



**OPTIMASI KONSENTRASI ETIL SELULOSA DAN LAMA PENGADUKAN  
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN HIDROKLORIDA**

**SKRIPSI**

Oleh

**NINDA SUKMANINGRUM**

**NIM 122210101026**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**OPTIMASI KONSENTRASI ETIL SELULOSA 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

**NINDA SUKMANINGRUM**

**NIM 122210101026**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**

## PERSEMBAHAN

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan limpahan rahmat dan hidayahnya kepada penulis sehingga skripsi ini bisa terselesaikan. Sehingga dapat kupersembahkan skripsi ini kepada:

1. Ibunda Ni Nyoman Suarni dan Ayahanda Nanang Suprayitno sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terima kasih atas segala doa serta jerih payah yang telah dilakukan demi kebahagiaan dan kesuksesan penulis.
2. Adik penulis Nani Sukmawati dan Damar Restu Wicaksono, terima kasih untuk semangat dan dukungan kepada penulis.
3. Ibu Lusia Oktora R.K.S, S.F., M.Sc., Apt. dan Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt. yang telah berkenan membimbing penulis dan memberikan masukan lainnya hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Guru-guruku sejak Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.
5. Teman-teman angkatan 2012 yang telah memberikan semangat dan bantuan selama masa perkuliahan.
6. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

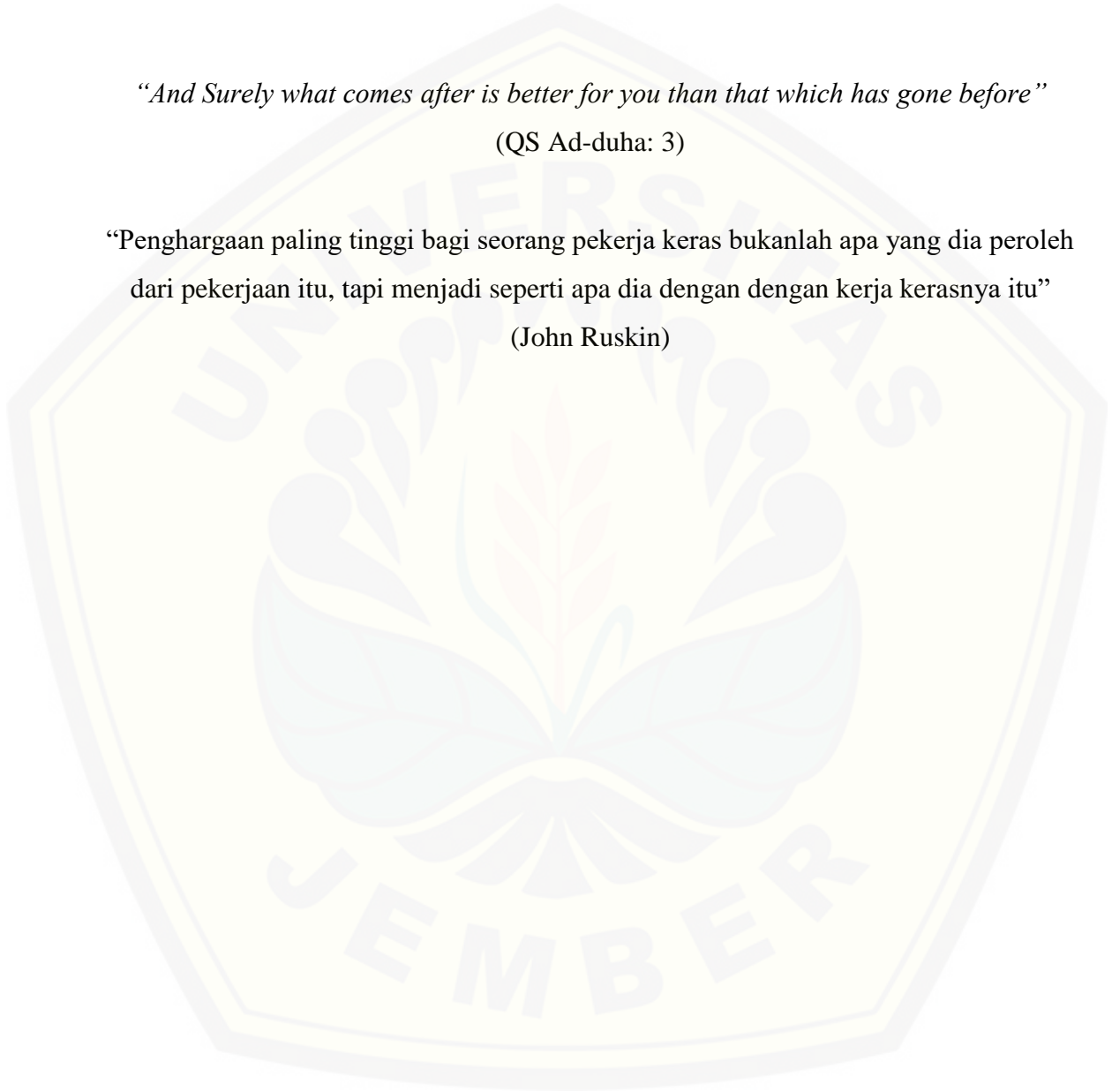
**MOTTO**

*“And Surely what comes after is better for you than that which has gone before”*

(QS Ad-duha: 3)

“Penghargaan paling tinggi bagi seorang pekerja keras bukanlah apa yang dia peroleh dari pekerjaan itu, tapi menjadi seperti apa dia dengan dengan kerja kerasnya itu”

(John Ruskin)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ninda Sukmaningrum

NIM : 122210101026

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : *Optimasi Konsentrasi Etil Selulosa dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, 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 tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Mei 2016

Yang menyatakan,

Ninda Sukmaningrum

NIM 122210101026

**SKRIPSI**

**OPTIMASI KONSENTRASI ETIL SELULOSA DAN LAMA PENGADUKAN  
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN HIDROKLORIDA**

Oleh

**Ninda Sukmaningrum**

**NIM 122210101026**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Lusia Oktora R.K.S, S.F., M.Sc., Apt.

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “*Optimasi Konsentrasi Etil Selulosa dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 21 April 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

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

NIP. 197910032003122001

NIP. 197503092001121001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

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

(Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP. 198401242008011001

NIP. 198504282009121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

***Optimasi Konsentrasi Etil Selulosa dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida:*** Ninda Sukmaningrum (122210101026); 2016; halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Metformin hidroklorida adalah obat yang direkomendasikan *American Diabetic Association* dan *European Association for the Study of Diabetes* sebagai *first line* dalam terapi pasien dengan diagnosa diabetes mellitus tipe 2. Umumnya dosis metformin hidroklorida pada sediaan konvensional yang digunakan yaitu sebesar 500 mg untuk pemakaian 2-3 kali sehari dengan bioavailabilitas sebesar 50%-60% dan waktu paruh yang pendek yaitu 1,5-4,5 jam.

Penggunaan metformin hidroklorida dengan dosis yang besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan pada gastrointestinal dan toksisitas sebanyak 30%. Sebagai solusi dari permasalahan tersebut, maka dikembangkan sistem pelepasan obat terkendali yang dapat melepaskan obat secara perlahan pada saluran gastrointestinal (GIT) dan mempertahankan konsentrasi obat di sirkulasi sistemik dalam waktu yang lama.

*Microspheres* merupakan salah satu teknologi farmasi dalam sistem penghantaran obat terkendali yang menggunakan bahan polimer sebagai pembawa. *Microspheres* adalah partikel solid yang memiliki rentang ukuran 1-1000 mikrometer. Permukaan partikel *microspheres* yang memiliki pori-pori mampu melepaskan bahan aktif secara perlahan dan menghasilkan partikel dalam ukuran mikron.

Preparasi *microspheres* dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *non-aqueous solvent evaporation* menggunakan metformin



hidroklorida sebagai bahan aktif dan etil selulosa sebagai polimer. Tujuan penelitian ini adalah mencapai komposisi terbaik jumlah etil selulosa, lama pengadukan dan interaksi keduanya serta untuk mengetahui banyaknya obat yang terjerap dengan metode desain faktorial. Respon dari metode adalah *entrapment efficiency*.

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorik dilakukan dengan menggunakan *four blades propeller* kecepatan 400 rpm dan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk melakukan pengukuran *entrapment efficiency*. *Entrapment efficiency* yang diperoleh kemudian diolah menggunakan *software design expert 10.0.0.3* versi *trial* untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap respon sehingga akan didapatkan satu formula optimum. Pengaruh konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan serta interaksi keduanya terhadap respon *entrapment efficiency* dapat diketahui berdasarkan nilai efek faktor.

Lama pengadukan memberikan efek negatif pada respon yang artinya semakin lama pengadukan yang dilakukan dapat menurunkan nilai *entrapment efficiency*. Sedangkan konsentrasi etil selulosa dan interaksi keduanya memberikan efek positif terhadap respon, sehingga semakin tinggi konsentrasi etil selulosa yang digunakan akan meningkatkan *entrapment efficiency*. Satu formula optimum terpilih pada konsentrasi etil selulosa sebanyak 4500 mg dan lama pengadukan 2 jam memberikan *entrapment efficiency* prediksi sebesar 82,967%.

Formula optimum terpilih kemudian dibuat, dilakukan uji *entrapment efficiency*, verifikasi dan karakterisasi. Hasil uji *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida pada formula optimum yaitu sebesar  $84,6 \pm 0,557\%$  sehingga diketahui hasil verifikasi memberikan kemiripan sebesar 98,1%. Hasil karakterisasi meliputi *drug loading* dan *yield* didapatkan masing-masing nilai sebesar  $12,7 \pm 0,173\%$  dan  $95,1 \pm 0,612\%$ . Hasil analisis FT-IR menunjukkan tidak adanya interaksi yang terjadi antara etil selulosa dan metformin hidroklorida dalam *microspheres*. Hasil analisis SEM didapatkan ukuran partikel *microspheres* sebesar  $173,8 \pm 4,41 \mu\text{m}$  dengan bentuk sferis, permukaan halus dan berwarna cerah.

## PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT atas rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Optimasi Konsentrasi Etil Selulosa dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida*” dengan baik. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Kelancaran dan keberhasilan penulisan skripsi ini tentu saja tidak lepas dari bantuan dan peran serta berbagai pihak yang telah memberikan dukungan secara moril maupun materil. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang terhingga kepada:

1. Ibunda dan ayahanda tercinta, Ni Nyoman Suarni dan Nanang Suprayitno yang telah memberikan cinta kasih dan alunan doa tak terhingga yang selalu mengiringi langkah penulis;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Lusia Oktora R.K.S., S.F., M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota atas kesabaran untuk meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Dwi Nurahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji I dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan kritik dan saran untuk kemajuan skripsi ini;
5. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik atas arahan dan bimbingan selama menempuh studi;

6. Pahlawan tanpa tanda jasa para Dosen Fakultas Farmasi yang telah memberikan ilmu tiada hingga kepada penulis;
7. Bu Itus, Mbak Titin, Bu Wayan dan Mbak Hani yang selalu membantu kelancaran proses penelitian penulis;
8. Adikku terkasih, Nani Sukmawati dan Damar Restu Wicaksono yang senantiasa memberikan hiburan bagi penulis;
9. Partner penelitian *microspheres* metformin hidroklorida: Amalia Fadila, Nur Fatjria Susilowati dan Chrystin Novyta Sianipar, terima kasih atas bantuan dan keseruan dalam kerja samanya;
10. Sahabat-sahabat dan teman seperjuangan: Riris Wahyu Ciptaningsari, Septy Putri, Nadiyah Churi, Kiki Novitasari, Premita Friska, Vita Alviolita, Widya Imastuti Utami dan Ayu Elistyan yang selalu menghibur penulis dengan candaan dan gurauan yang selalu terkenang;
11. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Teknologi Sediaan Solida dan Kimia Analisis yang meramaikan suasana dan memberi canda tawa dalam penelitian penulis;
12. Sahabat-sahabat dan keluargaku di PETRUK ROLAS, terima kasih atas waktu yang sangat luar biasa bersama kalian;
13. Keluarga Karisma yang telah memberikan pengalaman non akademik.

Hanya doa dan ucapan terima kasih yang dapat penulis sampaikan atas semua kebaikan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu teknologi farmasi.

Jember, 13 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING .....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
HALAMAN RINGKASAN .....	viii
HALAMAN PRAKATA.....	x
HALAMAN DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	5
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 <i>Microspheres</i></b> .....	6
2.1.1 Manfaat <i>microspheres</i> .....	6
2.1.2 Preparasi <i>microspheres</i> .....	7
2.1.3 Metode <i>Non-aqueous Solvent Evaporation</i> .....	9
2.1.4 Karakterisasi <i>microspheres</i> .....	10
a) <i>Entrapment Efficiency (EE)</i> .....	10

b) <i>Drug Loading</i> .....	10
c) <i>Yield</i> .....	11
d) Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FT-IR) .....	11
e) Analisis <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) .....	12
<b>2.2 Metformin Hidroklorida</b> .....	12
<b>2.3 Etil Selulosa</b> .....	13
<b>2.4 Desain Faktorial</b> .....	14
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
<b>3.1 Rancangan Penelitian</b> .....	16
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	16
3.2.1 Alat .....	16
3.2.2 Bahan.....	16
<b>3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian</b> .....	17
<b>3.4 Prosedur Penelitian</b> .....	19
3.4.1 Rancangan Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida. .	19
3.4.2 Pembuatan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida .....	20
3.4.3 Penentuan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	21
a) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida .....	21
(1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	21
(2) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Akuades .....	21
b) <i>Entrapment Efficiency</i> .....	22
3.4.4 Penentuan Formula Optimum dengan <i>Software Design</i> <i>Expert</i> .....	22
3.4.5 Karakteristik <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida .....	23
a) Penentuan <i>Drug Loading</i> .....	23
b) Penentuan <i>Yield</i> .....	23
c) Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FT-IR) .....	23
d) Analisis <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).....	23

**BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Hasil Pembuatan *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Etil**

**Selulosa**..... 25

**4.2 Hasil Penentuan *Entrapment Efficiency***..... 26

4.2.1 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida..... 26

a) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ..... 26

b) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam  
Akuades..... 27

4.2.2 Perhitungan *Entrapment Efficiency*..... 28

**4.3 Analisis Desain Faktorial dan Penentuan Daerah Optimum ..** 30

**4.4 Karakterisasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Etil**

**Selulosa**..... 36

4.4.1 Perhitungan *Drug Loading*..... 37

4.4.2 Perhitungan *Yield* ..... 38

4.4.3 Analisis *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) ..... 38

4.4.4 Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM) ..... 42

**BAB 5 PENUTUP**

**5.1 Kesimpulan**..... 45

**5.2 Saran** ..... 45

**DAFTAR PUSTAKA** ..... 46

**LAMPIRAN**..... 51

**DAFTAR TABEL**

3.1 Rancangan Desain Faktorial untuk Dua Faktor dan Dua <i>Level</i> .....	19
3.2 Susunan <i>Level</i> Faktor Berdasarkan Desain Faktorial .....	20
3.3 Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida .....	20
3.4 Preparasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	21
4.1 Hasil Pengujian <i>Entrapment Efficiency</i> .....	30
4.2 Nilai Efek Faktor Konsentrasi etil Selulosa, Lama Pengadukan serta Interaksi Keduanya.....	30
4.3 Solusi yang Ditawarkan oleh Desain Faktorial.....	36
4.4 Hasil Perhitungan <i>Drug Loading</i> .....	37
4.5 Hasil Perhitungan <i>Yield</i> .....	38
4.6 Gugus Fungsi dan Bilangan Gelombang Metformin Hidroklorida Murni dan Kompleks Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa Hasil Penelitian .....	41
4.7 Hasil Penentuan Ukuran Partikel <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa .....	43

DAFTAR GAMBAR

2.1	Morfologi <i>Microspheres</i> .....	6
2.2	Struktur Metformin Hidroklorida.....	13
2.3	Struktur Etil Selulosa .....	14
3.1	Skema Langkah Kerja Penelitian .....	18
4.1	Hasil Pembuatan Empat Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa .....	26
4.2	Spektra Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida dalam Akuades.....	27
4.3	Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Akuades .....	28
4.4	<i>Contour Plot</i> Dua Dimensi dari Respon <i>Entrapment Efficiency</i> .....	33
4.5	<i>Contour Plot</i> Tiga Dimensi dari Respon <i>Entrapment Efficiency</i> .....	34
4.6	<i>Overlay Plot</i> dari Respon <i>Entrapment Efficiency</i> .....	35
4.7	Spektra FT-IR Etil Selulosa .....	39
4.8	Spektra FT-IR Metformin Hidroklorida.....	40
4.9	Spektra FT-IR <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa.	41
4.10	Hasil Morfologi Partikel Menggunakan SEM .....	42





DAFTAR LAMPIRAN

A. Sertifikat Analisis Metformin Hidroklorida.....	51
B. Sertifikat Analisis Etil Selulosa.....	52
C. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida.....	53
D. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Akuades.....	57
E. Hasil Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	58
F. Contoh Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	59
G. Hasil Analisis Desain Faktorial.....	60
G1. Kekuatan Faktor dari Desain Faktorial .....	60
G2. Hasil Uji ANOVA.....	60
G3. Perhitungan Efek Faktor dan Interaksinya terhadap <i>Entrapment Efficiency</i> .....	63
G4. <i>Constraints</i> .....	63
H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida .....	
H1. Contoh Perhitungan <i>Drug Loading</i> .....	64
H2. Contoh Perhitungan <i>Yield</i> .....	64
H3. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel <i>Microspheres</i> Menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) .....	64
I. Dokumentasi Penelitian .....	66
I1. Proses Penelitian yang Dilakukan .....	66

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Metformin hidroklorida adalah obat yang direkomendasikan *American Diabetic Association* dan *European Association for the Study of Diabetes* sebagai *first line* dalam terapi pasien dengan diagnosa diabetes mellitus tipe 2 (Nathan *et al.*, 2006; Nathan *et al.*, 2009). Metformin hidroklorida merupakan agen penurun glukosa golongan biguanida dengan mekanisme kerja kombinasi, yaitu (1) mengurangi produksi glukosa hepar (2) mengurangi laju absorpsi glukosa oleh usus halus (3) peningkatan *uptake* glukosa oleh sel-sel otot dan adiposit (Stepensky *et al.*, 2002). Umumnya dosis metformin hidroklorida pada sediaan konvensional yang digunakan yaitu sebesar 500 mg untuk pemakaian 2-3 kali sehari atau 850 mg untuk pemakaian sekali atau dua kali sehari dengan bioavailabilitas sebesar 50%-60% dan waktu paruh yang pendek yaitu 1,5-4,5 jam pada pemakaian dosis tunggal 500 mg (Pandit *et al.*, 2013).

Sistem penghantaran obat oral konvensional hanya dapat mempertahankan konsentrasi obat pada jendela terapi dalam waktu sesaat, terutama pada obat-obat dengan waktu paruh pendek yang diserap di saluran pencernaan sehingga akan dieliminasi cepat dari sirkulasi sistemik dan mengakibatkan pemberian obat secara berulang untuk mempertahankan konsentrasi obat dalam darah (Ami *et al.*, 2012; Freiberg & Zhu, 2004; Sappidi *et al.*, 2014). Penggunaan metformin hidroklorida dengan dosis yang besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan pada gastrointestinal dan toksisitas sebanyak 30%. Efek samping yang dapat ditimbulkan yaitu seperti perut terasa tidak nyaman, mual dan diare yang terjadi selama penggunaan obat (Ghodake *et al.*, 2010; Pilmore, 2010). Metformin hidroklorida memiliki bioavailabilitas yang rendah dan kelarutan yang baik dalam air maka itu digolongkan dalam *Biopharmaceutics Classification System* kelas III

(Herrmann & Bodmeier, 1998; Pandit *et al.*, 2013). Bioavailabilitas dan waktu paruh metformin hidroklorida yang rendah menjadi hambatan dalam penggunaannya sebagai agen terapi.

Sebagai solusi dari permasalahan tersebut, maka dikembangkan sistem pelepasan obat terkendali yang dapat melepaskan obat secara perlahan pada saluran gastrointestinal (GIT) dan mempertahankan konsentrasi obat di sirkulasi sistemik dalam waktu yang lama (Streubel *et al.*, 2006). Obat yang diformulasi sebagai sediaan peroral untuk target spesifik dengan pelepasan terkendali harus memiliki sistem penghantaran yang dapat memperlama waktu tinggal obat di lambung. Semakin lama waktu tinggal obat di lambung maka akan meningkatkan bioavailabilitas, memperlama durasi pelepasan obat, serta dapat menguntungkan bagi obat dengan aksi lokal seperti pada bagian atas usus halus, contohnya pada pengobatan tukak lambung (Garg & Gupta, 2008).

*Microspheres* adalah salah satu sediaan yang banyak dikembangkan saat ini. *Microspheres* merupakan salah satu teknologi farmasi dalam sistem penghantaran obat terkendali yang menggunakan bahan polimer sebagai pembawa (Behera *et al.*, 2011). Umumnya *microspheres* dapat mengurangi resiko terjadinya toksisitas dan dapat meningkatkan kepatuhan pasien. *Microspheres* adalah partikel solid yang memiliki rentang ukuran 1-1000 mikrometer (Enriquez *et al.*, 2014; Maji *et al.*, 2012). Permukaan partikel *microspheres* yang memiliki pori-pori mampu melepaskan bahan aktif secara perlahan dan menghasilkan partikel dalam ukuran mikron (Sappidi *et al.*, 2014).

Metode preparasi *microspheres* yang umum digunakan diantaranya adalah *solvent evaporation*, *phase-separation*, dan *spray drying*. 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 (Patel *et al.*, 2013; Garud & Garud, 2012; Li

*et al.*, 2008). Teknik *solvent evaporation* untuk pembuatan *microspheres* dilakukan dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*, yaitu bahan aktif obat dan bahan polimer dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian dilakukan emulsifikasi ke dalam fase eksternal yang bersifat lipofilik. Metode *non-aqueous solvent evaporation* ini tidak menggunakan air sebagai pelarut sehingga cocok digunakan sebagai metode pembuatan *microspheres* dengan bahan obat yang bersifat larut air (Herrmann & Bodmeier, 1998; O'Donnell & McGinity, 1997).

Etil selulosa dapat digunakan sebagai salah satu pilihan polimer dalam preparasi *microspheres* dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* (Patel *et al.*, 2013). Etil selulosa banyak digunakan sebagai polimer dalam sediaan farmasi karena bersifat non-ionik, hidrofobik inert, biokompatibel dan merupakan polimer selulosa yang non toksik (Das & Rao, 2006; Wade & Weller, 1994). Etil selulosa bersifat mukoadesif dan secara luas digunakan sebagai bahan pembawa untuk berbagai bentuk sediaan serta diketahui stabil terhadap cahaya, panas, oksigen ataupun kelembaban (Bagul *et al.*, 2009; Rowe *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Garud (2012), menunjukkan bahwa etil selulosa merupakan polimer yang dapat digunakan untuk sediaan *microspheres* karena memiliki pelepasan obat paling stabil dan ukuran partikel terkecil dibandingkan *hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC), kitosan dan karbopol.

*Microspheres* dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* merupakan sistem penghantaran obat terkendali yang diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas metformin hidroklorida melalui mekanisme difusi (Maji *et al.*, 2012). Selain itu sistem penghantaran metformin hidroklorida yang terkendali dapat meminimalkan efek samping pada saluran gastrointestinal (Dipiro *et al.*, 2008).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maji *et al.* (2012), preparasi *microspheres* menggunakan metode *non-aqueous solvent evaporation* menggunakan bantuan pengaduk menghasilkan *entrapment efficiency* dan ukuran partikel yang berbeda pada penggunaan komposisi metformin hidroklorida dan etil selulosa yang berbeda. Peningkatan konsentrasi polimer etil selulosa yang digunakan

akan meningkatkan ukuran partikel *microspheres* metformin hidroklorida karena terdapat peningkatan viskositas dari fase internal. Semakin tinggi viskositas fase internal, maka dibutuhkan energi yang lebih besar untuk memecah *droplet* obat-polimer menjadi partikel yang lebih kecil. Penelitian yang dilakukan oleh Rathod *et al.* (2012), menunjukkan perbedaan lamanya pengadukan dalam preparasi *microspheres* dapat mempengaruhi *entrapment efficiency* dan ukuran partikel. Semakin lama waktu pengadukan menunjukkan penurunan terhadap *entrapment efficiency* dan ukuran partikel. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan dalam preparasi *microspheres* dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* menggunakan bantuan pengaduk guna mendapatkan karakteristik *microspheres* metformin hidroklorida yang optimum.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan serta interaksinya terhadap *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*?
2. Berapa konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan *entrapment efficiency* maksimum?
3. Bagaimana karakteristik kompleks metformin hidroklorida-etil selulosa pada formula optimum menggunakan FT-IR?
4. Bagaimana karakteristik (*drug loading, yield* dan ukuran partikel) *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan dari formula optimum?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

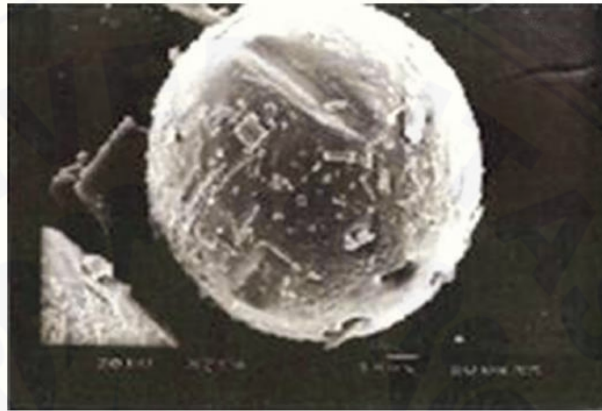
1. Mengetahui pengaruh konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan serta interaksinya terhadap *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*.
2. Mengetahui konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan *entrapment efficiency* yang maksimum.
3. Mengetahui karakteristik kompleks metformin hidroklorida-etil selulosa pada formula optimum menggunakan FT-IR.
4. Mengetahui karakteristik (*drug loading, yield* dan ukuran partikel) *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan dari formula optimum.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi ilmiah dalam rangka pengembangan formulasi *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat terkendali yang potensial.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Microspheres*



Gambar 2.1 Morfologi *microspheres* (Maji *et al.*, 2012)

*Microspheres* adalah partikel kecil dengan rentang ukuran 1 hingga 1000  $\mu\text{m}$  yang digunakan sebagai pembawa obat atau agen terapeutik lainnya. Struktur *microspheres* yaitu sferis monolitik dimana obat terdistribusi pada matriks sebagai dispersi molekuler ataupun dispersi partikel (Chella *et al.*, 2010). *Microspheres* dapat dibuat menggunakan satu atau lebih polimer, lilin, gum, protein, atau modifikasi produk alami seperti amilum (Sappidi *et al.*, 2014).

#### 2.1.1 Manfaat *Microspheres*

Sistem penghantaran multi partikulat seperti *microspheres*, tersebar lebih merata di saluran pencernaan. Hal ini menyebabkan penyerapan obat lebih reproduibel dan mengurangi resiko terjadinya iritasi lokal jika dibandingkan dengan bentuk sediaan *single unit*. *Microspheres* juga dapat digunakan untuk memodifikasi dan menghambat laju pelepasan obat (Hire & Derle, 2014).



Kelebihan *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat adalah : a) memfasilitasi penghantaran yang akurat dari obat meskipun dalam jumlah kecil, b) mengurangi konsentrasi obat yang tinggi dalam target spesifik atau jaringan di dalam tubuh, c) efek terapi sediaan *microspheres* lebih lama dan konstan, d) pelepasan zat aktif pada tempat yang spesifik di dalam tubuh sebagai sasaran pengobatan, e) memberikan perlindungan untuk obat yang tidak stabil sebelum dan sesudah diberikan di dalam tubuh sebelum terdapat pada target aksi di dalam tubuh, f) memberikan kemampuan untuk mengontrol aksi obat secara *in vivo*, g) memungkinkan pelepasan terkontrol seperti contohnya hormon steroid, dan h) mengurangi frekuensi pemberian dosis sehingga akan meningkatkan kepatuhan pasien (Hire & Derle, 2014; Sahil *et al.*, 2011).

### 2.1.2 Preparasi *Microspheres*

Ada beberapa macam metode yang dapat digunakan dalam pembuatan *microspheres*, diantaranya *emulsion solvent evaporation method*, *sol gel method*, *solvo thermal reaction*, *vibration technology*, *quasi-emulsion solvent diffusion method*, dan *multiple emulsion solvent extraction technique* (Muntha, 2014). Pemilihan metode yang digunakan dalam preparasi *microspheres* bergantung pada sifat polimer dan bahan aktif yang digunakan (Wise, 2000).

Diantara semua metode tersebut, *solvent evaporation method* adalah yang paling sering digunakan. Teknik ini banyak digunakan oleh peneliti untuk sistem penghantaran obat dan telah lama dikembangkan pada akhir 1970-an. Teknik ini mudah untuk diaplikasikan karena menggunakan alat-alat laboratorium yang umum seperti *beaker glass* dan pengaduk serta ekonomis. Metode ini bisa digunakan untuk mengontrol ukuran partikel dari *microspheres* yang dipreparasi (Naik *et al.*, 2012; Varde and Pack, 2006; Tiwari and Verma, 2011).

*Solvent evaporation method* memiliki beberapa teknik yang dapat digunakan dalam preparasi *microspheres*. Pemilihan metodenya akan berdampak pada *entrapment efficiency* bahan aktif, pemilihan ini berdasarkan hidrofilitas atau

hidrofobitas bahan aktif (Li *et al.*, 2008). Tahap pertama dari metode ini adalah pembuatan emulsi dengan cara pencampuran fase terdispersi yang terdiri dari bahan obat, polimer, agen dispersi yang tepat dalam pelarut organik untuk media dispersi. Pada tahap kedua dibentuk minimatriks yang diperoleh dengan cara menghilangkan pelarut yang digunakan pada fase terdispersi (Patel *et al.*, 2013).

Pada metode *solvent evaporation* terdapat dua teknik emulsifikasi, yaitu *single emulsion solvent evaporation method* dan *multiple emulsion solvent evaporation method*. *Single emulsion evaporation method* terbagi menjadi dua yaitu emulsifikasi minyak dalam air (*oil in water emulsification*) dan emulsifikasi air dalam minyak (*water in oil emulsification*). Pada emulsifikasi air dalam minyak, fase air sering digantikan oleh minyak sehingga teknik ini juga disebut emulsifikasi minyak dalam minyak (*oil in oil emulsification*) atau *non-aqueous solvent evaporation method* karena tidak adanya keberadaan air yang digunakan pada teknik ini (Li *et al.*, 2008; Wise, 2000).

Pemilihan metode *solvent evaporation* bergantung pada sifat bahan aktif dan polimer yang digunakan. *Single emulsion solvent evaporation*, *oil in water emulsification* digunakan dalam preparasi *microspheres* yang menggunakan bahan obat larut dalam pelarut organik tetapi tidak larut air (hidrofobik), sedangkan *water in oil emulsification* atau metode *non-aqueous solvent evaporation* digunakan untuk membuat *microspheres* dengan bahan aktif yang larut air (hidrofilik). *Multiple emulsion solvent evaporation* digunakan untuk preparasi *microspheres* dengan bahan aktif yang larut peptida, protein ataupun makromolekul lainnya (Herrmann & Bodmeier, 1998; Li *et al.*, 2008; Wise, 2000).

Metode *single emulsion solvent evaporation*, *oil in water emulsification* menggunakan pelarut organik untuk melarutkan polimer, kemudian bahan obat dilarutkan pada campuran pelarut dan polimer, hasil dari fase minyak diemulsifikasikan pada larutan *aqueous* yang mengandung *emulsifier*. Teknik *oil in water emulsification* untuk bahan larut air akan menghasilkan *microspheres* dengan *entrapment efficiency* yang rendah. Pada metode *non-aqueous solvent evaporation*,

bahan obat diemulsifikasikan kedalam fase lipofilik dengan menggunakan *light mineral oil* pada umumnya. Salah satu keuntungan dari metode ini yaitu dapat digunakan untuk meningkatkan *entrapment efficiency* (Wise, 2000; Naik *et al.*, 2012). Teknik *non-aqueous solvent evaporation* merupakan teknik yang lebih disukai karena dapat digunakan untuk bahan obat larut air dengan *entrapment efficiency* hampir 100%, serta ukuran partikel yang sesuai antara 100-200  $\mu\text{m}$  (Herrmann and Bodmeier, 1998; O'Donnell and McGinity, 1997).

### 2.1.3 Metode *non-aqueous solvent evaporation*

Metode *non-aqueous solvent evaporation* adalah salah satu cara yang dapat digunakan dalam preparasi *microspheres* dengan bahan aktif yang bersifat hidrofil atau memiliki kelarutan baik dalam air (Wise, 2000). Pada teknik ini, bahan obat dan polimer dilarutkan dalam suatu pelarut yang bersifat polar seperti aseton (Garud & Garud, 2012), asetonitril (Naik *et al.*, 2012), atau kombinasi aseton dan metanol (Maji *et al.*, 2012) dengan berbagai perbandingan yang digunakan. Setelah pencampuran bahan obat dan polimer kedalam pelarut polar, kemudian dilakukan emulsifikasi ke dalam fase lipofilik seperti parafin cair (Pandit *et al.*, 2013), *cotton seed oil* (Herrmann & Bodmeier, 1998), atau trigliserida (Naik *et al.*, 2012). Penambahan surfaktan lipofilik seperti span 80 pada formula diketahui berperan dalam meningkatkan karakteristik *microspheres* (Pachua & Mazumder, 2009).

Proses emulsifikasi dapat dilakukan dengan bantuan pengaduk seperti *three blades propeller* pada suhu ruang. Preparasi *microspheres* dapat dilakukan dengan variasi kecepatan 400, 600, 800, dan 1000 rpm selama 2 jam, atau dengan variasi kecepatan 600, 1200 dan 1800 rpm selama 4 jam (Garud & Garud, 2012; Maji *et al.*, 2012).

Tahap selanjutnya adalah pengumpulan *microspheres* yang dilakukan dengan cara filtrasi menggunakan kertas *Whatman* no 1 (Garud & Garud, 2012). Setelah dilakukan proses filtrasi, *microspheres* yang terkumpul dilakukan pencucian berulang yang bertujuan untuk menghilangkan fase minyak pada tahap emulsifikasi

menggunakan pelarut organik seperti petroleum eter suhu 40-60 °C (Dubey *et al.*, 2012; Garud & Garud, 2012; Patel *et al.*, 2006; Yadav & Jain, 2011) atau n-heksana (Rathod *et al.*, 2012). *Microspheres* yang telah dicuci kemudian dikeringkan pada suhu ruang dan disimpan dalam desikator (Maji *et al.*, 2012).

#### 2.1.4 Karakterisasi *microspheres*

Karakteristik merupakan hal yang penting untuk mengevaluasi *microspheres* seperti *entrapment efficiency*, *drug loading* dan *yield* (Garud & Garud, 2012). Karakteristik dari suatu *microspheres* dapat digunakan untuk pengembangan formulasi, memperkirakan kinerja obat secara *in vivo* dan untuk mengatasi masalah dalam preparasi *microspheres*. Berikut adalah beberapa karakteristik dari *microspheres* yang dipreparasi dengan teknik *non-aqueous solvent evaporation*, yaitu:

##### a) *Entrapment Efficiency* (EE)

Salah satu pertimbangan penting dalam penentuan sistem penghantaran obat adalah *entrapment efficiency*. Nilai *entrapment efficiency* digunakan untuk menunjukkan seberapa besar jumlah obat yang terjerap didalam partikel *microspheres*. Cara penentuan *entrapment efficiency* adalah membandingkan konsentrasi obat sebenarnya dengan konsentrasi obat teoritis lalu dikali 100% (Hire & Derle, 2014). Penentuan jumlah obat yang terkandung dalam *microspheres* dapat menggunakan metode spektrofotometri (Maji *et al.*, 2012).

$$\text{Entrapment efficiency (\%)} = \frac{\text{konsentrasi obat sebenarnya}}{\text{konsentrasi obat teoritis}} \times 100\% \dots (1)$$

##### b) *Drug Loading*

Karakterisasi *microspheres* yang digunakan untuk menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan adalah *drug loading*. Perhitungan *drug loading* yaitu

dengan cara *entrapment efficiency* dikali berat bahan aktif sebenarnya dibagi dengan berat *microspheres* yang didapat lalu dikali 100% (Choudhury & Kar, 2009).

$$\text{Drug loading (\%)} = \frac{\text{Entrapment efficiency} \times \text{berat bahan aktif}}{\text{berat microspheres yang didapat}} \times 100\% \dots (2)$$

c) *Yield*

*Yield* adalah suatu karakterisasi *microspheres* yang digunakan untuk menunjukkan seberapa efisien metode yang digunakan untuk mendapatkan jumlah *microspheres* yang maksimal sehingga akan membantu menentukan metode preparasi *microspheres* yang tepat (Sappidi *et al.*, 2014). Perhitungan *yield* adalah dengan cara membagi berat *microspheres* yang didapat dari hasil preparasi dengan berat *microspheres* teoritis lalu dikali 100% (Garud & Garud, 2012).

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{berat microspheres yang didapat}}{\text{total berat obat dan polimer teoritis}} \times 100\% \dots \dots (3)$$

d) Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

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

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 transmisi molekular membentuk sidik jari molekular suatu sampel (Kencana, 2009).

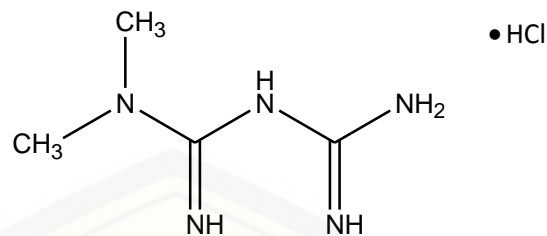
e) Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Analisis menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) digunakan untuk menentukan ukuran dan morfologi partikel *microspheres* yang telah dipreparasi. Ukuran partikel *microspheres* akan mempengaruhi laju degradasi obat dan distribusi obat dalam tubuh. Selain itu, ukuran partikel juga akan berpengaruh pada terhadap rasio antara luas permukaan dengan volume partikel suatu *microspheres* sehingga akan mempengaruhi laju pelepasannya. Permukaan partikel yang lebih kecil akan menurunkan laju degradasi dari polimer yang tidak permeabel terhadap air. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin cepat kemungkinan untuk membentuk partikel yang lebih keras karena jarak yang lebih pendek untuk pelarut keluar dari droplet partikel sehingga distribusinya menjadi lebih seragam (Varde & Pack, 2004).

## 2.2. Metformin Hidroklorida

Metformin hidroklorida ( $C_4H_{11}N_5.HCl$ ) adalah obat golongan biguanida yang digunakan sebagai antidiabetes. Berat molekulnya adalah 165,6 g/mol dengan pemerian kristal putih atau hampir putih, sangat larut dalam air, sedikit larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam aseton dan diklorometana. Metformin hidroklorida diabsorbsi secara perlahan dan tidak sempurna di saluran gastrointestinal. Bioavailabilitasnya adalah 50-60%, sedangkan konsentrasi puncak plasma terjadi setelah 1,5-4,5 jam dengan waktu paruh 2-6 jam (Sweetman, 2009).

Metformin hidroklorida relatif stabil terhadap pemanasan hingga pada suhu diatas  $70^{\circ}C$ . Laju degradasi metformin hidroklorida mengikuti kinetika reaksi orde ke nol (Kumar *et al.*, 2010). Struktur metformin hidroklorida dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur Metformin Hidroklorida (Sweetman, 2009)

Metformin hidroklorida atau 1,1-dimetilbiguanida hidroklorida memiliki aktivitas penurunan glukosa darah dengan cara menekan pengeluaran glukosa hepar. Kemampuan mereduksi glukoneogenesisnya adalah 0,6 mg/kg permenit yang akan mengakibatkan penurunan 75% pengeluaran glukosa hepar. Metformin bekerja sinergis dengan insulin yaitu menghambat glukagon yang berperan dalam proses glukoneogenesis (Setter *et al.*, 2003).

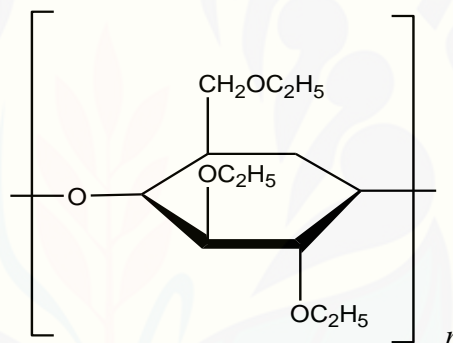
Aksi dari metformin yaitu meningkatkan transpor glukosa, pengeluaran glukosa non-oksidatif dan sintesis glikogen, sehingga akan menyebabkan peningkatan stimulasi insulin dalam *uptake* glukosa. Penggunaan metformin selama 3 bulan pada pasien diabetes tipe 2 dapat meningkatkan stimulasi insulin sampai dengan 29%, akibatnya akan terjadi penurunan konsentrasi gula darah pasien dan meningkatkan metabolisme glukosa non-oksidatif, termasuk pembentukan glikogen dan konversi glukosa menjadi laktat. Aktivitas intrinsik dari sel membran sensitif insulin terhadap transporter glukosa GLUT-1 dan GLUT-4 dapat ditingkatkan dengan penggunaan metformin (Setter *et al.*, 2003).

### 2.3. Etil Selulosa

Etil selulosa ( $C_{12}H_{23}O_6(C_{12}H_{22}O_5)_n C_{12}H_{23}O_5$ ) adalah derivat selulosa mengandung beberapa grup hidroksil dengan pengulangan unit *anhydroglucose* yang dimodifikasi menjadi grup etil eter (Murtaza, 2012). Etil selulosa adalah polimer yang tak larut air dan banyak digunakan pada berbagai sediaan lepas lambat untuk bahan aktif yang larut air (Pao *et al.*, 2003). Etil selulosa banyak digunakan sebagai agen penyalut, pengikat tablet, pengisi tablet ataupun juga sebagai agen peningkat

viskositas. Etil selulosa praktis tidak larut gliserin, propilenglikol, dan air (Rowe *et al.*, 2009).

Sifat-sifat dari etil selulosa yaitu (1) titik leleh berkisar antara 240-255°C (2) berupa granul atau serbuk yang tak berbau ataupun tak berwarna (3) tidak toksik (4) biokompatibel dan kompatibel dengan selulosa, resin dan hampir semua *plasticizer* (6) stabil terhadap cahaya, panas, oksigen dan kelembaban serta (7) tidak larut air namun larut dalam banyak pelarut organik seperti alkohol, eter, keton dan ester (Murtaza *et al.*, 2012). Chella *et al.* (2010) dan Pao *et al.* (2003) menggunakan etil selulosa sebagai *retardant* pada formulasi *microspheres*. Rumus struktur etil selulosa dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.3 Struktur etil selulosa (Rowe *et al.*, 2009)

#### 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. Keuntungan menggunakan desain faktorial adalah: a) dapat menghemat biaya dibandingkan melakukan penelitian tunggal untuk mendapat tingkat ketelitian yang sama, b) dapat menentukan efek utama dari dua faktor dengan hanya satu penelitian tunggal, c) desain faktorial memiliki efisiensi maksimum dalam memperkirakan efek utama jika tidak ada interaksi, dan d) hasil kesimpulan dari



penelitian dapat digunakan dalam berbagai kondisi (Bolton & Bon, 2004; Kothari, 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 desain faktorial diantaranya adalah faktor, *level*, efek, dan interaksi. Faktor adalah variabel yang ditentukan dan 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:

$$Y = b_0 + b_a X_A + b_b X_B + b_{ab} X_A X_B \dots \dots \dots (4)$$

$Y$  = respon hasil atau sifat yang diamati

$X_A$  = *level* bagian A

$X_B$  = *level* bagian B

$b_0, b_a, b_b, b_{ab}$  = koefisien, dapat dihitung dari hasil percobaan

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Tahapan penelitian meliputi : (1) Rancangan formula dengan konsentrasi polimer dan lama pengadukan sebagai variabel bebas menggunakan desain faktorial; (2) Preparasi *microspheres* metformin hidroklorida sesuai rancangan formula; (3) Pengukuran *entrapment efficiency*; (4) Penentuan formula optimum dengan *Design Expert* 10.0.0.3 versi *trial*; dan (5) Karakterisasi formula terpilih.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *four blades propeller* (IKA Labortechnik, Germany), FTIR spektrofotometer (Bruker, Germany), Spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10s, Thermo scientific, USA), *stop watch*, neraca analitik (*Adventurer™ Ohaus*, USA), Oven (Mettler, Germany), alat-alat gelas, dan program perangkat lunak (*software*) *design expert* 10.0.0.3 versi *trial*.

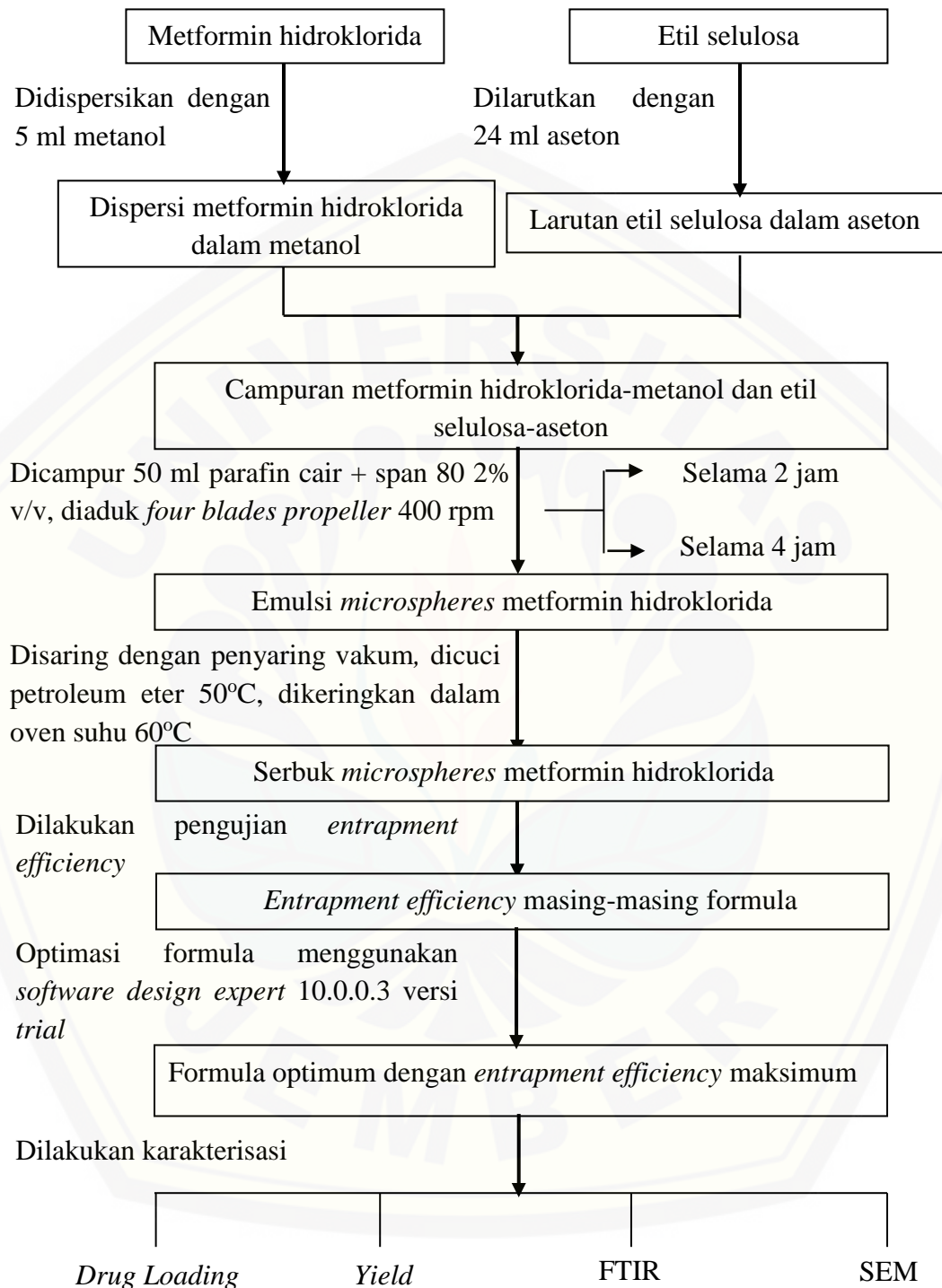
#### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Metformin hidroklorida (*Hildose, RRC*), etil selulosa 20 cps (*Asha, India*), metanol (*PT. Bratachem, Indonesia*), aseton (*PT. Smart Lab., Indonesia*), parafin cair (*PT. Bratachem, Indonesia*), petroleum eter (*PT. Bratachem, Indonesia*), akuades.

### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Solida Bagian Farmasetika dan Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan November 2015-April 2016.





Gambar 3.1 Skema langkah kerja penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Rancangan Formula *Microspheres* Metformin Hidroklorida

Pada penelitian dibuat 4 macam rancangan formula *microspheres* metformin hidroklorida. Tiap formula terdiri atas metformin hidroklorida dan etil selulosa. Perbedaan dari masing-masing formula adalah perbandingan konsentrasi etil selulosa dan perlakuan mengenai lama pengadukan *four blades propeller* dalam pembentukan *microspheres* metformin hidroklorida.

Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial dua *level* dua faktor dengan variabel bebas (faktor) dan variabel terikat (respon) sebagai berikut :

- a. Variabel bebas : Konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan *four blades propeller*
- b. Variabel terkontrol : Kecepatan pengadukan
- c. Variabel terikat : *Entrapment efficiency*

Desain faktorial dua *level* dua faktor terdiri atas masing-masing faktor yang diuji pada dua *level*, yaitu *level* maksimum dengan notasi (+1) dan *level* minimum dengan notasi (-1). Tujuannya adalah untuk mengetahui konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan yang optimum untuk mendapatkan karakteristik *microspheres* yang optimum. Berikut adalah tabel 3.1 rancangan desain faktorial untuk dua faktor dan dua *level* :

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

Formula	Faktor A (konsentrasi etil selulosa)	Faktor B (lama pengadukan)	Interaksi A dan B
(1)	-1	-1	+1
A	+1	-1	-1
B	-1	+1	-1
AB	+1	+1	+1

Susunan *level* rendah dan *level* tinggi 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)
Konsentrasi etil selulosa	1500 mg	4500 mg
Lama pengadukan	2 jam	4 jam

Adapun susunan formula *microspheres* metformin hidroklorida yang akan diteliti sebagai berikut:

Tabel 3.3 Formula *Microspheres* Metformin Hidroklorida

Bahan	Jumlah
Metformin HCl	750 mg
Etil selulosa	1500 mg / 4500 mg
Metanol	5 ml
Aseton	24 ml
Parafin cair	50 ml
Span 80	2%
Petroleum eter	30 ml

#### 3.4.2. Pembuatan *Microspheres* Metformin Hidroklorida (Maji *et al.*, 2012)

*Microspheres* metformin hidroklorida sebagai obat antidiabetes tipe 2 dipreparasi menggunakan teknik *non-aqueous solvent evaporation*. Bahan aktif metformin hidroklorida sebanyak 750 mg ditambah dengan 5 ml metanol sedangkan etil selulosa dengan variasi konsentrasi 1500 mg dan 4500 mg dicampur dengan aseton sebanyak 24 ml kemudian kedua campuran tersebut dicampurkan. Campuran metformin hidroklorida-metanol dan etil selulosa-aseton dimasukkan ke dalam 50 ml parafin cair yang mengandung span 80 2% v/v, kemudian dilakukan pengadukan menggunakan *four blades propeller* pada suhu ruang. Larutan diaduk selama waktu dan kecepatan yang berbeda. Pada formula (1) konsentrasi etil selulosa yang digunakan sebesar 1500 mg kemudian campuran metformin hidroklorida-metanol dan etil selulosa-aseton dalam parafin cair yang mengandung span 80 2% v/v kemudian diaduk dengan kecepatan 400 rpm selama 2 jam, formula (A) konsentrasi etil selulosa yang digunakan sebesar 4500 mg kemudian dilakukan pengadukan selama 2 jam, formula (B) konsentrasi etil selulosa yang

digunakan sebesar 1500 mg dilakukan pengadukan selama 4 jam, dan formula (AB) konsentrasi etil selulosa yang digunakan sebesar 4500 mg kemudian dilakukan pengadukan selama 4 jam. Preparasi *microspheres* secara ringkas dapat dilihat pada tabel 3.4. Kemudian larutan yang terbentuk disaring dengan menggunakan kertas *Whatman* no 1. *Microspheres* yang terbentuk dicuci secara berulang menggunakan petroleum eter dengan suhu 50°C untuk menghilangkan fase minyak pada *microspheres*. *Microspheres* yang didapat dikeringkan dalam oven suhu 60°C sampai didapatkan berat *microspheres* yang konstan.

Tabel 3.4 Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida

Formula	Metformin HCl (mg)	Etil selulosa (mg)	Metanol (ml)	Aseton (ml)	Parafin cair (ml)	Span 80 (% v/v)	Pengadukan kecepatan 400 rpm
(1)	750	1500	5	24	50	2	2 jam
(A)	750	4500	5	24	50	2	2 jam
(B)	750	1500	5	24	50	2	4 jam
(AB)	750	4500	5	24	50	2	4 jam

### 3.4.3. Penentuan *Entrapment Efficiency*

#### a) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida

##### 1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara *scanning* standar baku dengan konsentrasi tertentu pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan melihat nilai absorbansi yang terbesar.

##### 2) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Akuades

Kurva baku metformin hidroklorida dibuat dengan penentuan absorbansi standar baku dalam beberapa seri konsentrasi, yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm pada panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV. Baku standar dibuat

dari pengenceran baku induk, dimana baku induk dibuat dengan cara melarutkan 25 mg metformin hidroklorida dalam 250 ml akuades sehingga akan terbentuk larutan standar induk dengan konsentrasi 100 ppm.

b) *Entrapment Efficiency* (Pandit *et al.*, 2013)

*Entrapment efficiency* dapat menunjukkan seberapa besar jumlah obat yang terperangkap dalam *microspheres*. Sejumlah *microspheres* yang setara dengan 5 mg metformin hidroklorida ditimbang, selanjutnya *microspheres* tersebut dicuci dengan akuades untuk menghilangkan metformin hidroklorida bebas dan kemudian dihancurkan dalam mortar. Serbuk yang terbentuk disuspensikan menggunakan akuades ad 100 ml, kemudian disaring. Filtrat selanjutnya diencerkan 10 kali dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV. Perhitungan *entrapment efficiency* dilakukan menggunakan persamaan (1).

3.4.4. Penentuan Formula Optimum dengan *Software Design Expert*

Metode desain faktorial dapat digunakan untuk menentukan formula optimum. Persamaan (4) akan menjelaskan hubungan antara faktor dan respon, dimana untuk melengkapi persamaan tersebut digunakan harga untuk masing-masing respon yang berasal dari data hasil pengujian *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida.

Harga koefisien  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_{12}$  dapat dihitung menggunakan rumus  $Y = b_0 + b_1X_A + b_2X_B + b_{12}X_AX_B$ . Dari hasil perhitungan menggunakan rumus ini, dapat dibuat *contour plot* dengan menggunakan *software design expert* 10.0.0.3 versi *trial*. Pembuatan *contour plot* meliputi nilai *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida, sehingga dapat diketahui efek faktor (konsentrasi polimer dan lama pengadukan) terhadap respon serta efek interaksi faktor terhadap respon.

Dari *contour plot* tersebut dapat diketahui komposisi optimum kombinasi konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan terhadap respon *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa.



### 3.4.5. Karakteristik *Microspheres* Metformin Hidroklorida

#### a) Penentuan *Drug Loading* (Garud & Garud, 2012)

*Drug loading* dapat digunakan untuk mengetahui persentase berat metformin hidroklorida yang terperangkap dibandingkan dengan berat total *microspheres* setelah dikeringkan sehingga beratnya konstan kemudian dikali 100%. Semakin besar persentase *drug loading* dari suatu formula maka semakin efisien pula formula tersebut. Perhitungan *drug loading* dapat dilakukan menggunakan persamaan (2).

#### b) Penentuan *Yield* (Sappidi *et al.*, 2014)

Persentase *yield* dapat digunakan untuk mengetahui seberapa efisien metode yang digunakan sehingga membantu dalam menentukan metode pembuatan *microspheres* yang tepat. Perhitungan *yield* yaitu dengan membagi jumlah total *microspheres* yang dihasilkan dengan jumlah total obat dan eksipien yang digunakan kemudian dikali 100%. Untuk mendapatkan *microspheres* dengan berat konstan, maka dapat dikeringkan terlebih dahulu dengan menggunakan oven bersuhu 60 °C. Perhitungan *yield* dapat dilakukan menggunakan persamaan (3).

#### c) Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Maji *et al.*, 2012))

Metode spektroskopi FT-IR dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi interaksi antara metformin hidroklorida dan etil selulosa selama proses preparasi *microspheres*. Uji FTIR menggunakan metode ATR (*Attenuated Total Reflectance*) untuk menganalisis metformin hidroklorida, etil selulosa dan *microspheres* yang telah dipreparasi. Sampel terlebih dahulu dihaluskan menggunakan mortir, kemudian diletakkan pada plat ATR.

#### d) Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (Sabitha *et al.*, 2010)

Penentuan ukuran, bentuk dan morfologi permukaan *microspheres* dapat dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Sejumlah

*microspheres* disebarkan dan ditempelkan menggunakan selotip karbon pada bagian *stub* yang berbahan alumunium, kemudian ditempatkan di *scanning electron microscopy chamber*. Pemeriksaan menggunakan pembesaran yang berbeda-beda, maksimum 500 kali.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. Peningkatan konsentrasi etil selulosa memiliki pengaruh meningkatkan *entrapment efficiency*, sedangkan peningkatan lama pengadukan memiliki pengaruh menurunkan *entrapment efficiency*. Interaksi antara kedua faktor tersebut memiliki efek meningkatkan *entrapment efficiency*.
2. Kombinasi optimum antara konsentrasi etil selulosa dan lama pengadukan untuk memperoleh *entrapment efficiency* tertinggi adalah 4500 mg dan 2 jam.
3. Karakteristik kompleks pada formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa ditunjukkan dengan tidak adanya interaksi yang terjadi dan muncul serapan khas dari metformin hidroklorida.
4. *Microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa yang terbentuk memiliki *drug loading* sebesar  $12,7 \pm 0,173\%$ , *yield* sebesar  $95,1 \pm 0,612\%$  dan ukuran partikel sebesar  $173,8 \pm 4,41 \mu\text{m}$ .

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan:

1. Perlu dilakukan uji disolusi dan uji bioavailabilitas untuk mengetahui profil pelepasan, profil bioavailabilitas *microspheres* metformin hidroklorida.
2. Perlu dilakukan uji stabilitas untuk menjamin mutu sediaan *microspheres*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ami, M., Hejal, P., & Yogi, P. 2012. Advancements in Controlled Release Gastroretentive Drug Delivery System: A Review. *J. Drug Deliv. Therap.*, 2(3), 12-21.
- Bagul, U., Gujar, K., Dhat, S., Aphale, S., & Bhavsar, M. 2009. In Vitro Study of Mucoadhesive Strength of Polymers for Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *IJCPR.*, 1(1), 42-46.
- Behera, A. L., Patil, S. V., & Sahoo, S. K. 2011. Formulation and Characteristics of 5-fluorouracil Microspheres by Solvent Evaporation Method. *Int. J. Pharm.*, 3(1), 32-35.
- Bolton, S., & Bon, C. 2004. *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications*. New York: Marcel Dekker.
- Chella, N., Yada, K. K., & Vempati, R. 2010. Preparation and Evaluation of Ethyl Cellulose Microspheres Containing Diclofenac Sodium by Novel W/O/O Emulsion Method. *J. Pharm. Sci.*, 2(12), 884-888.
- Choudhury, P.K., & Kar, M. 2009. Controlled Release Metformin Hydrochloride Microspheres of Ethyl Cellulose Prepared by Different Methods and Study on the Polymer Affected Parameters. *J. Microenc.*, 26(1), 46-53. doi: 10.1080/02652040802130503
- Chowdary, K. P. R., Rao, N. K., & Malathi, K. 2004. Ethylcellulose Microspheres of Glipizide: Characterization, In Vitro and In Vivo Evaluation. *Int. J. Pharm.*, 66(4), 412-416.
- Chowdary, Y.A., Raparla, R., & Madhuri, M. 2014. Formulation and Evaluation of Multilayered Tablets of Pioglitazone Hydrochloride and Metformin Hydrochloride. *Hindawi*, 1-14.
- Das, M. K., & Rao, K. R. 2006. Evaluation of Zidovudine Encapsulated Ethylcellulose Microspheres Prepared by Water-in-Oil-in-Oil (W/O/O) Double Emulsion Solvent Diffusion Technique. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 63(2), 141-148.

- Dashora, A., & Jain, C. P. 2009. Development and Characterization of Pectin-Prednisolone Microspheres for Colon Targeted Delivery. *Int. J. ChemTech. Res.*, 1(3), 751-757.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey, L. M. 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*.
- Dubey, M., Kesharwani, P., Tiwari, A., Chandel, R., Raja, K., & Sivakumar, T. 2012. Formulation and Evaluation of Floating Microsphere Containing Antidiabetic Drug. *Int. J. Pharm.*, 282(1-2), 1-18. doi: 10.1016/j.ijpharm.2004.04.013
- Enriquez, G. G., Orawiec, B. A., Rizvi, S. A. A., & Do, D. P. 2014. Formulation Development and In Vitro Evaluation of Oral Extended-release Capsule Containing Biodegradable Microspheres. *J. Nanomed. Nanotechnol.*, 5(3), 1-7. doi: 10.4172/2157-7439.1000208.
- Freiberg, S. & Zhu, X. X. 2004. Polymer Microspheres for Controlled Drug Release. *Int. J. Pharm.*, 282(1-2), 1-18. doi: 10.1016/j.ijpharm.2004.04.013
- Garg, G., & Gupta, G. D. 2008. Progress in Controlled Gastroretentive Delivery Systems. *Trop. J. Pharm.*, 7(3), 1055-1066.
- Garud, N., & Garud, A. 2012. Preparation and In-vitro Evaluation of Metformin Microspheres Using Non-Aqueous Solvent. *Topic. J. Pharm. Res. August*, 11(May), 577-583.
- Ghodake, J.D., Vidhate, J.S., Shinde, D.A., & Kadam, A.N. 2010. Formulation and Evaluation of Floating Microspheres Containing Anti-diabetic (Metformin Hydrochloride) Drug. *IJPR*. 2(1), 378-384.
- Herrmann, J., & Bodmeier, R. 1998. Biodegradable, Somatostatin Acetate Containing Microspheres Prepared By Various Aqueous And Non-Aqueous Solvent Evaporation Methods. *Europ. J. Pharm. Biopharm. : Off. J. Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 45(1), 75-82. doi:10.1016/S0939-6411(97)00125-2
- Hire, & Derle. (2014). Microspheres as Drug Carrier: A Review. *Int. J. Adv. Res.*, 2(3), 901-913.
- Kencana, A. 2009. *Perlakuan Sonikasi terhadap Kitosan: Viskositas dan Bobot Molekul Kitosan. Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Kothari, R. C. 2004. *Research Methodology-Methods and Technique 2<sup>nd</sup> ed*. New Delhi: New Age International (P) Ltd.

- Kumar, V. S., Nautliyal, V., Goel, K. K. & Sharma, A., 2010. Assesment of Thermal Stability of Metformin Hydroclorida. *Asian Journal of Chemistry*. 22(5). pp. 2561-3566.
- Li, G., Liu, G., Kang, E. T., Neoh, K. G., & Yang, X. 2008. pH-Responsive Hollow Polymeric Microspheres from Silica-Polymer Core Shell Microspheres. *Nankai University*, 24(16), 9050-9055. doi: 10.1021/la8010579
- Maji, R., Ray, S., Das, B., & Nayak. 2012. Ethyl Cellulose Microparticles Containing Metformin HCl by Emulsification-Solvent Evaporation Technique: Effect of Formulation Variables. *ISRN Polymer Science*, 1-7. doi: 10.5402/2012/801827
- Mao, S., Guo, Chunqiang., Shi, Yi., & Li, L. C. 2012. Recent Advances in Polymeric Microspheres for Parenteral Drug Delivery. *E.O.D.D*, 9(10), pp. 1209-1223.
- Muntha, P. 2014. Microspheres- Novel Drug Carriers. *RRJPPS*, 3(3), 83-86.
- Murtaza, G. 2012. Ethyl Cellulose Microparticles: A Review. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 69(1), 11-22.
- Naik, J.B., Lokhande, A.B., Mishra, S., & Kulkarni, R.D. 2012. Development of Sustained Release Micro/Nano Particles Using Different Solvent Emulsification Techniques: A Review. *Int. J. Pharma and Bio Scie.*, 3(4), 573-590.
- Nathan, D.M., Buse, J.B., & Davidson, M.B. 2006. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy. *Diabetes Care*, 29,1963.
- Nathan, D.M., Buse, J.B., & Davidson, M.B. 2009. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, 32,193.
- O'Donnell, P. B., & McGinity, J. W. 1997. Preparation of Microspheres by The Solvent Evaporation Technique. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 28(1), 25-42. doi:10.1016/S0169-409X(97)00049-5
- Pachau, L., & Mazumder, B. 2009. A Study on the Effects of Different Surfactans on Ethylcellulose Microspheres. *Int. J. Pharmtech*, 1(4), 966-971.
- Pandit, V., Pai, R. S., Yadav, V., Devi, K., Surekha, B. B., Inamdar, M. N., & Suresh, S. 2013. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation of Floating Microspheres of Metformin Hydrochloride. *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 39(1), 117-27. doi:10.3109/03639045.2012.662503

- Pao, C. W., Yaw, B. H., Jui, I. C., Ming, J. T., & Yi, H. T. 2003. Preparation and Evaluation of Sustained Release Microspheres of Potassium Chloride Prepared with Ethylcellulose. *Ijpharm*, 260, 115-121. doi: 10.1016/S0378-5173(03)00255-2
- Patel, S., Chand, T., & Talsania, M. 2013. Formulation Development and Evaluation of Microspheres Containing Duloxetine Hydrochloride. *IJRPBS*, 4(2), 568-572.
- Pilmore, H.L. 2010. Review: Metformin: Potential Benefits and Use in Chronic Kidney Disease. *Asian Pasific Society of Nephrology*, 15, 412-418.
- 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), 972-978.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient 6<sup>th</sup> ed.*, London : Pharmaceutical Press And American Pharmacist Association.
- Sabitha, P., Ratna, J. V., & Reddy, K. R. 2010. Design and Evaluation of Controlled Release Chitosan-Calcium Alginat Microcapsule of Anti Tubercular Drugs for Oral Use. *Int J. Chem Tech Res.*, 2(1), 88-98.
- Sahil, K., Akanksha, M., Premjeet, S., Bilandi, A., & Kapoor, B. 2011. Microsphere: A Review. *IJRPC*, 1(4), 1184-1198.
- Sappidi, S., Thadkala, K., Kota, J., & Aukunuru, J. 2014. Preparation and Characterization of Ethyl Cellulose Microspheres Encapsulating Metformin Hydrochloride and Glipizide. *Schol. Res. Lib.*, 6(4), 213-226.
- Semalty, A. 2014. Preparation and Evaluation of Chitosan Microsphere of Metformin Hydrochloride and Study the Effect of Drug to Polymer Ratio. *Int. J. Pharm. Chem. Sci.*, 3(2), 316-320.
- Setter, S. M., Iltz, J. L., Thams, J., & Campbell, R. K. 2003. Metformin Hydrochloride in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus: A Clinical Review with A Focus on Dual Therapy. *Clinic Therap.*, 25(12), 2991-3026. doi: 10.1016/S0149-2918(03)90089-0
- Stepensky, D., Friedman, M., Raz, I., & Hoffman, A. 2002. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis of the Glucose-Lowering Effect of Metformin in Diabetic Rats Reveals First Pass Pharmacodynamic Effect. *American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 30(8).

- Streubel, A., Siepmann, J., & Bodmeier, R. 2006. Drug Delivery to the Upper Small Intestine Window Using Gastroretentive Technologies. *Science Direct*, 6(5), 501-508. doi: 10.1016/j.coph.2006.04.007
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale 36<sup>th</sup> edition*. USA: Pharmaceutical Press.
- Tiwari, S., & Verma, P. 2011. Microencapsulation Technique by Solvent Evaporation Method (Study of Effect of Process Variable). *Int. J. of Pharm. & Life Science*, 2(8), 998-1005.
- Varde, N. K., & Pack, D. W. 2006. Microspheres for Controlled Release Drug Delivery. *Ashley Public*, 35-51.
- Wade, A., & Weller, P.J. 1994. *Handbook of Pharmaceutical Excipient, 2<sup>nd</sup> ed.* Washington: American Pharmaceutical Association Inc.
- 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), 101-112.



LAMPIRAN

A. Sertifikat Analisis Metformin Hidroklorida

**HILDOSE**

SHIVAM CHAMBERS, 106/108, 1<sup>ST</sup> 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:- 223.5°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 <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> .HCL, calculated with reference to the dried substance	Metformin Hydrochloride contains 99.93% of C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> .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 :- *Adhambir* CHECKED BY :- *dyf*



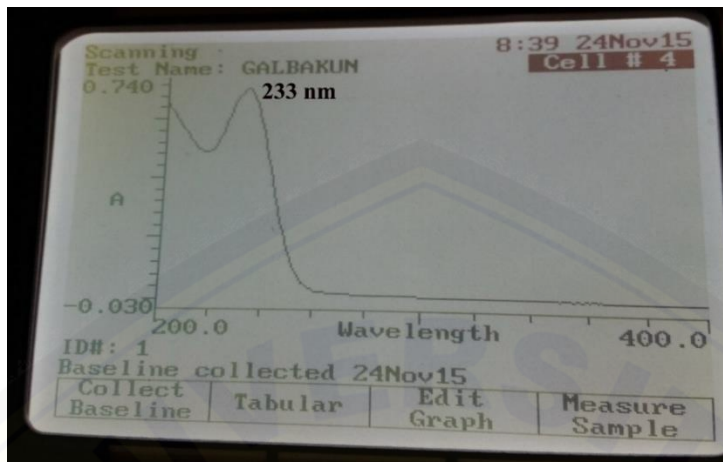
**C. Scanning Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida**

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
200	0,666	225	0,583
201	0,650	226	0,607
202	0,638	227	0,629
203	0,624	228	0,650
204	0,611	229	0,667
205	0,600	230	0,679
206	0,587	231	0,690
207	0,576	232	0,699
208	0,566	233	0,702
209	0,552	234	0,698
210	0,540	235	0,688
211	0,529	236	0,674
212	0,518	237	0,652
213	0,508	238	0,622
214	0,498	239	0,591
215	0,492	240	0,552
216	0,487	241	0,511
217	0,484	242	0,467
218	0,486	243	0,428
219	0,490	244	0,390
220	0,499	245	0,343
221	0,509	246	0,291
222	0,524	247	0,248
223	0,542	248	0,220
224	0,561	249	0,190

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
250	0,161	276	0,018
251	0,132	277	0,019
252	0,110	278	0,018
253	0,094	279	0,017
254	0,080	280	0,018
255	0,066	281	0,018
256	0,054	282	0,018
257	0,046	283	0,017
258	0,040	284	0,017
259	0,035	285	0,017
260	0,031	286	0,016
261	0,029	287	0,017
262	0,028	288	0,016
263	0,026	289	0,016
264	0,024	290	0,016
265	0,024	291	0,016
266	0,023	292	0,015
267	0,022	293	0,015
268	0,022	294	0,015
269	0,021	295	0,015
270	0,021	296	0,015
271	0,020	297	0,014
272	0,020	298	0,014
273	0,020	299	0,014
274	0,020	300	0,014
275	0,019	301	0,014

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
302	0,014	328	0,010
303	0,013	329	0,011
304	0,013	330	0,010
305	0,013	331	0,010
306	0,013	332	0,010
307	0,013	333	0,010
308	0,013	334	0,010
309	0,012	335	0,010
310	0,012	336	0,010
311	0,012	337	0,010
312	0,012	338	0,009
313	0,012	339	0,010
314	0,012	340	0,009
315	0,012	341	0,010
316	0,012	342	0,010
317	0,011	343	0,009
318	0,011	344	0,009
319	0,012	345	0,009
320	0,011	346	0,010
321	0,011	347	0,009
322	0,011	348	0,009
323	0,011	349	0,009
324	0,011	350	0,009
325	0,011	351	0,009
326	0,011	352	0,009
327	0,011	353	0,010

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
354	0,009	380	0,008
355	0,009	381	0,008
356	0,007	382	0,008
357	0,009	383	0,008
358	0,009	384	0,008
359	0,007	385	0,007
360	0,009	386	0,008
361	0,009	387	0,008
362	0,009	388	0,007
363	0,009	389	0,007
364	0,008	390	0,007
365	0,009	391	0,005
366	0,009	392	0,008
367	0,008	393	0,007
368	0,009	394	0,008
369	0,008	395	0,007
370	0,008	396	0,008
371	0,008	397	0,007
372	0,008	398	0,007
373	0,008	399	0,008
374	0,008	400	0,007
375	0,007		
376	0,008		
377	0,008		
378	0,008		
379	0,008		

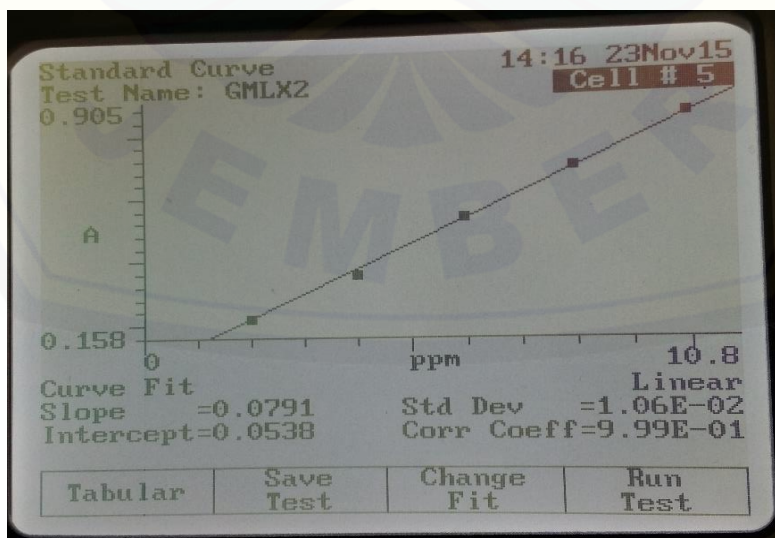


**D. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Akuades**

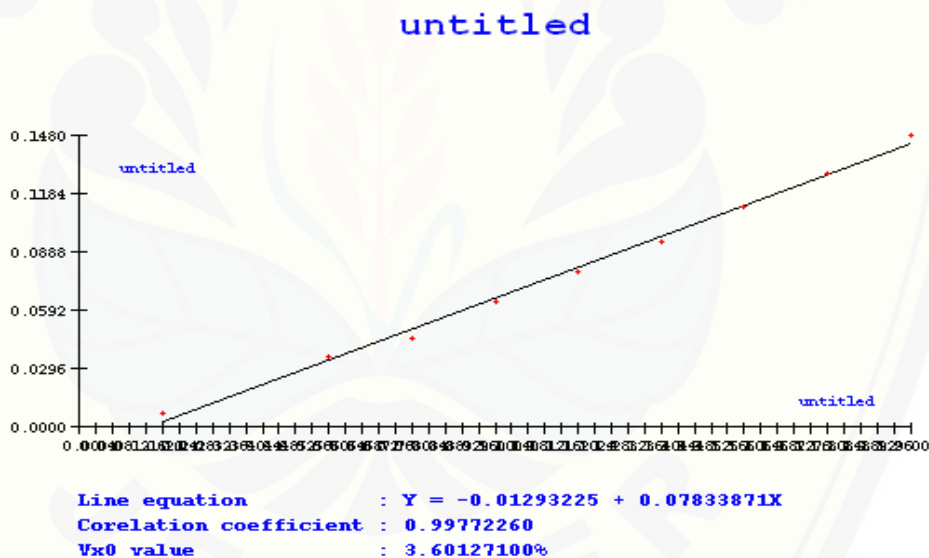
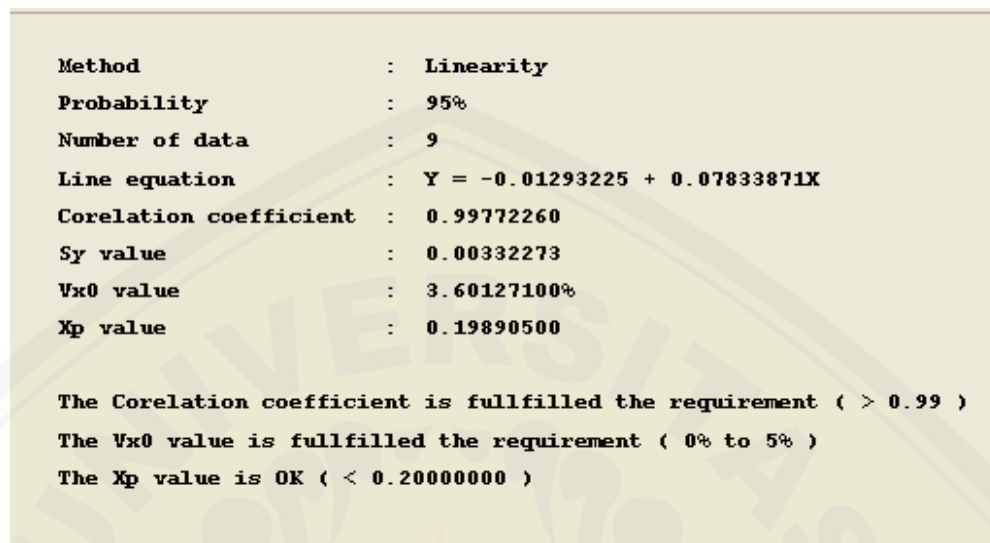
Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
2	0,220
4	0,355
6	0,533
8	0,691
10	0,843

Nilai a= 0,0538, b= 0,0791 dan r= 0,999

Persamaan regresi kurva baku:  $y = 0,0791x + 0,0538$



Hasil analisis batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ)



**E. Hasil Perhitungan *Entrapment Efficiency***

Formula	Replikasi	Absorbansi	Kadar (ppm)	<i>Entrapment efficiency</i>	Rata-rata ± SD
(A)	1	0,388	4,225	84,7%	84,6% ± 0,557
	2	0,392	4,276	85,1%	
	3	0,387	4,212	84,0%	



### F. Contoh Perhitungan *Entrapment Efficiency*

- Diketahui : Kadar yang didapatkan = 4,225 ppm

$$\text{Berat microspheres yang didapat} = 5017,6 \text{ mg}$$

- Menimbang *microspheres* yang setara dengan 5 mg metformin hidroklorida

$$\frac{\text{berat metformin HCl yang ditimbang}}{\text{berat microspheres yang didapat}} = \frac{5,00 \text{ mg}}{x}$$

$$\frac{750 \text{ mg}}{5017,6 \text{ mg}} = \frac{5,00 \text{ mg}}{x} \rightarrow X = 33,4 \text{ mg}$$

- Hasil penimbangan = 33,4 mg
- Kadar sebelum pengenceran =  $4,225 \times 10 = 42,25 \text{ ppm}$
- Berat metformin HCl

$$= \frac{x}{100 \text{ ml}} \times 1000 = 42,25 \text{ ppm} \rightarrow X = 4,225 \text{ mg}$$

- Jumlah total obat dalam *microspheres* =

$$\frac{4,225 \text{ mg}}{33,4 \text{ mg}} = \frac{x}{5017,6 \text{ mg}}$$

$$X = 634 \text{ mg}$$

- *Entrapment efficiency*

$$\frac{634 \text{ mg}}{750 \text{ mg}} \times 100\% = 84,7\%$$

## G. Hasil Analisis Desain Faktorial

### G.1. Kekuatan Faktor 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%.

Entrapment Efficiency		%	
Signal ( $\delta$ ) = 20,00	Noise ( $\sigma$ ) = 5,00	Signal/Noise ( $\delta/\sigma$ ) = 4,00	
A	B		
99,9 %	99,9 %		

### G.2. Hasil Uji ANOVA

Response	Entrapment Efficiency					
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 Prob > F	
<b>Model</b>	1706.03	3	568.68	3517.59	< 0.0001	significant
<i>A-Konsentrasi etil selulosa</i>	1399.68	1	1399.68	8657.81	< 0.0001	
<i>B-Lama pengadukan</i>	282.27	1	282.27	1746.00	< 0.0001	
<i>AB</i>	24.08	1	24.08	148.97	< 0.0001	
<b>Pure Error</b>	1.29	8	0.16			
<b>Cor Total</b>	1707,33	11				

The Model F-value of 3517.59 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.

<b>Std. Dev.</b>	<b>0,41</b>	<b>R-Squared</b>	<b>0,9992</b>
<b>Mean</b>	68.73	Adj R-Squared	0.9990
<b>C.V. %</b>	0.58	Pred R-Squared	0.9983
<b>PRESS</b>	2.91	Adeq Precision	134.833

The "Pred R-Squared" of 0,9983 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0,9990; 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 134,883 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

<b>Factor</b>	<b>Coefficient</b>		<b>Standard</b>	<b>95% CI</b>		<b>VIF</b>
	<b>Estimate</b>	<b>df</b>	<b>Error</b>	<b>Low</b>	<b>High</b>	
<b>Intercept</b>	68.73	1	0.12	68.47	69.00	
<b>A-Konsentrasi etil selulosa</b>	10.80	1	0.12	10.53	11.07	1.00
<b>B-Lama pengadukan</b>	-4.85	1	0.12	-5.12	-4.58	1.00
<b>AB</b>	1.42	1	0.12	1.15	1.68	1.00

---

**Final Equation in Terms of Coded Factors:**


---

$$\begin{aligned} \text{Entrapment Efficiency} &= \\ &+68,73 \\ &+10,80 \quad * A \\ &-4,85 \quad * B \\ &+1,42 \quad * AB \end{aligned}$$


---

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:**


---

$$\begin{aligned} \text{Entrapment Efficiency} &= \\ &+70,18333 \\ &+4,36667\text{E-}003 \quad * \text{Konsentrasi etil selulosa} \\ &-7,68333 \quad * \text{Lama pengadukan} \\ &+9,44444\text{E-}004 \quad * \text{Konsentrasi etil selulosa} * \text{Lama pengadukan} \end{aligned}$$


---

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.

### G.3. Perhitungan Efek Faktor dan Interaksinya terhadap *Entrapment Efficiency*

$$\text{Efek faktor A} = \frac{83,0+76,1}{2} - \frac{64,2+51,7}{2} = 21,6$$

$$\text{Efek faktor B} = \frac{51,7+76,1}{2} - \frac{64,2+83,0}{2} = -9,70$$

$$\text{Efek faktor C} = \frac{64,2+76,1}{2} - \frac{83,0+51,7}{2} = 2,80$$

### G.4. Constraints

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
<b>A:Konsentrasi etil selulosa</b>	is in range	1500	4500	1	1	3
<b>B:Lama pengadukan</b>	is in range	2	4	1	1	3
<b>Entrapment Efficiency</b>	maximize	51,2	83,3	1	1	3

## H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum *Microspheres* Metformin Hidroklorida

### H. 1. Contoh Perhitungan *Drug Loading*

- Diketahui : *Entrapment efficiency* = 84,7%  
                   Berat metformin HCl = 750 mg  
                   Berat *microspheres* = 5017,6 mg
- $Drug\ loading = \frac{84,7\% \times 750}{5017,6} \times 100\% = 12,7\%$

### H. 2. Contoh Perhitungan *Yield*

- Diketahui : Berat *microspheres* didapat = 5,0176 gram  
                   Berat *microspheres* teoritis = 5,2500 gram
- $Yield = \frac{5,0176\ gram}{5,2500\ gram} \times 100\% = 95,6\%$

### H. 3. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel *Microspheres* Menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

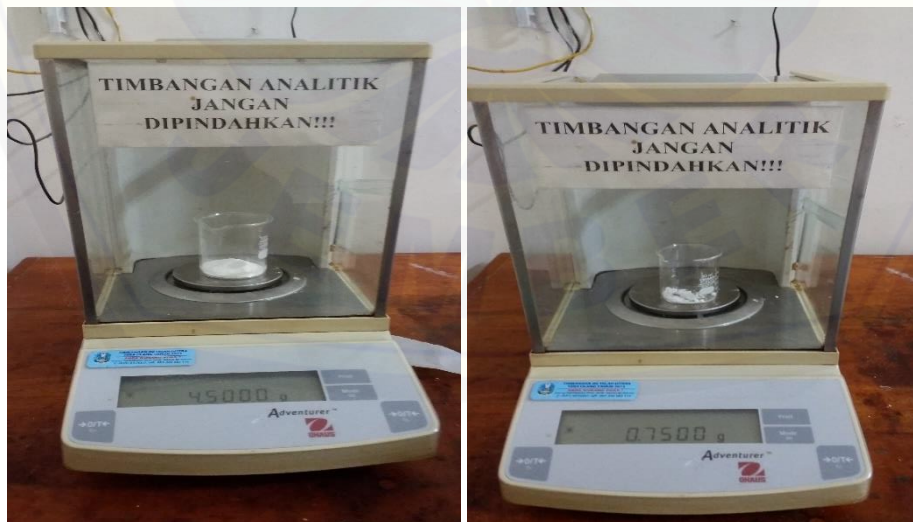
Replikasi 1 (µm)	Replikasi 2 (µm)	Replikasi 3 (µm)
100	210	180
240	120	120
180	100	220
220	200	200
100	180	150
120	160	180
100	180	100
100	150	210
200	240	220
150	120	180

170	200	160
180	220	200
210	210	180
100	220	210
180	150	240
150	120	150
150	180	240
240	160	150
240	200	200
200	100	120
120	180	100
240	150	150
120	150	160
100	240	190
120	210	150
150	100	120
100	200	200
240	150	220
200	120	140
150	240	150
150	160	120
180	210	160
120	150	200
150	200	210
210	220	180
220	220	180
240	210	200

210	240	210
150	240	200
120	180	280
100	160	220
180	150	210
200	120	240
180	120	200
150	100	150
160	180	120
200	190	200
220	120	150
240	180	180
210	200	100
Rata-rata: 169,2	Rata-rata: 174,2	Rata-rata: 178

## I. Dokumentasi Penelitian

### I. 1. Proses Penelitian yang Dilakukan



Penimbangan metformin hidroklorida dan etil selulosa





Proses pencampuran fase eksternal kedalam fase internal, proses pengadukan dengan *four blades propeller* dan emulsi yang terbentuk



Proses penyaringan *microspheres* dengan penyaring vakum



Proses pencucian *microspheres* dengan petroleum eter

Standard Curve 14:16 23Nov15  
Test Name: GMLX2 Cell # 5

Std #	Conc. ppm	Abs 233.0nm
1	2.000	0.220
2	4.000	0.355
3	6.000	0.533
4	8.000	0.691
5	10.00	0.843

Curve Fit  
Slope = -0.0791 Std Dev = 1.06E-02  
Intercept = -0.0538 Corr Coeff = 9.99E-01

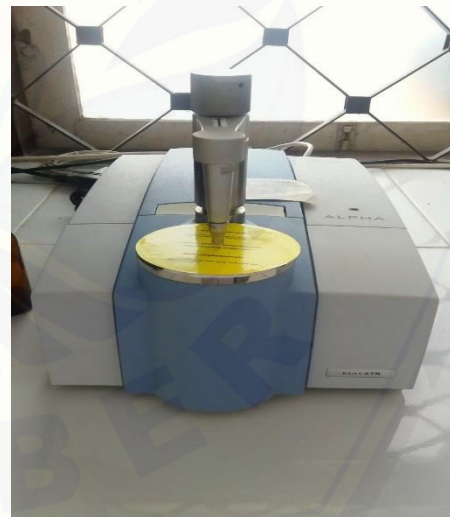
Page 1, Standards 1 - 5

View	Save	Edit	Run
Graph	Test	Standards	Test

Penentuan kurva baku dengan spektrofotometer UV-Vis



Penentuan ukuran dan morfologi *microspheres* dengan SEM



Analisis spektrofotometer inframerah (FT-IR)