



**OPTIMASI KECEPATAN DAN LAMA PENGADUKAN
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN HIDROKLORIDA**

SKRIPSI

Oleh

**Arif Rahman Alhakimi
NIM 112210101073**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**OPTIMASI KECEPATAN DAN LAMA PENGADUKAN
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN HIDROKLORIDA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Arif Rahman Alhakimi
NIM 112210101073

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu Hj. Siti Fatimatuz Zahra, S.Pd dan Abah H. Drs. Kasnari, M.H tiada kata yang bisa menggambarkan betapa berterimakasihnya diriku pada Ibu dan Abah.
2. Muhammad Rofiqul Umam, Putri Nur Afiah dan Niswatz Zakiyah Rahmah adik-adikku tercinta.
3. Keluarga besar bani Ali di manapun kalian berada, terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini.
4. Para guru sejak MI hingga SMA, dosen dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember yang begitu berjasa.
5. Keluarga besar Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember.
6. Teman-teman seperjuangan ASMEF dan almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“There is no power and no strength except with Allah, the Almighty”

“Segala pencapaian dalam hidup, tak lepas dari adanya doa dari kedua orang tua yang tak pernah putus”

“The highest level of a strong desire is Ikhlas (Sincerity)”



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arif Rahman Alhakimi


NIM : 112210101073

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan subansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari ini tidak benar.

Jember, 30 Juni 2015

Yang menyatak,


Arif Rahman Alhakimi

SKRIPSI

**OPTIMASI KECEPATAN DAN LAMA PENGADUKAN
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN HIDROKLORIDA**

Oleh:

Arif Rahman Alhakimi

NIM 112210101073

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Lusia Oktora Ruma K.S, S.F., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi ini berjudul *Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida* telah disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari : Selasa
tanggal : 30 Juni 2015
tempat : Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,



(Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt.)

NIP. 197503092001121001

Dosen Pembimbing Anggota,



(Lusia Oktora Rurha K.S, S.F., M.Sc., Apt.)

NIP. 197910032003122001

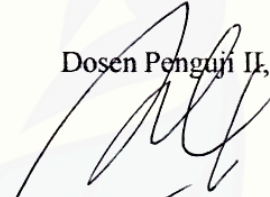
Dosen Penguji I,



(Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm)

NIP. 198004052005012005

Dosen Penguji II,



(Dwi Nurahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP. 19840124008011001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas
Jember,



(Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm)

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida; Arif Rahman Alhakimi; 73 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Sistem penghantaran obat konvensional memiliki beberapa kelemahan seperti pemberian yang sering terutama pada obat dengan waktu paruh singkat dan ini mengakibatkan kemungkinan dosis hilang semakin besar serta fluktuasi yang besar yang dapat berpotensi menyebabkan *under dose* maupun *over dose*. Masalah-masalah tersebut dapat diatasi dengan menggunakan formulasi *controlled release* (CR) oral, salah satu manfaat formulasi CR adalah dapat meningkatkan *gastro retention time* (GRT).

Sistem penghantaran obat yang bertujuan meningkatkan GRT dapat dirancang dalam sistem *single unit* (misalnya tablet) maupun *multiple unit* (misalnya *microspheres*). Penggunaan sistem *multiple unit* dengan ukuran partikulat dapat menghindari sifat *all-or-none* pada pengosongan lambung, selain itu sediaan ini telah menunjukkan hasil yang lebih baik dari pada *single unit*.

Metode *solvent evaporation* telah mendapatkan banyak perhatian dan lebih disukai dalam pembuatan *microspheres* untuk sistem penghantaran obat terkendali karena kemudahan dalam fabrikasi dan tanpa menurunkan aktivitas dari bahan aktif. Salah satu tipe dari metode *solvent evaporation* adalah *non-aqueous solvent evaporation*, teknik ini cocok untuk membuat *microspheres* dengan bahan aktif yang memiliki kelarutan dalam air yang tinggi.

Metformin hidroklorida merupakan obat pilihan pertama untuk penanganan kasus diabetes mellitus (DM) tipe 2 pada pasien obesitas, obat ini termasuk obat yang sering digunakan dan diterima secara luas untuk mengatasi DM tipe 2. Metformin hidroklorida memiliki beberapa kelemahan diantaranya waktu paruh biologis ($t_{1/2}$) yang rendah yaitu berkisar 1,5-1,6 jam setelah

penggunaan oral dan bioavailabilitas yang cukup rendah yaitu 50-60% sehingga memerlukan dosis yang pemberian yang cukup besar yaitu 1,5-3 gram per hari dengan tempat absorpsi utama adalah di daerah proksimal usus halus.

Kitosan merupakan polimer alami yang diperoleh dari deasetilasi senyawa kitin. Pada pengembangan mikro/nano partikel kitosan memiliki keuntungan misalnya toksisitas yang rendah dan biokompatibel dengan jaringan tubuh.

Telah diketahui bahwa efek variabel pada proses preparasi seperti kecepatan pengadukan dan lama pengadukan berpengaruh pada beberapa aspek seperti bentuk, ukuran dan distribusi ukuran partikel, laju pelepasan dan *entrapment efficiency* yang dimiliki oleh *microspheres*. Desain faktorial digunakan sebagai metode optimasi dalam penelitian untuk menentukan komposisi kecepatan dan lama pengadukan serta interaksi antara keduanya untuk memperoleh respon persen *entrapment efficiency* yang optimum. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa kecepatan dan lama pengadukan berpengaruh signifikan terhadap respon yang dihasilkan. Kombinasi optimum antara kecepatan dan lama pengadukan untuk memperoleh nilai persen *entrapment efficiency* yang maksimum masing-masing adalah 1200 rpm dan 2 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *microspheres* metformin hidroklorida yang terbentuk memberikan nilai persen *entrapment efficiency* = $84,141\% \pm 0,728$, hasil tersebut relatif mendekati nilai persen *entrapment efficiency* yang di prediksi berdasarkan desain faktorial serta memberikan nilai persen *drug loading* = $24,965\% \pm 0,606$ dan nilai persen *yield* = $84,296\% \pm 2,564$. Partikel *microspheres* metformin hidroklorida memiliki morfologi permukaan yang relatif halus dan berwarna cerah, serta bentuknya mendekati *spheres* (bulat oval) dengan ukuran partikel sebesar $429,333 \mu\text{m} \pm 1,528$. Pembentukan kompleks *microspheres* dengan metode *non aqueous solvent evaporation* antara metformin hidroklorida dan kitosan juga tidak menunjukkan interaksi yang mengakibatkan perubahan gugus fungsi pada metformin hidroklorida sebagai bahan aktif.

PRAKATA

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program sarjana farmasi (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibuku Hj. Siti Fatimatuz Zahra, S.Pd dan Abahku H. Drs. Kasnari, M.H yang tidak pernah lupa memberi semangat, motivasi, nasihat, dukungan dan doa serta apapun yang dimilikinya demi mengiringi kesuksesan hidup penulis.
2. Dekan Fak.Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lusia Oktora Ruma K.S, S.F., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dan dukungan, meluangkan waktu, pikiran, perhatian dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji I dan Bapak Dwi Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt.,M.Sc. selaku Dosen Penguji II terima kasih atas kritik dan sarannya.
5. Bapak Viddy Agustian Rosyidi S.Farm.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik mulai semester I hingga IV dan Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik mulai

semester V hingga VIII yang telah memberikan bimbingan selama penulis menempuh perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

6. Ibu Itus, Mbak Titin, Ibu Wayan, dan Mbak Hani yang telah membantu penulis saat melakukan penelitian di laboratorium.
7. Adikku Muhammad Rofiqul Umam, Putri Nur Afiah dan Niswatz Zakiyah Rahmah yang senantiasa mendoakan, mendukung dan menjadi hiburan tersendiri bagi penulis selama di rumah.
8. Tintia Lintang Pratiwi yang telah berjuang bersama sebagai “partner terbaik penulis” selama kuliah dan menjadi perintis penelitian *microspheres* pertama di Fakultas Farmasi Universitas Jember bersama penulis.
9. Indarto, Iim, mbak Reni, mbak Sinta, Imamah, Ajeng, Bintu, Astika, Licung, Okta, terima kasih atas dukungan dan telah berbagi keseruan bersama selama penelitian di Laboratorium Farmasetika.
10. Keluarga besar Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fakultas Farmasi Universitas Jember, begitu banyak pelajaran, pengalaman dan kenangan indah bersama kalian.
11. Teman-teman satu atap selama di Jember, Kost Sarange Nogo: Indarto, Habibi, Putra dan Mas Bima, terima kasih atas kebersamaannya selama hidup di Jember.
12. Teman-teman seperjuangan dan seangkatan, ASMEF, terima kasih atas 3 tahun 10 bulan yang luar biasa bersama kalian.

Hanya do'a yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan dan dukungan yang diberikan penulis mendapat balasan dari Allah Subhanallahu Wa Ta'ala. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu teknologi farmasi.

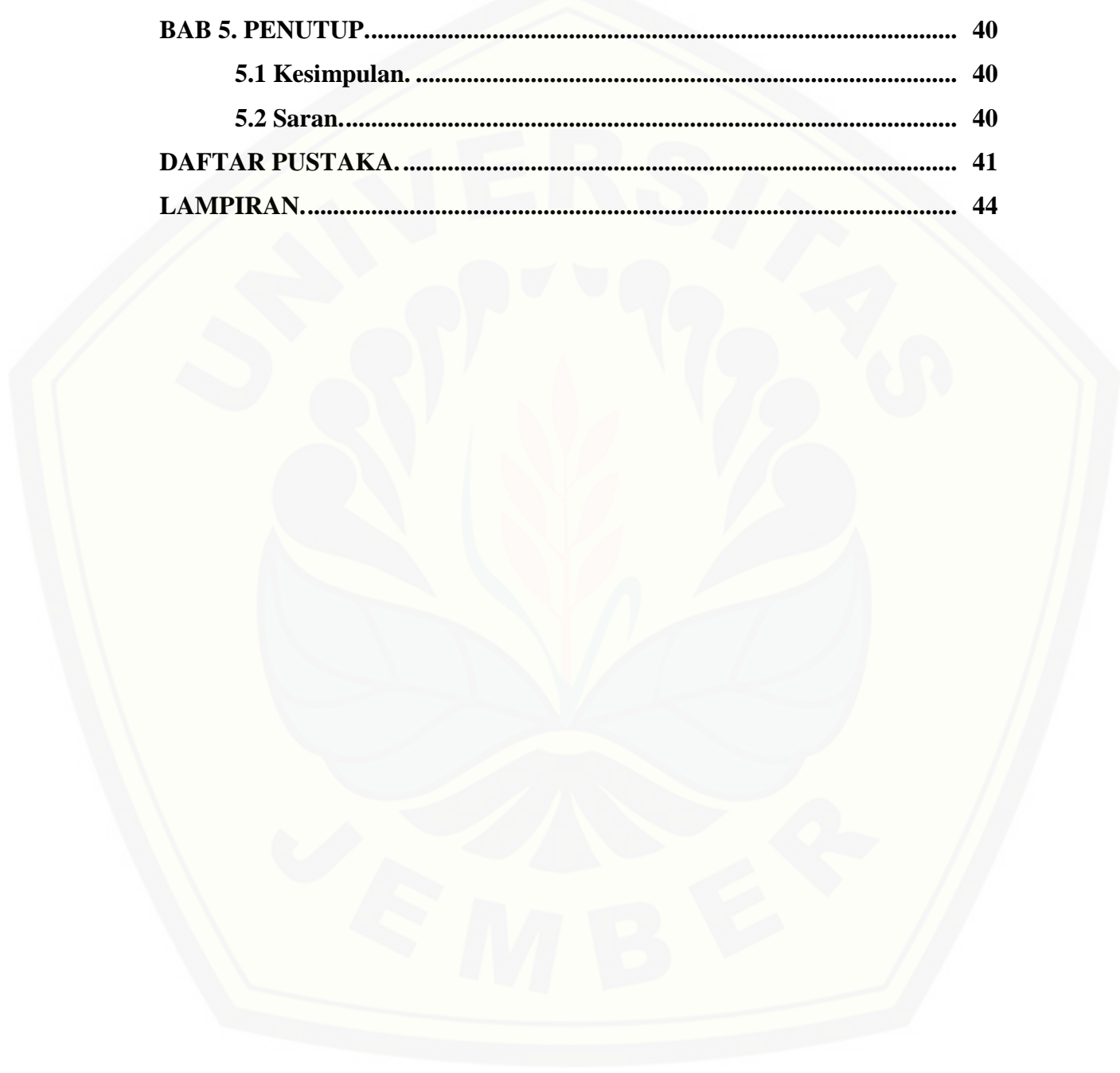
Jember, 30 Juni 2015

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	01
1.1 Latar Belakang	01
1.2 Rumusan Masalah	04
1.3 Tujuan Penelitian	05
1.4 Manfaat Penelitian	05
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	06
2.1 <i>Microspheres</i>	06
2.1.1 <i>Manfaat Microspheres</i>	06
2.1.2 <i>Preparasi Microspheres</i>	07
2.1.3 <i>Non-aqueous Solvent Evaporation</i>	08
2.1.4 <i>Karakteristik Microspheres</i>	09
a. <i>Entrapment Efficiency</i>	09
b. <i>Drug Loading</i>	10
c. <i>Yield</i>	10
d. <i>Analisis Scanning Electron Microscope (SEM)</i>	10
e. <i>Analisis Fourier Transform Infrared (FTIR)</i>	11
2.2 Metformin Hidroklorida	11
2.3 Kitosan	12
2.4 Desain Faktorial	13
BAB 3. METODE PENELITIAN	15

3.1 Rancangan Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.2.1. Alat.....	15
3.2.2. Bahan	15
3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	15
3.4 Prosedur Penelitian	17
3.4.1. Perancangan Optimasi Formula.....	17
3.4.2. Preparasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	18
3.4.3. Penetapan <i>Entrapment Efficiency</i>	19
3.4.3.1. Pembuatan Kurva Baku.....	19
3.4.3.1.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	19
3.4.3.1.2. Preparasi Kurva Baku	19
3.4.3.2. Pengukuran <i>Entrapment Efficiency</i>	19
3.4.4. Penentuan Formula Optimum	19
3.4.5. Karakterisasi Formula Optimum.....	20
3.4.5.1. Penetapan <i>Drug Loading</i>	20
3.4.5.2. Penetapan <i>Yield</i>	20
3.4.5.3. Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	20
3.4.5.4. Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil Pembuatan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	22
4.2 Hasil Penentuan <i>Entrapment Efficiency Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.	23
4.2.1 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida.	23
a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.	23
b. Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida.	24
4.2.2 Penentuan Nilai Persen <i>Entrapment Efficiency</i>	25
4.3 Hasil Analisis Desain Faktorial dan Penentuan Formula Optimum.	26
4.4 Karakterisasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida Optimum.	33

4.4.1 <i>Drug loading</i>	33
4.4.2 <i>Yield</i>	34
4.4.3 Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).....	34
4.4.4 Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).	36
BAB 5. PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Rancangan desain faktorial untuk dua faktor dan dua <i>level</i>	17
3.2 Susunan <i>level</i> faktor berdasarkan desain faktorial	17
3.3 Formula <i>Microspheres</i> metformin hidroklorida.....	18
3.4 Preparasi <i>Microspheres</i> metformin hidroklorida	18
4.1 Hasil pengujian nilai persen <i>entrapment efficiency</i>	26
4.2 Nilai respon persen <i>entrapment efficiency</i> semua formula.	27
4.3 Nilai efek faktor kecepatan dan lama pengadukan serta interkasi keduanya.	27
4.4 Hasil analisis varian dari desain faktorial.	30
4.5 Contoh solusi yang ditawarkan oleh desain faktorial.	32
4.6 Nilai persen <i>drug loading</i> untuk formula optimum.	33
4.7 Nilai persen <i>yield</i> untuk formula optimum.	34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Penampakan <i>Microspheres</i>	06
2.2 Struktur metformin hidroklorida.....	11
2.3 Struktur kitosan	12
3.1 Skema langkah kerja penelitian	16
4.1 Serbuk <i>microspheres</i> metformin hidroklorida.	23
4.2 Spektra panjang gelombang Metformin Hidroklorida.	24
4.3 Kurva baku metformin hidroklorida.	24
4.4 <i>Contour plot</i> 2D untuk respon nilai persen <i>entrapment efficiency</i>	31
4.5 <i>Overlay plot</i>	32
4.6 Hasil analisis morfologi permukaan dan bentuk <i>microspheres</i> menggunakan SEM.....	35
4.7 Spektra FTIR metformin hidroklorida murni.....	36
4.8 Spektra FTIR kitosan murni.....	37
4.9 Spektra FTIR <i>microspheres</i> metformin hidroklorida.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. <i>Certificate of Analysis</i>	44
A1. Metformin hidroklorida	44
A2. Kitosan.....	45
B. Bahan-bahan.....	46
B1. Metformin hidroklorida.....	46
B2. Kitosan.....	46
B3. <i>Light paraffin liquid</i>	47
B4. Aseton.....	47
B5. <i>Petroleum ether</i>	48
C. Foto hasil <i>scanning</i> panjang gelombang maksimum metformin hidroklorida.	48
D. Hasil <i>scanning</i> panjang gelombang maksimum metformin hidroklorida.	49
E. Foto absorbansi larutan standar metformin hidroklorida.....	52
F. Absorbansi larutan standar metformin hidroklorida.....	52
G. Hasil analisis ANOVA dari desain faktorial.....	53
H. Data perhitungan ukuran partikel.....	55
I. Dokumentasi Penelitian.....	57
I1. Penimbangan bahan.....	57
I2. Pembentukan emulsi.....	57
I3. Pengadukan menggunakan <i>four blades propeller</i>	58
I4. Penyaringan menggunakan kertas whatman no.1 dengan bantuan <i>vacuum filtration</i>	58
I5. Pengeringan menggunakan oven.....	59
I6. Penetapan nilai persen <i>entrapment efficiency</i> menggunakan spektrofotometri UV.....	59
I7. Analisis morfologi dan ukuran partikel menggunakan <i>Scanning Electron</i>	

<i>Microscope</i> (SEM)	60
I8. Analisis pembentukan kompleks <i>microspheres</i> menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)	60



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemberian obat per oral adalah rute penghantaran obat yang paling banyak digunakan diantara semua rute yang ada. Rute penghantaran obat oral dianggap paling aman dan nyaman. Umumnya pembuatan sediaan oral memiliki sistem penghantaran obat yang konvensional atau bertujuan untuk pelepasan dan absorpsi yang cepat (Ummadi *et al.*, 2013).

Sistem penghantaran obat oral konvensional memiliki beberapa kelemahan diantaranya: (1) obat dengan waktu paruh singkat memerlukan pemberian yang sering, yang dapat meningkatkan kemungkinan hilangnya beberapa dosis obat dan juga menyebabkan penurunan kepatuhan pasien; (2) fluktuasi yang tak dapat dihindarkan mengakibatkan *under dose* ataupun *over dose*. Tingkat fluktuasi obat yang tinggi dapat menyebabkan peningkatan efek samping, terutama pada obat dengan indeks terapeutik yang sempit (Ummadi *et al.*, 2013). Obat yang mudah diserap di *gastrointestinal track* (GIT) dan memiliki waktu paruh pendek, dieliminasi dengan cepat dari sirkulasi darah, sehingga memerlukan pemberian yang lebih sering (Ma *et al.*, 2008).

Masalah-masalah diatas dapat diatasi dengan menggunakan formulasi *controlled release* (CR) oral yang dapat mengendalikan pelepasan obat dalam GIT, mempertahankan konsentrasi obat konstan dalam serum untuk waktu yang cukup lama, memberikan bioavailabilitas yang lebih baik, meningkatkan keberhasilan terapi, dan bahkan mampu mengurangi frekuensi pemberian. Selain itu, sistem pelepasan terkendali oral juga dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan *gastro retention time* (GRT). GRT yang diperpanjang dapat membantu untuk mempertahankan sistem CR di lambung dalam waktu yang lama. GRT juga menentukan periode waktu yang tersedia untuk pelepasan obat dari sistem CR dalam GIT (Goyal *et al.*, 2011).

Ada beberapa cara untuk meningkatkan waktu retensi lambung, yaitu sistem mengambang (*floating*), sistem mukoadhesif, sistem *high-density*, hidrogel *superporous*, sistem *swelling* dan *expanding*, dan sistem magnetik. Sistem yang meningkatkan GRT ini memiliki lebih banyak fleksibilitas dalam desain dosis dibandingkan bentuk sediaan konvensional (Goyal *et al.*, 2011).

Sistem penghantaran obat yang bertujuan meningkatkan GRT ini dapat dirancang dalam sistem *single unit* (misalnya tablet) maupun *multiple unit* (misalnya *microspheres*). Bentuk sediaan *single unit* mudah untuk dikembangkan namun bentuk sediaan ini memiliki kelemahan diantaranya: (1) memiliki resiko kehilangan efeknya karena adanya pengosongan lambung dengan sifat *all-or-none*; (2) dapat mengakibatkan perbedaan bioavailabilitas yang sangat tinggi; (3) dapat mengakibatkan iritasi lokal karena adanya sejumlah obat yang banyak yang berada hanya pada satu posisi di GIT. Umumnya, dengan sistem *single unit* tidak cocok untuk formulasi pelepasan terkendali karena pola pelepasan yang variatif di GIT. Penggunaan sistem *multiple unit* dengan ukuran partikulat dapat menghindari sifat *all-or-none* pada pengosongan lambung, selain itu sediaan ini telah menunjukkan hasil yang lebih baik dari pada *single unit* karena adanya peningkatnya luas permukaan bentuk sediaan, dan ini akan memberikan distribusi obat yang seragam di GIT serta memberikan pola pelepasan yang diinginkan, sehingga mengurangi variabilitas dalam penyerapan maupun masalah yang terkait lainnya (Goyal *et al.*, 2011; Narang, 2011).

Berdasarkan *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, *microspheres* diartikan sebagai suatu sediaan mikropartikel yang bersifat *homogeneous* dan *monolithic* dengan ukuran partikel 1-1000 μm digunakan secara luas sebagai pembawa obat yang bertujuan untuk sistem pelepasan obat yang terkendali. Pemberian obat di dalam sediaan *microspheres* umumnya dapat meningkatkan potensi kesembuhan pada pasien dengan cara melokalisasi senyawa aktif obat pada daerah aksi dengan memperpanjang waktu pelepasan obat (Wise, 2000).

Metode preparasi atau pembuatan *microspheres* yang umum digunakan diantaranya adalah *Solvent evaporation*, *phase-separation* dan *spray drying* (Patel *et al.*, 2013). Dari beberapa metode yang dikembangkan, metode *solvent evaporation* telah mendapatkan banyak perhatian dan lebih disukai dalam pembuatan *microspheres* untuk sistem penghantaran obat terkendali karena kemudahan dalam fabrikasi dan tanpa menurunkan aktivitas dari bahan aktif (Garud & Garud 2012; Patel *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2008). *Microspheres* yang mengandung bahan aktif yang dihasilkan dari metode *solvent evaporation* dapat terdegradasi dan bahan aktif yang terenkapsulasi didalamnya dapat dilepaskan secara lambat dengan profil pelepasan yang spesifik (Li *et al.*, 2008). Metode *solvent evaporation* memiliki beberapa metode yang berbeda untuk preparasi *microspheres* (Li *et al.*, 2008; Wise, 2000). Salah satu dari metodenya adalah *non-aqueous solvent evaporation*, teknik ini cocok untuk membuat *microspheres* dengan bahan aktif yang memiliki kelarutan dalam air yang tinggi (Herrmann & Bodmeier 1998; Li *et al.*, 2008; Wise, 2000).

Bahan aktif yang akan digunakan untuk preparasi *microspheres* adalah metformin hidroklorida. Berdasarkan *Standards of Medical Care in Diabetes* yang diterbitkan oleh American Diabetes Association, metformin hidroklorida merupakan obat pilihan pertama untuk penanganan kasus diabetes melitus tipe 2 pada pasien yang mengalami obesitas, selama tidak terjadi kontraindikasi dan dapat diterima oleh pasien (ADA, 2013; Sweetman, 2009). Metformin hidroklorida termasuk obat yang sering digunakan dan diterima secara luas untuk mengatasi diabetes tipe 2 (Ghodake *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian yang dilakukan metformin hidroklorida memiliki beberapa kelemahan diantaranya waktu paruh biologis ($t_{1/2}$) yang rendah yaitu berkisar 1,5-1,6 jam setelah penggunaan oral, dan juga mempunyai bioavailabilitas yang cukup rendah yaitu 50-60% sehingga memerlukan dosis yang pemberian yang cukup besar yaitu 1,5-3 gram per hari dengan tempat absorpsi utama adalah di daerah proksimal usus halus (Nayak *et al.*, 2014).

Beberapa polimer yang bisa dan sering digunakan pada pembuatan mikropartikel adalah kitosan, alginat, polivinil alkohol (PVA), gelatin, akasia,

carboxymethylcellulose (CMC), *methylcellulose* (MC), agar, *casein*, *pectin*, *starch*, ataupun kombinasi dari beberapa polimer tersebut (Rijal *et al.*, 2010). Dari beberapa polimer dalam preparasi *microspheres* metformin hidroklorida dengan menggunakan metode *solvent evaporation*, polimer kitosan memberikan penundaan pelepasan yang paling baik (15 jam) dari pada polimer yang lain seperti etil selulosa, HPMC dan karbopol (Garud & Garud, 2012). Kitosan merupakan polimer alami yang diperoleh dari deasetilasi senyawa kitin. Struktur kitosan adalah poli [β -(1,4)-D-glukosamin] yang terdiri dari satu amin primer dan dua gugus hidroksil bebas pada tiap unit bangun. Pada pengembangan mikro/nano partikel kitosan memiliki keuntungan misalnya toksisitas yang rendah dan biokompatibel dengan jaringan tubuh (Rijal *et al.*, 2010).

Banyak faktor yang mempengaruhi *entrapment efficiency* dari *microspheres* yang berbasis kitosan seperti contohnya karakteristik obat, konsentrasi kitosan, rasio obat polimer, kecepatan pengadukan dan lain-lain, namun umumnya konsentrasi kitosan yang rendah menghasilkan *entrapment efficiency* yang rendah pula (Kadian & Gupta, 2012). Telah diketahui bahwa efek variabel pada proses preparasi seperti kecepatan pengadukan dan lama pengadukan berpengaruh pada beberapa aspek seperti bentuk, ukuran dan distribusi ukuran partikel, laju pelepasan dan *entrapment efficiency* yang dimiliki oleh *microspheres* itu sendiri (Dashora & Jain, 2009; Garud & Garud, 2012).

Maka mengacu dari beberapa penjelasan diatas, sangatlah diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimasi kecepatan pengadukan dan lama pengadukan guna memperoleh formula yang optimum.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh kecepatan dan lama pengadukan serta interaksinya terhadap *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*?
2. Berapa kecepatan dan lama pengadukan yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan *entrapment efficiency* yang maksimum?

3. Bagaimana karakteristik-karakteristik (pembentukan kompleks, ukuran partikel, *drug loading* dan *yield*) formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh kecepatan dan lama pengadukan serta interaksinya terhadap *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*.
2. Mengetahui kecepatan dan lama pengadukan yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan *entrapment efficiency* yang maksimum.
3. Mengetahui karakteristik-karakteristik (pembentukan kompleks, ukuran partikel, *drug loading* dan *yield*) formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan.

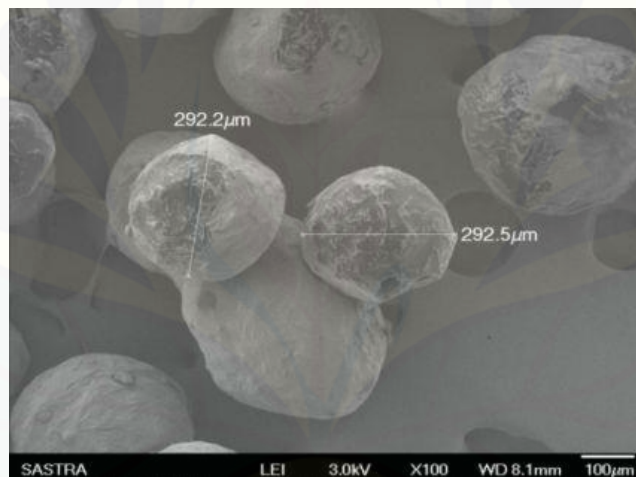
1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah untuk penelitian selanjutnya dalam pengembangan formulasi *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat terkendali yang potensial.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Microspheres*

Microspheres diartikan sebagai suatu sediaan mikropartikel dengan ukuran partikel 1-1000 μm digunakan secara luas sebagai pembawa obat yang bertujuan untuk sistem pelepasan obat yang terkendali. Obat di dalam sediaan *microspheres* umumnya dapat meningkatkan kualitas pengobatan pada pasien dengan cara melokalisasi senyawa aktif obat pada daerah aksi dengan memperpanjang waktu pelepasan obat (Wise, 2000).



Gambar 2.1 Penampakan *Microspheres* (Ghodake et al. 2010).

2.1.1. Manfaat *Microspheres*

Sistem penghantaran multi partikulat seperti *microspheres*, tersebar lebih merata di saluran pencernaan. Hal ini menyebabkan penyerapan obat lebih *reproducible* dan mengurangi iritasi lokal jika dibandingkan dengan bentuk sediaan *single-unit* seperti tablet bermatriks polimer yang tidak terdisintegrasi. Retensi pada usus yang tidak diinginkan dari bahan polimer, yang mungkin terjadi dengan tablet matriks pada dosis kronis, juga dapat dihindari. Sediaan berukuran mikro juga digunakan untuk memodifikasi dan menghambat pelepasan obat. Ukuran partikel yang kecil, dan tersebar luas di seluruh saluran pencernaan akan

meningkatkan penyerapan obat dan mengurangi efek samping iritasi obat karena penumpukan lokal pada mukosa gastrointestinal serta ini akan memberikan distribusi obat yang lebih seragam di GIT yang berakibat pada pola pelepasan yang diinginkan, sehingga mengurangi variabilitas dalam penyerapan maupun masalah lain yang terkait (Goyal *et al.*, 2011; Hire & Derle, 2014).

Keuntungan penggunaan *microspheres* itu sendiri adalah: (1) mampu memfasilitasi penghantaran yang akurat dari sejumlah kecil obat yang poten dan mengurangi konsentrasi obat di organ atau jaringan yang bukan target aksinya; (2) mampu memberikan perlindungan untuk obat yang tidak stabil sebelum dan setelah pemberian, sebelum bahan aktif tersebut berada di lokasi aksi; (3) mampu memberikan kemampuan untuk memanipulasi aksi *in-vivo* obat, profil farmakokinetik, distribusi pada jaringan dan interaksi obat dengan sel; (4) mampu memberikan pelepasan obat terkendali (Hire & Derle 2014).

2.1.2. Preparasi *Microspheres*

Solvent evaporation, *phase-separation* dan *spray drying* adalah metode yang umum digunakan untuk melakukan preparasi atau pembuatan *microspheres* (Patel *et al.*, 2013). Ketika akan melakukan preparasi *microspheres* untuk sistem penghantaran obat terkendali, pemilihan teknik preparasi yang akan digunakan bergantung pada sifat polimer dan bahan aktif yang digunakan serta tujuan dari dilakukannya preparasi *microspheres* (Wise, 2000).

Metode *solvent evaporation* memiliki beberapa metode yang berbeda untuk preparasi *microspheres*. Pemilihan metodenya akan berdampak pada efisiensi enkapsulasi bahan aktif, pemilihan ini berdasarkan hidrofilitas atau hidrofobitas dari bahan aktif (Li *et al.*, 2008). Tahap pertama dari metode ini adalah untuk mempersiapkan emulsi dengan menambahkan fasa terdispersi yang terdiri dari obat, polimer dan agen dispersi yang tepat dalam pelarut organik untuk media dispersi. Pada tahap kedua, bentuk minimatriks diperoleh dengan menghilangkan pelarut yang digunakan pada fase terdispersi dari tetesan (*droplets*) yang terbentuk dalam emulsi (Patel *et al.*, 2013).

Metode *solvent evaporation* dibedakan menjadi dua teknik secara umum yaitu *Multiple-emulsion technique* dan *Single-emulsion technique*, *Multiple-emulsion technique* adalah teknik emulsifikasi air dalam minyak dalam air (*water-in-oil-in-water emulsification*), sedangkan untuk *Single-emulsion technique* dibagi menjadi dua, yaitu emulsifikasi minyak dalam air (*oil-in-water emulsification*) dan emulsifikasi air dalam minyak (*water-in-oil emulsification*), karena fase air dalam proses emulsifikasi digantikan oleh minyak, teknik ini biasa disebut emulsifikasi minyak dalam minyak (*oil-in-oil emulsification*), karena tidak adanya keberadaan pelarut (*solvent*) air yang digunakan pada teknik emulsifikasi minyak dalam minyak, maka metode ini juga disebut sebagai *non-aqueous solvent evaporation* (Li *et al.*, 2008; Wise, 2000).

Beberapa teknik dari metode *solvent evaporation* digunakan berdasarkan sifat polimer, bahan aktif maupun hidrofilisitas atau hidrofobisitas bahan aktif. *Multiple-emulsion technique* digunakan untuk membuat *microspheres* dengan bahan aktif peptide, protein atau makromolekul lainnya. *Single-emulsion technique*, *oil-in-water emulsification* digunakan untuk membuat *microspheres* dengan bahan aktif yang bersifat tidak larut air (hidrofobik), dan *water-in-oil emulsification* atau *non-aqueous solvent evaporation* digunakan untuk membuat *microspheres* dengan bahan aktif yang bersifat larut air (hidrofil) (Herrmann & Bodmeier 1998; Li *et al.*, 2008; Wise, 2000).

2.1.3. *Non-aqueous Solvent Evaporation*

Teknik *non-aqueous solvent evaporation* adalah suatu teknik untuk preparasi *microspheres* dengan bahan aktif yang bersifat hidrofil atau memiliki kelarutan dalam air yang tinggi (Herrmann & Bodmeier 1998; Li *et al.*, 2008; Wise, 2000).

Teknik ini diawali dengan mencampurkan polimer dan bahan aktif ke dalam suatu pelarut (*solvent*) yang bersifat polar seperti aseton (Garud & Garud, 2012; Pandit *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2006), *acetonitrile* (Wise, 2000), kombinasi *acetonitrile* dan metanol (Herrmann & Bodmeier, 1998) atau kombinasi metanol dan aseton (Patel *et al.*, 2013), kemudian diemulsikan dengan fase lipofilik, yang

paling umum digunakan adalah *light paraffin liquid* (Garud & Garud 2012; Pandit *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2006; Wise, 2000) atau menggunakan *cotton seed oil* (Herrmann & Bodmeier, 1998) atau menggunakan kombinasi *heavy paraffin liquid*, *light paraffin liquid* dan heksana (Patel *et al.*, 20s13). Penambahan surfaktan lipofilik seperti *span* juga bisa dilakukan (Herrmann & Bodmeier, 1998; Wise, 2000), namun jika dirasa tidak perlu, juga boleh tidak ditambahkan seperti yang dilakukan oleh Garud & Garud (2012) dan Patel *et al.*, (2006). Setelah semua bahan tercampur, campuran tersebut diaduk dengan kecepatan dan lama pengadukan tertentu. Patel *et al.*, (2006) melakukan preparasi *microspheres* dengan kecepatan pengadukan 1200 rpm dengan lama pengadukan 2 jam, Garud & Garud (2012) melakukannya dengan kecepatan pengadukan bervariasi yaitu 600, 1200, 1800 rpm dengan lama pengadukan 4 jam, Patel *et al.*, (2013) melakukannya dengan kecepatan pengadukan 1500 rpm dengan lama pengadukan 2 jam, Pandit *et al.*, (2013) melakukannya dengan kecepatan 1500 rpm dengan lama pengadukan 3 jam.

Tahap selanjutnya merupakan tahap yang paling penting juga, yaitu membersihkan produk akhir dari fase eksternal atau fase lipofiliknya, fase lipofilik atau dalam hal ini adalah minyak biasa dibersihkan menggunakan pelarut organik seperti *n-hexane* (Herrmann & Bodmeier, 1998; Patel *et al.*, 2013; Wise, 2000), atau *petroleum ether* (Garud & Garud, 2012; Pandit *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2006). Setelah itu produk akhir dikeringkan dalam suhu ruang dan disimpan di desikator (Garud & Garud 2012; Pandit *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2006; Patel *et al.*, 2013).

2.1.4. Karakteristik *Microspheres*

a. *Entrapment Efficiency*

Entrapment Efficiency adalah suatu karakterisasi *microspheres* yang menggambarkan kandungan atau jumlah obat yang terjerap di dalam *microspheres*. *Entrapment Efficiency* digambarkan dengan rasio perbandingan kandungan obat sebenarnya (hasil analisis) dengan kandungan obat secara teoritis (Hire & Derle, 2014). Metode yang dapat digunakan adalah metode

spektrofotometri dengan menggunakan persamaan berikut (Garud & Garud, 2012):

$$\% \text{ entrapment efficiency} = \frac{\text{konsentrasi obat hasil analisis(ppm)}}{\text{konsentrasi obat teoritis (ppm)}} \times 100\% \dots\dots (1)$$

b. *Drug Loading*

Drug loading adalah suatu karakterisasi *microspheres* yang menggambarkan seberapa efisien formulasi yang digunakan untuk menghasilkan *microspheres*. *Drug loading* dapat ditentukan dengan membandingkan berat bahan aktif sebenarnya dengan berat *microspheres* yang sebenarnya (Garud & Garud 2012), untuk lebih jelasnya dapat menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ drug loading} = \frac{\text{berat bahan aktif sebenarnya(mg)}}{\text{berat } \textit{microsphere} \text{ sebenarnya(mg)}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

c. *Yield*

Yield adalah suatu karakterisasi *microspheres* yang menggambarkan seberapa efisien metode preparasi yang digunakan untuk menghasilkan *microspheres* (Sappidi *et al.*, 2014). *Yield* dapat ditentukan melalui perbandingan berat *microspheres* yang sebenarnya didapat dengan berat *microspheres* teoritis (Garud & Garud 2012), untuk lebih jelasnya dapat menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{berat } \textit{microsphere} \text{ sebenarnya(mg)}}{\text{berat } \textit{microsphere} \text{ teoritis(mg)}} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

d. Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Analisis SEM digunakan untuk menentukan morfologi, bentuk dan ukuran partikel. Ukuran partikel dari suatu *microspheres* mempengaruhi laju pelepasan bahan aktif. Penurunan ukuran partikel, akan berdampak pada peningkatan rasio antara luas permukaan dengan volume partikel *microspheres*, umumnya peningkatan ini juga akan diikuti peningkatan difusi obat dari *microspheres* ke lingkungan dan peningkatan fluks bahan aktif. Partikel yang memiliki ukuran yang lebih kecil mengalami pengerasan yang lebih cepat karena jarak yang pendek untuk menguapnya suatu *solvent*, dan ini akan mengakibatkan distribusi obat lebih seragam. (Varde & Pack, 2006).

e. Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

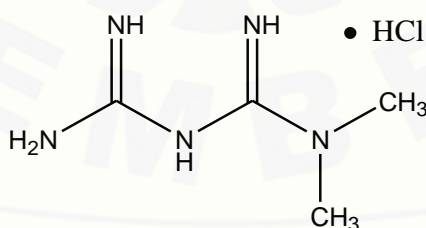
Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan suatu metode spektroskopi infrared (IR) yang dapat mengidentifikasi kandungan gugus kompleks dalam senyawa tetapi tidak dapat menentukan unsur-unsur penyusunnya (Kencana, 2009).

Pada spektroskopi IR, radiasi IR dilewatkan pada sampel. Sebagian dari radiasi akan diteruskan, namun jika frekuensi dari suatu vibrasi sama dengan frekuensi radiasi IR yang langsung menuju molekul, molekul sampel akan menyerap radiasi tersebut. Spektrum yang dihasilkan menggambarkan absorpsi dan tranmisi molekular membentuk sidik jari molekular suatu sampel (Kencana, 2009).

Spektra FTIR dapat digunakan untuk melihat ada tidaknya interaksi antara bahan aktif dengan polimer yang digunakan, serta mendeteksi identitas bahan aktif, polimer dan interaksi antara keduanya (Sappidi *et al.*, 2014).

2.2. Metformin Hidroklorida

Metformin hidroklorida (1,1-Dimetilbiguanida hidroklorida) merupakan obat antidiabetes dari golongan biguanida yang memiliki berat molekul sebesar 165,62 dengan rumus molekul $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ dan rumus molekul liniernya adalah $NH_2C(=NH)NHC(=NH)N(CH_3)_2 \cdot HCl$ (Sigma-Aldrich, 2014). Metformin hidroklorida umumnya berupa kristal berwarna putih atau hampir putih. Mudah larut dalam air, agak larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam aseton dan diklorometan (Sweetman, 2009).

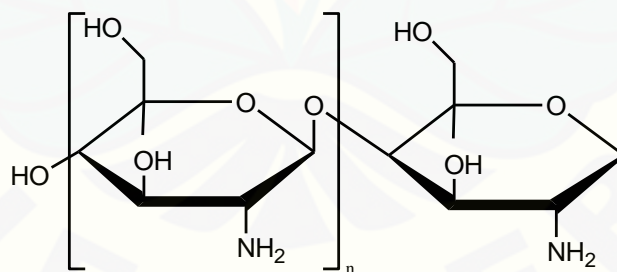


Gambar 2.2 Struktur metformin hidroklorida

Metformin hidroklorida adalah salah satu obat antidiabetes pilihan pertama untuk penderita diabetes melitus tipe 2 yang memiliki berat badan berlebih (*obesity*) (Sweetman, 2009). Metformin hidroklorida memiliki waktu paruh biologis ($T_{1/2}$) yang berkisar 1,5-1,6 jam setelah penggunaan oral, dengan bioavailabilitas yang cukup rendah yaitu 50-60% sehingga dosis pemberian metformin hidroklorida per hari cukup besar, berkisar 1,5-3 gram per hari dengan tempat absorpsi utama adalah di daerah proksimal usus halus (Nayak *et al.*, 2014).

2.3. Kitosan

Kitosan merupakan salah satu biopolimer, yang mudah diserap tubuh dan tidak beracun serta telah banyak dieksplorasi untuk sistem pelepasan obat (Kumari & Rani, 2011). Kitosan memiliki rumus struktur linier Poli-b-(1,4)-2-Amino-2-deoksi-D-glukosa (Rowe *et al.*, 2009). Kitosan didapatkan dari hasil deasetilisasi senyawa kitin. Kitin adalah senyawa organik yang paling melimpah kedua di alam setelah selulosa. Kitin tersebar luas pada invertebrata laut, serangga, jamur, dan *yeast* (Kumari & Rani 2011). Derajat deasetilasi yang diperlukan untuk memperoleh produk yang larut harus lebih besar dari 80-85%. Kitosan secara komersial tersedia dalam beberapa jenis, bervariasi dalam berat molekul (10.000-1.000.000), derajat deasetilasi dan viskositas (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 2.3 Struktur kitosan

Kitosan dapat dideskripsikan sebagai serbuk tak berbau, berwarna putih atau putih krim, sedikit larut dalam air; praktis tidak larut dalam etanol (95%) dan pelarut organik lainnya, dan pada larutan netral atau alkalis dengan pH diatas sekitar 6,5. Kitosan merupakan polimer yang tidak kompatibel dengan senyawa

oksidator kuat (Rowe *et al.*, 2009). Kitosan memiliki muatan ion positif, yang memberikan kemampuan untuk mengikat secara kimiawi dengan lemak bermuatan negatif, lipid, kolesterol, ion logam, protein, dan makromolekul (Kumari & Rani, 2011).

2.4. Desain Faktorial

Desain faktorial adalah suatu desain yang digunakan untuk penentuan secara simultan suatu efek dari beberapa faktor dan interaksinya. Metode ini digunakan dalam suatu penelitian untuk mengetahui efek dari beberapa faktor atau suatu kondisi dalam hasil suatu penelitian (Bolton & Bon, 2004).

Terdapat dua tipe dari desain faktorial, yaitu *simple factorial design* dan *complex factorial design*. *Simple factorial design* juga sering disebut sebagai desain faktorial yang menggunakan dua faktor sedangkan *complex factorial design* sering disebut sebagai desain faktorial yang menggunakan multi faktor (Kothari, 2004).

Terdapat beberapa istilah dalam desain faktorial diantaranya adalah faktor, *level*, efek, interaksi. Faktor adalah variabel yang ditentukan yang dapat memberikan pengaruh pada efek. *Level* adalah besaran dari faktor, dimana terdapat *level* tinggi dan *level* rendah. Efek adalah respon yang berubah akibat adanya perbedaan *level* dari faktor. Interaksi adalah suatu respon yang menunjukkan hubungan antar faktor dalam memberikan efek (Bolton & Bon, 2004).

Persamaan umum dari desain faktorial yang menggunakan dua faktor adalah sebagai berikut:

$$Y = b_0 + b_1X_A + b_2X_B + b_{12}X_AX_B \dots \dots \dots (4)$$

Y = efek respon yang diamati

X_A = *level* A

X_B = *level* B

b_0, b_1, b_2, b_{12} = koefisien, dapat dihitung dari hasil percobaan

Keuntungan menggunakan desain faktorial adalah sebagai berikut:

1. Dapat menghemat biaya dibandingkan melakukan penelitian tunggal untuk mendapat tingkat ketelitian yang sama
2. Dapat menentukan efek utama dari dua faktor dengan hanya satu penelitian tunggal
3. Desain faktorial memiliki efisiensi maksimum dalam memperkirakan efek utama jika tidak ada interaksi, jika terdapat interaksi desain faktorial dapat menentukan interaksi dari beberapa faktor yang digunakan yang umumnya tidak bisa didapatkan pada satu penelitian tunggal
4. Hasil kesimpulan dari penelitian dapat digunakan dalam berbagai kondisi (Bolton & Bon, 2004; Kothari, 2004).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Tahapan penelitian meliputi: (1) Perancangan optimasi formula dengan kecepatan pengadukan dan lama pengadukan sebagai variabel bebas menggunakan desain faktorial; (2) Preparasi *microspheres* metformin hidroklorida sesuai dengan rancangan formula; (3) Penetapan % *entrapment efficiency* (4) Penentuan formula optimum dengan *Design Expert* versi *trial* 9.0.2; dan (5) Karakterisasi formula optimum.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

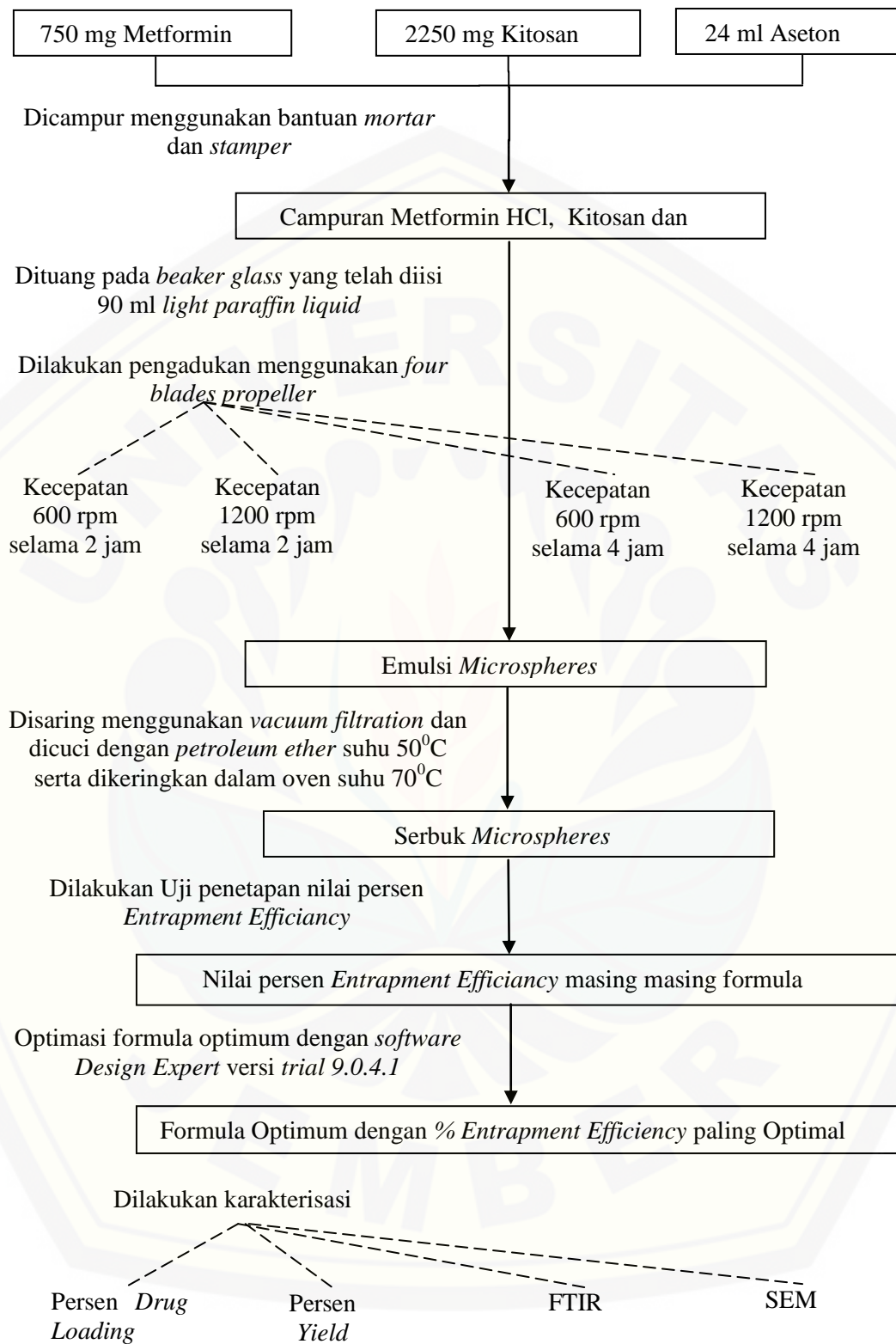
Four blades Propeller (IKA Labortechnik, Germany), Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S*, Thermo Scientific, USA), Spektroskopi FTIR (*Genesys 10s*) Neraca analitik (*AdventurerTM Ohaous*, USA), Oven (*Memmert*, Germany), alat-alat gelas, *stopwatch* dan *software Design Expert* versi *trial* 9.0.4.1

3.2.2 Bahan

Metformin HCl (*Hildose*, RRC), Kitosan (*PT. Biotech Surindo*, Indonesia), *Light Paraffin Liquid* (*PT. Bratachem*, Indonesia), Aseton (*PT. Smart Lab*, Indonesia), *Petroleum Ether* (*PT. Bratachem*, Indonesia), Aquademineralisata

3.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Bagian Farmasetika dan Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Februari-Mei 2015



Gambar 3.1 Skema langkah kerja penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Perancangan Optimasi Formula

Pada penelitian ini dibuat empat macam formula *microspheres* metformin hidrklorida. Hal yang membedakan masing-masing formula adalah perlakuan mengenai kecepatan dan lama pengadukan yang dilakukan dengan menggunakan *four-blades propeller* dalam pembentukan *microspheres* metformin hidrolorida. Optimasi pada penelitian ini menggunakan desain faktorial dengan dua faktor dua *level* sehingga dibutuhkan empat formula untuk percobaannya, seperti yang ditunjukkan pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Rancangan desain faktorial untuk dua faktor dan dua *level*

Formula	Faktor A (Kecepatan Pengadukan)	Faktor B (Lama Pengadukan)	Interaksi A dan B
(1)	-1	-1	+1
A	+1	-1	-1
B	-1	+1	-1
AB	+1	+1	+1

Berikut adalah variabel-variabel dalam penelitian yang akan dilakukan:

- Variabel bebas : kecepatan dan lama pengadukan
- Variabel terkontrol : jumlah metformin hidroklorida, kitosan, aseton, *light paraffin liquid* dan *petroleum ether*
- Variabel terikat : persen *entrainment efficiency*

Susunan *level* untuk masing-masing faktor dapat dilihat pada tabel 3.2

Tabel 3.2 Susunan *level* faktor berdasarkan desain faktorial

Faktor	<i>Level</i> rendah (-1)	<i>Level</i> tinggi (+1)
Kecepatan Pengadukan	600 rpm	1200 rpm
Lama Pengadukan	2 jam	4 jam

Adapun rancangan formula *microspheres* metformin hidroklorida adalah sebagai berikut:

Tabel 3.3 Formula *microspheres* metformin hidroklorida

Bahan	Jumlah yang digunakan	Fungsi
Metformin hidroklorida	750mg	Bahan aktif
Kitosan	2250mg	Polimer
<i>Light paraffin liquid</i>	90ml	Fase Eksternal
Aseton	24ml	Fase Internal
<i>Petroleum ether</i>	30ml	Agen Pencuci

3.4.2 Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida (Garud & Garud 2012)

Sebanyak 750 mg metformin hidroklorida dan 2250 mg kitosan dicampurkan dalam larutan aseton 24 ml, kemudian campuran tersebut ditambahkan pada larutan *light paraffin liquid* sebanyak 90 ml, yang selanjutnya untuk menguapkan aseton yang ditambahkan sebelumnya dilakukan pengadukan dengan kecepatan dan lama pengadukan yang berbeda, untuk formula (1) diaduk dengan kecepatan pengadukan adalah 600 rpm dan lama pengadukannya adalah 2 jam, formula A diaduk dengan kecepatan pengadukan 1200 rpm dan lama pengadukan adalah 2 jam, formula B diaduk dengan kecepatan 600 rpm dan lama pengadukan 4 jam, formula AB diaduk dengan kecepatan 1200 rpm dan lama pengadukan 4 jam, untuk lebih jelasnya dapat dilihat dalam tabel 3.4

Tabel 3.4 Preparasi *microspheres* metformin hidroklorida

Formula	Metformin hidroklorida (mg)	Kitosan (mg)	Aseton (ml)	<i>Light Paraffin Liquid</i> (ml)	Pengadukan
(1)	750	2250	24	90	600 rpm selama 2 jam
A	750	2250	24	90	1200 rpm selama 2 jam
B	750	2250	24	90	600 rpm selama 4 jam
AB	750	2250	24	90	1200 rpm selama 4 jam

Setelah proses pengadukan selesai, campuran tersebut disaring menggunakan *vacuum filtration* yang dilengkapi kertas saring Whatman no. 1 dan

microspheres yang terbentuk dicuci menggunakan *petroleum ether* dengan suhu 50⁰C hingga bebas dari minyak. Kemudian *microspheres* dikeringkan dalam oven pada suhu 70⁰C sampai didapatkan bobot yang konstan lalu disimpan di desikator.

3.4.3 Penetapan *Entrapment Efficiency*

3.4.3.1 Pembuatan Kurva Baku

3.4.3.1.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan membuat larutan dengan konsentrasi tertentu sebagai standar baku. Standar baku tersebut kemudian di *scanning* pada panjang gelombang 200-400 nm dan ditentukan panjang gelombang maksimumnya dengan melihat nilai absorbansi yang terbesar.

3.4.3.1.2 Preparasi Kurva Baku

Pembuatan larutan baku standar diawali dengan membuat larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan induk tersebut kemudian diencerkan untuk dibuat larutan baku standar dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12 ppm. Setiap konsentrasi dari larutan baku standar ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya, setelah itu dibuat kurva baku dari hasil pengukuran tersebut.

3.4.3.2 Pengukuran *Entrapment Efficiency* (Pandit *et al.*, 2013)

Pengukuran *entrapment efficiency* dilakukan dengan cara menimbang *microspheres* yang mengandung metformin hidroklorida setara 50 mg, selanjutnya *microspheres* tersebut dicuci dengan akuades untuk menghilangkan metformin hidroklorida bebas dan kemudian dihancurkan dalam mortar dengan akuades sampai dengan 100 ml, kemudian disaring dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV untuk menentukan konsentrasi obat. Penetapan % *entrapment efficiency* (EE) dapat menggunakan persamaan (1).

3.4.4 Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan dengan menganalisis data yang didapatkan. Dari data hasil penelitian didapatkan nilai % *entrapment efficiency*

yang kemudian disebut dengan respon dan selanjutnya di analisis menggunakan metode desain faktorial untuk melengkapi persamaan (4), sehingga didapatkan persamaan umum hubungan antara faktor dan respon (% *entrapment efficiency*).

Berdasarkan persamaan diatas dapat ditentukan nilai dari koefisien b_0 , b_1 , b_2 , b_{12} . Sedangkan untuk membuat *counter plot* didasarkan pada hasil perhitungan persamaan diatas. *Counter plot* dibuat dengan menggunakan *software Design Expert* versi *trial 9.0.4.1*, pembuatannya meliputi nilai % *entrapment efficiency* agar dapat diketahui pengaruh kedua faktor (kecepatan dan lama pengadukan) serta interaksinya terhadap perubahan respon.

3.4.5 Karakterisasi Formula Optimum

3.4.5.1 Penetapan *Drug Loading* (Garud & Garud, 2012)

Sebelum melakukan penentuan *drug loading* dilakukan penetapan berat bahan aktif yang sebenarnya melalui perkalian % EE dengan berat bahan aktif teoritis. Kemudian berat bahan aktif yang sebenarnya dibandingkan dengan berat *microspheres* setelah pengeringan yang selanjutnya disebut dengan berat *microspheres* sebenarnya, untuk lebih jelasnya dapat menggunakan persamaan (2).

3.4.5.2 Penetapan *Yield* (Garud & Garud, 2012)

Penentuan *yield* dilakukan melalui perbandingan berat *microspheres* sebenarnya dengan berat *microspheres* teoritis, dimana berat *microspheres* teoritis ini didapatkan dari penjumlahan berat bahan aktif dan berat polimer yang digunakan, untuk lebih jelasnya dapat menggunakan persamaan (3).

3.4.5.3 Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Sabitha *et al.*, 2010)

Scanning Electron Microscope (SEM) digunakan untuk menentukan ukuran, morfologi dan bentuk partikel *microspheres*. Analisis dilakukan menggunakan dengan perbesaran 600 kali, sejumlah *microspheres* diletakkan secara tersebar pada *glass tub* lalu ditempatkan pada SEM Chamber. Kondisi *chamber* disesuaikan yaitu dengan tekanan 0,1 mmHg dan dengan tegangan 20 kV.

3.4.5.4 Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Yadav & Jain, 2011)

Untuk melihat pembentukan kompleks antara metformin hidroklorida dengan kitosan, maka dilakukan *scanning* menggunakan spektroskopi FTIR dengan resolusi 2 cm^{-1} dan rentang *scanning* $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$. *Scanning* dilakukan pada metformin hidroklorida, kitosan dan kompleks metformin hidroklorida-kitosan (*microspheres*). Lalu masing-masing spektra bahan dibandingkan untuk mengetahui interaksinya.



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pembuatan *Microspheres* Metformin Hidroklorida

Tahap pertama pada penelitian ini adalah pembuatan empat formula *microspheres* metformin hidroklorida berdasarkan rancangan optimasi desain faktorial dua faktor dua *level*, yaitu F(1), F(A), F(B) dan F(AB). *Microspheres* metformin hidroklorida yang telah dibuat dalam empat formula ini mengandung bahan-bahan dengan jumlah yang sesuai pada penelitian pendahuluan yang mengacu pada prosedur preparasi *microspheres* metformin hidroklorida dengan metode *non-aqueous solvent evaporation technique* yang sebelumnya telah dilakukan oleh Garud & Garud (2012). Bahan-bahan yang digunakan untuk preparasi *microspheres* metformin hidroklorida adalah 750 mg metformin hidroklorida, 2250 mg kitosan sebagai polimer, 24 ml aseton sebagai fase internal, 90 ml *light paraffin liquid* sebagai eksternal dan *petroleum ether* sebagai agen pencuci.

Microspheres metformin hidroklorida dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation technique* menggunakan *four-blades propeller*. Variabel yang dioptimasi adalah kecepatan dan lama pengadukan *four-blades propeller*, sehingga kecepatan dan lama pengadukan *four-blades propeller* dalam preparasi *microspheres* berbeda tiap formula, sedangkan respon yang diamati adalah persen *entrapment efficiency*. Nilai persen *entrapment efficiency* dipilih sebagai respon karena keberhasilan preparasi *microspheres* dinilai dari jumlah obat yang berhasil dijerap dalam suatu kompleks *microspheres*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Garud & Garud (2012), Dashora & Jain (2009) dan Kadian & Gupta (2012) diketahui bahwa *entrapment efficiency* dari *microspheres* yang berbasis kitosan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi kitosan, rasio obat polimer, kecepatan pengadukan, lama pengadukan dan lain-lain, maka dari itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimasi kecepatan pengadukan dan lama pengadukan dari *four blades*

propeller pada metode *non aqueous solvent evaporation* guna memperoleh formula optimum yang memiliki nilai persen *entrapment efficiency* yang optimum.

Hasil akhir masing-masing formula menunjukkan penampakan yang hampir sama, yaitu berupa serbuk berwarna putih agak kekuningan. Untuk lebih jelasnya penampakan masing-masing formula dapat dilihat pada gambar 4.1



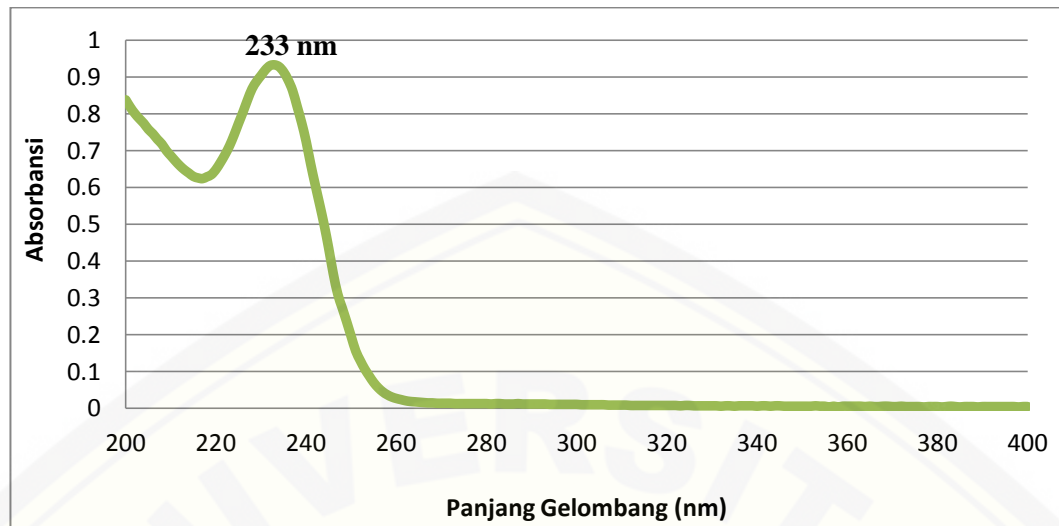
Gambar 4.1 Serbuk *microspheres* metformin hidroklorida formula (1) pengadukan 600 rpm, 2 jam; formula (A) pengadukan 1200 rpm, 2 jam; formula (B) pengadukan 600 rpm, 4 jam; formula (AB) pengadukan 1200 rpm, 4 jam.

4.2 Hasil Penentuan *Entrapment Efficiency* *Microspheres* Metformin Hidroklorida

4.2.1 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

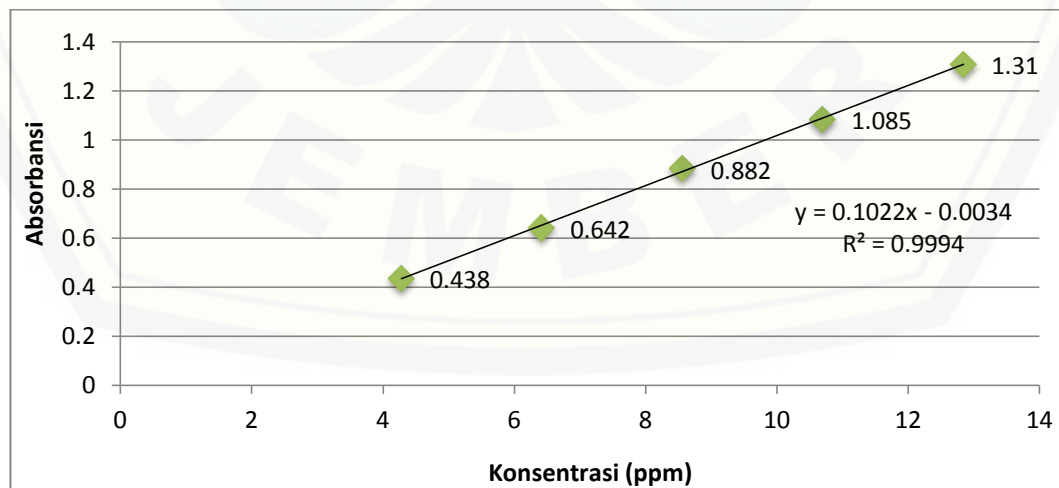
Panjang gelombang maksimum metformin hidroklorida ditentukan dengan mengukur absorbansi standar metformin hidroklorida dengan konsentrasi 8 ppm dengan rentang panjang gelombang pengukuran 200-400 nm. Hasil pengukuran absorbansi metformin hidroklorida dalam akuades menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum adalah pada 233 nm. Penelitian sebelumnya yang dilakukan Pandit *et al.* (2013) juga menunjukkan panjang gelombang maksimal yang serupa yaitu 233 nm. Hasil analisis absorbansi standar metformin hidroklorida selengkapnya dapat dilihat di lampiran C sedangkan kurva absorbansi sinar ultraviolet oleh metformin hidroklorida dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Spektra panjang gelombang Metformin Hidroklorida

b. Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida

Kurva baku metformin hidroklorida dibuat dengan mengukur absorbansi dari 5 larutan standar yang memiliki konsentrasi berbeda yang diperoleh dari pengenceran larutan induk. Linieritas ditentukan menggunakan parameter linieritas yang berupa nilai koefisien korelasi (r). Hasil analisis linieritas diperoleh persamaan garis linier dari kurva baku metformin hidroklorida yaitu $y = 0,102x - 0,0034$ dengan nilai $r = 0,999$ pada panjang gelombang 233 nm. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa kurva baku yang akan digunakan untuk penentuan nilai persen *entrapment efficiency* memenuhi persyaratan linieritas. Kurva baku metformin hidroklorida dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva baku metformin hidroklorida

4.2.2 Penentuan Nilai Persen *Entrapment Efficiency*

Tahap selanjutnya setelah didapatkan panjang gelombang maksimum dan kurva baku adalah penentuan nilai persen *entrapment efficiency*. Penentuan nilai persen *entrapment efficiency* metformin hidroklorida dilakukan dengan melakukan pencucian *microspheres* yang didapatkan untuk menghilangkan metformin hidroklorida yang tidak terjerap dalam *microspheres*, kemudian *microspheres* tersebut dihancurkan dalam air dengan bantuan *mortir* dan *stamper* untuk didapatkan metformin hidroklorida yang terjerap dalam *microspheres*. Kadar metformin hidroklorida yang terjerap dalam *microspheres* diukur menggunakan metode spektrofotometri UV.

Nilai persen *entrapment efficiency* ini sangatlah penting dalam bidang farmasi terutama untuk system penghantaran obat ke dalam tubuh karena dengan nilai persen *entrapment efficiency* maka dapat dilihat kemampuan *microspheres* dalam membawa bahan aktif yang dalam penelitian ini adalah metformin hidroklorida ke dalam tubuh manusia. Nilai persen *entrapment efficiency* yang tinggi akan meningkatkan jumlah obat yang akan dilepaskan oleh sistem yang dapat memberikan efek terapi yang diinginkan (Hire & Derle, 2014).

Nilai persen *entrapment efficiency* setiap formula *microspheres* metformin hidroklorida disajikan dalam tabel 4.1. formula yang mempunyai nilai persen *entrapment efficiency* paling tinggi dari empat formula yang telah dirancang dengan desain faktorial adalah formula A, yaitu 85,762%. Formula A merupakan formula *microspheres* yang pengadukan menggunakan kecepatan 1200 rpm selama 2 jam.

Tabel 4.1. Hasil pengujian nilai persen *entrapment efficiency*

Formula	Replikasi	Pengadukan		%EE	%EE \pm SD
		Kecepatan	Lama		
(1)	1	600 rpm	2 jam	69,334 %	70,869% \pm 1,627
	2	600 rpm	2 jam	70,698 %	
	3	600 rpm	2 jam	72,575 %	
(A)	1	1200 rpm	2 jam	87,761 %	85,762% \pm 1,889
	2	1200 rpm	2 jam	85,518 %	
	3	1200 rpm	2 jam	84,007 %	
(B)	1	600 rpm	4 jam	34,164 %	36,915% \pm 3,904
	2	600 rpm	4 jam	35,198 %	
	3	600 rpm	4 jam	41,383 %	
(AB)	1	1200 rpm	4 jam	66,447 %	66,702% \pm 2,954
	2	1200 rpm	4 jam	63,884 %	
	3	1200 rpm	4 jam	69,776 %	

Berdasarkan tabel 4.1. juga diketahui bahwa F(1) yang diaduk dengan kecepatan rendah dan lama pengadukan singkat memberikan nilai persen *entrapment efficiency* (%EE) yang cukup besar yaitu 70,869% \pm 1,627 dan dengan adanya peningkatan kecepatan pengadukan seperti pada F(A) nilai %EE yang dimiliki juga mengalami peningkatan jika dibandingkan F(1), yaitu 85,762% \pm 1,889, sedangkan dengan adanya peningkatan lama pengadukan seperti pada F(B) nilai %EE yang dimiliki mengalami penurunan jika dibandingkan F(1), yaitu 36,915% \pm 3,904. Ketika kedua faktor tersebut yang berupa kecepatan dan lama pengadukan ditingkatkan seperti pada F(AB) nilai %EE yang dimiliki mengalami penurunan jika dibandingkan F(1) yaitu 66,702% \pm 2,954, penurunan ini tidak lebih besar daripada F(B). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Dashora & Jain (2009) dan Garud & Garud (2012) bahwa peningkatan kecepatan pengadukan akan meningkatkan nilai %EE sedangkan peningkatan lama pengadukan akan menurunkan nilai %EE.

4.3 Hasil Analisis Desain Faktorial dan Penentuan Formula Optimum

Analisis dan hasil penentuan formula optimum pada penelitian ini menggunakan *software design expert 9.0.4.1* versi *trial*. Formula optimum merupakan daerah optimum yang memenuhi kriteria respon dan rentang *level* faktor dari analisis desain faktorial. Hasil respon yang diperoleh untuk

menentukan daerah optimum dengan metode desain faktorial dapat dilihat pada tabel 4.2. Respon yang diharapkan adalah nilai persen *entrapment efficiency* yang paling besar.

Tabel 4.2 Nilai respon persen *entrapment efficiency* semua formula

Formula	Notasi Desain Faktorial		%EE Rata-rata \pm SD
	Kecepatan Pengadukan	Lama Pengadukan	
(1)	-1	-1	70,869% \pm 1,627
(A)	+1	-1	85,762% \pm 1,889
(B)	-1	+1	36,915% \pm 3,904
(AB)	+1	+1	66,702% \pm 2,954

Berdasarkan data pada tabel 4.2 diketahui bahwa pada kecepatan yang sama, peningkatan lama pengadukan mengakibatkan penurunan nilai persen *entrapment efficiency* seperti terlihat pada formula (1) dibandingkan dengan formula (B), serta formula (A) dibandingkan dengan formula (AB). Pada lama pengadukan yang sama, peningkatan kecepatan pengadukan mengakibatkan peningkatan persen *entrapment efficiency* seperti terlihat pada formula (1) dibandingkan dengan formula (A), serta formula (B) dibandingkan dengan formula (AB). Berdasarkan hasil pengolahan data, diperoleh data efek kecepatan pengadukan dan lama pengadukan menggunakan *four blades propeller* serta interaksi keduanya yang dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Nilai efek faktor kecepatan dan lama pengadukan serta interaksi keduanya

Faktor	Efek
Kecepatan Pengadukan	22.34
Lama Pengadukan	-26.51
Interaksi	7.45

Berdasarkan data diatas, faktor yang berupa kecepatan pengadukan memberikan efek positif pada respon persen *entrapment efficiency*. Ini dapat diartikan bahwa semakin tinggi kecepatan pengadukan maka nilai persen

entrapment efficiency dari suatu *microspheres* metformin hidroklorida akan meningkat. Faktor yang berupa lama pengadukan memberikan efek negatif pada respon persen *entrapment efficiency*. Ini dapat diartikan bahwa semakin lama waktu pengadukan maka nilai persen *entrapment efficiency* dari suatu *microspheres* metformin hidroklorida akan menurun. Interaksi antara kedua faktor tersebut juga memberikan efek positif ini berarti bahwa adanya interaksi antara kedua faktor tersebut juga akan meningkatkan nilai persen *entrapment efficiency* dari suatu *microspheres* metformin hidroklorida, namun nilai efek interaksi antara kedua faktor tersebut relatif jauh lebih kecil daripada efek faktor kecepatan pengadukan sehingga pengaruhnya terhadap respon persen *entrapment efficiency* juga relatif jauh lebih kecil daripada efek faktor kecepatan pengadukan.

Pada proses pengadukan, kecepatan dan lama pengadukan akan berpengaruh pada ukuran partikel dan nilai persen *entrapment efficiency microspheres* yang dihasilkan. Kecepatan pengadukan dapat mempengaruhi nilai persen *entrapment efficiency* yang dihasilkan oleh suatu *microspheres*. Pengadukan yang terlalu lambat menyebabkan *droplet* yang akan menjadi *microspheres* berukuran relatif besar sehingga proses pembentukan emulsi menjadi kurang optimal dan nilai persen *entrapment efficiency* yang dihasilkan oleh suatu *microspheres* mengalami penurunan. Pengadukan yang terlalu cepat juga dapat menurunkan ukuran partikel yang juga berhubungan dengan nilai persen *entrapment efficiency* suatu *microspheres* (Dashora & Jain 2009; Garud & Garud 2012).

Lama pengadukan juga mempengaruhi nilai persen *entrapment efficiency* yang dihasilkan oleh suatu *microspheres*. Pengadukan yang terlalu singkat menyebabkan proses pembentukan emulsi untuk menjerap bahan aktif ke dalam polimer yang digunakan untuk membentuk suatu partikel *microspheres* belum sempurna. Pengadukan yang dilakukan terlalu lama dapat menyebabkan penurunan terhadap persen *entrapment efficiency* yang kemungkinan karena adanya penurunan ukuran partikel. Ukuran partikel yang terlalu kecil dapat menurunkan kemampuan suatu partikel *microspheres* untuk menjerap bahan aktif

sehingga persen *entrapment efficiency* dari *microspheres* dapat mengalami penurunan (Dashora & Jain 2009; Rathod *et al.* 2012).

Hasil analisis *software design expert 9.0.4.1* versi *trial* menghasilkan suatu persamaan umum desain faktorial dengan respon persen *entrapment efficiency*. Persamaan umum itu merupakan hubungan antara faktor kecepatan dan lama pengadukan dengan respon persen *entrapment efficiency*. Persamaan tersebut dinyatakan sebagai $Y = b_0 + b_a X_A + b_b X_B + b_{ab} X_A X_B$ dalam bentuk *coded* dan *actual* sebagai berikut:

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\text{Persen entrapment efficiency} = +65,06 + 11,17 * A - 13,25 * B + 3,72 * AB \dots \dots \dots (5)$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\text{Persen entrapment efficiency} = +104,82300 - 1,11111E-006 * \text{Kecepatan Pengadukan} - 24,42383 * \text{Lama Pengadukan} + 0,012412 * \text{Kecepatan Pengadukan} * \text{Lama Pengadukan} \dots \dots \dots (6)$$

Persamaan di atas menunjukkan bahwa faktor kecepatan pengadukan merupakan faktor dominan dalam meningkatkan respon persen *entrapment efficiency* karena pada persamaan tersebut kecepatan pengadukan memiliki nilai koefisien yang paling besar sehingga dapat dikatakan bahwa kecepatan pengadukan memiliki pengaruh besar pada persen *entrapment efficiency* yang dihasilkan. Selain dapat digunakan untuk menentukan nilai respon dari suatu kombinasi kecepatan dan lama pengadukan tertentu persamaan umum ini juga dapat digunakan untuk mencari nilai kecepatan dan lama pengadukan untuk menghasilkan suatu respon persen *entrapment efficiency* yang diharapkan. Persamaan *coded factors* digunakan jika kecepatan dan lama pengadukan dalam bentuk notasi *level*, sedangkan persamaan *actual factors* digunakan jika kedua faktor dalam jumlah yang sebenarnya.

Software design expert 9.0.4.1 versi *trial* juga digunakan untuk uji analisis ANOVA. Analisis varian menunjukkan bahwa kecepatan dan lama pengadukan

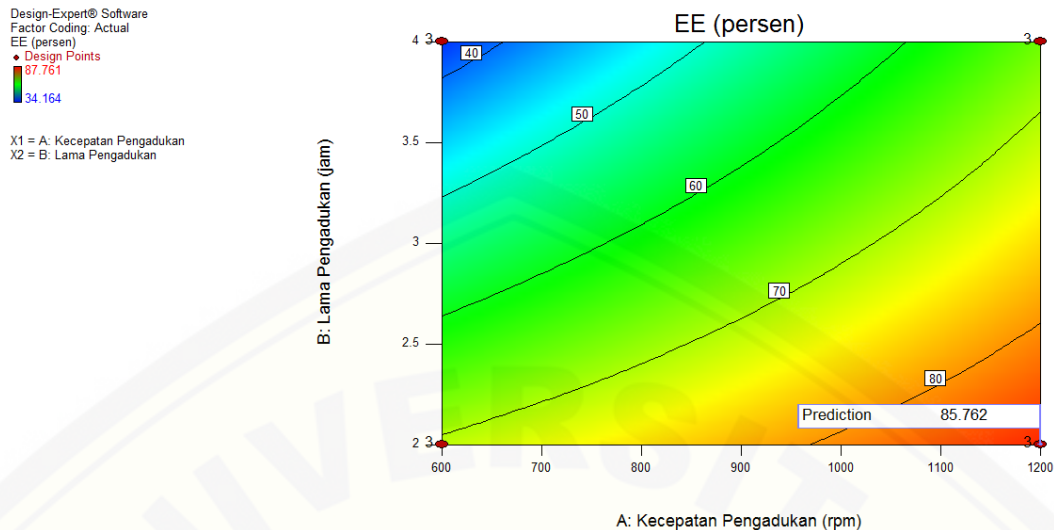
mempunyai nilai $p\text{-value} < 0,05$, yang berarti berpengaruh signifikan terhadap respon persen *entrapment efficiency*. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan kecepatan pengadukan dan lama pengadukan dapat mempengaruhi perbedaan nilai persen *entrapment efficiency* secara signifikan. Hasil analisis varian dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil analisis varian dari desain faktorial

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F Value</i>	<i>p-value Prob > F</i>	
<i>Model</i>	3771.46	3	1257.15	166.61	< 0.0001	<i>Significant</i>
<i>A-Kecepatan Pengadukan</i>	1497.27	1	1497.27	198.44	< 0.0001	
<i>B-Lama Pengadukan</i>	2107.81	1	2107.81	279.35	< 0.0001	
<i>AB</i>	166.37	1	166.37	22.05	0.0016	
<i>Pure Error</i>	60.36	8	7.55			
<i>Cor Total</i>	3831.82	11				

Software design expert 9.0.4.1 versi *trial* juga dapat digunakan untuk menghasilkan gambar grafik *contour plot* dan *overlay plot*. Grafik *contour plot* menunjukkan komposisi optimum dan efek dari kedua faktor terhadap respon nilai persen *entrapment efficiency* sedangkan dari grafik *overlay plot* menunjukkan daerah yang memenuhi kriteria yang diinginkan dalam analisis.

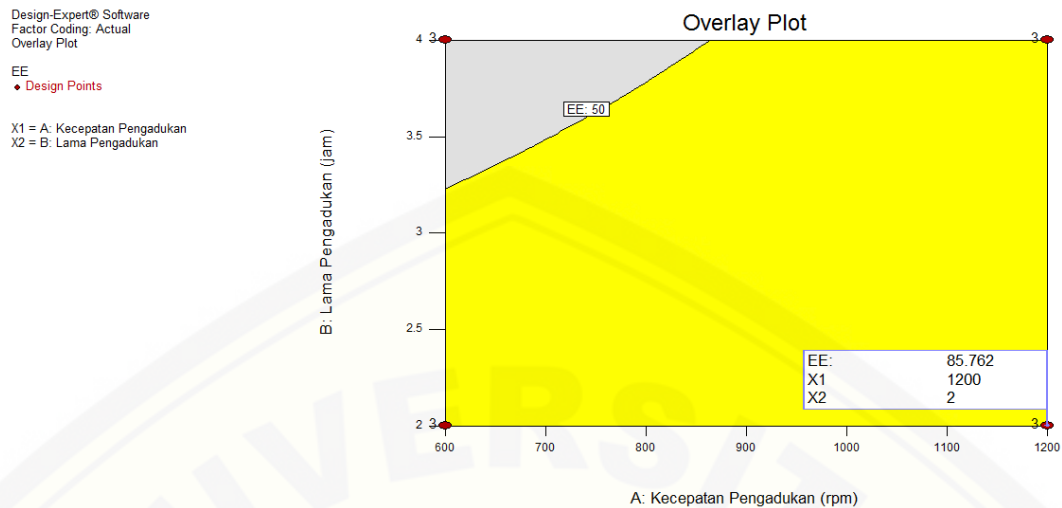
Gambar grafik *contour plot* hasil *level* terhadap respon diwakili oleh beberapa warna. Gradien warna dimulai dari warna biru gelap sampai warna merah. Gradien warna ini menunjukkan signifikansi efek terhadap respon yang diinginkan. Grafik *contour plot* dari *microspheres* metformin hidroklorida dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 *Contour plot* 2D untuk respon nilai persen *entrapment efficiency*

Gambar grafik *contour plot* di atas menggambarkan efek faktor kecepatan dan lama pengadukan terhadap respon nilai persen *entrapment efficiency*. Daerah yang berwarna biru menunjukkan nilai persen *entrapment efficiency* yang paling rendah sedangkan daerah yang berwarna merah menunjukkan nilai persen *entrapment efficiency* yang paling tinggi. Berdasarkan gambar 4.4, pada sumbu x yang mewakili faktor kecepatan pengadukan terlihat bahwa semakin cepat pengadukan maka artinya menghasilkan nilai persen *entrapment efficiency* yang semakin tinggi. Sedangkan pada sumbu y yang mewakili faktor lama pengadukan terlihat bahwa semakin lama pengadukan maka artinya menghasilkan nilai persen *entrapment efficiency* yang semakin rendah.

Gambar grafik *overlay plot* digunakan untuk menentukan daerah optimum. Daerah optimum merupakan daerah yang memenuhi kriteria respon yang diinginkan, dan pada gambar ditunjukkan dengan warna kuning. Pada *overlay plot* dapat dibuat *flag* disembarang titik, titik tersebut akan menampilkan kecepatan dan lama pengadukan beserta nilai persen *entrapment efficiency* prediksi pada titik tersebut. Grafik *overlay plot* dari *microspheres* metformin hidroklorida dapat dilihat pada gambar 4.5.

Gambar 4.5 *Overlay plot*

Formula optimum ditentukan berdasarkan nilai persen *entrapment efficiency* dan nilai *desirability* yang paling tinggi. Berdasarkan optimasi dengan metode desain faktorial ini, diperoleh 6 solusi yang ditunjukkan pada tabel 4.5 dari kombinasi kecepatan dan lama pengadukan yang dapat menghasilkan respon nilai persen *entrapment efficiency* sesuai kriteria yang diharapkan.

Tabel 4.5 Solusi yang ditawarkan oleh desain faktorial

<i>Number</i>	Kecepatan Pengadukan	Lama Pengadukan	<i>Entrapment Efficiency</i>	<i>Desirability</i>
1	1200,000	2,000	85,762	0,963
2	1199,998	2,021	85,563	0,959
3	1199,999	2,034	85,435	0,957
4	1199,998	2,050	85,281	0,954
5	1199,999	2,072	85,078	0,950
6	1199,998	2,215	83,711	0,924

Formula optimum yang terpilih adalah formula yang sesuai dengan solusi nomor 1 yang memiliki nilai persen *entrapment efficiency* = 85,762 dan *desirability* = 0,963. Solusi untuk formula optimum tersebut memiliki komposisi optimum yaitu kecepatan pengadukan 1200 rpm dan lama pengadukan 2 jam.

4.4 Karakterisasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida Optimum

Formula optimum terpilih yang telah didapatkan dari desain faktorial menggunakan *software design expert 9.0.4.1* versi *trial* lalu dilakukan karakterisasi yang meliputi penentuan persen *drug loading*, persen *yield*, analisis FTIR, dan ukuran partikel. Selain itu juga dilakukan verifikasi terhadap nilai persen *entrapment efficiency* dari formula optimum tersebut untuk mengetahui kesamaan nilai persen *entrapment efficiency* hasil percobaan dengan persen *entrapment efficiency* prediksi. Berdasarkan *software design expert 9.0.4.1* versi *trial* nilai persen *entrapment efficiency* prediksi adalah sebesar 85,762%. Hasil verifikasi persen *entrapment efficiency* dari satu formula optimum didapat nilai sebesar 84,141% \pm 0,728. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa formula optimum terpilih memiliki nilai persen *entrapment efficiency* mendekati nilai yang diprediksi.

4.4.1 *Drug loading*

Drug loading merupakan suatu karakterisasi *microspheres* yang menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan. Persen *drug loading* didapatkan dari perkalian nilai persen *entrapment efficiency* dengan berat *microspheres* yang sebenarnya. Nilai persen *drug loading* pada formula optimum didapatkan sebesar 24,965% \pm 0,606 dan untuk hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Nilai persen *drug loading* untuk formula optimum

Replikasi	Persen <i>Drug Loading</i> (%DL)	%DL Rata-rata \pm SD
I	25,252	24,965% \pm 0,606
II	25,375	
III	24,270	

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi nilai persen *drug loading* diantaranya adalah konsentrasi polimer yang digunakan dan rasio fase eksternal dengan fase internal yang digunakan pada proses emulsifikasi. Umumnya semakin tinggi konsentrasi polimer yang digunakan maka nilai persen *drug loading* yang akan dimiliki oleh *microspheres* juga akan meningkat. Begitu juga semakin tinggi

nilai rasio fase eksternal dengan fase internal yang digunakan pada proses emulsifikasi maka nilai persen *drug loading* yang akan dimiliki oleh *microspheres* juga akan meningkat (Mao *et al.* 2012).

4.4.2 Yield

Yield merupakan suatu karakterisasi *microspheres* yang menunjukkan seberapa efisien metode yang digunakan untuk mendapatkan jumlah *microspheres* yang maksimal, sehingga membantu menentukan metode pembuatan *microspheres* yang tepat (Sappidi *et al.* 2014). *Yield* didapatkan dari berat *microspheres* setelah pengeringan. Nilai persen *Yield* pada formula optimum yang didapatkan adalah sebesar 84,296% \pm 2,564. Hasil perhitungan *yield* selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Nilai persen *yield* untuk formula optimum

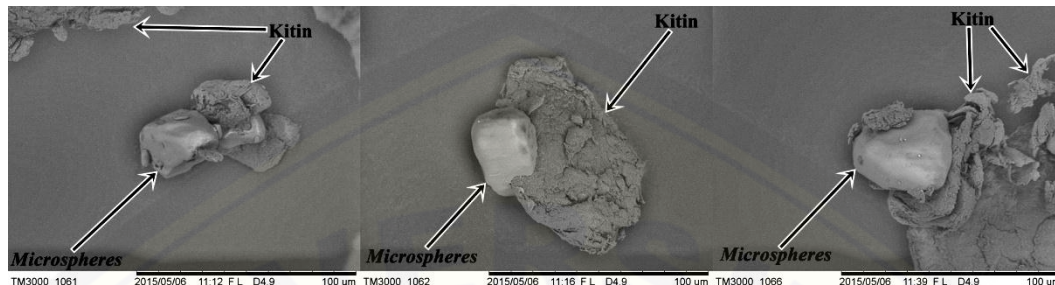
Replikasi	Berat <i>microspheres</i> sebearnya	Berat <i>microspheres</i> teoritis	Persen <i>yield</i>	%Yield \pm SD
I	2,5117	3,0002	83,718%	84,296% \pm 2,564
II	2,4621	3,0000	82,070%	
III	2,613	3,0000	87,100%	

Nilai persen *yield* yang mendekati 100% menunjukkan bahwa metode *non aqueous solvent evaporation* yang digunakan untuk mempersiapkan *microspheres* metformin hidroklorida relatif menghasilkan jumlah *microspheres* yang maksimal dengan efisien. Hilangnya sebagian *microspheres* yang mengakibatkan penurunan nilai persen *yield* dapat disebabkan oleh proses penyaringan yang kurang tepat (Yadav & Jain 2011).

4.4.3 Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Analisis SEM ini berfungsi untuk mengidentifikasi morfologi permukaan, bentuk serta ukuran *microspheres* yang ditampilkan sebuah gambar. Secara visual *microspheres* bisa ditemukan dengan menggunakan SEM. Berdasarkan karakterisasi dengan menggunakan SEM pada perbesaran 1000x seperti pada gambar 4.6 diketahui bahwa *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan memiliki morfologi permukaan yang relatif halus dan berwarna lebih

cerah daripada partikel lainnya. Bentuk *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan juga telah memiliki bentuk yang mendekati bentuk *spheres* (bulat oval).



Gambar 4.6 Hasil analisis morfologi permukaan dan bentuk *microspheres* menggunakan SEM dengan perbesaran 1000 kali

Adanya partikel lainnya yang tertangkap oleh SEM adalah partikel kitin yang merupakan bahan awal dari kitosan. Kitin memiliki morfologi permukaan yang relatif kasar, bentuk yang tidak beraturan dan ukuran partikel yang relatif besar, selain itu kitin tidak membentuk kompleks *microspheres* karena kitin tidak bertindak sebagai polimer. Kitin masih memungkinkan terdapat pada kitosan dikarenakan proses deasetilisasi yang digunakan untuk merubah kitin menjadi kitosan umumnya hanya 80-85%, seperti yang telah diketahui bahwa kitosan merupakan polimer alam yang dihasilkan dari deasetilisasi kitin (Kumari & Rani 2011; Rowe *et al.* 2009).

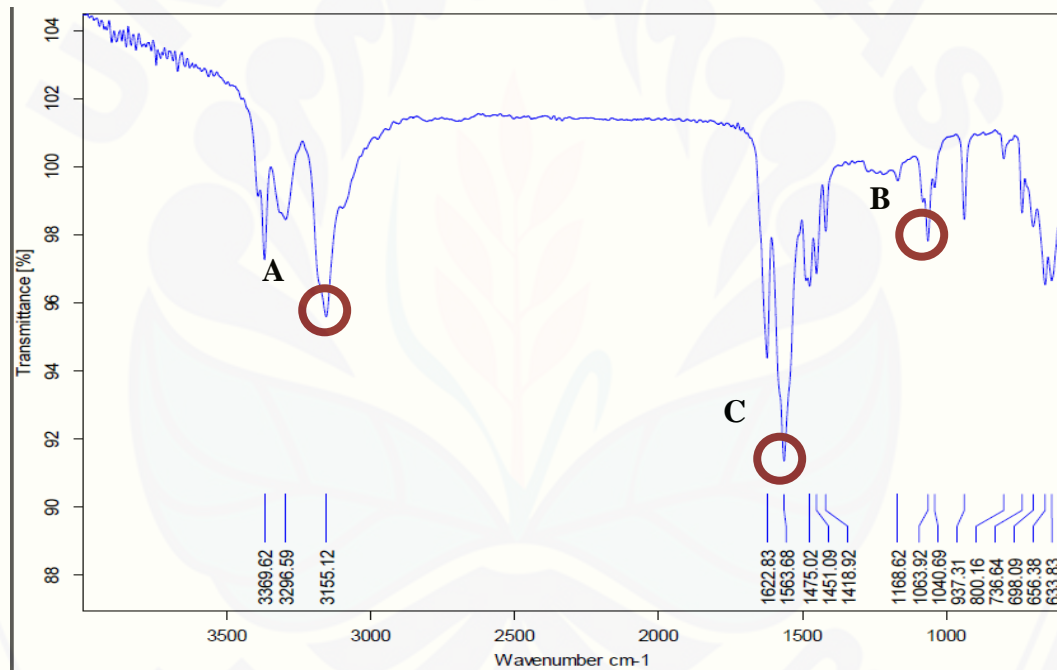
Analisis menggunakan SEM ini juga digunakan untuk menentukan ukuran partikel dari *microspheres* metformin hidroklorida. Penentuan ukuran partikel ini dilakukan dengan mengukur 50 partikel secara acak seperti yang dilakukan oleh Sabitha *et al.* (2010) dan dilakukan 3 kali replikasi. Hasil dari penentuan ukuran partikel menggunakan SEM ini memberikan hasil bahwa *microspheres* metformin hidroklorida memiliki ukuran partikel $429,333 \mu\text{m} \pm 1,528$. Hal ini sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan bahwa *microspheres* haruslah berukuran kurang dari $1000 \mu\text{m}$ (Wise, 2000).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi ukuran partikel suatu *microspheres* diantaranya adalah kecepatan dan lama pengadukan dan konsentrasi polimer. Umumnya semakin cepat dan semakin lama suatu pengadukan pada

proses emulsifikasi akan menurunkan ukuran partikel dan sebaliknya, sedangkan semakin tinggi konsentrasi polimer yang digunakan umumnya akan meningkatkan ukuran partikel (Dashora & Jain 2009; Garud & Garud, 2012; Mao *et al.* 2012; Rathod *et al.* 2012).

4.4.4 Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Analisis FTIR ini berfungsi untuk mengetahui kemungkinan adanya interaksi yang dapat menyebabkan perubahan gugus fungsi pada bahan aktif akibat pembentukan kompleks *microspheres*. Analisis FTIR dilakukan pada rentang panjang gelombang 4000-5000 cm^{-1} . Hasil analisis FTIR metformin hidroklorida murni dapat dilihat pada gambar 4.7.

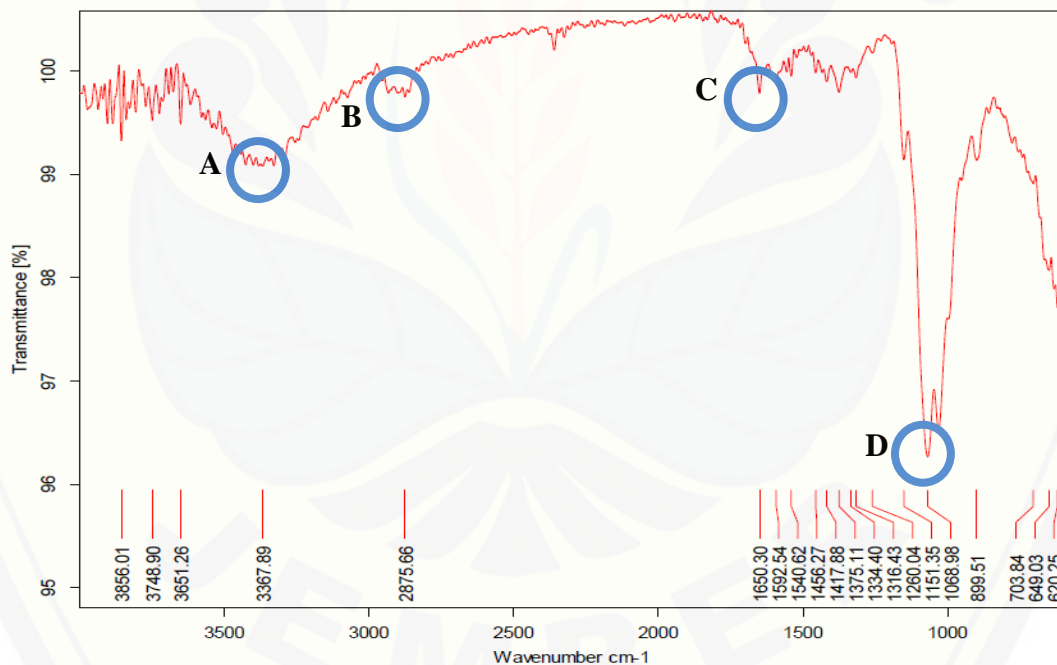


Gambar 4.7 Spektra FTIR metformin hidroklorida murni

Spektra FT-IR metformin hidroklorida pada gambar 4.7 menunjukkan adanya puncak khas pada bilangan gelombang 3155 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus N-H yaitu amina primer yang ditunjukkan pada bagian A. Pada bilangan gelombang 1063 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C-N yang ditunjukkan pada bagian B sedangkan pada bilangan gelombang 1563 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus N-H tekuk dari amina primer ditunjukkan pada bagian

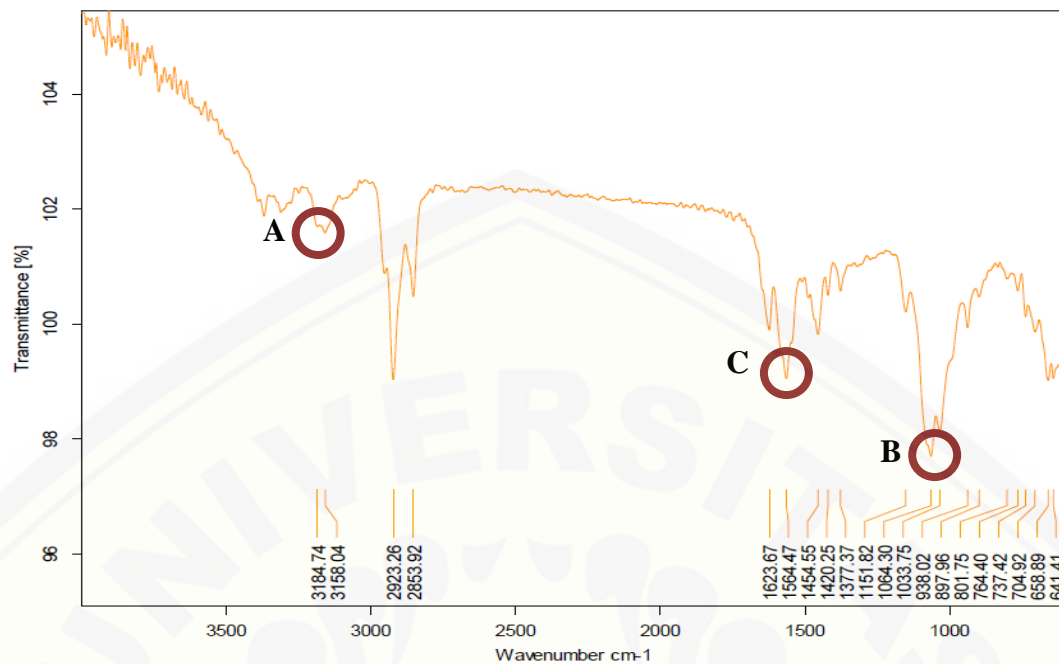
C. Hal ini sesuai dengan spektra FTIR metformin hidroklorida yang ditunjukkan oleh Maji *et al.* (2012).

Selain metformin hidroklorida, kitosan juga di analisis spektra FTIR nya (gambar 4.8). Berdasarkan gambar 4.8 terlihat pada bagian A terlihat adanya serapan pada bilangan gelombang 3367 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus O-H dari kitosan. Gugus hidroksi memiliki daerah bilangan gelombang antara $3400\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$. Selain itu, juga terdapat serapan pada bilangan gelombang 2875 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C-H pada daerah bilangan gelombang $3000\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$ yang ditunjukkan pada bagian B. Bilangan gelombang 1650 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus NH yang ditunjukkan oleh bagian C. Bilangan gelombang 1068 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O yang ditunjukkan oleh bagian D. Hal ini sesuai dengan analisis spektra kitosan yang dilakukan oleh Kumari & Rani (2011).



Gambar 4.8 Spektra FTIR kitosan murni

Hasil analisis spektra FT-IR *microspheres* metformin hidroklorida pada gambar 4.9 menunjukkan adanya puncak yang sama pada *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yaitu N-H, C-N, dan N-H tekuk pada bilangan gelombang 3159 cm^{-1} , 1064 cm^{-1} , dan 1562 cm^{-1} .



Gambar 4.9 Spektra FTIR *microspheres* metformin hidroklorida

Kesamaan puncak khas antara metformin hidroklorida murni dengan *microspheres* metformin hidroklorida menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi yang mengakibatkan perubahan gugus fungsi pada metformin hidroklorida sebagai bahan aktif. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Maji *et al.* (2012) menyebutkan bahwa *microspheres* metformin hidroklorida dengan metode *non aqueous solvent evaporation* menunjukkan tidak adanya interaksi yang terbentuk antara obat dan polimer yang digunakan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kecepatan pengadukan dan lama pengadukan *four blades propeller* yang digunakan terbukti memiliki efek yang cukup besar pada nilai persen *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan. Kombinasi optimum antara kecepatan dan lama pengadukan *four blades propeller* untuk memperoleh nilai persen *entrapment efficiency* yang optimum masing-masing adalah 1200 rpm dan 2 jam. *Microspheres* metformin hidroklorida yang di preparasi berdasarkan kombinasi optimum memberikan nilai persen *entrapment efficiency* = $84,141\% \pm 0,728$, hasil tersebut relatif mendekati nilai persen *entrapment efficiency* yang di prediksi berdasarkan desain faktorial. *Microspheres* metformin hidroklorida yang di preparasi berdasarkan formula optimum tersebut juga memiliki nilai persen *drug*

loading = $24,965\% \pm 0,606$ dan nilai persen *yield* = $84,296\% \pm 2,564$. Partikel *microspheres* metformin hidroklorida yang di preparasi berdasarkan formula optimum memiliki morfologi permukaan yang relatif halus dan berwarna cerah, serta bentuknya mendekati *spheres* (bulat oval) dengan ukuran partikel sebesar $429,333 \mu\text{m} \pm 1,528$. Pembentukan kompleks *microspheres* dengan metode *non aqueous solvent evaporation* antara metformin hidroklorida dan kitosan juga tidak menunjukkan interaksi yang mengakibatkan perubahan gugus fungsi pada metformin hidroklorida sebagai bahan aktif.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Kecepatan pengadukan memiliki efek meningkatkan nilai persen *entrapment efficiency*, sedangkan lama pengadukan memiliki efek menurunkan nilai persen *entrapment efficiency*. Interaksi antara kedua faktor tersebut memiliki meningkatkan nilai persen *entrapment efficiency*.
2. Kombinasi optimum antara kecepatan dan lama pengadukan *four blades propeller* pada preparasi *microspheres* metformin hidroklorida dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* untuk mendapatkan nilai persen *entrapment efficiency* yang optimum adalah 1200 rpm dan 2 jam.
3. Pembentukan kompleks *microspheres* metformin hidroklorida dan kitosan dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* berdasarkan formula optimum tidak menunjukkan adanya interaksi yang mengakibatkan perubahan gugus fungsi pada metformin hidroklorida sebagai bahan aktif. *Microspheres* memiliki ukuran partikel = $429,333 \mu\text{m} \pm 1,528$ dengan nilai persen *entrapment efficiency* = $84,141\% \pm 0,728$; nilai persen *drug loading* = $24,965\% \pm 0,606$ dan nilai persen *yield* = $84,296\% \pm 2,564$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disarankan:

1. Perlu dilakukan pengujian untuk stabilitas *microspheres* metformin hidroklorida untuk menjamin mutu sediaan.
2. Perlu dilakukan uji evaluasi bioavailabilitas dan pelepasan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dari untuk mengetahui keberhasilan *microspheres* metformin hidroklorida sebagai sistem penghantaran obat terkendali.

DAFTAR PUSTAKA

- ADA, 2013. Standards of Medical Care in Diabetes--2013. *Diabet. Care*, 36 Suppl 1(October 2012), pp.S11–66.
- Bolton, S. & Bon, C., 2004. *Pharmaceutical Statistics: Practical and Clinical Applications* Fourth Edi., New York: Marcel Dekker, Inc.
- Dashora, A. & Jain, C.P., 2009. Development and Characterization of Pectin-prednisolone Microspheres for Colon Targeted Delivery. *Int. J. ChemTech Res.*, 1(3), pp.751–757.
- Garud, N. & Garud, A., 2012. Preparation and In-vitro Evaluation of Metformin Microspheres Using Non-aqueous Solvent Evaporation Technique. *Trop. J. Pharm. Res.*, 11(May), pp.577–583.
- Ghodake, J.D., Vidhate, J S., Shinde, D A., Kadam, A N., 2010. Formulation And Evaluation Of Floating Microsphere Containing Anti-Diabetic (Metformin Hydrochloride) Drug. *Int. J. PharmTech Res.*, 2(1), pp.378–384.
- Goyal, P., Gill, S., Gupta, U D., Rath, Goutam., Narang, Raj K., Goyal, Amit K., 2011. Development and Characterization of Rifampicin Loaded Floating Microspheres. *Art. cells, blood subs., immobil. Biotech.*, 39(5), pp.330–4.
- Herrmann, J. & Bodmeier, R., 1998. Biodegradable, Somatostatin Acetate Containing Microspheres Prepared by Various Aqueous and Non-aqueous Solvent Evaporation Methods. *Europ. J. Pharm. Biopharm.: Offici. J. Arbeits. Pharm. Verfahrens. e.V*, 45(1), pp.75–82.
- Hire, N. & Derle, D., 2014. Microsphere As Drug Carrier : A Review. *Int. J. Advan. Res.*, 2(3), pp.901–913.
- Kadian, S.S. & Gupta, P.S., 2012. Polymers in Controlled Release Floating Microparticulates. *J. Pharm. Res.*, 5(4), pp.2206–2211.
- Kencana, A.L., 2009. *Perlakuan Sonikasi Terhadap Kitosan : Viskositas Dan Bobot Molekul Kitosan*. Institut Pertanian Bogor.
- Kothari, C.R., 2004. *Research Methodology: Methods & Techniques* Second Edi., New Delhi: New Age International.

- Kumari, K. & Rani, U., 2011. Controlled Release of Metformin hydrochloride through crosslinked blends of chitosan-starch. *Pel. Res. Lib.*, 2(2), pp.48–54.
- Li, M., Rouaud, O. & Poncelet, D., 2008. Microencapsulation by Solvent Evaporation: State of The Art for Process Engineering Approaches. *Int. J. Pharm.*, 363(1-2), pp.26–39.
- Ma, N. et al., 2008. Development and Evaluation of New Sustained-release Floating Microspheres. *Int. J. Pharm.*, 358(1-2), pp.82–90.
- Maji, R., Ray, Somasree., Das, Biswarup., Nayak, Amit Kumar., 2012. Ethyl Cellulose Microparticles Containing Metformin HCl by Emulsification-Solvent Evaporation Technique : Effect of Formulation Variables. *Int. Schol. Res. Net.*
- Mao, S., Guo, Chunqiang., Shi, Yi., Li, Luk Chiu., 2012. Recent Advances in Polymeric Microspheres for Parenteral Drug Delivery—part 1. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 9(10), pp.1209–1223.
- Narang, N., 2011. An Updated Review on: Floating Drug Delivery System (FDDS). *Int. J. App. Pharm.*, 3, pp.1–7.
- Nayak, A.K., Pal, D. & Santra, K., 2014. Tamarind Seed Polysaccharide-gellan Mucoadhesive Beads for Controlled Release of Metformin HCl. *Carb. Pol.*, 103, pp.154–63.
- Pandit, V. et al., 2013. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation of Floating Microspheres of Metformin Hydrochloride. *Drug Dev. Indust. Pharm.*, 39(1), pp.117–27.
- Patel, A., Ray, S. & Thakur, R.A.M.S., 2006. Invitro Evaluation And Optimization Of Controlled Release Floating Drug Delivery System Of Metformin Hydrochloride. *DARU*, 14(2), pp.57–64.
- Patel, K.S., Patel, Mandev B., Ajmera, Ankit A., Patel, Pranit B., Rathod, Kinjal B., 2013. Formulation and Evaluation of Nicorandil Microspheres. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 5(2), pp.593–597.
- Rathod, U.C., Patel, A.K. & Shah, D. a., 2012. Statistical Evaluation and Optimization of Influence of Stirring Speed and Polymer Concentration on Hollow Microspheres of Diltiazem HCl. *Schol. Res. Lib.*, 4(3), pp.972–978.
- Rijal, M.A.S., Mikail, A. & Sari, R., 2010. Pengaruh pH Larutan Tripolifosfat Terhadap Karakteristik Fisik Serta Profil Pelepasan Mikropartikel Teofilin-Chitosan. *Maj. Farm. Air.*, 8(2), pp.28–33.

- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E. eds., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 6th ed., London: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association.
- Sabitha, P., Ratna, J.V. & Reddy, K.R., 2010. Chitosan-Calcium Alginate Microcapsules Of Anti Tubercular Drugs for Oral Use. *Int. J. ChemTech Res.*, 2(1), pp.88–98.
- Sappidi, S., Thadkala, Kiran., Kota, Jagannath., Aukunuru, Jithan., 2014. Preparation and Characterization of Ethyl Cellulose Microspheres Encapsulating Metformin Hydrochloride and Glipizide. *Schol. Res. Lib.*, 6(4), pp.213–226.
- Sigma-Aldrich, 2014. Metformin Hydrochloride. , 160(3), pp.1–3. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/phr1084?lang=en®ion=ID>.
- Sweetman, S.C. ed., 2009. *Martindale: The Complete Drug Reference* 36th ed., London: Pharmaceutical Press.
- Ummadi, S., Shravani, B., Rao, N G Raghavendra., Reddy, M Srikanth., Sanjeev, B., 2013. Overview on Controlled Release Dosage Form. *Int. J. Pharm. Sci.*, 3(4), pp.258–269.
- Varde, N.K. & Pack, D.W., 2006. Microspheres For Controlled Release Drug Delivery. *Ashley Public.*, 4(1), pp.35–51.
- Wise, D.L., 2000. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, New York: Marcel Dekker, Inc.
- Yadav, A. & Jain, D.K., 2011. Formulation and Evaluation of Gastroretentive Floating Microballoons of Anti diabetic drug. *Asian J. Pharm. & Life Sci.*, 1(2), pp.101–112.

LAMPIRAN

A. Certificate of Analysis

A1. Metformin hidroklorida

HILDOSE		
SHIVAM CHAMBERS, 106/108, 1 ST FLOOR, S.V. ROAD, GOREGAON (WEST), MUMBAI-400062 • TEL NOS.91-22-26764099 / 26764172 / 73 • FAX NO. 91-22-26764054		
DATE :- 08/07/2013	ISO:9001-2008 CERTIFIED	F/Q/02 ISSUE NO.:- 01
CERTIFICATE OF ANALYSIS		
ITEM :	METFORMIN HCL BP (PARTICLE SIZE :- 100 MESH) ✓	
MFG. DT. :	JUNE 2013	
EXP. DT. :	MAY 2018 ✓	
BATCH QTY. :	950 KGS.	
BATCH NO. :	H 0427 06 13-14 ↓	
Test	Specifications	Results
Description	White or almost white crystals.	White crystals
Solubility	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in acetone and in methylene chloride	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in acetone and in methylene chloride ✓
Identification	A. MP:- 222°C to 226°C B. IR- complies with Metformin Hydrochloride RS C. TLC- The principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, color and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution. D. A Pink color develops E. Chloride:- It gives reaction of chlorides	MP:- 223.9°C ✓ Complies with Metformin Hydrochloride RS The principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, color and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution. A Pink color develops Chloride:- It gives reaction of chlorides
Appearance of solution	Solution S is clear and colorless.	Solution S is clear and colorless.
Related substances by HPLC	Impurity- A NMT 0.02% Any other impurity NMT 0.1% Total impurity NMT 0.3%	0.006% 0.053% 0.087%
Heavy metals	NMT 10 ppm	< 10 ppm
Sulphated Ash	NMT 0.1% w/w	0.03%
Loss on drying	NMT 0.5% w/w	0.24% ✓
Assay	Metformin Hydrochloride contains not less than 98.5% & not more than 101% of C ₄ H ₁₁ N ₅ .HCL, calculated with reference to the dried substance	Metformin Hydrochloride contains 99.93% of C ₄ H ₁₁ N ₅ .HCL, calculated with reference to the dried substance ✓
Particle size	NLT 95% passing through 100 mesh sieve	98.33% passing through 100 mesh sieve
NOTE : THE ABOVE PRODUCT IS CONFORMING TO THE SPECIFIED LIMITS MENTIONED ABOVE.		
PREPARED BY :-	<i>Shivam</i>	CHECKED BY :- <i>Shivam</i>

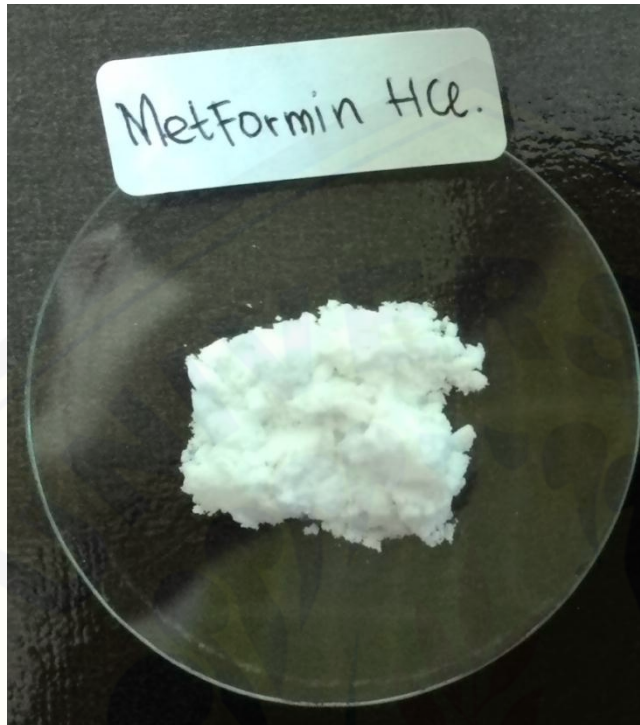
A2. Kitosan



CHITOSAN – PHARMACEUTICAL GRADE	
Items	Specifications
Colour	White
Degree of Deacetylation (%)	90.2
Viscosity (cps)	119.5
Moisture content (%)	≤ 8
Ash content (%)	0.72
PH	7-8
Insolubles	<1%
Protein content	<0.2%
Total plate count	<1000 cfu/g
Yeast and Mold	<40 cfu/g
Pathogenic bacteria	Absent
Arsenic (As)	<0.1 mg/kg
Lead (Pb)	<0.3 mg/kg
Mercury (Hg)	<0.1 mg/kg
Particle size	Fine powder
Source	Crab shell

B. Bahan-bahan

B1. Metformin hidroklorida



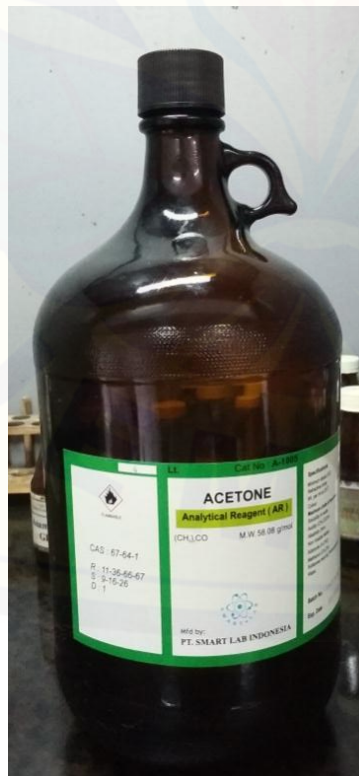
B2. Kitosan

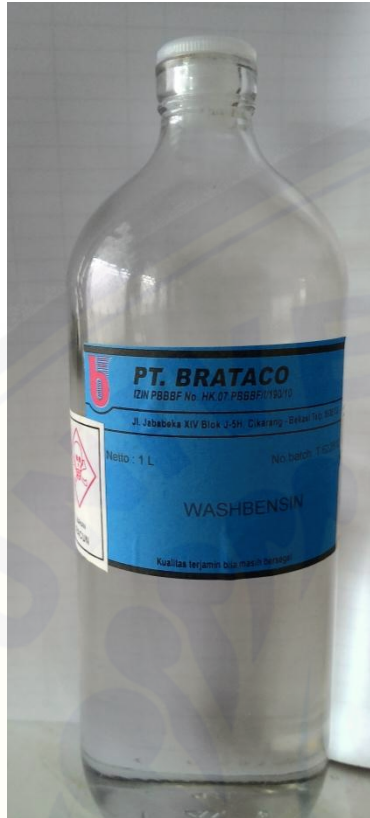
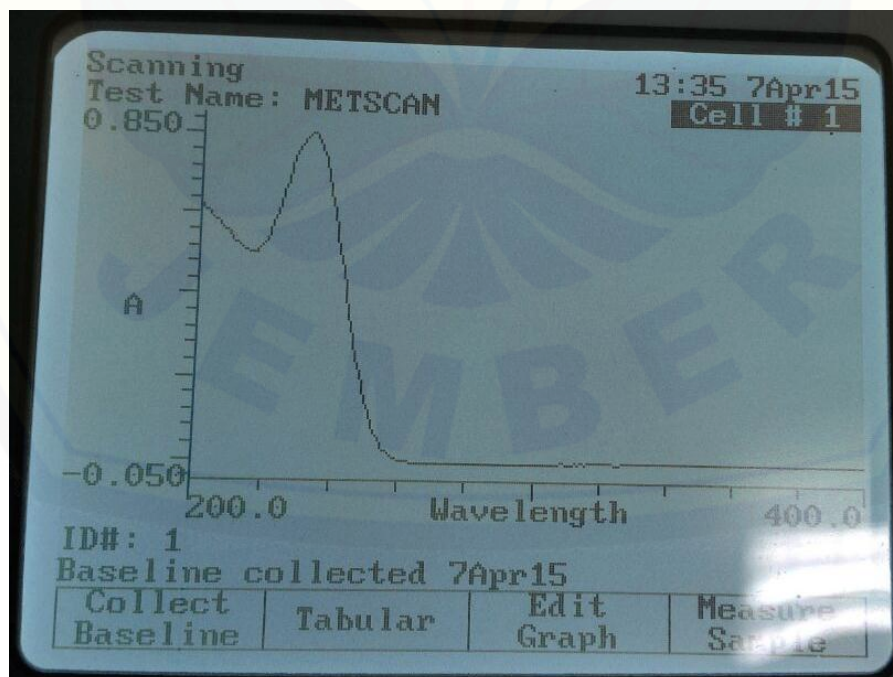


B3. *Light paraffin liquid*



B4. Aseton



B5. *Petroleum ether*C. Foto hasil *scanning* panjang gelombang maksimum metformin hidroklorida

D. Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum metformin hidroklorida

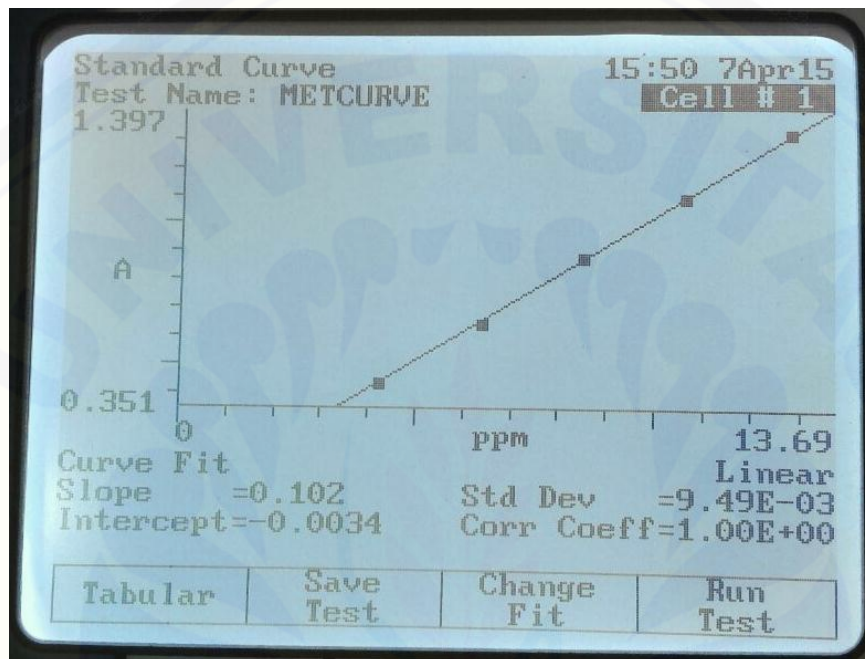
Panjang Gelombang	Absorbansi	Panjang Gelombang	Absorbansi
200	0.838	301	0.01
201	0.818	302	0.01
202	0.801	303	0.01
203	0.787	304	0.01
204	0.774	305	0.01
205	0.758	306	0.01
206	0.746	307	0.009
207	0.731	308	0.009
208	0.718	309	0.009
209	0.7	310	0.009
210	0.686	311	0.009
211	0.672	312	0.008
212	0.659	313	0.008
213	0.648	314	0.008
214	0.639	315	0.008
215	0.63	316	0.008
216	0.626	317	0.008
217	0.624	318	0.008
218	0.629	319	0.008
219	0.635	320	0.008
220	0.649	321	0.008
221	0.668	322	0.008
222	0.689	323	0.007
223	0.713	324	0.008
224	0.742	325	0.008
225	0.774	326	0.007
226	0.805	327	0.007
227	0.838	328	0.007
228	0.868	329	0.007
229	0.888	330	0.007

230	0.904	331	0.007
231	0.92	332	0.006
232	0.931	333	0.007
233	0.933	334	0.007
234	0.928	335	0.006
235	0.914	336	0.007
236	0.892	337	0.007
237	0.863	338	0.007
238	0.82	339	0.007
239	0.776	340	0.006
240	0.725	341	0.007
241	0.664	342	0.007
242	0.608	343	0.006
243	0.554	344	0.007
244	0.498	345	0.007
245	0.435	346	0.006
246	0.367	347	0.006
247	0.311	348	0.006
248	0.273	349	0.006
249	0.235	350	0.006
250	0.195	351	0.006
251	0.156	352	0.006
252	0.13	353	0.007
253	0.107	354	0.006
254	0.088	355	0.006
255	0.07	356	0.004
256	0.056	357	0.006
257	0.045	358	0.004
258	0.037	359	0.006
259	0.031	360	0.006
260	0.027	361	0.006
261	0.024	362	0.006
262	0.021	363	0.006

263	0.019	364	0.005
264	0.018	365	0.006
265	0.017	366	0.005
266	0.016	367	0.005
267	0.015	368	0.006
268	0.015	369	0.006
269	0.014	370	0.005
270	0.014	371	0.005
271	0.014	372	0.006
272	0.014	373	0.005
273	0.013	374	0.005
274	0.013	375	0.005
275	0.013	376	0.005
276	0.013	377	0.004
278	0.013	378	0.005
279	0.013	379	0.005
280	0.013	380	0.005
281	0.012	381	0.004
282	0.013	382	0.005
283	0.013	383	0.006
284	0.012	384	0.005
285	0.012	385	0.004
286	0.012	386	0.005
287	0.013	387	0.005
288	0.012	388	0.005
289	0.012	389	0.004
290	0.012	390	0.005
291	0.012	391	0.005
292	0.012	392	0.005
293	0.012	393	0.005
294	0.011	394	0.005
295	0.011	395	0.005
296	0.011	396	0.005

297	0.011	397	0.005
298	0.011	398	0.004
299	0.011	399	0.005
300	0.011	400	0.005

E. Foto absorbansi larutan standar metformin hidroklorida



F. Absorbansi larutan standar metformin hidroklorida

Konsentrasi	Absorbansi
4.28	0.438
6.42	0.642
8.56	0.882
10.7	1.085
12,84	1,310

G. Hasil analisis ANOVA dari desain faktorial

Power is reported at a 5.0% alpha level to detect the specified signal/noise ratio.

Recommended power is at least 80%.

EE	persen	
Signal (delta) = 20.00	Noise (sigma) = 5.00	Signal/Noise (delta/sigma) = 4.00
A	B	
99.9 %	99.9 %	

ANOVA for selected factorial model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value
Model	3771.46	3	1257.15	166.61	< 0.0001 significant
<i>A-Kecepatan Pengadukan</i>	1497.27	1	1497.27	198.44	< 0.0001
<i>B-Lama Pengadukan</i>	2107.81	1	2107.81	279.35	< 0.0001
AB	166.37	1	166.37	22.05	0.0016
Pure Error	60.36	8	7.55		
Cor Total	3831.82	11			

The Model F-value of 166.61 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that an F-value this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, AB are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	2.75	R-Squared	0.9842
Mean	65.06	Adj R-Squared	0.9783
C.V. %	4.22	Pred R-Squared	0.9646
PRESS	135.82	Adeq Precision	30.801

The "Pred R-Squared" of 0.9646 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9783; i.e. the difference is less than 0.2. "Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 30.801 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		Standard 95% CI 95% CI			VIF
	Estimate	df	Error	Low	High	
Intercept	65.06	1	0.79	63.23	66.89	
A-Kecepatan Pengadukan	11.17	1	0.79	9.34	13.00	1.00
B-Lama Pengadukan	-13.25	1	0.79	-15.08	-11.42	1.00
AB	3.72	1	0.79	1.89	5.55	1.00

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 EE = & \\
 & +65.06 \\
 & +11.17 * A \\
 & -13.25 * B \\
 & +3.72 * AB
 \end{aligned}$$

The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the factors are coded as +1 and the low levels of the factors are coded as -1. The coded equation is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 EE = & \\
 & +104.82300 \\
 & -1.11111E-006 * \text{Kecepatan Pengadukan} \\
 & -24.42383 * \text{Lama Pengadukan} \\
 & +0.012412 * \text{Kecepatan Pengadukan} * \text{Lama Pengadukan}
 \end{aligned}$$

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space. Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.

4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

H. Data perhitungan ukuran partikel

No	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
1	400	350	350
2	450	350	300
3	450	450	500
4	400	450	550
5	550	500	450
6	500	450	450
7	500	300	550
8	350	550	500
9	450	400	300
10	450	400	550
11	400	350	500
12	400	350	300
13	300	400	350
14	350	350	400
15	400	500	350
16	400	300	450
17	350	550	350
18	400	400	450
19	500	400	400
20	550	500	450
21	450	450	550
22	450	400	450
23	550	550	550
24	500	500	500
25	300	550	550
26	350	500	450

27	400	300	450
28	450	350	550
29	400	400	500
30	450	350	300
31	550	450	500
32	500	300	450
33	450	450	350
34	300	550	450
35	500	500	300
36	400	550	450
37	450	450	450
38	550	450	450
39	350	550	400
40	400	500	400
41	450	300	500
42	300	350	500
43	450	400	450
44	400	450	300
45	300	400	350
46	350	450	450
47	400	550	400
48	400	500	400
49	550	300	300
50	500	350	350

I. Dokumentasi Penelitian

II. Penimbangan bahan



I2. Pembentukan emulsi



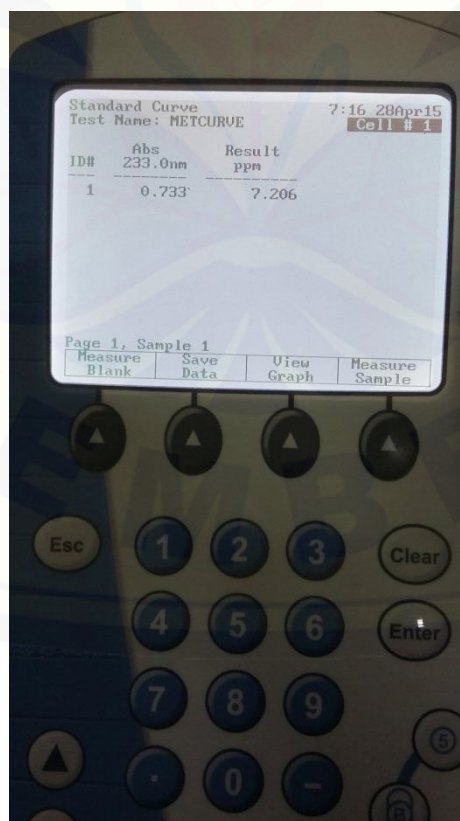
I3. Pengadukan menggunakan *four blades propeller*



I4. Penyaringan menggunakan kertas whatman no.1 dengan bantuan *vacuum filtration*



15. Pengeringan menggunakan oven

16. Penetapan nilai persen *entrainment efficiency* menggunakan spektrofotometri UV

I7. Analisis morfologi dan ukuran partikel menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)



I8. Analisis pembentukan kompleks *microspheres* menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)

