan NaOH 0,4% b/v. Setelah itu larutan diencerkan dengan aquadest bebas karbondioksida hingga 1000,0 mL (DepKes RI, 1979)

3.4.4. Optimasi pembuatan nanopartikel (Boonsongrit, Ampol dan Bernd, 2006)

Kitosan dilarutkan dalam larutan asam asetat 1% v/v dengan konsentrasi sebesar 0,2 % b/v sebanyak 25 mL. Verapamil HCl sebanyak 1,25 gram dilarutkan di dalam larutan kitosan. Setelah itu dibuat larutan tripolifosfat 0,1 % b/v dalam aquademineralisata sebanyak 10 mL dan ditambahkan ke dalam campuran kitosan dan verapamil. Cara penambahan larutan tripolifosfat ini dibedakan menjadi 3 cara yaitu pada formula 1 (F1) diteteskan dengan kecepatan 0,75 mL/menit dengan bantuan pengaduk magnetik stirrer 400 rpm, formula 2 (F2) diteteskan dengan kecepatan 0,75 mL/menit dengan pengaduk magnetik stirrer 400 rpm lalu dihomogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, dan formula 3 (F3) larutan tripolifosfat langsung dituang ke dalam campuran kitosan dan verapamil HCL sambil dihomogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Preparasi nanopartikel secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3. 1 Formulasi nanopartikel

Formula	Kitosan 0,2% b/v (mL)	Tripolifosfat 0,1% b/v (mL)	Verapamil HCl (gram)	Metode
1	25	10	1,25	Larutan TPP diteteskan ke dalam campuran kitosan dan verapamil HCl dengan kecepatan 0,75 mL/menit dengan bantuan pengaduk magnetik stirrer 400 rpm
2	25	10	1,25	Larutan TPP diteteskan ke dalam campuran kitosan dan verapamil HCl dengan kecepatan 0,75 mL/menit dengan bantuan pengaduk magnetik stirrer 400 rpm kemudian dihomogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit
3	25	10	1,25	Larutan TPP dituang ke dalam campuran kitosan dan verapamil HCl lalu dihomogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit

Keterangan : pelarut yang digunakan adalah larutan asam asetat 1 % v/v (kitosan) dan aquademineralisata (tripolifosfat)

3.4.5. Karakterisasi nanopartikel

3.4.5.1. Penetapan distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan potensial zeta (Yu-Hsin Lin et al., 2008)

Suspensi nanopartikel sebanyak 100,0 μ L didispersikan pada 50,0 mL aquadest dan diukur secepatnya dengan alat Delsa Nano. Percobaan dilakukan triplo. Dari uji ini akan didapatkan hasil distribusi ukuran partikel, nilai indeks polidispersitas dan nilai potensial zeta.

3.4.5.2. Morfologi nanopartikel dengan mikroskop transmisi elektron (Moura et al., 2008)

Mikroskop transmisi elektron digunakan untuk menguji morfologi nanopartikel. Larutan nanopartikel kitosan-tripolifosfat yang mengandung verapamil HCl disonifikasi selama 1 menit untuk menghasilkan dispersi partikel yang lebih baik dan untuk mencegah aglomerasi dari partikel. 1 tetes larutan nanopartikel disebar ke atas *carbon-coated copper grid* yang kemudian dikeringkan pada suhu kamar untuk analisis TEM.

3.4.5.3. Penetapan efisiensi penjerapan (Boonsongrit, Ampol dan Bernd, 2006)

Sebanyak 5,0 mL suspensi nanopartikel ditambahkan larutan alkali borat pH 9,7 sebanyak 5,0 mL kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama ± 15 menit. Supernatan yang diperoleh dipipet sebanyak 1,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL dan ditepatkan volumenya dengan aquademineralisata hingga garis batas. Larutan kemudian dipipet 1,0 mL dan diencerkan dengan aquademineralisata didalam labu tentukur 25,0 mL. Larutan uji kemudian diukur kadar dengan menggunakan spektrofotometer UV. Setelah didapatkan kadar bebas, maka dapat dihitung jumlah verapamil HCl bebas. Setelah didapatkan jumlah bebas, maka dapat dihitung efisiensi penjerapan.

$$\text{Efisiensi penjerapan (\%)} = \frac{[C_t - C_b]}{C_t} \times 100\% \quad (3.1)$$

C_t = Jumlah verapamil total

C_b = Jumlah verapamil bebas

3.4.5.4. Penentuan panjang gelombang maksimum verapamil HCl dan pembuatan kurva kalibrasi verapamil HCl

Kurva kalibrasi verapamil HCl diukur dengan melarutkan 100,0 mg verapamil HCl dalam 100,0 mL pelarut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Pelarut yang digunakan adalah aquademineralisata dan larutan dapar fosfat pH 6,8. Larutan dipipet sebanyak 25,0 mL dan diencerkan dalam labu tentukur 250,0 mL hingga batas. Larutan diencerkan dengan beberapa seri pengenceran sehingga diperoleh enam seri larutan dengan konsentrasi

berbeda. Konsentrasi 20, 25, 30, 35, 40 dan 45 ppm digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi. Untuk penentuan panjang gelombang maksimum, pengukuran serapan dilakukan dengan larutan konsentrasi 25 ppm.

3.4.5.5. Pengukuran kadar menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 1,0 mL suspensi nanopartikel dilarutkan dengan aquademineralisata dalam labu tentukur sampai 100,0 mL. Larutan kemudian dipipet sebanyak 10,0 mL dan diencerkan dalam labu tentukur sampai 100,0 mL dengan aquademineralisata. Serapan larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum dan dihitung kadarnya dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali.

3.4.5.6. Pengeringan nanopartikel

Suspensi nanopartikel dibekukan dan dikeringkan dengan menggunakan *freeze dry*. Hasil serbuk ini digunakan untuk uji analisis gugus fungsi dan morfologi serbuk.

3.4.5.7. Morfologi permukaan serbuk nanopartikel dengan *scanning electron microscope*

Scanning electron microscope (SEM) digunakan untuk mengetahui morfologi permukaan serbuk nanopartikel.

3.4.5.8. Analisis gugus fungsi

Analisis gugus fungsi menggunakan alat spektrofotometer infra merah dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan gugus fungsi kitosan setelah ditaut silang dengan natrium tripolifosfat. Serbuk nanopartikel sebanyak ± 1 mg sampel ditambahkan ke dalam KBr yang sebelumnya telah ditimbang sebanyak ± 49 mg hingga dicapai berat campuran ± 50 mg. Pemeriksaan gugus fungsi dilakukan pada bilangan gelombang 400 sampai 4000 cm^{-1} .

3.4.6 Pembuatan eksipien kitosan-tripolifosfat

Larutan kitosan 3% b/v dibuat dengan cara melarutkan 3,0 g kitosan dalam 100,0 mL asam asetat 1% v/v dengan bantuan pengaduk magnetik stirrer. Natrium tripolifosfat sebanyak 0,145 g dilarutkan dalam 100,0 mL aquademineralisata sehingga didapatkan konsentrasi 0,145% b/v. Kemudian larutan kitosan dan natrium tripolifosfat tersebut dicampur sambil diaduk menggunakan *homogenizer*

dengan kecepatan 1500 rpm dengan perbandingan 5:1. Penambahan larutan natrium tripolifosfat ke dalam larutan kitosan dilakukan dengan kecepatan 5 mL/menit. Campuran kemudian dikeringkan dalam oven, lalu digiling dan diayak dengan ayakan mesh 60 hingga didapatkan serbuk kering kitosan-tripolifosfat (Lifeng Qi, Zirong Xu, Xia Jiang, Hu Caihong, dan Xiangfei Zou, 2004)

3.4.7. Pembuatan larutan verapamil pembanding

Larutan verapamil pembanding digunakan untuk pembuatan film verapamil pembanding. Pertama-tama verapamil HCl ditimbang sebanyak 1,25 g kemudian ditambahkan larutan asam asetat 1% v/v sebanyak 25 mL dan aquademineralisata sebanyak 10 mL.

3.4.8. Preparasi film

3.4.8.1. Preparasi sediaan film pembanding verapamil HCl

Eksipien kitosan-tripolifosfat dicampurkan dengan larutan verapamil pembanding sebanyak x mL (sesuai dosis yang dibutuhkan). Campuran kemudian dituang pada cetakan film (4x3 cm) lalu dikeringkan dalam suhu 40°C selama 24 jam. Setelah kering, film dilepaskan lalu dipotong sehingga mempunyai ukuran 2x1,5 cm dan mengandung verapamil HCl sebanyak ± 50 mg. Film kemudian dibungkus dalam aluminium foil dan disimpan dalam desikator untuk pengujian selanjutnya.

3.4.8.2. Preparasi sediaan film nanopartikel verapamil HCl

Eksipien kitosan-tripolifosfat dicampurkan dengan suspensi nanopartikel verapamil sebanyak x mL (sesuai dosis yang dibutuhkan). Campuran kemudian dituang pada cetakan film (4x3 cm) lalu dikeringkan dalam suhu 40°C selama 24 jam. Setelah kering, film dilepaskan lalu dipotong sehingga mempunyai ukuran 2x1,5 cm dan mengandung verapamil HCl sebanyak ± 50 mg. Film kemudian dibungkus dalam aluminium foil dan disimpan dalam desikator untuk pengujian selanjutnya.

Tabel 3. 2 Formulasi film verapamil HCl (untuk film seluas 12 cm²)

Formula	Kitosan-Tripolifosfat (%)	Suspensi nanopartikel verapamil (mL)	Larutan verapamil pembanding (mL)
A	2	x	-
B	2	-	x

Keterangan : “x” adalah banyaknya suspensi nanopartikel verapamil dan larutan verapamil hidroklorida yang akan ditambahkan sesuai dengan dosis verapamil dalam sediaan film, mengacu dari kadar verapamil tiap mL larutan

3.4.9. Evaluasi film

3.4.9.1. Penampilan fisik

Uji penampilan fisik dilakukan terhadap film yang meliputi uji terhadap bentuk, warna dan bau.

3.4.9.2. Uji keseragaman bobot dan ketebalan film (Semalty,M.,Semalty,A., dan Kumar G, 2008)

Berat film diukur dengan timbangan analitik sedangkan tebal film diukur dengan menggunakan mikrometer pada keempat sisi di sekeliling film.

3.4.9.3. Uji keseragaman kandungan film (Patel V.M.,Prajapati B.G., dan Patel M.M, 2007)

Kandungan obat diukur dengan melarutkan film dalam 400 mL medium dapar fosfat pH 6,8 selama 2 jam dengan pengadukan pengaduk magnetik. Larutan diambil 10,0 mL dan diencerkan dengan medium dapar fosfat pH 6,8 hingga 25,0 mL. Larutan ini disaring dengan kertas saring Whatman. Kandungan obat diukur spektrofotometer UV pada panjang gelombang yang sudah ditentukan. Uji ini dilakukan triplo.

3.4.9.4. Uji pH (Patel V.M.,Prajapati B.G., dan Patel M.M, 2007)

Film dibiarkan untuk mengembang selama 2 jam di dalam 10 mL aquadest pada wadah dan pH permukaan diukur dengan menggunakan pH meter

3.4.9.5. Uji daya mengembang (Mahalaxmi, Senthil, Prasad, Sudhakar dan Mohideen, 2010)

Film dibiarkan untuk mengembang di dalam 15 mL medium dapar fosfat pH 6,8 pada cawan petri. Film ini disimpan pada suhu $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam. Film diambil dari cawan petri dan dihilangkan airnya dengan kertas saring, kemudian film ditimbang. Film diamati pada waktu ke-15, 30, 60, 90 dan 120. Persen mengembang dapat diukur dengan persamaan berikut :

$$\text{Indeks Mengembang (\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\% \quad (3.2)$$

Dimana W_t adalah berat film pada waktu t dan W_0 adalah berat film pada waktu 0.

3.4.9.6. Uji ketahanan pelipatan film (Koland, Charyulu dan Prabhu, 2010)

Daya tahan pelipatan diukur dengan melipat film sebanyak 300 kali secara terus menerus. Daya tahan dapat dilihat dari jumlah pelipatan yang dilakukan di tempat yang sama sampai film sobek.

3.4.9.7. Uji kekuatan peregangan film (Koland, Charyulu dan Prabhu, 2010)

Uji kekuatan peregangan film dapat dilakukan dengan menggunakan alat *Texture Analyzer* yang dihubungkan dengan komputer dan dijalankan dengan Xtra Dimension Software. Film ditempatkan pada dua alat penjepit pada jarak 3 cm. Film ditarik dengan penjepit atas dengan kecepatan 100 mm/ menit. Kecepatan dan pemanjangan diukur sampai film sobek. Pengukuran dilakukan dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Elongasi} = \frac{(\text{panjang akhir film} - \text{panjang awal film})(\text{mm})}{\text{panjang awal film (mm)}} \times 100\% \quad (3.3)$$

$$\text{Tensile strength} = \frac{\text{gaya untuk memutuskan film (N)}}{\text{luas area film (mm}^2\text{)}} \quad (3.4)$$

3.4.9.8. Morfologi permukaan film dengan *scanning electron microscopy*

Scanning electron microscopy (SEM) digunakan untuk mempelajari morfologi film yang mengandung nanopartikel verapamil HCl dengan eksipien kitosan-tripolifosfat. Film ditempelkan pada holder dengan memakai lem khusus

kemudian dimasukkan ke dalam vakum evaporator untuk dilapisi dengan logam emas (Au). Kemudian sampel dimasukkan ke dalam alat SEM lalu diamati.

3.4.9.9. Uji kekuatan mukoadhesif

Uji kekuatan pelekatan film mukoadhesif dapat dilakukan dengan menggunakan alat *texture analyzer* yang dihubungkan dengan komputer dan dijalankan dengan Xtra Dimension Software. Jaringan bukal kambing yang didapatkan dari rumah penjalangan dibersihkan dan disimpan pada medium dapar fosfat pH 6,8. Sepotong film (6 cm²) ditempelkan di atas jaringan tersebut dan dibiarkan kontak selama 50 detik, kemudian diberikan cairan saliva. Jaringan dilekatkan pada lempeng yang tersedia pada alat dengan posisi mukosa dan film menghadap keluar. Alat dinyalakan dan *probe* diatur agar memberikan gaya sebesar 150 gf dengan kecepatan 0,5 mm/detik. Setelah itu *probe* diangkat dengan kecepatan 1 mm/detik. Kurva antara waktu dengan besar gaya yang diperlukan akan terekam pada alat hingga film lepas dari permukaan jaringan. Pengukuran akan didapatkan dalam bentuk kekuatan bioadhesif dalam satuan gram force (gf)

3.4.9.10. Waktu mukoadhesif (Patel V.M., Prajapati B.G., dan Patel M.M., 2007)

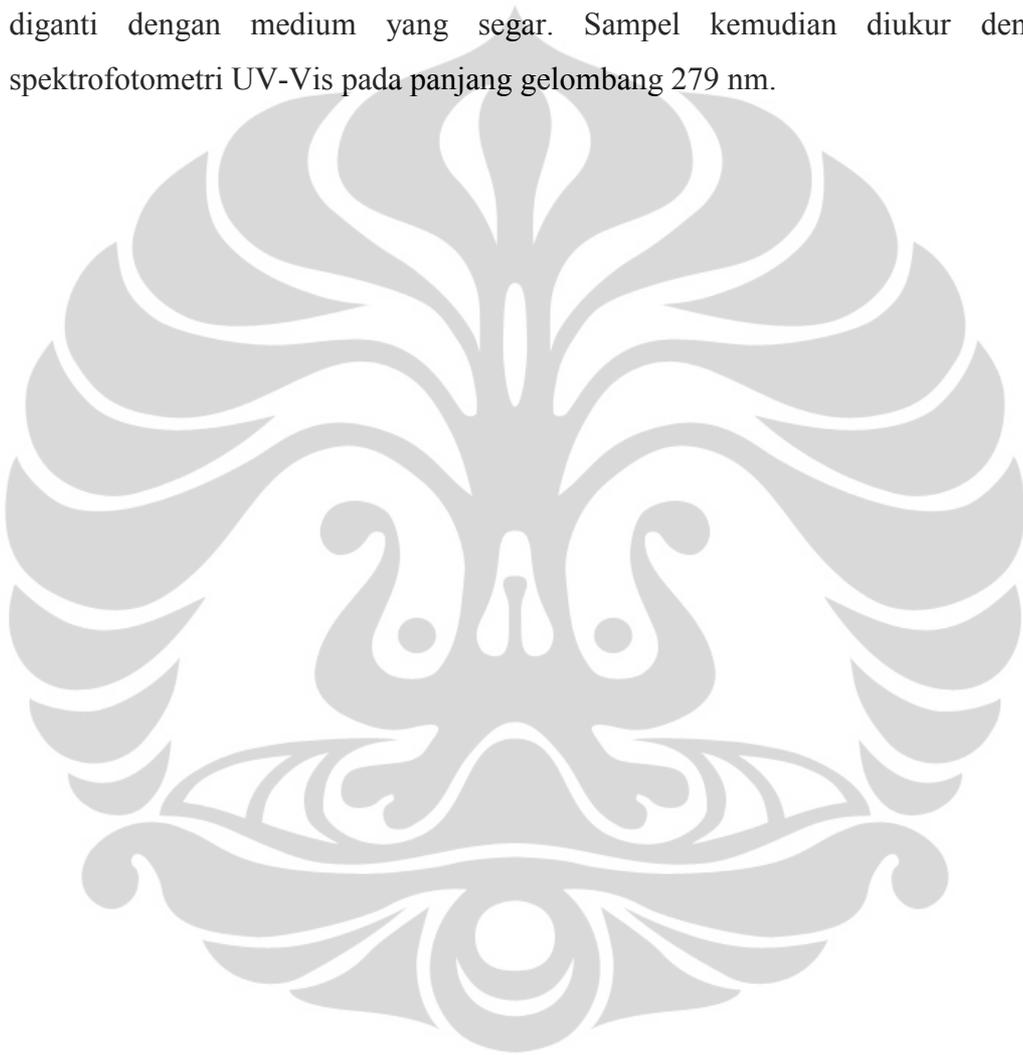
Uji waktu mukoadhesif dilakukan dengan memakaikan film pada jaringan bukal kambing. Jaringan bukal kambing yang didapatkan dari rumah penjalangan dibersihkan dan disimpan pada medium dapar fosfat pH 6,8. Jaringan dilekatkan pada bagian tengah kaca objek dengan lem sianokrilat dan ditempatkan di pinggir beaker 250 mL. Satu sisi dari film (0,25 cm²) dibasahi dengan medium dapar fosfat pH 6,8 dan dilekatkan pada jaringan bukal kambing dengan bantuan ujung jari selama 30 detik. Beaker diisi dengan 200 mL medium dapar fosfat pH 6,8 dan disimpan pada suhu 37°±0,5°C yang disertai dengan pengadukan pengaduk magnetik dengan kecepatan 50 rpm. Daya lekat film diamati selama 12 jam. Waktu mukoadhesif diukur dari waktu pelekatan film sampai film terlepas dari jaringan bukal kambing.

3.4.9.11. Pelepasan obat secara *in vitro* (Deshmane et al., 2009; Choudhury et al., 2010)

Uji pelepasan obat secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan alat disolusi yang dimodifikasi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan wadah disolusi beaker 500 mL. Uji ini dilakukan dengan menggunakan 2 metode.

Universitas Indonesia

Metode yang pertama menggunakan keranjang kecil sebagai tempat sediaan sedangkan pada metode yang kedua film ditempel ke kaca objek menggunakan lem sianokrilat dan dimasukkan ke dalam beaker. Medium disolusi yang digunakan adalah larutan dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 400 mL. Pelepasan obat diuji pada suhu $37^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ dengan kecepatan putar 50 rpm. Sampel diambil sebanyak 10 mL menggunakan pipet terukur pada interval waktu tertentu dan diganti dengan medium yang segar. Sampel kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 279 nm.



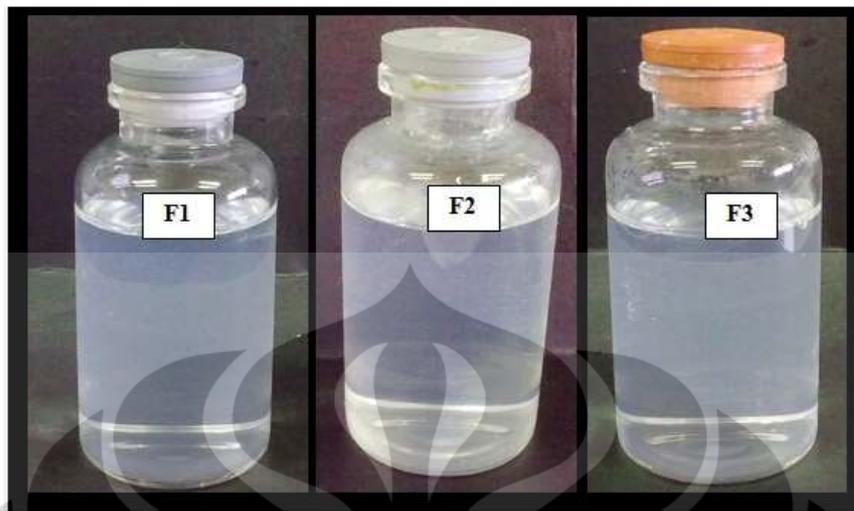
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Preparasi nanopartikel

Tahap pertama pada penelitian ini yaitu pembuatan nanopartikel dengan menggunakan metode gelas ionik. Nanopartikel yang dihasilkan berdasarkan interaksi ionik antara kitosan dengan natrium tripolifosfat. Penggunaan tripolifosfat sebagai agen taut silang kitosan adalah untuk membentuk nanopartikel dan untuk memperkuat formasi nanopartikel yang terbentuk. Muatan yang berlawanan antara kitosan dengan tripolifosfat menyebabkan pembentukan partikel secara spontan (Boonsongrit, Ampol dan Bernd, 2006) . Selain itu, berdasarkan penelitian Moura et al (2009) bahwa peningkatan konsentrasi kitosan dan tripolifosfat akan meningkatkan ukuran partikel yang terbentuk.

Preparasi nanopartikel dilakukan dengan 3 metode. Perbedaan antara metode 1, 2 dan 3 adalah pada penambahan larutan tripolifosfat ke dalam campuran kitosan dan verapamil HCl. Ketiga metode ini digunakan untuk mendapatkan metode yang paling efisien dalam pembuatan nanopartikel. Pada formula 1 (F1) ditetaskan dengan kecepatan 0,75 mL/menit dengan bantuan pengaduk magnetik stirrer 400 rpm, formula 2 (F2) ditetaskan dengan kecepatan 0,75 mL/menit dengan pengaduk magnetik stirrer 400 rpm lalu dihomogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, dan formula 3 (F3) larutan tripolifosfat langsung dituang ke dalam campuran kitosan dan verapamil HCL sambil dihomogenizer dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Perubahan yang terlihat adalah berubahnya larutan kitosan yang sebelumnya jernih menjadi larutan koloid setelah dicampur tripolifosfat (Gambar 4.1).



Gambar 4. 1 Suspensi nanopartikel

4.2. Karakterisasi nanopartikel

4.2.1. Ukuran dan distribusi ukuran partikel

Ukuran dan distribusi ukuran partikel merupakan karakteristik yang paling penting di dalam suatu sistem nanopartikel. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa partikel dengan ukuran nano memiliki sejumlah kelebihan dibandingkan mikropartikel sebagai sistem penghantaran obat. Umumnya nanopartikel memiliki serapan intraseluler yang relatif lebih tinggi dan sasaran biologis yang lebih luas daripada mikropartikel (Jahanshahi dan Babaei, 2008).

Pada penelitian ini, nanopartikel yang dihasilkan memiliki ukuran partikel sebesar 72,57 nm untuk F1, 66,70 nm untuk F2, dan F3 sebesar 62,20 nm. Perbedaan dalam masing-masing formula hanya pada cara penambahan larutan tripolifosfat saja karena salah satu faktor yang mempengaruhi ukuran partikel yang terbentuk adalah dari kecepatan putaran yang digunakan. Semakin cepat putaran yang digunakan memberikan hasil semakin kecil ukuran partikel yang terbentuk. Ukuran partikel merupakan salah satu faktor yang paling signifikan dalam menentukan efisiensi penyerapan nanopartikel dalam jaringan mukosa dan epitel (Hongqian, Lin dan Hongbin, 2008).

Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Rentang indeks polidispersitas berada diantara 0 sampai dengan 1. Nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukkan dispersi yang homogen. Sedangkan indeks polidispersitas dengan nilai lebih dari 0,5 menunjukkan heterogenitas yang tinggi (Avadi et al., 2010). Hasil dari ketiga formula ini memiliki indeks polidispersitas sekitar 0,2-0,4 sehingga ketiga formula menunjukkan dispersi yang relatif homogen.

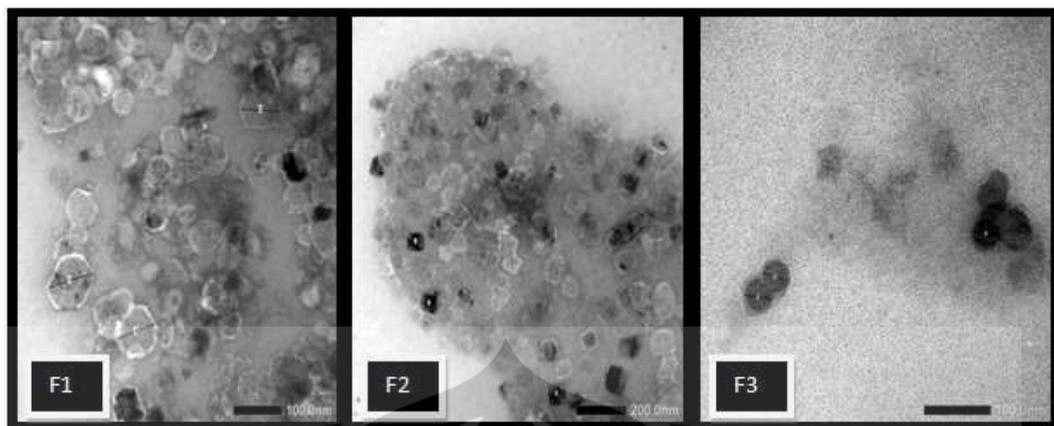
4.2.2. Potensial zeta

Potensial zeta diukur untuk memprediksi kestabilan dari koloid. Interaksi antara partikel mempunyai peranan penting dalam stabilitas dari suatu koloid. Potensial zeta merupakan ukuran kekuatan tolak menolak antara partikel. Sebagian besar sistem koloid dalam air distabilkan oleh gaya tolak elektrostatik, semakin besar kekuatan tolak menolak antara partikel maka semakin kecil kemungkinan partikel untuk bergabung dan membentuk agregat. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih dari +/- 30 mV telah terbukti stabil dalam suspensi sebagai muatan permukaan yang mencegah agregasi. (Mohanraj dan Chen, 2006).

Potensial zeta dari masing-masing formula adalah +18,37, +21,72 dan +26,05. Residu dari gugus amin menyebabkan potensial zeta yang positif. Semakin tinggi nilai potensial zeta maka semakin stabil nanopartikel yang terbentuk. Efek ini berhubungan dengan pengikatan gugus anionik oleh gugus amin yang panjang dari kitosan untuk menjaga nilai elektrik yang tinggi sehingga dapat mencegah terjadinya agregasi (Avadi et al., 2010). Dari hasil ini, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kestabilan dari larutan nanopartikel ini.

4.2.3. Morfologi nanopartikel

Transmission electron microscope (TEM) merupakan metode yang digunakan untuk mengevaluasi ukuran partikel dan morfologi dari nanopartikel (Vaughn dan Williams, 2007). Dari hasil pengamatan, diperoleh bentuk yang paling bulat terdapat di formula 3. Morfologi nanopartikel dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4. 2 Hasil pengamatan bentuk nanopartikel yang diamati dengan *Transmission Electron Microscopy*

4.2.4. Uji penyerapan

Efisiensi penyerapan sangat bergantung pada kelarutan obat yang stabil dalam material matriks atau polimer, dimana akan berkaitan dengan komposisi polimer, bobot molekul, dan interaksi antara obat dengan polimer. Besarnya penyerapan pada masing-masing formula adalah sebesar 16,26% untuk formula 1; 16,28% untuk formula 2 dan 16,42% untuk formula 3. Hal tersebut kemungkinan disebabkan jumlah obat yang ditambahkan terlalu tinggi dan tidak sebanding dengan jumlah polimer yang digunakan. Namun, jika jumlah polimer ditambahkan maka akan terjadi peningkatan ukuran partikel.

Tabel 4. 1 Karakterisasi nanopartikel

Formula	Ukuran partikel (nm)	Indeks polidispersitas	Potensial Zeta (mV)	Efisiensi penyerapan (%)
1	72,57±38,23	0,4460 ± 0,12	18,37±2,64	16,26±0,09
2	66,70 ± 4,10	0,2905 ± 0,01	21,72±0,09	16,28±0,04
3	62,20 ± 0,60	0,293 ± 0,041	26,05±0,59	16,42±0,19

Keterangan : Tiap angka menunjukkan ± SD (n=2)

4.2.5. Pengeringan nanopartikel

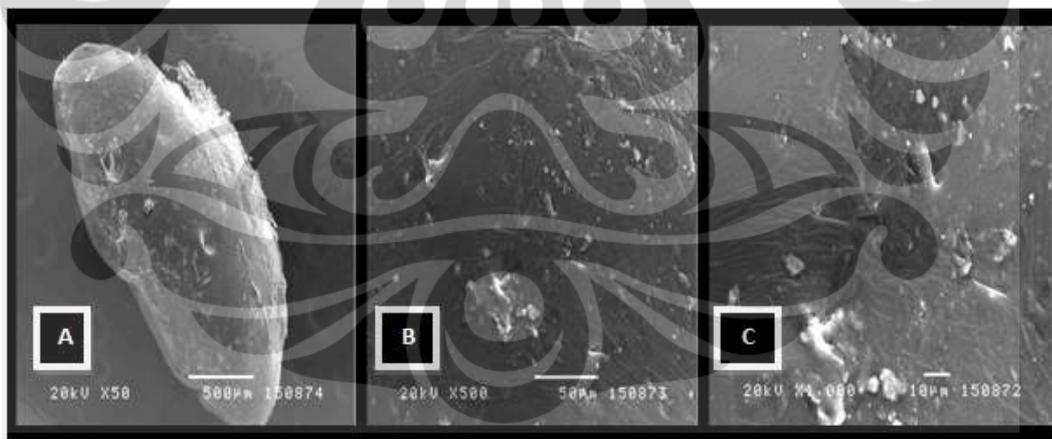
Pengeringan nanopartikel dilakukan dengan menggunakan alat *freeze dryer*. Hasil serbuk nanopartikel dapat dilihat pada Gambar 4.3



Gambar 4. 3 Serbuk nanopartikel

4.2.6. Morfologi serbuk nanopartikel dengan SEM

Uji SEM ini dilakukan untuk mengetahui bentuk permukaan dari serbuk nanopartikel yang dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Hasil uji SEM dapat dilihat pada Gambar 4.4



Gambar 4. 4 Hasil SEM serbuk nanopartikel (A) perbesaran 50x, (B) perbesaran 500x, dan (C) perbesaran 1000x

4.2.7. Analisis gugus fungsi

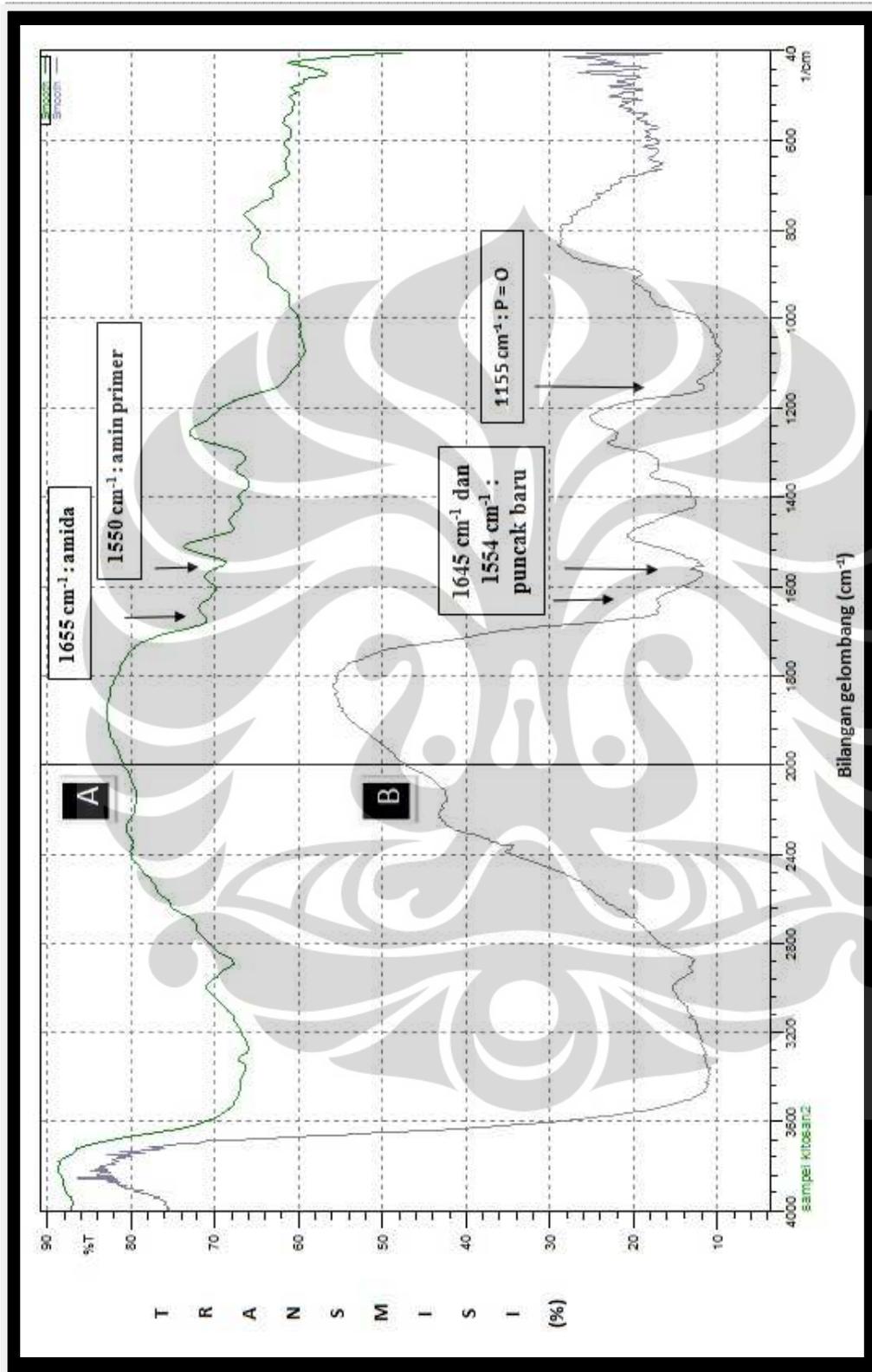
Hasil analisis FT-IR dapat dilihat pada Gambar 4.5 untuk kitosan dan kitosan-tripolifosfat. Pada spektrum FT-IR dari kitosan muncul puncak pada bilangan gelombang 1665 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus amida dan

muncul puncak pada bilangan gelombang 1550 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus amin primer. Sedangkan pada kitosan yang tertaut silang dengan tripolifosfat, puncak pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} menghilang dan muncul 2 puncak baru pada 1645 cm^{-1} dan 1554 cm^{-1} . Hilangnya bilangan gelombang tersebut kemungkinan diakibatkan terjadinya ikatan antara ion fosfor dan amonium. Kitosan yang mengalami tautan silang juga menunjukkan puncak untuk gugus P=O pada bilangan gelombang 1155 cm^{-1} .

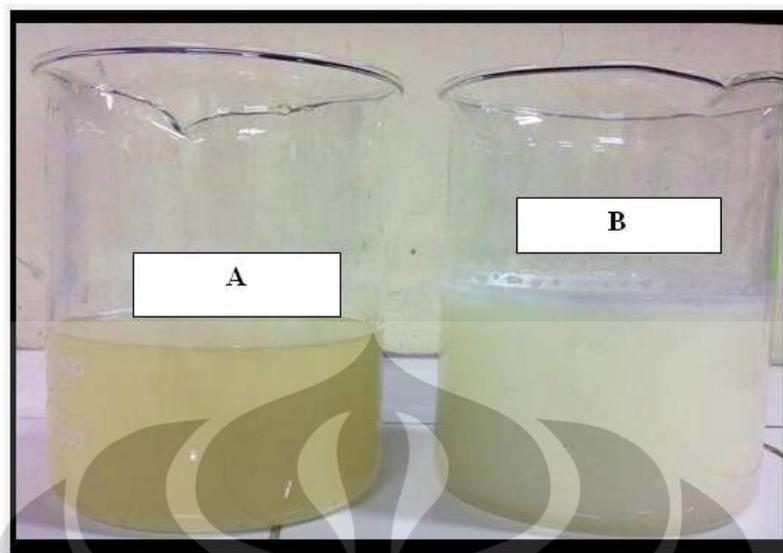
4.3. Pembuatan eksipien kitosan-tripolifosfat

Tahap selanjutnya yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan eksipien dengan cara mereaksikan kitosan dengan natrium tripolifosfat pH 9,08. Pembentukan kitosan-tripolifosfat merupakan reaksi taut silang, yaitu reaksi yang terjadi akibat adanya interaksi antara dua muatan yang berbeda, NH_3^+ dari kitosan dengan ion tripolifosfat dari natrium tripolifosfat. Kitosan-tripolifosfat dibuat dengan mereaksikan larutan kitosan dalam asam asetat (3% b/v) dengan larutan natrium tripolifosfat dalam aquademineralisata (0,145% b/v). Penggunaan aquademineralisata sebagai pelarut natrium tripolifosfat dikarenakan sifat kelarutan natrium tripolifosfat yang mudah larut dalam aquademineralisata. Selain itu, penggunaan asam asetat sebagai pelarut kitosan dikarenakan sifat kelarutan kitosan yang lebih mudah larut dalam asam lemah dibandingkan dalam asam kuat, contohnya HCl.

Hasil sintesis yang diperoleh setelah pencampuran larutan kitosan dengan larutan natrium tripolifosfat dapat dilihat pada Gambar 4.6. Pada hasil sintesis, terjadi perubahan warna dari larutan kitosan yang berwarna kuning kecokelatan menjadi warna kuning muda. Selain itu, terjadi perubahan pH dari larutan kitosan yang memiliki pH 3 menjadi 4,78 setelah ditambahkan larutan tripolifosfat. Hal ini disebabkan penambahan larutan natrium tripolifosfat yang memiliki pH sebesar 9,08 sehingga menyebabkan peningkatan pH larutan hasil sintesis.



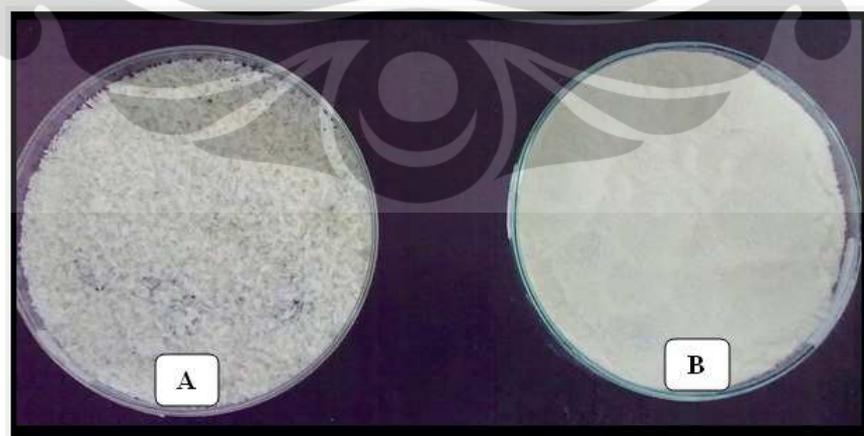
Gambar 4. 5 Spektrum IR (A)Kitosan (B) Kitosan-Tripolifosfat



Keterangan : (A) Larutan Kitosan (B) Larutan Kitosan-Tripolifosfat

Gambar 4. 6 Larutan kitosan sebelum dan sesudah ditambahkan tripolifosfat

Serbuk yang dihasilkan dari sintesis larutan kitosan-tripolifosfat memiliki perbedaan secara organoleptis dengan kitosan. Kitosan memiliki bentuk seperti *flakes* dan berwarna putih gading, sedangkan hasil sintesis kitosan-tripolifosfat berwarna kuning muda. Perubahan warna ini disebabkan warna larutan hasil sintesis yang berwarna kuning muda. Selain itu, serbuk kitosan-tripolifosfat agak berbau asam, hal ini disebabkan karena penggunaan asam asetat sebagai pelarut kitosan. Perbedaan serbuk hasil sintesis dengan kitosan dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Keterangan : (A) Kitosan (B) Serbuk Kitosan-Tripolifosfat

Gambar 4. 7 Serbuk kitosan dan kitosan tripolifosfat

4.4. Pembuatan film bukal

Pada penelitian ini, film bukal dibuat dengan menggunakan kitosan-tripolifosfat sebagai eksipien dan verapamil hidroklorida sebagai model obat yang digunakan. Verapamil HCl adalah obat aritmia kelas IV yang merupakan penghambat kanal Ca^{++} . Absorpsi secara oral sebanyak 90% tetapi bioavaibilitasnya hanya sekitar 20% karena mengalami efek metabolisme lintas pertama di hati sehingga obat ini cocok dijadikan model obat untuk sediaan film bukal (Martindale, 1982).

Film bukal dibuat dengan 2 formulasi yaitu dengan menggunakan larutan nanopartikel verapamil dan larutan verapamil pembanding. Penggunaan larutan nanopartikel verapamil masih merupakan campuran dari nanopartikel verapamil HCl dan verapamil HCl yang bebas. Alasan digunakan larutan nanopartikel verapamil ini adalah karena nanopartikel yang terbentuk tidak dapat dipisahkan dari verapamil HCl yang bebas. Dari uji kadar larutan nanopartikel verapamil, didapatkan hasil di dalam 1 mL larutan nanopartikel verapamil HCl mengandung verapamil HCl sebanyak $\pm 35,73$ mg. Untuk mendapatkan 200 mg Verapamil HCl yang akan digunakan dalam pembuatan film bukal seluas 12 cm^2 diperlukan 5,6 mL larutan nanopartikel verapamil HCl. Jumlah eksipien kitosan-tripolifosfat yang digunakan adalah sebesar 112 mg. Konsentrasi ini didapatkan dari hasil optimasi yang dilakukan sebelumnya untuk mendapatkan sediaan film yang baik. Film yang terbentuk kemudian dipotong sehingga mempunyai ukuran sebesar $2 \times 1,5 \text{ cm}$ dan mengandung verapamil hidroklorida sebanyak ± 50 mg per potong. Selanjutnya dilakukan evaluasi terhadap film bukal yang dihasilkan.

Tabel 4. 2 Formulasi film verapamil HCl (untuk film seluas 12 cm^2)

Formula	Kitosan-Tripolifosfat (mg)	Suspensi nanopartikel verapamil (mL)	Larutan verapamil pembanding (mL)
A	112	5,6	-
B	112	-	5,6

4.5. Evaluasi film bukal

Film bukal yang dihasilkan berbentuk tipis dan agak berbau asam. Bau asam ini dikarenakan penggunaan asam asetat dalam larutan nanopartikel maupun larutan verapamil pembanding. Film bukal dari nanopartikel maupun pembanding berwarna kuning muda. Hal ini disebabkan oleh warna eksipien kitosan-tripolifosfat sendiri yang berwarna kuning sehingga mempengaruhi warna film bukal yang dibuat (Gambar 4.8). Evaluasi dari film bukal dapat dilihat pada Tabel 4.2.



Gambar 4. 8 (A) Film nanopartikel (B) Film pembanding

Film bukal dari larutan nanopartikel maupun larutan pembanding memiliki bobot yang relatif seragam yaitu $90,04 \pm 0,71$ mg untuk film nanopartikel verapamil dan $90,07 \pm 1,11$ mg untuk film verapamil pembanding.

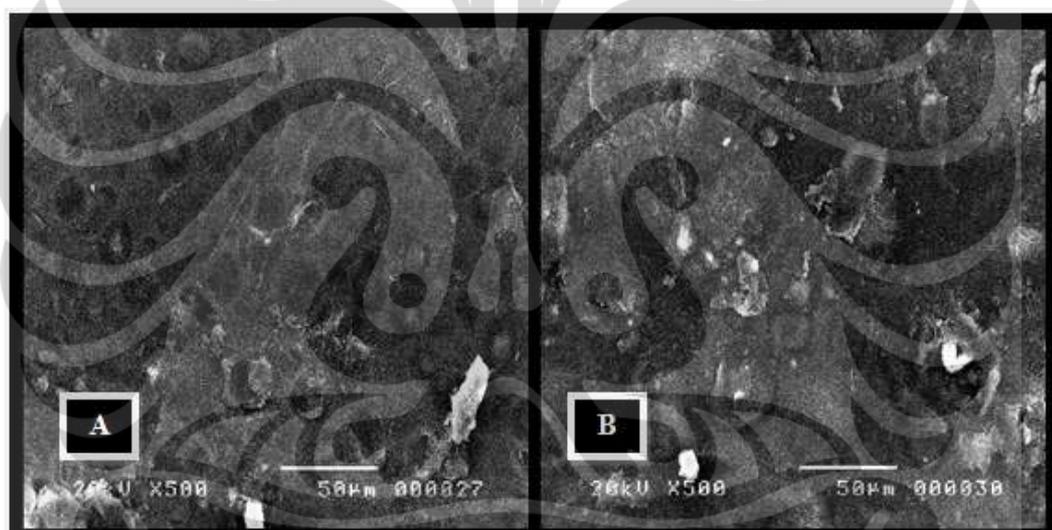
Tingkat keasaman atau kebasahan dari permukaan film bukal mukoadhesif diukur dengan tujuan untuk melihat kemungkinan terjadinya efek samping pada saat sediaan digunakan. Film bukal yang dihasilkan memiliki pH $5,06 \pm 0,09$ untuk film nanopartikel verapamil dan $4,72 \pm 0,12$ untuk film verapamil pembanding. Namun film yang dibuat dari suspensi nanopartikel verapamil masih memenuhi persyaratan bila digunakan pada bukal karena masih mendekati nilai pH netral sehingga diperkirakan tidak ada iritasi pada mukosa bukal.

Universitas Indonesia

Uji kandungan obat merupakan evaluasi yang dilakukan untuk menilai cara kerja pembuatan sediaan sehingga dirasa cukup untuk menghasilkan sediaan yang bisa diaplikasikan. Kandungan obat pada film bukal yaitu berkisar antara $50,07 \pm 0,26$ mg sampai $50,51 \pm 0,44$ mg. Dengan demikian film bukal yang dihasilkan mempunyai kandungan obat yang sesuai dengan rancangan.

4.5.1. Bentuk permukaan film

Bentuk permukaan film bukal dapat dilihat pada Gambar 4.9. Dari gambar, dapat dilihat bahwa permukaan film A dan B memiliki permukaan yang tidak rata dan berongga. Bentuk permukaan film diamati untuk mengetahui karakteristik dan sifat film yang dibuat. Adanya pori dan rongga pada permukaan film akan membantu mempercepat pelepasan obat dari permukaan film dan meningkatkan sifat mukoadhesifnya pada mukosa bukal.



Gambar 4. 9 Bentuk permukaan film (A) Film nanopartikel (B) Film pembanding

4.5.2. Uji sifat mekanis film

Kekuatan peregangan (*tensile strength*) didefinisikan sebagai ketahanan suatu bahan terhadap gaya yang diberikan agar robek, sedangkan persen elongasi merupakan pengukuran terhadap bentuk maksimum yang dapat dibentuk sebelum film merobek (Morales dan Mc.Conville, 2011). Dari hasil pengujian, didapatkan bahwa nilai kekuatan peregangan pada F2 ($2,51 \text{ N/mm}^2$) lebih rendah dari F1 ($3,57 \text{ N/mm}^2$). Elastisitas film dapat dilihat dari % elongasi yang memberikan hasil bahwa elastisitas F2 (23,33%) memiliki nilai elastisitas yang lebih kecil jika

dibandingkan dengan F1 (40,11%). Hal ini menunjukkan bahwa nanopartikel dari kitosan-tripolifosfat dapat meningkatkan elastisitas film. Hasil yang sama juga dinyatakan oleh Moura et al (2009) yang menyatakan bahwa nanopartikel kitosan-tripolifosfat dalam film HPMC meningkatkan ketahanan dan kekuatan mekanisnya.

Kekuatan peregangan dan persen elongasi merupakan evaluasi mekanis terhadap penggunaan polimer untuk film bukal. Film bukal yang lunak dan tidak kuat mempunyai nilai kekuatan peregangan dan persen elongasi yang kecil, sedangkan film bukal yang kuat dan rapuh mempunyai nilai kekuatan peregangan yang besar dan nilai persen elongasi yang kecil. Film bukal yang ideal adalah film bukal yang mempunyai nilai kekuatan peregangan dan nilai persen elongasi yang besar (Peh dan Wong, 1999).

Ketahanan pelipatan dinilai dengan melipat film bukal secara manual sebanyak 300 kali dan dilihat waktu yang dibutuhkan film untuk rusak. Dari uji ini, semua film bukal yang dibuat tidak rusak walaupun dilipat sebanyak 300 kali. Dari kedua uji ini, dinilai bahwa film bukal yang dihasilkan cukup baik sebagai sediaan farmasi.

4.5.3. Uji mukoadhesif

Pada penelitian ini digunakan dua evaluasi yaitu kekuatan bioadhesif dan waktu mukoadhesif untuk melihat sifat mukoadhesifitas pada film bukal yang dihasilkan (Tabel 4.2). Kekuatan bioadhesif diukur dengan menggunakan alat *texture analyzer*. Nilai bioadhesif didapatkan dari gaya maksimum yang dibutuhkan untuk memisahkan film dari mukosa bukal setelah diberi tekanan dengan nilai tertentu. Semakin besar gaya yang diperlukan maka semakin besar juga kekuatan bioadhesifnya.

Untuk uji mukoadhesif ini digunakan jaringan bukal kambing yang masih segar dan digunakan tidak lebih dari 24 jam. Nilai kekuatan bioadhesif dipengaruhi oleh membran bukal yang digunakan, kapasitas ikatan hidrogen, daya mengembang, konsentrasi polimer dan faktor lingkungan (Miller, Chittchang, dan Johnston, 2005). Kemampuan polimer untuk membentuk ikatan hidrogen merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi daya mukoadhesifnya (Miller, Chittchang, dan Johnston, 2005). Dari hasil yang diperoleh, nilai

bioadhesif antara kedua formula hampir sama yaitu $6,63 \pm 0,12$ gf untuk film nanopartikel dan $6,7 \pm 0,08$ gf untuk film pembanding.

Pada film bukal fenomena mukoadhesif yang terjadi sangat kompleks karena terdiri dari interaksi matriks polimer kering yang mengalami hidrasi, melepaskan zat aktif dan terkadang terjadinya erosi (Morales dan Mc.Conville, 2011). Proses adhesi antara polimer dengan membran mukosa secara garis besar terdiri dari dua tahap yaitu proses pembasahan agar terjadi kontak dengan mukosa dan proses penggabungan melalui interaksi secara fisik maupun kimia. Karakteristik bahan yang digunakan adalah yang dapat terhidrasi dan mengembang dengan adanya air, mempunyai gugus fungsional yang mampu membentuk ikatan secara kimia dengan lapisan mukosa, dan yang dapat berinteraksi dan berpenetrasi terhadap lapisan mukus (Smart, 2005).

Waktu mukoadhesif merupakan waktu yang diberikan oleh film untuk dapat melekat pada membran bukal. Pengamatan terhadap film dilakukan secara visual dan waktu dicatat sampai film terlepas atau habis terlarut. Untuk kedua evaluasi ini juga digunakan bukal kambing yang diambil langsung dari rumah penjalangan dan dipakai pada waktu yang tidak lebih dari 24 jam. Bukal kambing yang telah diambil terlebih dahulu dibersihkan dengan NaCl fisiologis dan kemudian disimpan di dalam larutan dapar fosfat pH 6,8 pada suhu ruangan. Pada saat membersihkan bukal kambing, perlu diperhatikan bahwa cairan mukosa pada bukal kambing tidak boleh berkurang dan perlu dilakukan dengan hati-hati. Apabila cairan mukosa bukal berkurang, maka akan mempengaruhi hasil uji (Patel V.M., Prajapati B.G., dan Patel M.M, 2007).

Waktu mukoadhesif untuk film nanopartikel yaitu selama $95 \pm 2,45$ menit dan untuk film pembanding selama $95,33 \pm 2,49$ menit. Pengamatan pada film ini dilakukan sampai film terlepas dari jaringan bukal yang digunakan. Evaluasi waktu mukoadhesif ini dapat memberikan gambaran tentang fenomena adhesifitas pada film bukal.

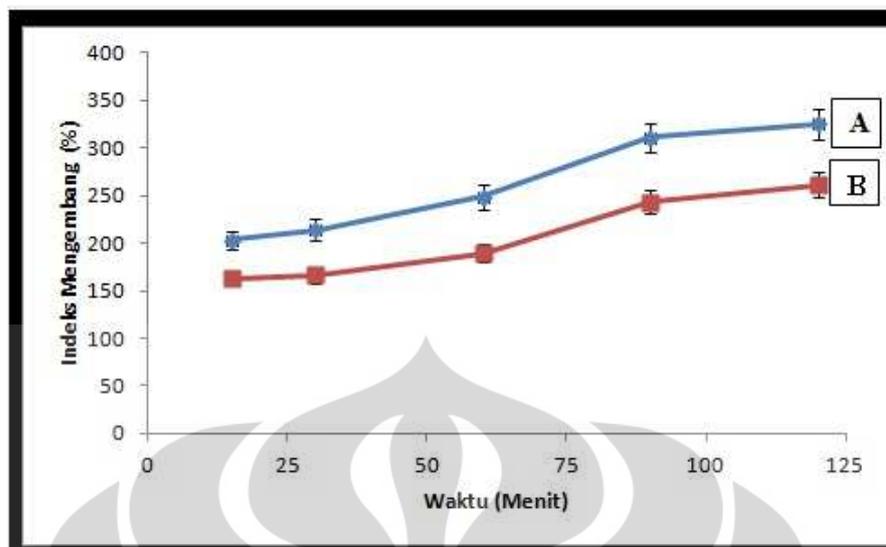
Tabel 4. 3 Evaluasi Film

Evaluasi	Film nanopartikel verapamil (F1)	Film verapamil pembeding (F2)
Keseragaman bobot (mg)	90,4 ± 0,71	90,07 ± 1,11
Keseragaman tebal (mm)	0,23 ± 0,02	0,25 ± 0,04
pH	5,06 ± 0,09	4,72 ± 0,12
Kandungan Obat (mg)	50,51 ± 0,44	50,07 ± 0,26
Ketahanan Pelipatan	>300	>300
Kekuatan Peregangan (N/mm ²)	3,57 ± 0,49	2,51 ± 0,67
% Elongasi (%)	40,11 ± 2,9	23,33 ± 0,54
Kekuatan Mukoadhesif (gf)	6,63 ± 0,12	6,7 ± 0,08
Waktu Mukoadhesif (Menit)	95 ± 2,45	95,33 ± 2,49

4.5.4. Uji daya mengembang

Pada penelitian ini, daya mengembang film bukal diukur dengan melihat besarnya peningkatan massa film bukal yang dibiarkan dalam larutan dapar fosfat pH 6,8 selama 2 jam. Peningkatan massa bukal menggambarkan jumlah air yang diserap atau peningkatan hidratisasi yang terjadi. Tingkat hidratisasi polimer akan menunjukkan kemampuan polimer mukoadhesif untuk menginduksi terjadinya mobilitas rantai polimer yang memperbesar proses interpenetrasi antar polimer dan mucin. Daya mengembang film juga memperlihatkan sifat bioadhesif sediaan dengan membentuk ikatan hidrogen ataupun interaksi elektrostatik antara polimer dan jaringan mukus (Semalty, M., Semalty, A., dan Kumar G, 2008).

Pada penelitian ini, persentasi hasil evaluasi daya mengembang menunjukkan daya mengembang F1 lebih besar dibandingkan F2 (Gambar 4.10). Kedua film bukal ini membentuk massa gel pada akhir evaluasi atau setelah dua jam berada pada medium. Kitosan-tripolifosfat yang digunakan bersifat hidrofilik dan memiliki kemampuan mengembang pada medium dapar fosfat pH 6,8 yang lebih baik dibandingkan dengan kitosan (Ifthah, 2011). Penggunaan polimer yang bersifat hidrofilik akan meningkatkan kemampuan film agar terbasahi dan mempermudah air untuk berpenetrasi ke dalam film. Adanya protonasi NH_2 dan adanya ion tripolifosfat dapat meningkatkan gugus polar dari struktur kitosan termodifikasi sehingga meningkatkan penyerapan medium yang digunakan (Ifthah, 2011). Hal inilah yang menyebabkan kedua formula membentuk massa gel pada akhir pengujian.



Gambar 4. 10 Evaluasi daya mengembang film bukal dalam larutan dapar fosfat pH 6,8. Setiap titik menunjukkan rata-rata \pm SD (n=3).

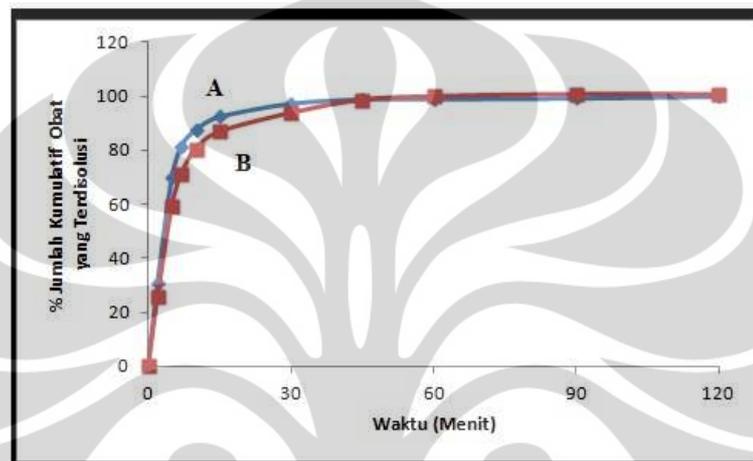
(A) Film nanopartikel (B) Film pembanding

4.5.5. Uji pelepasan obat secara *in vitro*

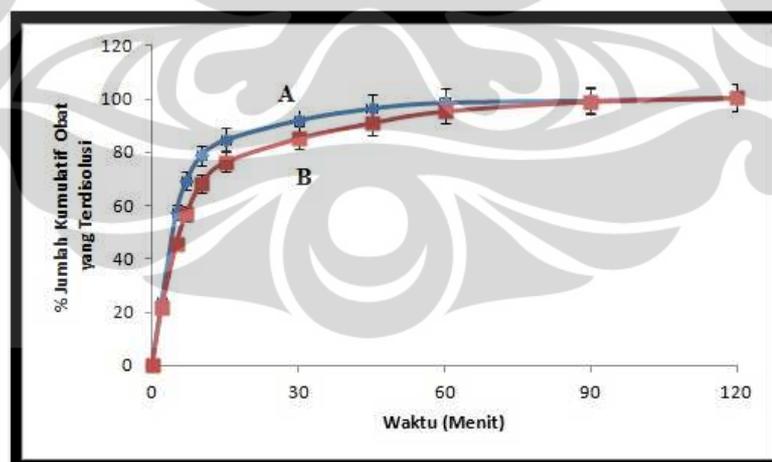
Uji pelepasan obat dalam penelitian ini dilakukan pada larutan dapar fosfat pH 6,8 dengan waktu pengujian selama 120 menit. Suhu larutan dijaga sesuai dengan suhu normal tubuh manusia yaitu $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ dengan pengadukan kontinu pada kecepatan 50 rpm. Uji pelepasan obat ini dilakukan dengan alat disolusi berupa gelas beaker 500 mL dengan 2 metode yaitu menggunakan bantuan keranjang kecil dan kaca objek sebagai tempat sediaan. Disolusi dilakukan pada alat modifikasi ini karena mempertimbangkan jumlah zat aktif pada film bukal yang relatif kecil sehingga diperlukan wadah disolusi yang lebih kecil untuk dapat mendeteksi kadar obat yang terdisolusi. Pada metode 1 dimana film ditempatkan di dalam keranjang kecil sedangkan pada metode 2 dimana film ditempel di kaca objek menggunakan lem sianokrilat dengan pertimbangan obat keluar hanya dari satu sisi saja. Sampel diambil selama interval waktu yang ditentukan dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang 279 nm. Verapamil HCl digunakan sebagai model obat.

Dari hasil kedua metode yang digunakan, terdapat perbedaan yaitu pada metode 1 70-80% obat sudah keluar saat tujuh menit pertama (Gambar 4.11) sedangkan pada metode 2 membutuhkan waktu sekitar 15 menit untuk mencapai jumlah obat yang sama (Gambar 4.12). Hal ini dikarenakan pada metode 2 obat

yang keluar hanya dari satu sisi film sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama. Namun, dari kedua metode ini sama-sama memberikan hasil bahwa pelepasan obat dari film yang mengandung nanopartikel lebih cepat dibandingkan film standar. Perbedaan ini disebabkan karena pada nanopartikel sudah terjerap sejumlah obat sehingga saat lepas maka kadar obat yang terdeteksi menjadi lebih besar dibandingkan film pembanding. Kedua film membentuk massa gel pada akhir disolusi.



Gambar 4.11 Profil disolusi film bukal dalam larutan dapar fosfat pH 6,8 suhu $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam dengan metode 1. Setiap titik menggambarkan rata-rata \pm SD (n=3)
(A) Film nanopartikel (B) Film pembanding



Gambar 4.12 Profil disolusi film bukal dalam larutan dapar fosfat pH 6,8 suhu $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam dengan metode 2. Setiap titik menggambarkan rata-rata \pm SD (n=3)
(A) Film nanopartikel (B) Film pembanding

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

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

1. Kitosan berhasil dimodifikasi dengan reaksi taut silang menggunakan natrium tripolifosfat sebagai agen taut silang untuk membentuk nanopartikel. Dispersi nanopartikel yang terbentuk memiliki ukuran partikel sebesar 62,2 nm, indeks polidispersitas sebesar 0,293, potensial zeta sebesar +26,05 mV, efisiensi penjerapan sebesar 16,36% dan berbentuk sferis.
2. Film nanopartikel verapamil memiliki sifat mekanis yang lebih baik dibandingkan film verapamil pembanding
3. Film nanopartikel verapamil memiliki pelepasan yang lebih cepat (81,53%) dibandingkan film verapamil pembanding (71,2%) dalam waktu 7 menit.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk pembuatan sediaan dari nanopartikel yang telah dipisahkan dari zat aktif bebasnya dan optimasi metode yang optimum agar penjerapan semakin baik. Selain itu perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kestabilan dari nanopartikel dengan nilai potensial zeta antara 25-30 mV dan optimasi formulasi film bukal dengan menggunakan kombinasi kitosan-tripolifosfat dan polimer mukoadhesif lainnya.

DAFTAR ACUAN

- Aiedeh, K dan Taha M. O. (1999). Synthesis of Chitosan Succinate and Chitosan phtalate and Their Evaluation as Suggestes Matrices in Orally Administered, Colon Specific Drug Delivery System. *Arch. Pharm. Med. Chem.* 332, 103-107.
- Avadi, M. R., Assal M. M. S., Nasser M., Saideh A., Fatemeh A., Rassoul D., dan Morteza R. (2010). Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticles Using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelation Method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 6, 58–63.
- Bagian Farmakologi FK UI. (1995). *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: FK UI. 289-314.
- Bhumkar, D.R dan Pokharkar V.B. (2006). Studies on Effect of pH on Crosslinking of Chitosan with Natrium Tripolyphosphate: A Technical Note. *AAPS PharmSciTech* 7 (2) Article 50.
- Bodnar, M., Hartmann J. F. dan Borbely J. (2005). Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanoparticles. *Biomacromoleculs*, 2521-2527.
- Boonsongrit, Y., Ampol M., dan Bernd W.M. (2006). Chitosan Drug Binding by Ionic Interaction. *European J. of Pharmaceu. And Biopharmaceu.*, 267-274.
- Carvalho, F.C., Bruschi M. L., Evangelista R. C. Dan Gremiao M. P. D. (2010). Mucoadhesive Drug Delivery System. *Brazilian J. of Pharmaceu. Sci. Vol.46.*, 1-17.
- Champagne, L. M. (2008). The Synthesis of Water Soluble n-acyl Chitosan Derivatives for Characterization as Antibacterial Agents. *Academic Dissertation The Department of Chemistry, B.S Xavier University of Louisiana*.
- Choudhury, Ananta, Das S., Dhangar S., Kapasiya S. dan Kanango A. (2010). Development and Characterization Buccoadhesive Film of Ciprofloxacin Hydrochloride. *Int. J. of Pharm. Tech. Res. Vol.2.*, 1050-1057.
- Delie, F. dan Blanco-Prieto M.J. (2005). Polymeric Particulate to Improve Oral Bioavaibility of Peptide Drugs. *Moleculs*, 65-80.

- Departemen Kesehatan RI. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: DepKes RI. 665-755.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: DepKes RI. 824-825.
- Deshmane, S.V., Channawar M. A., Chandewar A. V., Joshi U. M. Dan Biyani K. R. (2009). Chitosan Based Sustained Release Mucoadhesive Buccal Patches Containing Verapamil HCl. *Int. J. of Pharm. And Pharmaceu.Sci. Vol.1*, 216-229.
- Fattal,Elias dan Vauthier C. (2007). Drug Delivery Nanoparticles. Dalam: Swarbrick,James. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition Volume I*. New York: Informa Healthcare USA, 1183-1200
- Hoogstraate, J., Benes L., Burgaud S., Horriere F. dan Seyler I. (2005). Oral Trans-mucosal Drug Delivery. Dalam: A. M. Hillery, A.W, Lloyd dan J. Swarbrick. *Drug Delivery and Targeting System*. London: Taylor&Francis, 186- 206.
- Hongqian, Bao, Lin L., dan Hongbin Z. (2008). Influence of Cetyltrimethylammonium Bromide on Phsycochemical Properties and Microstructure of Chitosan-TPP Nanoparticles in Aqueous Solutions. *J. of Colloid and Interface Sci.*, 270-277.
- Illum,L. (1998). Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient. *Pharmaceutical Research*, Vol. 15. No. 9, 1326-1331.
- J.A. Ko, H.J. Park, Y.S. Park, S.J. Hwang, dan J.B. Park. (2003). Chitosan Microparticle Preparation for Controlled Drug Release by Response Surface Methodology. *J. Microencapsulation* Vol.20, 791-797.
- Jahanshahi,M. dan Babaei Z. (2008). Protein Nanoparticle : A Unique System as Drug Delivery Vehicles. *African J. of Biotech.* Vol.7, 4926-4934.
- K.,Umasankar dan Reddy U. M. (2010). Formulation and Evaluation of Cytarabine Nanoparticles. *Int. J. of Innovative Pharmaceu. Res.*, 48-52.
- Kellaway, I. W., Ponchel G. dan Duchene D. (2003). Oral Mucosal Drug Delivery. Dalam: Rathbone, M. J., Hadgraft, J., dan Roberts, M. S. *Modified Release Drug Delivery Technology*. New York dan Basel: Marcel Dekker, 349-369.

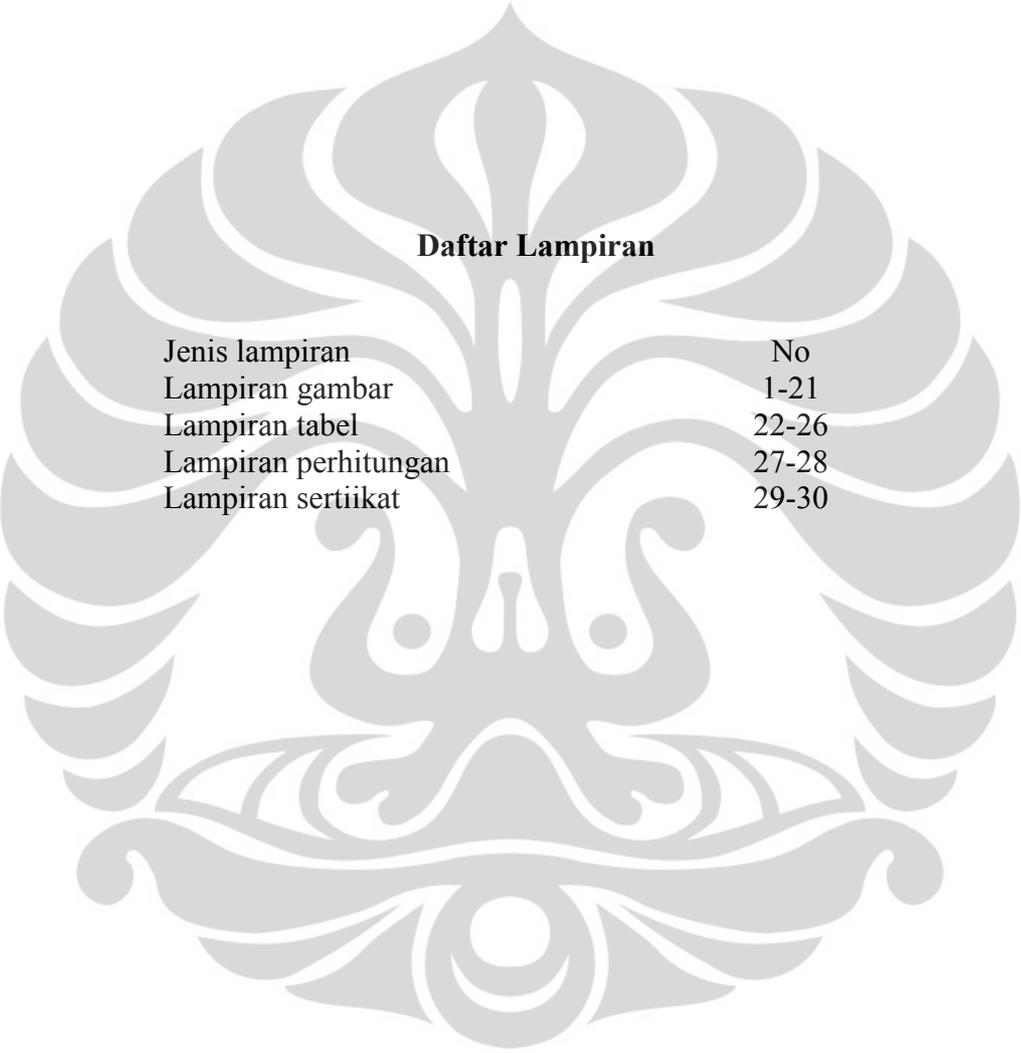
- Koland,M., Charyulu R.N. dan Prabhu P. (2010). Mucoadhesive Films of Losartan Potassium for Buccal Delivery : Design and Characterization. *Indian J. Pharm. Educ. Res.* 44(4), 315-323.
- Lifeng Qi, Zirong Xu, Xia Jiang, Hu Caihong dan Xiangfei Zou. (2004). Preparation and Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticles. *Carbohydrate Res.* 339. 2693-2700.
- Mahalaxmi,D., Senthil A., Prasad V., Sudhakar B. dan Mohideen S. (2010). Formulation dan Evaluation of Mucoadhesive Buccal Tablets of Glizipide. *Int. J. of Biopharmaceut.* 100-107.
- Mathiowitz, E. (1999). *Controlled Drug Delivery (Vol. 1 & 2)*. New York: John Wiley & Sons.
- Moura,M. R., Aouada F. A., Avena-Bustillos R.J., McHugh T.H., Krochta J.M. dan Mattoso L. H. C. (2008). Improved Barrier and Mechanical Properties of Novel Hydroxypropylmethylcellulose Edible Films with Chitosan/Tripolyphosphate Nanoparticles. *J. of Food Engineering* 92, 448-453.
- Martindale The Extra Pharmacopeia 28th Edition.* (1982). London: The Pharmaceutical Press., 1383-1385.
- McElnay, J. C. dan Hughes C. M. (2007). Drug Delivery: Buccal Route. Dalam: Swarbrick, J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Informa Healthcare, 1071-1081.
- Miller,N.S., Chittchang M. Dan Johnston T.P. (2005). The Use of Mucoadhesive Polymers in Buccal Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1666-1691.
- Mitra,A.K., Alur H.H. dan Johnston T.P. (2007). Peptides and Proteins : Buccal Absorption. Dalam: Swarbrick,J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York and London: Informa Healthcare, 2664-2677.
- Mohanraj, VJ dan Chen Y. (2006). Nanoparticles- A review. *Trop. J. of Pharmaceut. Res.*, 561-573.
- Morales, J.O., dan McConville J.T. (2011). Manufacture and Characterization of Mucoadhesive Buccal Film. *European J. of Pharmaceu. and Biopharmaceu.*, 187-199.

- Nur,Iftah. (2011). Preparasi dan Karakterisasi Kitosan-Tripolifosfat Sebagai Eksipien dalam Sediaan Farmasi. *Skripsi Farmasi Universitas Indonesia*. Depok: Universitas Indonesia.
- Park,K., dan Yeo,Y. (2007). Microencapsulation Technology. Dalam: Swabrick, J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 3rd ed*, volume 4. New York: Informa Healthcare USA, 2317.
- Patel, V.M., Prajapati B.G. dan Patel M. M. (2007). Design and Characterization of Chitosan Containing Mucoadhesive Buccal Patches of Propranolol Hydrochloride. *Acta Pharm.* 57, 61-72.
- Peh,K.K., dan Wong C.F. (1999). Polymeric Films as Vehicle for Buccal Delivery: Swelling, Mechanical and Bioadhesive Properties. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 53-61.
- Rawat, M., Singh D., Saraf S. dan Saraf S. (2006). Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biol. Pharm. Bull.* 29 (9), 1790-1798.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., dan Owen, S.C. (2006). *Handbook of Pharmaceutic excipients 5th Edition*. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- S. Punitha dan Y. Girish. (2010). Polymers in Mucoadhesive Buccal Drug Delivery System –A Review. *Int. J. Res. Pharm. Sci. Vol-I*, 170-186.
- Sakkinen,M. (2003). Biopharmaceutical Evaluation of Microcrystalline Chitosan as Release Rate Controlling Hydrophilic Polymer in Granules for Gastroretentive Drug Delivery. *Academic Dissertation Faculty of Science of the University of Helsinki*.
- Semalty,M., Semalty,A., dan Kumar,G. (2008). Formulation and Characterization of Mucoadhesive Buccal Films of Glizipide. *Indian J. Pharm. Sci.* 70,43-48.
- Smart,J.D. (2005). The Basic and Underlying Mechanism of Mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1556-1568.
- Soppimath, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, A. R. dan Rudzinski W.E. (2001). Biodegradable Polymeric Nanoparticles as Drug Delivery Device. *J. of Contr. Rel.* 70, 1-20.

- Sung-Tao Lee, Fwu-Long Mi, Yu-Ju Shen, dan Shin-Shing Shyu. (2001). Equilibrium and Kinetic Studies of Copper (II) Ion Uptake by Chitosan-Tripolyphosphate Chelating Resin. *Polymer* 42, 1879-1892.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja. (2007). *Obat-obat Penting*. Jakarta: Gramedia.
- Thassu, D., Deleers M. Dan Pathak Y. (2007). *Nanoparticulate Drug Delivery System*. New York: Informa Healthcare, 1-3.
- Vaughn, J. M. dan Williams R. O. (2007). Nanoparticle Engineering. Dalam: Swarbrick, James. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition Volume I*. New York: Informa Healthcare USA, 2384-2398.
- Vauthier, C., Bravo-Osuna I. Dan Ponchel G. (2007). Core-Shell Polymer Nanoparticle Formulation for the Oral Administration of Peptides and Proteins. Dalam: Maskevich, Boris O. *Drug Delivery Research Advances*. New York: Nova Science Publishers, 48.
- Verma, N. dan Chattopadhyay Pronobesh. (2011). Polymeric Platform for Mucoadhesive Buccal Drug Delivery System: A Review. *Int. J. of Current Pharmaceut. Res.*, 3-8.
- Yu-Hsin Lin, Kiran Sonaje, Kurt M. Lin, Jyuhn-Huang Juang, Fwu-Long Mi, Han-Wen Yang, dan Hsing-Wen Sung. (2008). Multi-ion-crosslinked Nanoparticles with pH-responsive Characteristics for Oral Delivery of Protein Drugs. *J. of Contr. Rel.* 132, 141-149.



LAMPIRAN

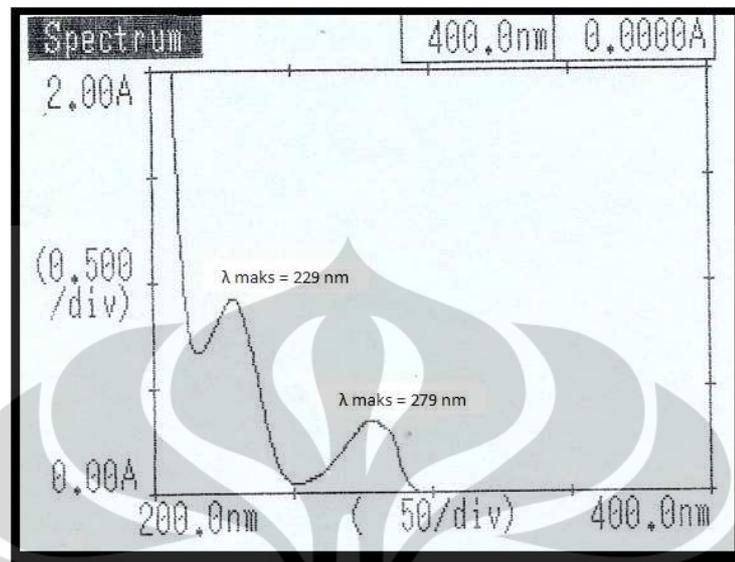


Daftar Lampiran

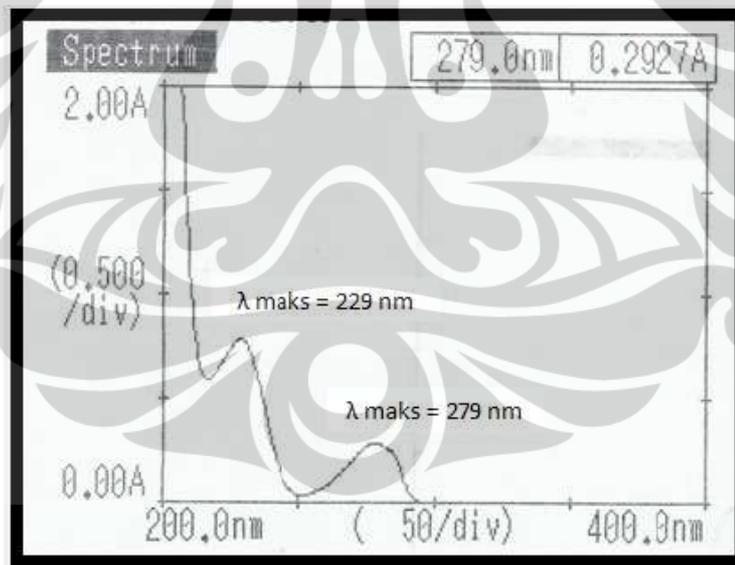
Jenis lampiran	No
Lampiran gambar	1-21
Lampiran tabel	22-26
Lampiran perhitungan	27-28
Lampiran sertiikat	29-30

Lampiran 1

Spektrum serapan verapamil HCl dalam medium aquadem pada λ 279 nm

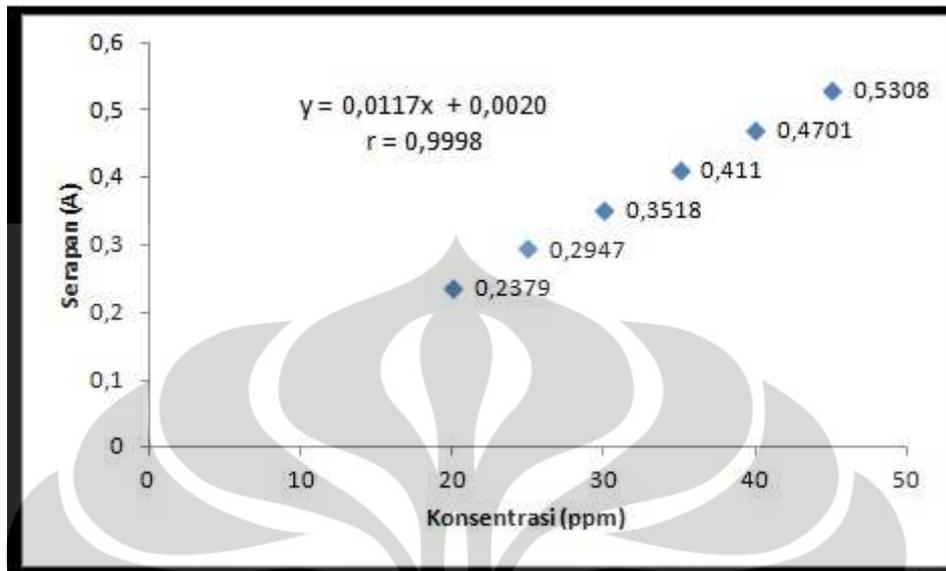
**Lampiran 2**

Spektrum serapan verapamil HCl dalam medium dapar fosfat pH 6,8 pada λ 279 nm

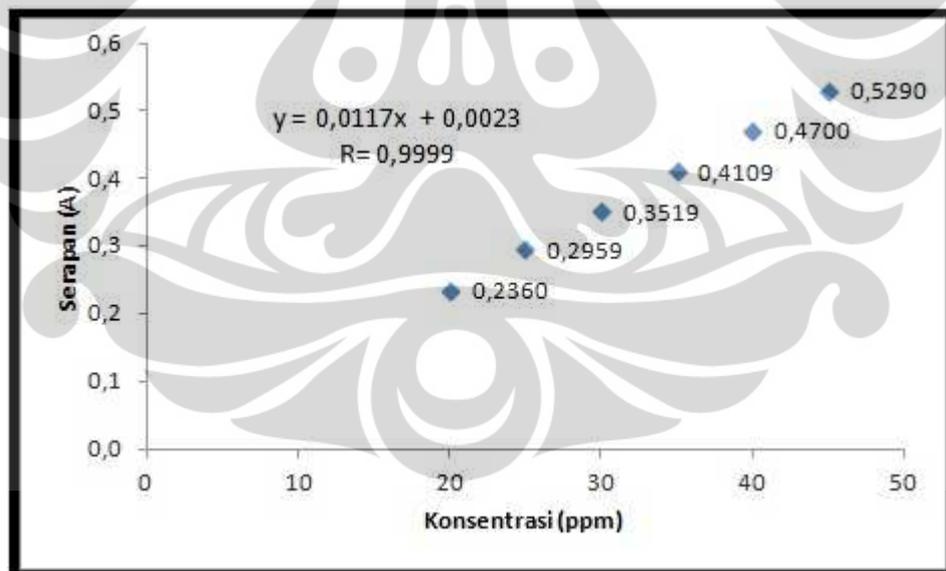


Lampiran 3

Kurva kalibrasi verapamil HCl dalam aquadem yang diukur pada λ 279 nm

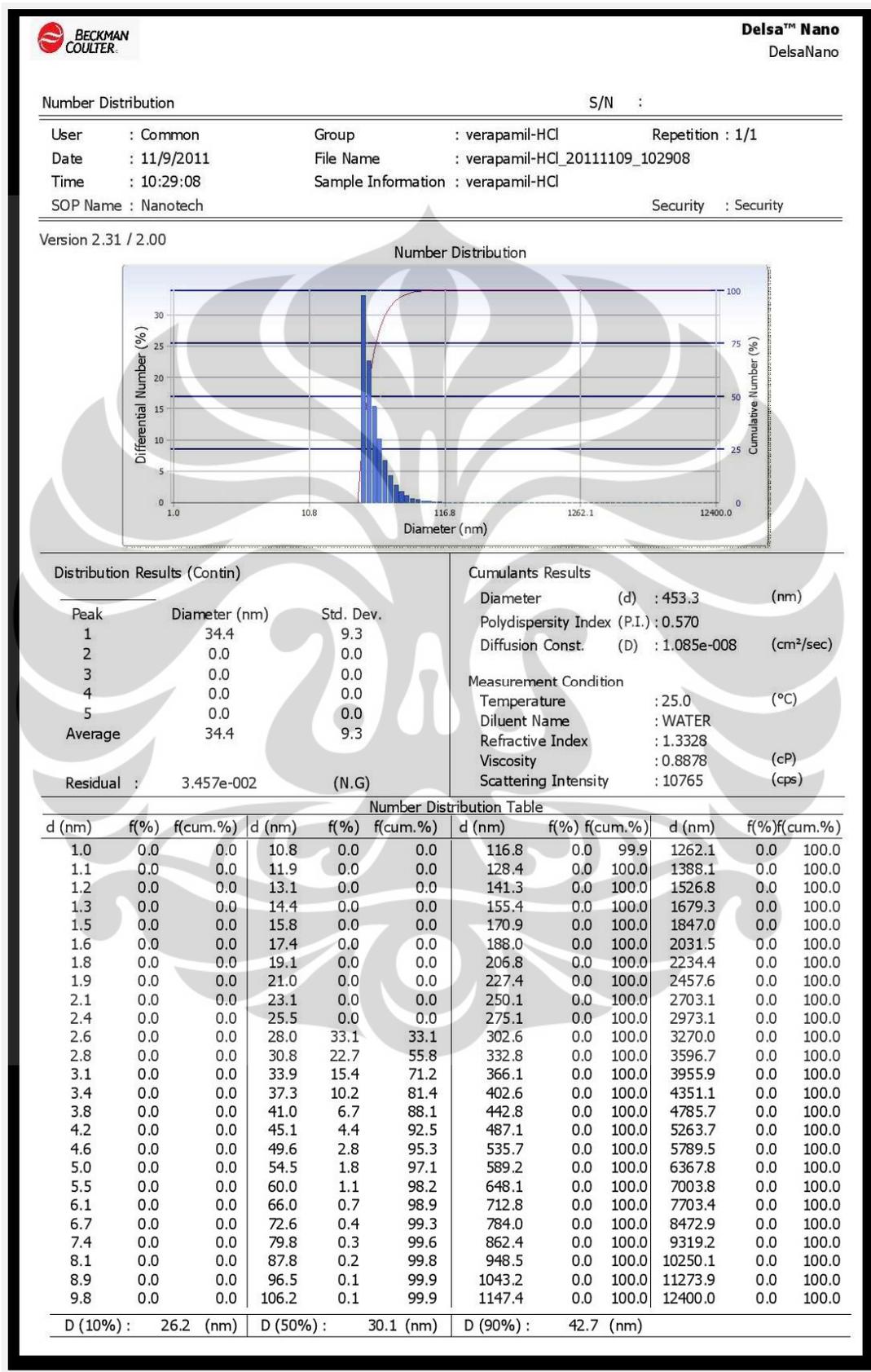
**Lampiran 4**

Kurva kalibrasi verapamil HCl dalam medium dapar fosfat pH 6,8 yang diukur pada λ 279 nm



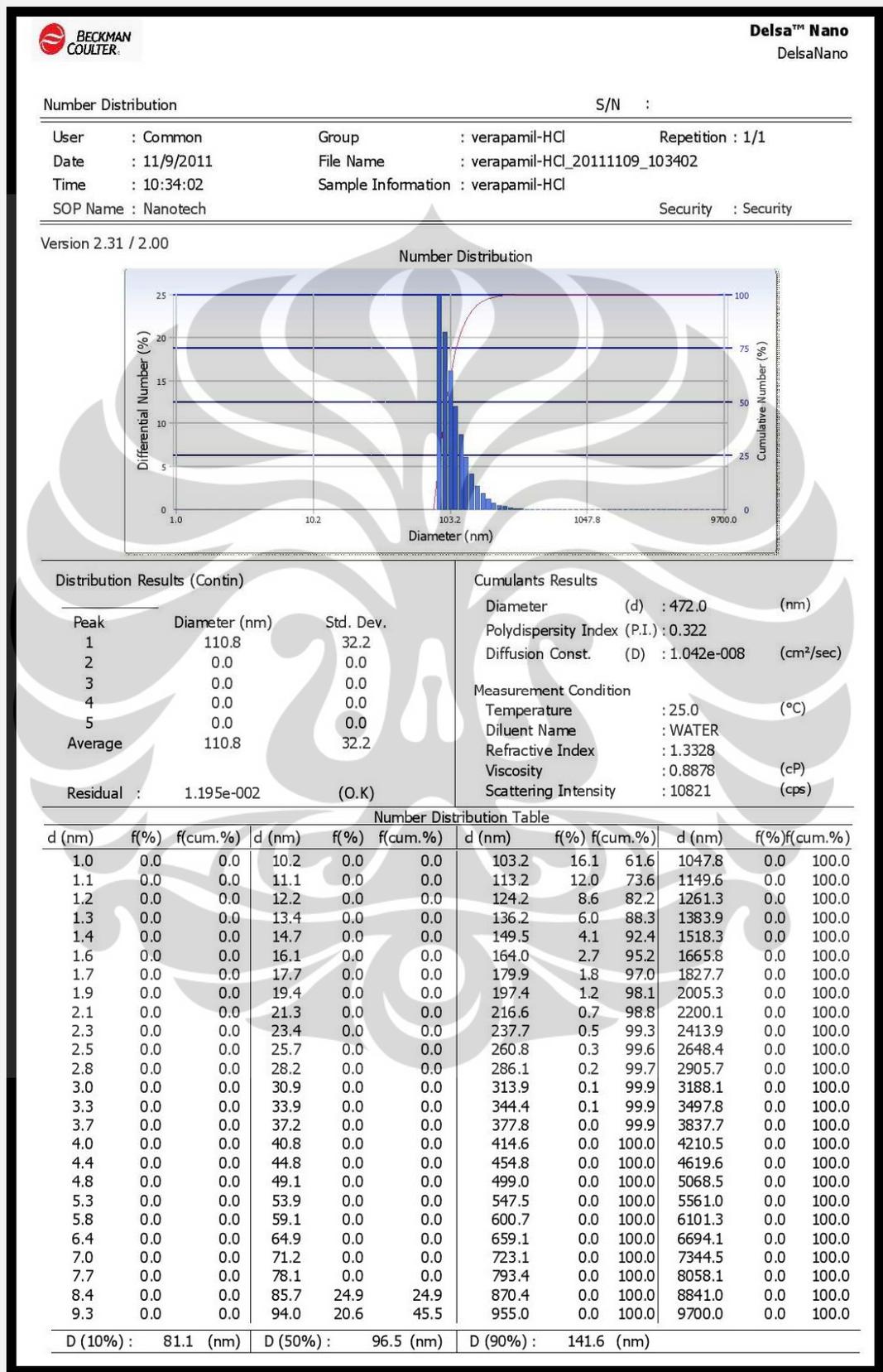
Lampiran 5

Data distribusi ukuran partikel formula 1 percobaan 1



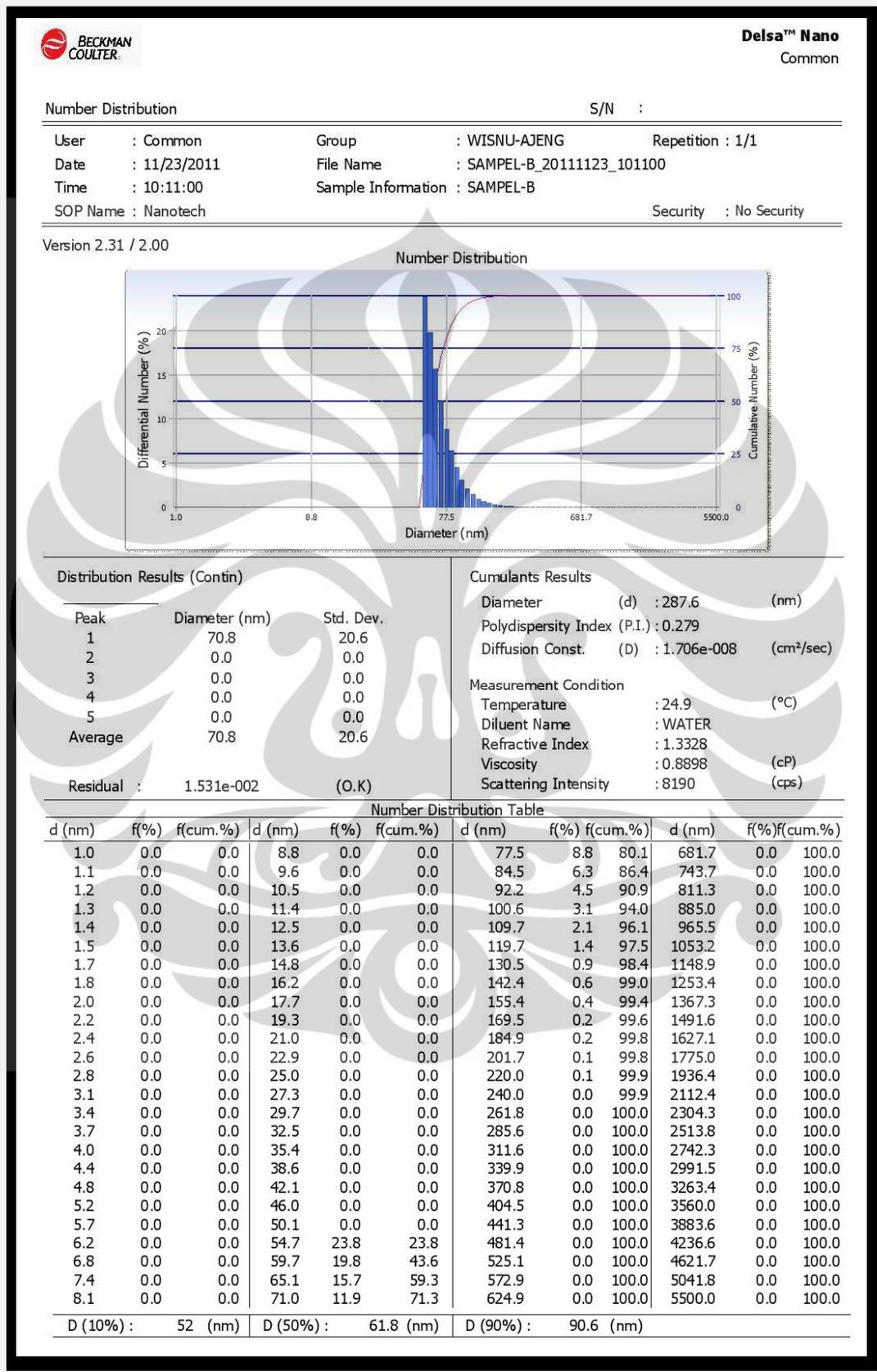
Lampiran 6

Data distribusi ukuran partikel formula 1 percobaan 2

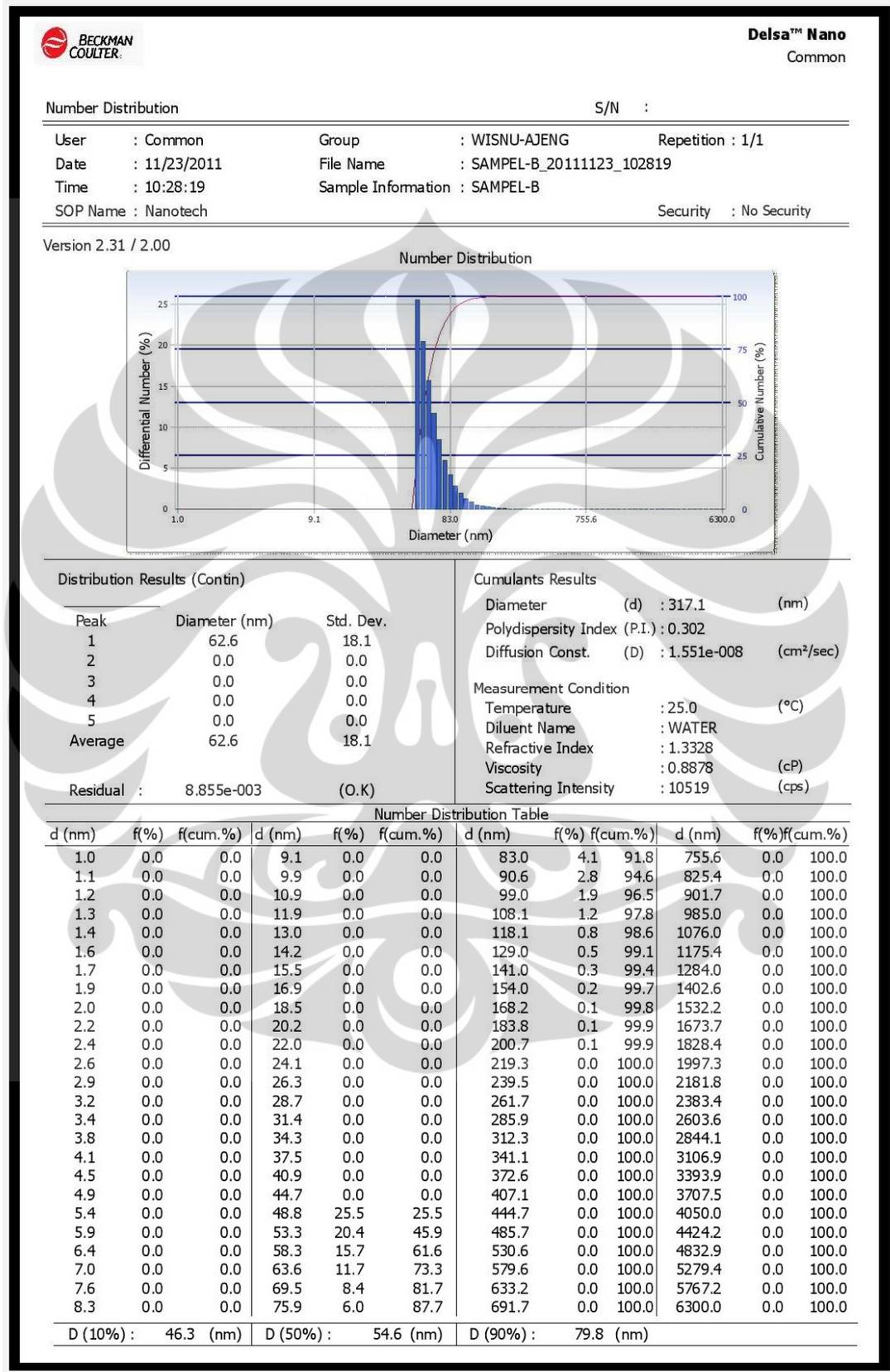


Lampiran 7

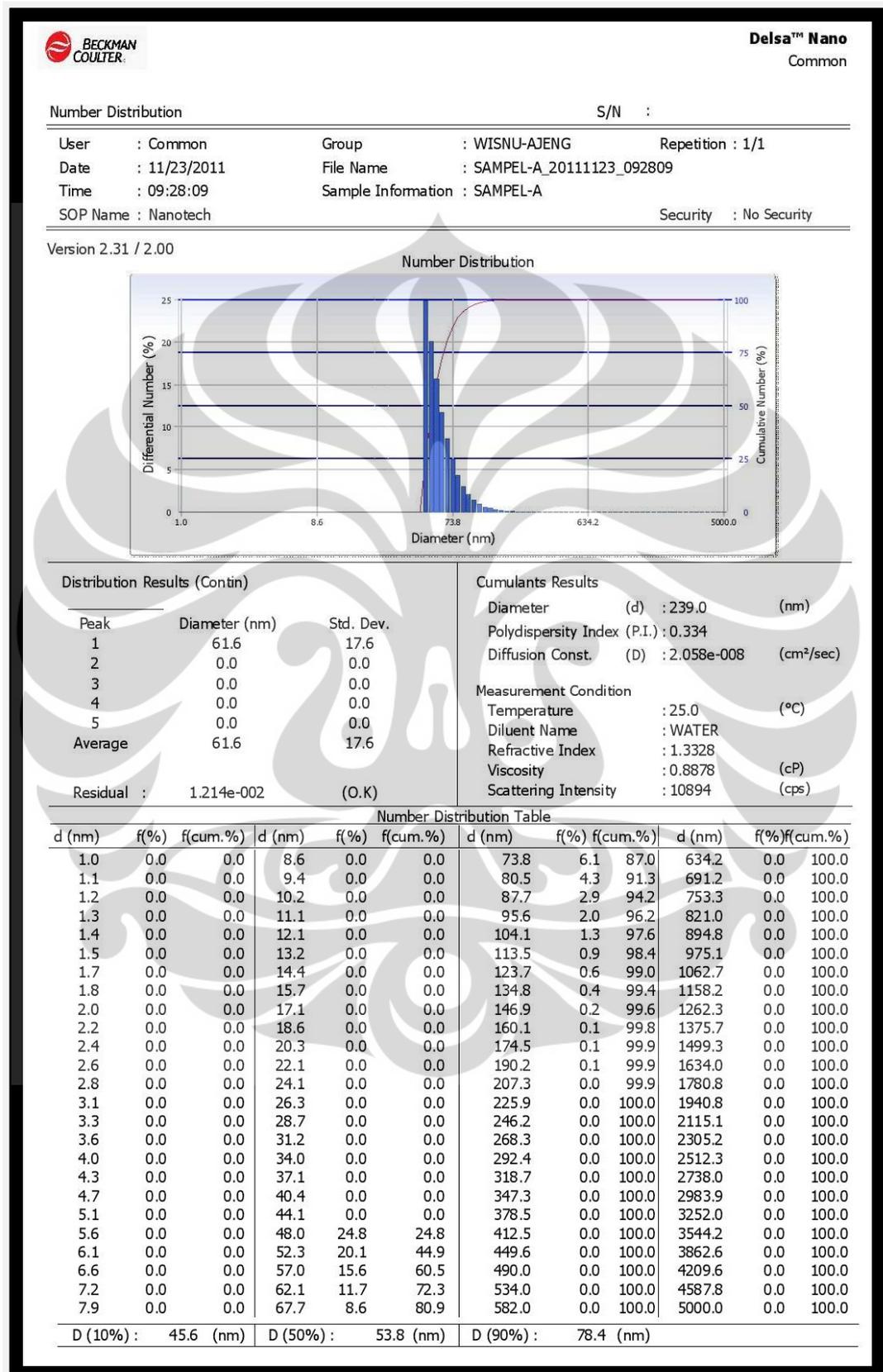
Data distribusi ukuran partikel formula 2 percobaan 1



Lampiran 8
Data distribusi ukuran partikel formula 2 percobaan 2

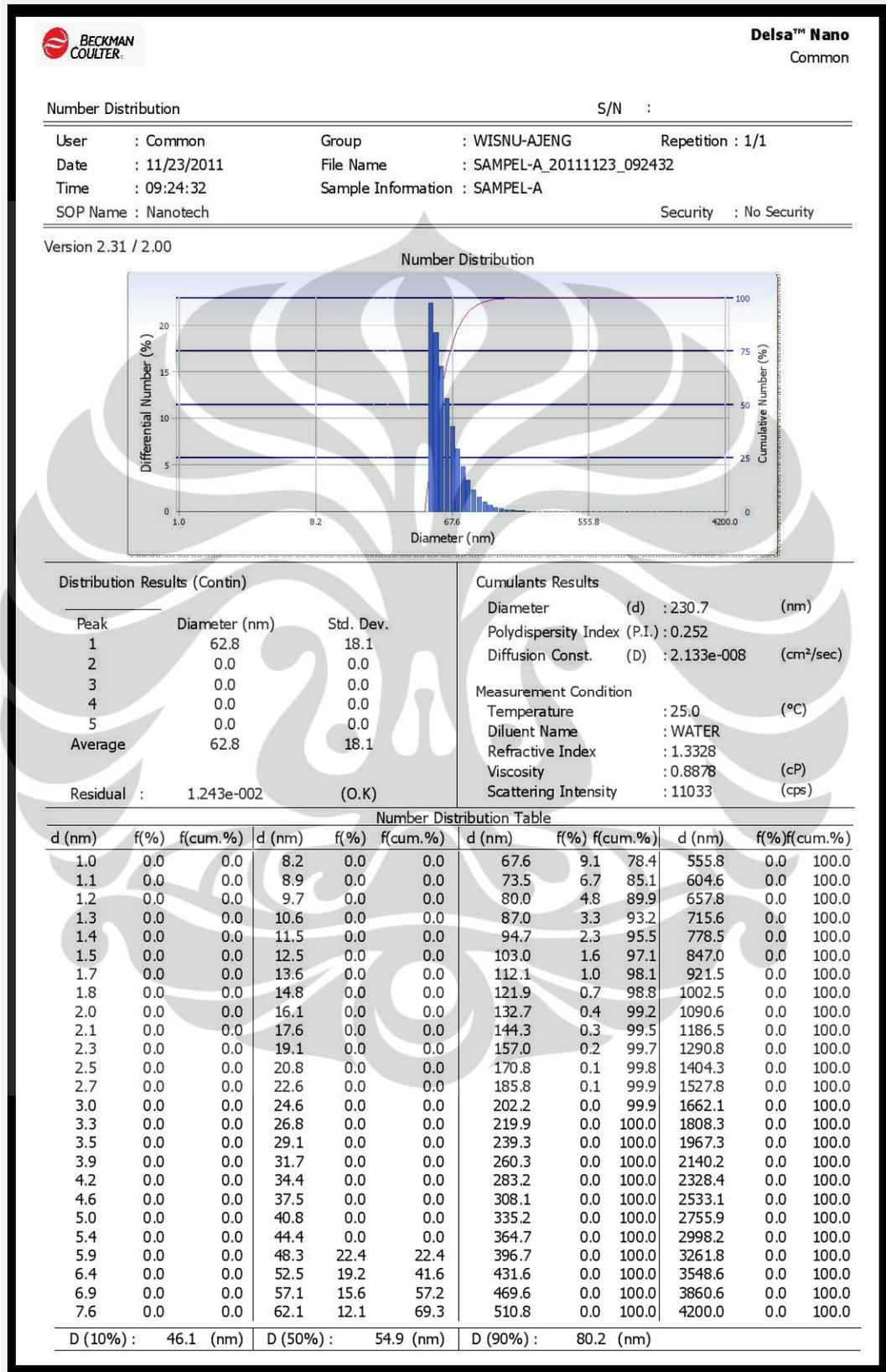


Lampiran 9
Data distribusi ukuran partikel formula 3 percobaan 1



Lampiran 10

Data distribusi ukuran partikel formula 3 percobaan 2



Lampiran 11

Data potensial zeta formula 1 percobaan 1

Peak Value Table		S/N :	
User	: Common	Group	: WISNU-AJENG-2
Date	: 12/15/2011	File Name	: WISNU-AJENG-2_20111215_143428
Time	: 14:34:28	Sample Information	: WISNU-AJENG-2
SOP Name	: Nanotech	Repetition	: 1/3
		Security	: No Security

Version 2.31 / 2.00

	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	1.639e-004	21.02	15.39

No.	Cell Position	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.765mm)	1.191e-004	15.27
2	0.35 (6.59mm)	2.571e-004	32.97
3	0 (6.415mm)	2.886e-004	37.01
4	-0.35 (6.24mm)	2.461e-004	31.56
5	-0.7 (6.065mm)	1.654e-004	21.21

Lampiran 12

Data potensial zeta formula 1 percobaan 2

Peak Value Table		S/N :	
User	: Common	Group	: WISNU-AJENG-2
Date	: 12/15/2011	File Name	: WISNU-AJENG-2_20111215_143428
Time	: 14:34:28	Sample Information	: WISNU-AJENG-2
SOP Name	: Nanotech	Repetition	: 2/3
		Security	: No Security

Version 2.31 / 2.00

	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	1.227e-004	15.73	15.40

No.	Cell Position	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.765mm)	4.602e-005	5.90
2	0.35 (6.59mm)	2.472e-004	31.69
3	0 (6.415mm)	2.852e-004	36.57
4	-0.35 (6.24mm)	2.401e-004	30.79
5	-0.7 (6.065mm)	1.398e-004	17.93

Lampiran 13

Data potensial zeta formula 2 percobaan 1

Peak Value Table		S/N :	
User : Common	Group : VERAPAMIL-HCl	Repetition : 2/3	
Date : 2/7/2012	File Name : F2_20120207_103858		
Time : 10:38:58	Sample Information : F2		
SOP Name : Nanotech	Security : No Security		

Version 2.31 / 2.00

	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	1.702e-004	21.82	15.62

No.	Cell Position	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.645mm)	1.081e-004	13.87
2	0.35 (6.47mm)	2.201e-004	28.22
3	0 (6.295mm)	2.967e-004	38.05
4	-0.35 (6.12mm)	2.984e-004	38.27
5	-0.7 (5.945mm)	1.883e-004	24.15

Lampiran 14

Data potensial zeta formula 2 percobaan 2

Peak Value Table		S/N :	
User : Common	Group : VERAPAMIL-HCl	Repetition : 3/3	
Date : 2/7/2012	File Name : F2_20120207_103858		
Time : 10:38:58	Sample Information : F2		
SOP Name : Nanotech	Security : No Security		

Version 2.31 / 2.00

	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	1.687e-004	21.63	15.62

No.	Cell Position	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.645mm)	1.112e-004	14.25
2	0.35 (6.47mm)	2.282e-004	29.26
3	0 (6.295mm)	3.003e-004	38.51
4	-0.35 (6.12mm)	2.997e-004	38.44
5	-0.7 (5.945mm)	1.792e-004	22.98

Lampiran 15

Data potensial zeta formula 3 percobaan 1

Peak Value Table		S/N :	
User	: Common	Group	: VERAPAMIL-HCL
Date	: 2/3/2012	File Name	: FORMULA-1_20120203_133458
Time	: 13:34:58	Sample Information	: FORMULA-1
SOP Name	: Nanotech	Repetition	: 1/3
		Security	: No Security

Version 2.31 / 2.00

	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	2.081e-004	26.64	15.54

No.	Cell Position	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.755mm)	9.046e-005	11.58
2	0.35 (6.58mm)	2.076e-004	26.57
3	0 (6.405mm)	2.977e-004	38.11
4	-0.35 (6.23mm)	3.517e-004	45.01
5	-0.7 (6.055mm)	2.905e-004	37.18

Lampiran 16

Data potensial zeta formula 3 percobaan 2

Peak Value Table		S/N :	
User	: Common	Group	: VERAPAMIL-HCL
Date	: 2/3/2012	File Name	: FORMULA-1_20120203_133458
Time	: 13:34:58	Sample Information	: FORMULA-1
SOP Name	: Nanotech	Repetition	: 2/3
		Security	: No Security

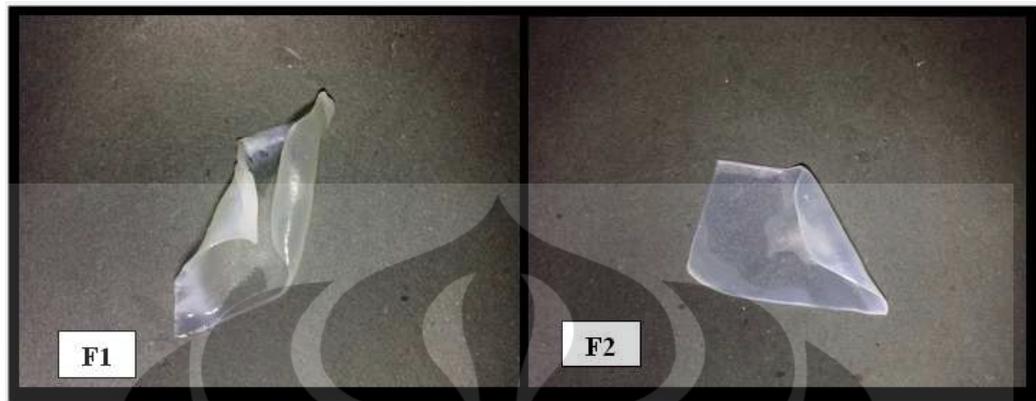
Version 2.31 / 2.00

	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)	Electric Field (V/cm)
Peak Value	1.985e-004	25.46	15.54

No.	Cell Position	Mobility (cm ² /Vs)	Zeta Potential (mV)
1	0.7 (6.755mm)	6.806e-005	8.73
2	0.35 (6.58mm)	2.295e-004	29.43
3	0 (6.405mm)	3.086e-004	39.57
4	-0.35 (6.23mm)	3.397e-004	43.55
5	-0.7 (6.055mm)	2.866e-004	36.75

Lampiran 17

Film bukal setelah uji daya mengembang pada medium dapar fosfat pH 6,8 selama 2 jam

**Lampiran 18**

Alat *texture analyzer*



Lampiran 19
Alat tensile strength



Lampiran 20
Alat disolusi termodifikasi metode 1 untuk film bukal



Lampiran 21

Alat disolusi termodifikasi metode 2 untuk film bukal



Lampiran 22

Data serapan verapamil HCl pada berbagai konsentrasi dalam aquadem pada λ 279 nm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Serapan (A)
20	0,2379
25	0,2947
30	0,3518
35	0,4110
40	0,4701
45	0,5308

Keterangan :

a = 0,0020

b = 0,0117

r = 0,9998

y = 0,0020 + 0,0117 x

Lampiran 23

Data serapan verapamil HCl pada berbagai konsentrasi dalam medium dapar fosfat pH 6,8 pada λ 279 nm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Serapan (A)
20	0,2360
25	0,2959
30	0,3519
35	0,4109
40	0,4700
45	0,5290

Keterangan :

a = 0,0023

b = 0,0117

r = 0,9999

y = $0,0023 + 0,0117$

Lampiran 24

Data pelepasan verapamil HCl dalam medium dapar fosfat pH 6,8 suhu $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ C selama 120 Menit dengan metode 1

Waktu (menit)	Jumlah kumulatif verapamil HCl terdisolusi (%)	
	Film nanopartikel	Film pembanding
0	0 ± 0	0 ± 0
2	$30,91 \pm 0,27$	$25,88 \pm 2,45$
5	$69,94 \pm 0,29$	$59,35 \pm 0,66$
7	$81,53 \pm 0,49$	$71,2 \pm 0,82$
10	$87,61 \pm 0,37$	$80,43 \pm 1,26$
15	$92,38 \pm 0,3$	$86,73 \pm 1,72$
30	$97,28 \pm 0,34$	$93,68 \pm 0,33$
45	$98,85 \pm 0,45$	$98,5 \pm 0,56$
60	$98,94 \pm 0,25$	$99,77 \pm 0,76$
90	$99,24 \pm 0,23$	$100,55 \pm 0,77$
120	$99,86 \pm 0,4$	$100,51 \pm 0,67$

Keterangan : Tiap angka menunjukkan \pm SD (n=3)

Lampiran 25

Data pelepasan verapamil HCl dalam medium dapar fosfat pH 6,8 suhu $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}$ C selama 120 menit dengan metode 2

Waktu (menit)	Jumlah kumulatif verapamil HCl terdisolusi (%)	
	Film nanopartikel	Film pembanding
0	0 ± 0	0 ± 0
2	24,21 ± 3,79	21,99 ± 3,46
5	57,62 ± 1,83	45,77 ± 3,16
7	69,25 ± 2,53	57,03 ± 2,42
10	78,76 ± 1,7	68,08 ± 1,8
15	84,81 ± 1,76	76,48 ± 0,88
30	92,23 ± 1,91	85,3 ± 1,16
45	96,65 ± 2,38	91,17 ± 1,1
60	98,84 ± 1,31	95,56 ± 1,11
90	99,64 ± 1,16	99,18 ± 1,12
120	100,59 ± 0,66	100,57 ± 2,07

Keterangan : Tiap angka menunjukkan ± SD (n=3)

Lampiran 26

Data evaluasi daya mengembang film bukal pada medium dapar fosfat pH 6,8 suhu 37° C

Waktu (menit)	F1 (%)	F2 (%)
15	203,11	163,11
30	214,23	166,30
60	248,35	188,99
90	310,85	243,24
120	325,3	261,54

Keterangan : Tiap angka menunjukkan rata-rata n=3

Lampiran 27

Contoh perhitungan jumlah kumulatif pelepasan verapamil HCl dari film bukal

$$W_t = (V_1 \cdot C) + (V_2 \cdot \sum_{10}^{t(n-1)} \cdot C)$$

$$\% \text{ Disolusi} = \frac{W_t}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan :

- W_t = Jumlah kumulatif verapamil HCl yang terdisolusi pada waktu t
 W_0 = Banyaknya verapamil HCl yang terdapat dalam film
 C = Konsentrasi verapamil HCl yang terdisolusi pada waktu t
 $\sum_{10}^{t(n-1)} \cdot C$ = Jumlah konsentrasi verapamil HCl yang terdisolusi pada menit sebelumnya
 V_1 = Volume medium disolusi
 V_2 = Volume cairan yang dipipet

Persamaan regresi : $y = 0,0023 + 0,0117 x$

Volume medium disolusi (V_1) = 400 mL

Volume cairan yang dipipet (V_2) = 10 mL

W_0 = 50 mg = 50000 μ g

Pada waktu 0 $\rightarrow W_t = (400 \text{ mL} \times 0) + (10 \text{ mL} \times 0) = 0$

Pada waktu 2 menit $\rightarrow C = 29,28 \mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned} W_2 &= (400 \text{ mL} \times 29,28 \mu\text{g/mL}) + (10 \text{ mL} \times 0) \\ &= 11712 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{ disolusi} = \frac{11712 \mu\text{g}}{50000 \mu\text{g}} \times 100\% = 23,42 \%$$

Pada waktu 5 menit $\rightarrow C = 73,05 \mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned} W_5 &= (400 \text{ mL} \times 73,05 \mu\text{g/mL}) + [10 \text{ mL} \times (29,28 \mu\text{g/mL} + 0)] \\ &= 29512,8 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{ disolusi} = \frac{29512,8 \mu\text{g}}{50000 \mu\text{g}} \times 100\% = 59,02 \%$$

Pada waktu 7 menit $\rightarrow C = 84,88 \mu\text{g/mL}$

$$\begin{aligned} W_7 &= (400 \text{ mL} \times 84,88 \mu\text{g/mL}) + [10 \text{ mL} \times (73,05 \mu\text{g/mL} + 29,28 \mu\text{g/mL} + 0)] \\ &= 34975,3 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{ disolusi} = \frac{34975,3 \mu\text{g}}{50000 \mu\text{g}} \times 100\% = 69,95 \%$$

Lampiran 28

Contoh perhitungan persen efisiensi penjerapan nanopartikel verapamil HCl

Persamaan regresi: $y = 0,0020 + 0,0117 x$

Banyaknya suspensi nanopartikel verapamil hidroklorida yang diambil $\pm 5,0$ mL (mengandung verapamil hidroklorida $\pm 178,65$ mg)

suspensi ditambahkan dapar alkali borat pH 9,7 sebanyak 5,0 mL
total larutan 10,0 mL = 17865 ppm



larutan tersebut disentrifugasi 3500 rpm selama 30 menit



1,0 mL supernatan yang dihasilkan dipipet dan diencerkan dalam labu tentukur sampai 25,0 mL dengan aqua demineralisata = 714,6 ppm



1,0 mL supernatan yang dihasilkan dipipet dan diencerkan dalam labu tentukur sampai 25,0 mL dengan aqua demineralisata = 28,584 ppm

Konsentrasi verapamil hidroklorida total = 28,584 ppm

Serapan yang terukur (y) = 0,2821

Konsentrasi verapamil hidroklorida dalam supernatan = 23,940 ppm

% efisiensi penjerapan = $\frac{28,584 - 23,940}{28,584} \times 100\% = 16,24\%$

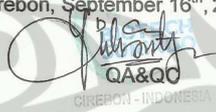
Lampiran 29
Sertifikat analisis kitosan



Certificate of Analysis

Invoice No. : -
 Product Name : Chitosan Medical/Food Grade
 Batch No. : 07A0911.M.HM.CHC
 Quantity : 1 Kg
 Analysis Date : May 26th, 2011

Items	Test Result
Appearance	Off White
Particle Size	#20-30
Degree of Deacetylation	89.60 %
Viscosity	36 cps
Moisture Content	6.89 %
Ash Content	1.10 %
Protein Content	≤ 0.5 %
pH (1%)	7 - 8
Insoluble	< 1 %

Cirebon, September 16th, 2011

 QA&QC
 CIREBON - INDONESIA

Komp. Pelabuhan Perikanan Kejawanen, Jl. Pelabuhan Perikanan No.1 Cirebon - 45113, Indonesia P. 0231 - 224 100 | F. 0231 - 224 101
www.biotech.co.id

Lampiran 30
Sertifikat analisis verapamil hidroklorida

TANGGAL BERLAKU : 31 JULI 2003			
Plant Bandung			
LAPORAN ANALISA BAHAN BAKU			
Nama Bahan Baku : VERAPAMIL HCl	No. Batch :11100125 Exp. Date :01-03-2016	Kode :F-SS-BB-00259/1/0 Tgl. Berlaku :31 Juli 2003	
Kode Bahan :3012158 Origin :Recordati-Italy No. LA :B110488 No. SP :P113165	Supplier :PT.Menjangan Sakti Tgl. Sampling :25-05-2011 Tgl. Selesai :30-05-2011	Jumlah :25 kg Pemeriksa :Bambang No. BTBS :B110488	
NO	PEMERIKSAAN	PERSYARATAN	HASIL
1	Pemerian (R)	Serbuk hablur warna putih atau hampir putih, praktis tidak berbau dan rasa pahit.	Serbuk hablur, warna putih, tidak berbau
2	Identifikasi (R)	a. Terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam HNO ₃ , tetapi larut dalam NH ₄ OH 6 N sedikit berlebih b. Panjang gelombang maksimum 229 nm dan 278 nm, rasio absorban pada Panjang gelombang 278 nm dan 229 nm adalah antara 0,35 dan 0,39	Sesuai Sesuai
3	Kelarutan	Larut dalam air; Mudah larut dalam kloroform; Agak sukar larut dalam; etanol praktis tidak larut dalam eter	Sesuai
4	Kejernihan dan warna larutan	Jernih dan tidak berwarna	Sesuai
5	pH 5 %	Antara 4,5 dan 6,5	4,52
6	Jarak lebur	Antara 140° dan 144 ° C	142,0 °C – 143,9 °C
7	Logam berat	Tidak lebih dari 10 bpj	Sesuai
8	Susut pengeringan (R)	Tidak lebih dari 0,5%	0,02%
9	Sisa pemijaran	Tidak lebih dari 0,1%	0,02%
10	Kadar (R)	99,0% - 100,5%, terhadap berat kering	99,62%
Pustaka : USP 23, BP 93, FI IV			
Kesimpulan : Memenuhi Syarat			
Penanggung Jawab : MPM  (Dra. Titin Supiamah)		Bandung, 01 Juni 2011 AMPM  (Dra. Endang Widiastuti)	
Halaman 1 dari 1			
D:\SPBB\LA Bahan Baku\LA save BBI2011 format lama\Verapamili Hidrochloridum - 00259 (0), LA BB110423.doc			
Jl. Pajajaran No. 29 - 31 Bandung 40171 Indonesia Telp. (022) 4204043, 4204044 Fax. (022) 4237079 plantbdg@bdg.centrin.net.id			