



**OPTIMASI KONSENTRASI SPAN 80 DAN LAMA PENGADUKAN
DALAM PREPARASI MICROSPHERES METFORMIN
HIDROKLORIDA-KITOSAN**

SKRIPSI

Oleh

**Christyn Novyta S
NIM 122210101076**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**OPTIMASI KONSENTRASI SPAN 80 DAN LAMA PENGADUKAN
DALAM PREPARASI MICROSPHERES METFORMIN
HIDROKLORIDA-KITOSAN**

SKRIPSI

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

Oleh

Christyn Novyta S

NIM 122210101076

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmatNya
2. Orang tua tercinta, mama Togiria Sinurat dan bapak Ricson Sianipar atas segala doa, dukungan, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan selama ini..
3. Kakakku tercinta Desy Dyonesia S, dan adik-adikku tersayang Ignatius Aprianto A.S. dan Octavianus Fransiskus S yang tidak henti-hentinya memberikan motivasi dan semangat selama ini.
4. Seluruh guru-guru tercinta yang telah mendidik saya selama dibangku SDN SDN 091590 Serbelawan, SMP Swt. RK Bintang Timur P.siantar, SMA Swt. RK Bintang Timur P.siantar dan juga bapak ibu dosen tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmunya selama menempuh pendidikan Srata Satu ini.
5. Seluruh teman-temanku tercinta Farmasi angkatan 2012 “Petrok Rollas”
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

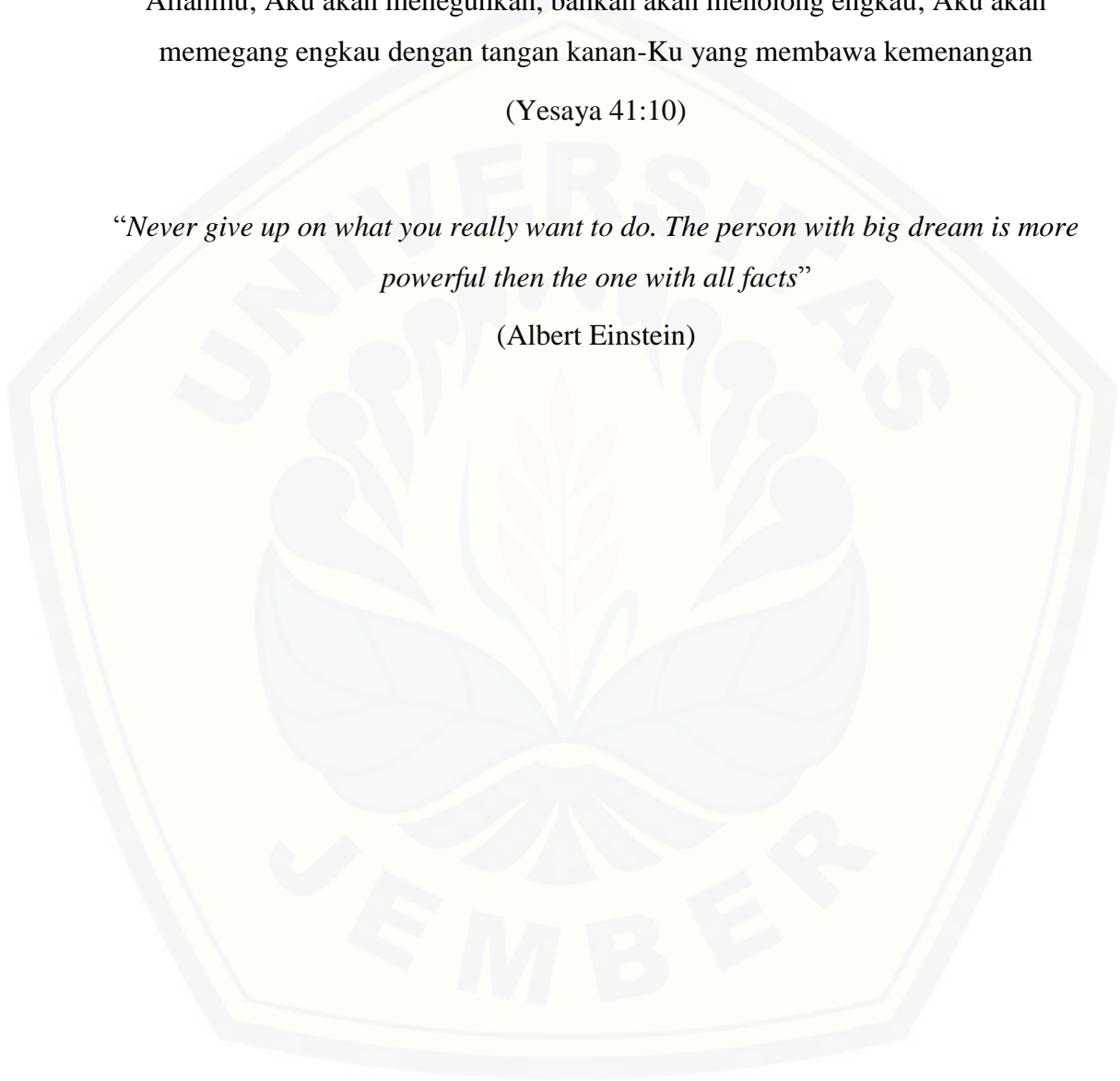
MOTTO

Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan

(Yesaya 41:10)

“Never give up on what you really want to do. The person with big dream is more powerful than the one with all facts”

(Albert Einstein)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Christyn Novyta S

NIM : 122210101076

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan Dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2016

Yang Menyatakan

Christyn Novyta S.

NIM.122210101076

SKRIPSI

**OPTIMASI KONSENTRASI SPAN 80 DAN LAMA PENGADUKAN
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN
HIDROKLORIDA-KIROSAN**

Oleh

Christyn Novyta S

NIM 122210101076

Pembimbing :

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

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

PENGESAHAN


Skripsi berjudul “Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

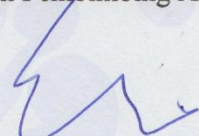
Hari : Selasa
Tanggal : 16 Agustus 2016
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

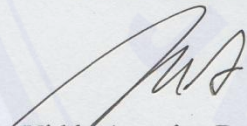

Lusia Oktora R. K. S., S.F., M.Sc., Apt
NIP. 197910032003122001

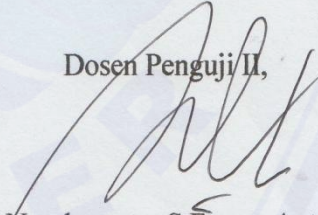

Eka Deddy rawan, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP. 197503092001121001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

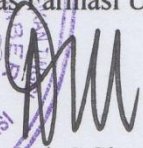
Dosen Penguji II,


Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198608302009121007


Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc.
NIP. 198401242008011001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember


Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M. Farm
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Optimasi Konsentrasi Span dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida-Kitosan: Christyn Novyta S (122210101076); 2016; 82 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Metformin hidroklorida (MH) merupakan *first line* untuk terapi diabetes melitus tipe 2. Umumnya dosis metformin hidroklorida yang digunakan 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. Penggunaan MH dengan dosis yang besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan gastrointestinal. Efek samping yang dapat ditimbulkan yaitu seperti perut terasa tidak nyaman, mual dan diare. Sebagai solusi dari permasalahan tersebut, maka dikembangkan sistem pelepasan obat terkendali yang dapat melepaskan obat secara perlahan pada saluran *gastrointestinal* dan mempertahankan konsentrasi obat di sirkulasi sistemik dalam waktu yang lama. Keuntungan bentuk sediaan ini adalah penyebaran yang lebih merata pada *gastrointestinal* sehingga memberikan absorpsi yang lebih seragam serta mengurangi iritasi yang terjadi.

Microspheres merupakan salah satu teknologi farmasi dalam sistem penghantaran obat terkendali dalam bentuk sediaan *multiple* unit. Manfaat *microspheres* dapat meningkatkan *bioavailabilitas* suatu bahan aktif, melepaskan bahan aktif dalam jangka waktu yang lama, dan melindungi serta mengontrol pelepasan suatu bahan aktif melalui degradasi permukaan partikel *microspheres*.

Preparasi *microspheres* dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan tehnik *non aqueous solvent evaporation* menggunakan metformin sebagai bahan aktif, kitosan sebagai polimer dan span 80 sebagai surfaktan. Span 80 cukup kuat untuk mempertahankan *droplet-droplet* yang telah terbentuk sehingga tidak menyatu lagi menjadi polimer.

Tujuan penelitian ini adalah mencapai komposisi terbaik konsentrasi span 80, lama pengadukan, dan interaksinya serta untuk mengetahui banyaknya bahan aktif yang terjerap dengan metode desain faktorial. Respon dari metode adalah nilai *entrapment efficiency*. Formula terpilih dengan nilai *entrapment efficiency* tertinggi kemudian dilakukan karakterisasi meliputi nilai *drug loading*, nilai *yield*, analisis FTIR, dan analisis SEM.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa formula optimum terpilih pada konsentrasi span 80 % dan lama pengadukan 2 jam memberikan nilai persen *entrapment efficiency* 87,150%. Formula optimum terpilih kemudian dilakukan karakterisasi yaitu perhitungan nilai *drug loading* dan *yield* didapatkan masing-masing nilai sebesar 24,571% dan 88,220%. Hasil analisis FT-IR menunjukkan tidak adanya interaksi yang terjadi antara kitosan dan metformin hidroklorida dalam *microspheres*. Ukuran rata-rata partikel *microspheres* dilakukan menggunakan SEM didapatkan nilai sebesar 161,2 μ m dengan bentuk hampir sferis, permukaan halus dan berwarna lebih cerah.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan Dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan” . Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan srata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini banyak mendapat bantuan dan fasilitas dari berbagai pihak, maka dengan terselesaikannya skripsi ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Lusia Oktora RKS, S.F., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Eka Deddy Irawan S.Si.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, membantu, dan memberikan bimbingan, ide, masukan serta perbaikan dalam penyusunan skripsi ini;
3. Bapak Viddy Agustian R, S.Farm., M. Sc., Apt. selaku Dosen Penguji I, dan bapak Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan saran dan kritik membangun dalam penyusunan skripsi ini;
4. Bapak Drs.Wiratmo M. Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu untuk memberi masukan, perhatian, dan bimbingannya;
5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, berbagai pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;

6. Orang tuaku tercinta, Ibu Togiria Sinurat dan bapak Ricson Sianipar atas segala doa, dukungan, pengorbanan, kepercayaan, semangat, motivasi, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan kepada penulis selama ini.
7. Kakakku tercinta Desy Dyonesia S dan adik-adikku tersayang Ignatius Aprianto A.S. dan Octavianus Fransiskus S. yang tak henti-hentinya memberikan semangat.
8. Rekan kerja pejuang *microspheres*, Amelia Fadila, Ninda Sukmaningrum dan Nur Fajhria yang telah membantu selama penelitian.
9. Sahabat-sahabat tercinta seperjuangan farmasi angkatan 2012 Petrok Rollas, KKN 36 “Jebung Lor”.
10. Sahabat tercinta Farichatul izzah, Novialda, Yasmin, Mbak Siti, Mbak Wilda yang telah menemani penulis selama mengerjakan skripsi dan menemani 4 tahun di Farmasi.
11. Sahabat SMA “CREBTS”, Ria Hartati Purba, Elpina Turnip, Basauli Simanjuntak, Tiffany Lumbanbatu, dan Santi Nainggolan yang memberi semangat dan doa kepada penulis selama ini.
12. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga atas kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 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 |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI..... | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR..... | xvi |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1 <i>Microspheres</i> | 6 |
| 2.1.1 Manfaat <i>Microspheres</i> | 7 |
| 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> | 11 |
| a) Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> (EE) | 11 |
| b) <i>Drug Loading</i> | 11 |
| c) <i>Yield</i> | 12 |

| | |
|--|-----------|
| d) Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) | 12 |
| e) Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) | 12 |
| 2.2 Metformin Hidroklorida | 13 |
| 2.3 Kitosan | 14 |
| 2.4 Span 80 | 16 |
| 2.5 Desain Faktorial | 17 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN | 19 |
| 3.1 Rancangan Penelitian | 19 |
| 3.2 Alat dan Bahan Penelitian..... | 19 |
| 3.2.1 Alat..... | 19 |
| 3.2.2 Bahan | 19 |
| 3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 20 |
| 3.4 Prosedur Penelitian..... | 22 |
| 3.4.1 Optimasi Rancangan Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida | 22 |
| 3.4.2 Pembuatan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida | 23 |
| 3.4.3 Penentuan Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 24 |
| a) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida . | 24 |
| (1)Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 24 |
| (2)Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>aquadest</i> | 25 |
| b) Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 25 |
| 3.4.4 Penentuam Formula Optimum dengan <i>Software Design Expert</i> | 25 |
| 3.4.5 Karakteristik <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida... | 26 |
| a) Penentuan Persen <i>Drug Loading</i> | 26 |
| b) Penentuan Persen <i>Yield</i> | 26 |
| c) Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) | 26 |
| d) Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).... | 27 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 28 |
| 4.1 Hasil Pembuatan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida- | |

| | |
|---|----|
| Kitosan | 28 |
| 4.2 Hasil Penentuan Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 29 |
| 4.2.1 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida..... | 29 |
| a) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 29 |
| b) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>Aquadest</i> | 30 |
| 4.2.2 Perhitungan Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 31 |
| 4.3 Analisis Desain Faktorial dan Penentuan Daerah Optimum | 33 |
| 4.4 Karakterisasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Kitosan | 39 |
| 4.4.1 Nilai <i>Drug Loading</i> | 39 |
| 4.4.2 Hasil Nilai <i>Yield</i> | 40 |
| 4.4.3 Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) | 40 |
| 4.4.4 Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) | 43 |
| BAB 5. PENUTUP | 46 |
| 5.1 Kesimpulan | 46 |
| 5.2 Saran | 46 |
| DAFTAR PUSTAKA | 47 |
| LAMPIRAN | 52 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 3.1 Rancangan Desain Faktorial untuk Dua Faktor dan Dua <i>Level</i> | 22 |
| 3.2 Susunan <i>Level</i> Faktor Berdasarkan Desain Faktorial | 23 |
| 3.3 Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida | 23 |
| 3.4 Preparasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida..... | 24 |
| 4.1 Hasil Pengujian Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 32 |
| 4.2 Nilai Efek Faktor Konsentrasi Kitosan, Lama Pengadukan, dan Interaksi Keduanya | 33 |
| 4.3 Hasil ANOVA dari Desain Faktorial | 35 |
| 4.4 Solusi yang Ditawarkan Oleh Desain Faktorial | 38 |
| 4.5 Hasil Nilai <i>Drug Loading</i> | 39 |
| 4.6 Hasil Nilai <i>Yield</i> | 40 |
| 4.7 Bilangan Gelombang Spektra FTIR <i>Microspheres</i> dan Metformin Hidrolorida | 42 |
| 4.8 Hasil Penentuan Ukuran Partikel <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida Kitosan | 45 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.2 Morfologi Permukaan <i>Microspheres</i> | 6 |
| 2.2 Preparasi <i>Microspheres</i> dengan Metode <i>non- Aqueous Solvent</i> | 10 |
| 2.3 Struktur Metformin Hidroklorida..... | 14 |
| 2.4 Struktur Kitosan | 15 |
| 3.1 Struktur Span 80..... | 17 |
| 3.5 Skema Langkah Kerja Penelitian | 21 |
| 4.1 Hasil Pembuatan Empat Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida | 29 |
| 4.2 Spektra Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida dalam <i>Aquadest</i> | 30 |
| 4.3 Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>Aquadest</i> | 31 |
| 4.4 <i>Contour Plot</i> dari Respon Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 36 |
| 4.5 3D <i>Contour Plot</i> dari Respon Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 37 |
| 4.6 <i>Overlay Plot</i> dari Respon Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> | 38 |
| 4.7 Spektra FTIR Metformin Hidroklorida..... | 41 |
| 4.8 Spektra FTIR Kitosan | 42 |
| 4.9 Spektra FTIR <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Kitosan | 43 |
| 4.10 Hasil Morfologi Partikel Menggunakan SEM | 44 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia sebagai akibat kerusakan sekresi insulin, kinerja insulin, atau keduanya. Hiperglikemia kronik diabetes dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kerusakan beberapa organ terutama mata, ginjal, saraf jantung, dan pembuluh darah (ADA, 2013). Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan prevalensi angka insiden terjadinya diabetes melitus tipe 2 di berbagai negara. Data terbaru ditahun 2015, Perkumpulan Endokrinologi (PERKENDI) menyatakan bahwa jumlah penderita diabetes di Indonesia telah mencapai 9,1 juta orang yang membuat Indonesia menjadi peringkat ke-5 teratas diantara negara-negara dengan jumlah penderita diabetes terbanyak di dunia. WHO memperkirakan jumlah penderita diabetes di Indonesia akan terus melonjak, dari semula 8,4 juta penderita ditahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta ditahun 2030 (PB PERKENDI, 2011).

Metformin hidroklorida digunakan sebagai agen antidiabetes melitus tipe 2 yang merupakan golongan biguanida dengan mekanisme kerja meningkatkan sensitifitas insulin yang disekresi pada hepar dan jaringan perifer. Metformin merupakan *first line* terapi diabetes melitus tipe 2 untuk pasien dengan obesitas, keuntungannya tidak meningkatkan berat badan dan konsentrasinya yang rendah dalam plasma (Anonim, 2009). Umumnya dosis metformin hidroklorida yang digunakan 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). Penggunaan metformin hidroklorida dengan dosis yang besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan pada *gastrointestinal* yang menimbulkan efek samping seperti perut terasa tidak

nyaman, mual, dan diare yang terjadi selama penggunaan obat (Anonim, 2009; Mandal *et al.*, 2007).

Pengembangan inovasi bentuk sediaan farmasi yang dapat mengendalikan pelepasan obat merupakan hal yang memiliki potensi besar untuk mengatasi masalah-masalah tersebut. Pelepasan obat terkendali memberikan pelepasan yang dapat ditentukan, dikendalikan serta diprediksi. Obat yang diberikan melalui rute oral akan disimpan dalam *gastrointestinal* dan melepaskan obat secara perlahan. Pelepasan terkendali ini dapat menjaga konsentrasi obat yang efektif dalam sirkulasi sistemik untuk waktu yang lama. Selain itu sistem pelepasan terkendali dapat meningkatkan durasi waktu paruh obat yang pendek, mengurangi efek samping, mengurangi frekuensi pemberian dosis obat, dan meningkatkan kepatuhan pasien dalam terapi (Ami *et al.*, 2012; Narang, 2011).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengontrol sistem pelepasan obat terkendali pada *gastrointestinal* adalah merancang bentuk sediaan dalam bentuk *single* (misalnya tablet, kapsul) dan *multiple unit* (misalnya *microballon*, *microspheres*). Sistem penghantaran *single unit* mudah dikembangkan, namun bentuk sediaan ini hanya terletak pada satu bagian dari *gastrointestinal* sehingga jika terjadi proses pengosongan lambung dapat mengurangi efek terapi dan menyebabkan *bioavailabilitas* yang tidak seragam dan menyebabkan iritasi lokal pada *gastrointestinal* (Narang, 2011). Umumnya, sistem *single unit* tidak cocok untuk memformulasi obat dengan pelepasan terkendali karena memiliki pola pelepasan yang variatif di *gastrointestinal tract* (GIT). Bentuk sediaan *multiple unit* menunjukkan profil pelepasan obat yang lebih dapat diprediksi (Ami *et al.*, 2012). Sistem penghantaran *multiple unit* tersebar pada *gastrointestinal*, pelepasannya tidak dipengaruhi oleh proses pengosongan lambung sehingga absorpsi menjadi lebih seragam, mengurangi terjadinya *dose dumping*, mengurangi iritasi yang terjadi dan menghindari gangguan absorpsi karena adanya makanan (Patel *et al.*, 2006; Narang, 2011).

Microspheres merupakan salah satu bentuk sediaan *multiple unit*. *Microspheres* adalah suatu sediaan mikropartikel yang bersifat homogen dan monolitik dengan ukuran partikel 1-1000 μm yang digunakan secara luas sebagai

pembawa yang bertujuan untuk sistem pelepasan obat terkendali. Pemberian obat dalam bentuk sediaan *microspheres* dapat meningkatkan potensi kesembuhan pasien dengan cara melokalisasi bahan aktif obat pada daerah aksi dengan memperpanjang waktu pelepasan obat (Wise, 2000).

Teknik *solvent evaporation* untuk pembuatan *microspheres* dilakukan dengan *non-aqueous solvent evaporation* karena mudah diaplikasikan karena menggunakan alat-alat yang umum di laboratorium. Pada teknik ini, 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 sangat cocok untuk mengenkapsulasi bahan obat yang memiliki kelarutan tinggi di dalam air karena tidak menggunakan air sebagai pelarut (Herrmann & Bodmeier, 1998; O'Donnell & McGinity, 1997).

Metformin hidroklorida memiliki *bioavailabilitas* yang rendah dan kelarutan yang baik dalam air maka itu digolongkan dalam *Biopharmaceutics Classification* kelas III (Herrmann & Bodmeier, 1998; Pandit *et al.*, 2013). *Bioavailabilitas* dan waktu paruh metformin hidroklorida yang rendah ini menjadi hambatan dalam penggunaannya sebagai agen terapi. *Microspheres* dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* merupakan sistem penghantaran obat terkendali yang diharapkan dapat meningkatkan *bioavailabilitas* metformin hidroklorida melalui mekanisme pengendalian pelepasan obat secara perlahan yang disebabkan oleh erosi matriks terhidrasi (Yadav & Jain, 2011; Semalty, 2014). Selain itu sistem penghantaran metformin hidroklorida yang terkendali dapat meminimalkan efek samping pada *gastrointestinal* (Dipiro *et al.*, 2008).

Microspheres secara umum terdiri dari polimer yang akan menjebak dan menyerap molekul bahan obat yang tersebar (Hire & Darle, 2014). Pada penelitian ini, polimer yang digunakan adalah kitosan. Kitosan baik diaplikasikan dalam sediaan farmasi karena bersifat biokompatibel, memiliki densitas yang tinggi dan tidak toksik (Semalty, 2014). Kitosan secara luas digunakan sebagai bahan pembawa untuk berbagai bentuk sediaan dan dilaporkan dapat meningkatkan penyerapan senyawa pada saluran mukosa karena memiliki sifat sebagai *mucoadhesive* (Hes *et al.*, 1999; Sabitha *et al.*, 2010). Penelitian oleh Garud dan

Garud (2012) membuktikan bahwa kitosan merupakan polimer yang dapat digunakan untuk sediaan *microspheres* yang mempunyai waktu pelepasan lebih lama dibanding *hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC), etil selulosa, dan karbopol yaitu sekitar 80% pada pelarut asam pH 2 selama 15 jam.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maji (2012) menunjukkan perbedaan lamanya pengadukan dan konsentrasi span 80 dalam preparasi *microspheres* dapat mempengaruhi nilai *entrapment efficiency* dan ukuran partikel. Semakin tinggi konsentrasi surfaktan (span 80) menyebabkan ukuran partikel yang dihasilkan akan semakin kecil, hal ini menunjukkan adanya hubungan konsentrasi span 80 terhadap stabilitas *droplet*. Span 80 cukup kuat untuk mempertahankan *droplet-droplet* yang telah terbentuk sehingga tidak menyatu lagi menjadi polimer (Pachua *et al.*, 2009). Selain itu, semakin lama waktu pengadukan menunjukkan penurunan terhadap nilai *entrapment efficiency* dan ukuran partikel (Rathod *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi span 80 dan lama pengadukan dalam preparasi *microspheres* dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* menggunakan bantuan pengaduk *four blades propeller* guna mendapatkan karakteristik *microspheres* metformin hidroklorida yang optimum.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap nilai *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*?
2. Berapa konsentrasi span 80 dan lama pengadukan optimum yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan nilai *entrapment efficiency* maksimum?
3. Apakah terjadi kompleks *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan dalam formula optimum yang dihasilkan dengan menggunakan FTIR?

4. Bagaimana karakteristik (*drug loading*, *yield*, dan ukuran partikel) *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan oleh formula optimum ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap nilai *entrapmen efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan *non-aqueous solvent evaporation*.
2. Mengetahui konsentrasi span 80 dan lama pengadukan optimum yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan nilai *entrapment efficiency* yang maksimum.
3. Mengetahui apakah terjadi kompleks *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan dalam formula optimum yang dihasilkan dengan menggunakan FT-IR.
4. Mengetahui karakteristik (*drug loading*, *yield*, dan ukuran partikel) *microspheres* metformin hidroklorida yang dihasilkan oleh formula optimum.

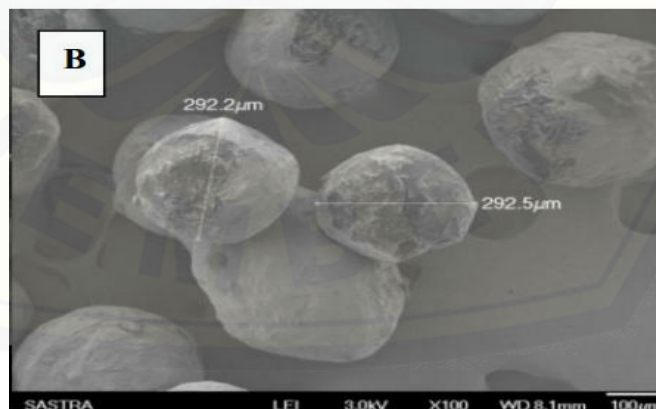
1.4 Manfaat Penelitian

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

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Microspheres*

Microspheres merupakan salah satu bentuk sediaan *multiple*. *Microspheres* adalah suatu sediaan mikropartikel yang bersifat homogen dan monolitik dengan ukuran partikel 1-1000 μm yang terdiri dari polimer dan terdapat partikel obat yang terdispersi pada tingkat molekular atau makroskopis, digunakan secara luas sebagai pembawa yang bertujuan untuk sistem pelepasan obat terkendali (Wise, 2000; Hire & Derle, 2014). Struktur *microspheres* dibuat dari satu atau lebih polimer, lilin, atau bahan pelindung lain bersifat *biodegradable* yang dapat larut dengan partikel bahan aktif yang akan didispersikan (Sappidi *et al.*, 2014). Obat dalam sediaan *microspheres* dapat meningkatkan kualitas pengobatan pada pasien dengan cara meningkatkan luas permukaan dan mengontrol pelepasan molekul aktif dari partikel yang melapisi sehingga dapat mengurangi frekuensi penggunaan obat (Naik *et al.*, 2012, Wise, 2000). Morfologi *microspheres* dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi permukaan *microspheres* (Ghodake *et al.*, 2010)

2.1.1 Manfaat *Microspheres*

Microspheres memiliki ukuran partikel kurang dari 200 μm , sehingga efisien dalam penghantaran agen terapi menuju organ target. Ukuran partikel yang kecil dan tersebar luas pada saluran pencernaan akan meningkatkan penyerapan obat dan mengurangi efek samping iritasi obat karena adanya mukosa *gastrointestinal*, dan juga obat akan terdistribusi lebih seragam di GIT sehingga pola pelepasannya dapat dikontrol, dan mengurangi variabilitas dan penyerapan (Ramteke *et al*, 2012; Hire & Derle, 2014).

Beberapa kelebihan *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat adalah: 1) dapat memfasilitasi penghantaran obat secara akurat meskipun dalam jumlah kecil, 2) mengurangi konsentrasi obat yang tinggi dalam target spesifik atau jaringan di dalam tubuh, 3) mudah diberikan melalui injeksi atau inhalasi, 4) pelepasan zat aktif pada tempat yang spesifik di dalam tubuh sebagai sasaran pengobatan, 5) memberikan proteksi untuk obat yang tidak stabil sebelum dan sesudah diberikan di dalam tubuh, dan sebelum terdapat pada target aksi di dalam tubuh, 6) memberikan kemampuan untuk mengontrol aksi obat secara *in vivo*, profil farmakokinetik, distribusi jaringan dan interaksi seluler dari obat, dan 7) memungkinkan pelepasan terkontrol seperti contohnya hormon steroid (Hire & Derle, 2014; Varde & Pack, 2006). *Microspheres* dipreparasi untuk banyak sediaan, misalnya sediaan okular, oral, dan nasal. Bentuk sediaan *microspheres* dapat disesuaikan pada jaringan mukosa seperti pada mata, rongga hidung, dan saluran pencernaan yang digunakan sebagai tujuan terapi (Vasir *et al.*, 2003).

2.1.2 Preparasi *Microspheres*

Pemilihan teknik preparasi *microspheres* tergantung pada ukuran partikel, rute pemberian, durasi pelepasan obat. *Microspheres* dapat dipreparasi dengan banyak teknik seperti 1) *emulsion solvent evaporation technique*, 2) *emulsion cross linking method*, 3) *co-acervation method*, 4) *spray drying technique*, 5) *emulsion-solvent diffusion technique*, 6) *multiple emulsion method*, dan 7) *ionic gelatin* (Hire & Derle, 2014). Pemilihan teknik preparasi *microspheres* pada sistem penghantaran obat terkendali bergantung pada sifat polimer dan bahan aktif

yang digunakan (Wise, 2000). *Microspheres* paling banyak dipreparasi menggunakan teknik *solvent evaporation*. Teknik ini paling banyak digunakan dalam penelitian 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, ekonomis, serta teknik yang dapat dikontrol dengan baik untuk dilakukan preparasi yang membutuhkan faktor dan parameter pelepasan dalam skala besar (Naik *et al.*, 2012; Varde & Pack, 2006).

Pada teknik ini, polimer dilarutkan dalam pelarut yang sesuai dan obat didispersikan atau dilarutkan ke dalam larutan yang mengandung polimer kemudian larutan yang dihasilkan atau hasil dispersi dilakukan emulsifikasi pada fase air untuk membentuk *droplet microspheres*. Evaporasi pelarut yang terjadi membentuk *microspheres* yang keras dan memiliki sifat alir yang baik setelah disaring dan dikeringkan (O'Donnell & McGinity, 1997).

Teknik *solvent evaporation* secara umum dibedakan menjadi dua metode emulsifikasi, yaitu *single emulsion solvent evaporation* dan *multiple emulsion solvent evaporation*. *Single emulsion* merupakan teknik emulsifikasi yang dibagi menjadi emulsifikasi minyak dalam air (*oil in water*) dan emulsifikasi minyak dalam minyak (*oil in oil*). Sedangkan *multiple emulsion* merupakan emulsifikasi air dalam minyak dalam air (*water in oil in water*) (Wise, 2000).

Teknik *single emulsion oil in water emulsification* umumnya menggunakan air sebagai pelarut. Teknik ini cocok bahan obat dan polimer yang bersifat hidrofobik dan larut dalam pelarut organik. Teknik *oil in water emulsification* memiliki efisiensi enkapsulasi yang rendah untuk bahan larut air. Teknik *single emulsion oil in oil emulsification* digunakan untuk mengenkapsulasi bahan obat yang larut air kemudian diemulsifikasikan ke dalam fase lipofilik dengan menggunakan *light mineral oil* pada umumnya (Wise, 2000; Naik *et al.*, 2012). Teknik *single emulsion oil in oil* sering disebut sebagai *non aqueous solvent evaporation* karena tidak menggunakan air sebagai pelarutnya. Teknik *non-aqueous solvent evaporation* merupakan teknik yang banyak digunakan dan disukai karena dapat digunakan untuk mengenkapsulasi bahan obat yang larut air

dan menghasilkan nilai *entrapment efficiency* tinggi serta *microspheres* dengan ukuran yang sesuai antara 100–200 μm (Herrmann & Bodmeier, 1998; O'Donnell & McGinity, 1997).

2.1.3 Metode *non-aqueous solvent evaporation*

Teknik *non-aqueous solvent evaporation* merupakan suatu teknik untuk preparasi *microspheres* untuk bahan obat yang bersifat hidrofil atau memiliki kelarutan yang baik dalam air (Herrmann & Bodmeier, 1998).

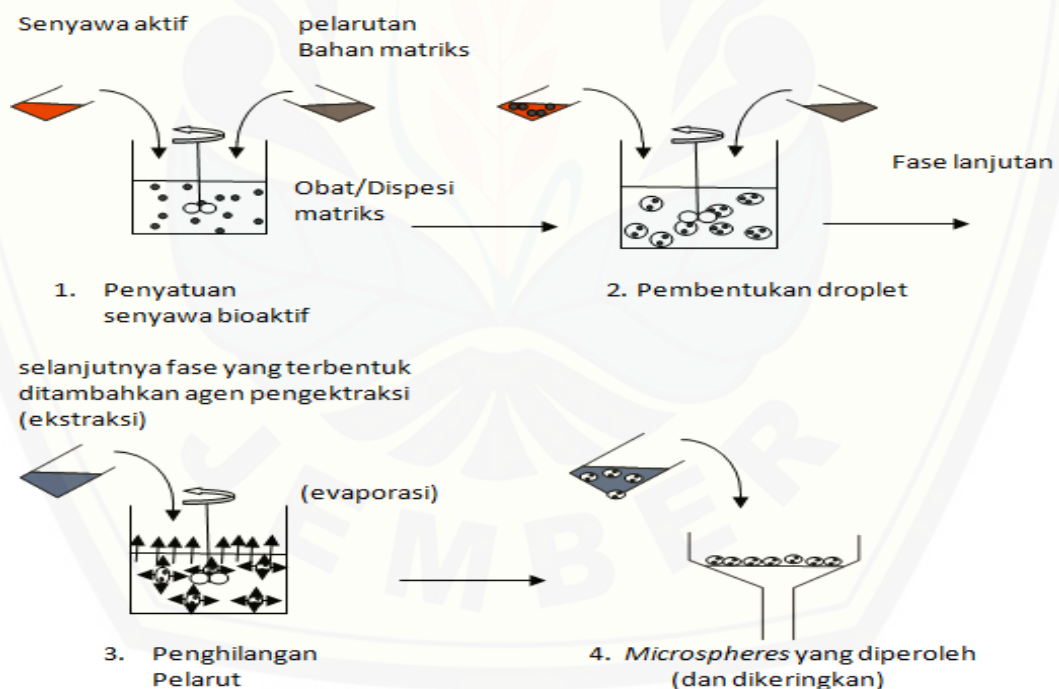
Pada teknik ini bahan obat dan polimer dilarutkan dalam suatu pelarut yang bersifat polar seperti asetonitril (Naik *et al.*, 2012), aseton (Patel *et al.*, 2006), atau kombinasi asetonitril dan metanol (Herrmann & Bodmeier, 1998) dengan berbagai kombinasi yang digunakan. Setelah pencampuran bahan obat dan polimer dalam pelarut polar, kemudian dilakukan emulsifikasi ke dalam fase eksternal yang bersifat lipofilik seperti parafin cair (Pandit *et al.*, 2013), mineral oil, *cotton seed oil* (Herrmann & Bodmeier, 1998) atau trigliserida (Naik *et al.*, 2012). Preparasi *microspheres* menggunakan dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* dapat dilihat pada gambar 2.2. Penggunaan span 80 sebagai surfaktan dapat ditambahkan seperti pada preparasi yang dilakukan oleh Pandit (2013), Rathod (2012) dan Maji (2012). Surfaktan (span 80) digunakan sebagai *droplet stabilizer*, span 80 cukup kuat untuk mempertahankan *droplet-droplet* yang telah terbentuk sehingga tidak menyatu lagi menjadi polimer (Pachua *et al.*, 2009).

Penelitian yang dilakukan oleh Maji (2012) menunjukkan perbedaan lamanya pengadukan dan persen span 80 dalam preparasi *microspheres* dapat mempengaruhi nilai *entrapment efficiency* dan ukuran partikel.

Proses emulsifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan bantuan pengaduk seperti *three-blades propeller* pada suhu ruang. Beberapa preparasi dapat dilakukan dengan kecepatan pengadukan dan lama pengadukan yang bervariasi. Penelitian yang dilakukan oleh Patel (2006), proses emulsifikasi menggunakan bantuan *propeller* dilakukan pada kecepatan 1200 rpm selama 2 jam, Garud & Garud (2012) melakukan proses emulsifikasi dengan variasi

kecepatan 600, 1200, dan 1800 selama waktu 4 jam, Pandit (2013) menggunakan kecepatan 1500 rpm selama 3 jam, sedangkan penelitian oleh Rathod (2012) melakukan variasi kecepatan 400, 600, dan 800 rpm selama 2 jam.

Setelah proses emulsifikasi, tahap selanjutnya adalah pengumpulan *microspheres* yang dilakukan dengan cara filtrasi. Filtrasi yang dilakukan menggunakan membran *filter Whatman paper no. 1* (Garud & Garud, 2012). Selama proses filtrasi, *microspheres* yang terbentuk dilakukan pencucian berulang kali untuk menghilangkan fase minyak pada tahap emulsifikasi menggunakan pelarut organik seperti *petroleum ether* pada suhu 40 – 60°C (Dubey *et al.*, 2012; Garud & Garud, 2012; Patel *et al.*, 2006; Yadav & Jain, 2011) atau n-hexana (Rathod *et al.*, 2012). *Microspheres* yang terkumpul dikeringkan pada suhu ruang dan kemudian disimpan pada desikator (Patel *et al.*, 2006).



Gambar 2.2 Preparasi *microspheres* dengan metode *non- aqueous solvent evaporation* (Freitas *et al.*, 2004)

2.1.4 Karakterisasi *Microspheres*

Karakterisasi *microspheres* sangat penting untuk dilakukan. Hal ini untuk dapat memberikan informasi sifat fisika kimia *microspheres* untuk mengembangkan formulasi, memperkirakan kinerja secara *in-vivo* untuk mengatasi masalah dalam preparasi *microspheres*. Beberapa hal yang umum dilakukan untuk mengkarakterisasi *microspheres* seperti nilai *entrapment efficiency*, *drug loading*, dan *yield* (Sabitha *et al.*, 2010). Berikut adalah beberapa karakteristik dari *microspheres* yang dipreparasi dengan teknik *non-aqueous solvent evaporation*, yaitu :

a) Nilai *Entrapment Efficiency* (EE)

Entrapment efficiency merupakan karakterisasi *microspheres* yang digunakan untuk menunjukkan seberapa besar jumlah obat yang terperangkap di dalam partikel *microspheres*. Nilai *entrapment efficiency* diperoleh dari rasio perbandingan konsentrasi obat sebenarnya dengan konsentrasi obat teoritis. Dalam menentukan nilai *entrapment efficiency* digunakan metode spektrofotometri untuk menentukan obat yang terkandung di dalam *microspheres* (Hire & Derle, 2014; Hes *et al.*, 1999).

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

b) *Drug Loading*

Drug loading digunakan untuk mengkarakterisasi *microspheres*, untuk menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan untuk menghasilkan *microspheres*. Perhitungan persen *drug loading* didapat dari rasio bobot bahan aktif sebenarnya dalam *microspheres* dengan bobot *microspheres* sebenarnya setelah proses pengeringan dikali 100 persen (Garud & Garud, 2012)

$$\text{Drug Loading (\%)} = \frac{\text{bobot obat terjerap } \textit{microspheres}}{\text{bobot } \textit{microspheres} \text{ yang didapat}} \times 100\% \dots (2)$$

c) *Yield*

Perhitungan *Yield* dilakukan untuk mengetahui seberapa efisien metode yang digunakan untuk mendapatkan jumlah *microspheres*, sehingga membantu menentukan metode pembuatan *microspheres* yang tepat (Sappidi *et al.*, 2014). Persen *yield* didapatkan melalui perbandingan jumlah *microspheres* yang dihasilkan dari preparasi dan jumlah total substansi obat dan polimer (bobot teoritis) (Garud & Garud, 2012).

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

d) Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan suatu metode spektroskopi IR yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan gugus kompleks dalam senyawa tetapi tidak dapat menentukan unsur-unsur penyusunnya dan mengetahui interaksi yang terjadi antara obat dan polimer pada formula *microspheres* (Sutar *et al.*, 2012; Kencana, 2009).

Pada spektroskopi IR, radiasi IR dilewatkan pada sampel. Sebagian dari radiasi IR diserap oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan. Jika frekuensi dari suatu vibrasi sama dengan frekuensi adisi IR yang langsung menuju molekul, molekul akan menyerap radiasi tersebut. Spektrum yang dihasilkan menggambarkan absorpsi dan transmisi molekular membentuk sidik jari molekular suatu sampel (Kencana, 2009).

e) Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM)

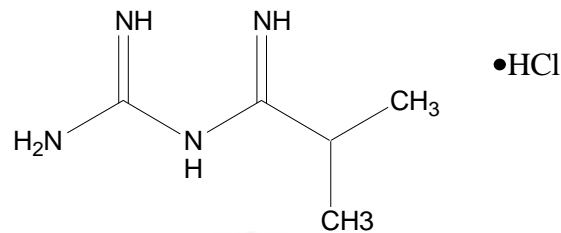
Analisis *microspheres* menggunakan SEM dilakukan untuk menentukan morfologi, bentuk dan ukuran partikel. Ukuran partikel suatu *microspheres* akan berpengaruh terhadap rasio antara luas permukaan dengan volume partikel suatu *microspheres* sehingga mempengaruhi pelepasan obat. Permukaan partikel yang lebih kecil akan menurunkan laju erosi dari polimer yang tidak permeabel terhadap air. Ukuran partikel yang kecil lebih cepat untuk menjadi partikel yang

lebih keras karena jarak yang lebih pendek untuk pelarut keluar dari *droplet* partikel sehingga menjerap obat lebih seragam sebelum obat berdifusi ke permukaan partikel (Varde & Pack, 2004).

2.2 Metformin Hidroklorida

Metformin hidroklorida ($C_4H_{11}N_5HCl$) memiliki berat molekul 165,6 g/mol, pKa 12,4, log p sebesar -1,21, berupa kristal putih atau hampir putih, larut air, sedikit larut dalam alkohol, dan praktis tidak larut dalam aseton dan diklorometana. Metformin hidroklorida merupakan disubstitusi binguanida (*N-1,1 dimethylbiguanide*) dan strukturnya berhubungan dengan phenformin (phenethylbiguanide), metformin digunakan sebagai *first line* untuk terapi diabetes tipe 2 (*Independent Insulin Diabetic*). Dosis yang diberikan pada umumnya 500-850 mg satu sampai tiga kali sehari, memiliki waktu paruh pendek (1,5-4 jam) dan diserap di intestinal bagian atas selama 6 jam, pemberian berulang diperlukan untuk mempertahankan konsentrasi plasma yang efektif (Sutar *et al.*, 2012; Sweetman, 2009).

Metformin hidroklorida memiliki aktivitas utama dalam penurunan kadar glukosa darah, metformin HCl tidak dapat menstimulasi pengeluaran insulin namun efek antidiabetiknya diperoleh melalui mekanisme penurunan produksi glukosa hepatic, mengurangi penyerapan usus dan meningkatkan sensitivitas insulin dengan peningkatan penyerapan. Kemampuan mereduksi glukogenesis metformin HCl adalah 0,6 mg/kg per menit, dan 75% mengurangi pengeluaran glukosa oleh hepar. Metformin hidroklorida meningkatkan sensitivitas sekresi insulin dan mereduksi sekresi *glucagon* yang menstimulasi glukoneogenesis (Sutar *et al.*, 2012; Setter *et al.*, 2003). Rumus struktur metformin hidroklorida dapat dilihat pada gambar 2.3



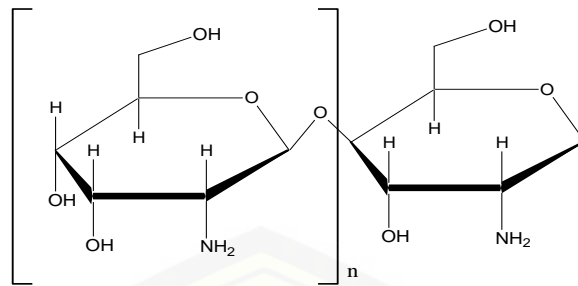
Gambar 2.3 Struktur Metformin Hidroklorida

Aksi dari metformin yaitu dapat memperbaiki transpor glukosa sehingga memperbaiki pengeluaran glukosa non oksidasi dan mensintesis glikogen. Beberapa aksi tersebut dapat meningkatkan stimulasi insulin untuk merangsang penyerapan glukosa. Penggunaan metformin selama 3 bulan dapat meningkatkan stimulasi insulin sampai 29% yang tercatat pada pasien diabetes melitus tipe 2, sehingga berefek pada penurunan konsentrasi glukosa dalam darah dan juga meningkatkan metabolisme non oksidatif dari glukosa termasuk pembentukan glikogen, mengkonversi glukosa menjadi laktat. Aktivitas instrinsik dari sel membran insulin sensitif terhadap transporter glukosa GLUT-1 dan GLUT-4 dapat ditingkatkan dengan metformin (Setter *et al.*, 2003).

Bioavailabilitas metformin pada penggunaan oral adalah 40-60%, dan absorpsi pada *gastrointestinal* terjadi umumnya pada intestinal bagian atas selama 6 jam dan akan tereliminasi dari plasma 2-6 jam setelah di konsumsi peroral. Metformin dapat menembus plasenta dan penggunaan metformin bersama makanan telah dilaporkan dapat menurunkan laju dan lama absorpsi dari metformin (Setter *et al.*, 2003).

2.3 Kitosan

Kitosan (2-amino-2-deoxy-(1,4)- β -D-glucopyranan) merupakan polimer karbohidrat (polisakarida) yang dihasilkan dari deasetilasi kitin yang terdapat pada cangkang hewan *crustacea*, serangga dan beberapa jamur. Kitosan mempunyai struktur kristal yang keras melalui ikatan hidrogen intermolekul dan intramolekulnya dan memiliki berat molekul 10.000-1.000.000 Da (Rowe *et al.*, 2009). Rumus struktur kitosan dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Struktur Kitosan

Kitosan memiliki bentuk serbuk atau serpihan berwarna putih atau putih kecoklatan dan tidak berbau. Kitosan merupakan polimer kationik, tidak toksik, tidak mengiritasi, *biocompatibel* dan *biodegradable* larut dalam pH alkali dan netral namun garam kitosan dapat larut dalam air. Kitosan sedikit tidak larut dalam air dan beberapa pelarut organik seperti dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), pelarut alkohol organik dan piridin. Kitosan larut dalam pH alkali dan netral namun garam kitosan dapat larut dalam air, asam organik/mineral encer dan pH alkali dan netral, melalui protonasi gugus amino bebas ($\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$) pada pH kurang dari 6,5 (Rowe *et al.*, 2009 ; Garud & Garud, 2012). Kelarutannya bergantung pada tingkat deasetilasi dan pH larutan, nilai deasetilasi kitosan untuk sediaan farmasi adalah antara 70-95%. Kitosan dengan derajat deasetilasi rendah (<40%) larut dalam larutan hingga pH 9,0 dan kitosan dengan derajat deasetilasi tinggi (>85%) larut dalam larutan hingga pH 6,5. (Hejazi & Amiji, 2003).

Kitosan mempunyai ruang internal yang dipreparasi dengan *deacidification* ketika penambahan media asam (pH 1,2) dan netral (*deionized distilled water*) memiliki kemampuan mengapung dan memberikan laju pelepasan yang terkontrol dari suatu bahan obat (Hejazi & Amiji, 2003).

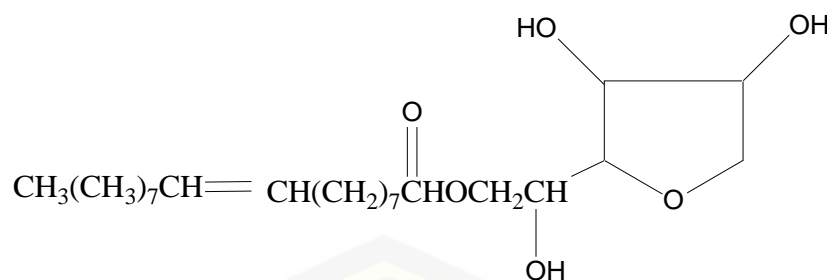
Kitosan banyak digunakan sebagai polimer dalam preparasi *microspheres* karena *biocompatible*, tidak toksik dan sifatnya *mucoadhesive* sehingga dapat menyebabkan meningkatnya penyerapan disaluran mukosa. Hes *et al* (1999), sabitha *et al* (2010) dan Garud & Garud (2012) menggunakan kitosan sebagai polimer dalam preparasi *microspheres*. Hasil yang didapat penggunaan kitosan

sebagai polimer dalam preparasi *microspheres* mampu memperlama waktu pelepasan obat. Menurut Garud & Garud (2012) kitosan sebagai polimer untuk sediaan *microspheres* mempunyai waktu pelepasan lebih lama dibandingkan HPMC, etil selulosa, dan karbopol yaitu sekitar 80% pada pelarut pH 2 selama 15 jam. Selain itu kitosan dilaporkan memiliki waktu tinggal di lambung lebih lama karena mempunyai kemampuan dapat menembus epithelial barrier sehingga dapat menempel pada sel epitel *gastrointestinal* (Hejazi & Amiji, 2003).

2.4 Span 80

Span 80 mempunyai nama lain sorbitan monooleat ($C_{24}H_{44}O_6$) memiliki berat molekul 429 g/mol. Pemerianaanya berupa warna kuning gading, cairan seperti minyak kental, bau khas tajam, terasa lunak. Kelarutannya tidak larut tetapi terdispersi dalam air, bercampur dengan alkohol, tidak larut dalam propilen glikol, larut dalam hampir semua minyak mineral dan nabati, sedikit larut dalam eter (Rowe *et al.*, 2009). Berat jenis pada 20°C adalah 1 gram. Nilai HLB 4,3. Viskositas pada 25°C adalah 100 cps (Smolinske, 1992), Span 80 dapat dimasukkan dalam basis tipe parafin untuk membentuk basis tipe anhidrat yang mampu menyerap sejumlah besar air (Anonim, 1988)

Ester sorbitan secara luas digunakan dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi sebagai surfaktan nonionik lipofilik. Ester sorbitan secara umum dalam formulasi berfungsi sebagai *emulsifying agent* dalam pembuatan krim, emulsi, dan salep untuk penggunaan topikal. Span 80 digunakan sebagai *emulsifying agent* tunggal, ester sorbitan menghasilkan emulsi air dalam minyak yang stabil dan mikroemulsi, namun ester sorbitan lebih sering digunakan dalam kombinasi bersama bermacam-macam proporsi *polysorbate* untuk menghasilkan emulsi atau krim, baik tipe M/A atau A/M (Rowe *et al.*, 2009). Rumus struktur span 80 dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur Span 80

Span 80 telah banyak digunakan dalam preparasi *microspheres*. Span 80 digunakan sebagai *droplet stabilizer* yang dapat mempertahankan *droplet-droplet* yang telah dibentuk agar tidak menyatu lagi menjadi polimer (Pachua *et al.*, 2009). Maji *et al* (2012) juga menggunakan span 80 sebagai surfaktan untuk mempertahankan kestabilan *droplet* yang terbentuk. Hasilnya konsentrasi span 80 dapat mempengaruhi nilai *entrapment efficiency*, semakin tinggi konsentrasi span 80 menunjukkan penurunan terhadap nilai *entrapment efficiency*.

2.5 Desain Faktorial

Desain faktorial merupakan aplikasi persamaan regresi yaitu teknik untuk memberikan model hubungan antara variabel-respon dengan satu atau lebih variabel bebas. Model yang diperoleh dari analisa tersebut berupa persamaan matematika (Bolton, 1997). Desain faktorial merupakan desain yang digunakan untuk mengevaluasi efek dari faktor yang dipelajari secara simultan dan efek yang relatif penting dapat dinilai (Armstrong and James 1996). Desain faktorial digunakan dalam penelitian saat efek dari faktor atau kondisi yang berbeda dalam penelitian ingin diketahui (Bolton, 1997). Desain faktorial mengandung beberapa pengertian faktor, *level*, efek, dan respon. Faktor merupakan setiap besaran yang mempengaruhi respon. *Level* merupakan nilai atau tetapan untuk faktor. Efek adalah perubahan respon yang disebabkan variasi tingkat faktor. Efek utama adalah efek rata-rata semua tingkat dari faktor. Interaksi adalah rata-rata respon pada aras tinggi dikurangi rata-rata respon pada aras rendah. Respon merupakan sifat atau hasil yang diamati diukur secara kuantitatif (Bolton & Bon, 2004).

Desain faktorial dua *level* berarti ada dua faktor yang masing-masing diuji pada dua *level* yang berbeda yaitu *level* rendah dan *level* tinggi (A dan B). Suatu percobaan dapat dirancang dengan desain faktorial untuk mengetahui faktor dominan yang berpengaruh secara signifikan terhadap suatu respon (Voight, 1995).

Persamaan umum dari desain faktorial 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. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan berbasis penelitian eksperimental laboratorik. Langkah-langkah penelitian meliputi: (1) Optimasi rancangan formula dengan konsentrasi surfaktan (span 80) dan lama pengadukan sebagai variabel bebas menggunakan desain faktorial; (2) Pengukuran *entrapment efficiency*; (3) Penentuan formula optimum dengan *Design Expert versi trial 10.0.2*; dan (4) 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 (*Genesys 10s*), Spektrofotometer UV-VIS (*Genesys 10S, Thermo Scientific, USA*), *stop watch*, neraca analitik (*AdventureTM Ohaus, USA*), Oven (*Memmert, Germany*), alat-alat gelas, dan program perangkat lunak (*software design expert versi trial 10.0*).

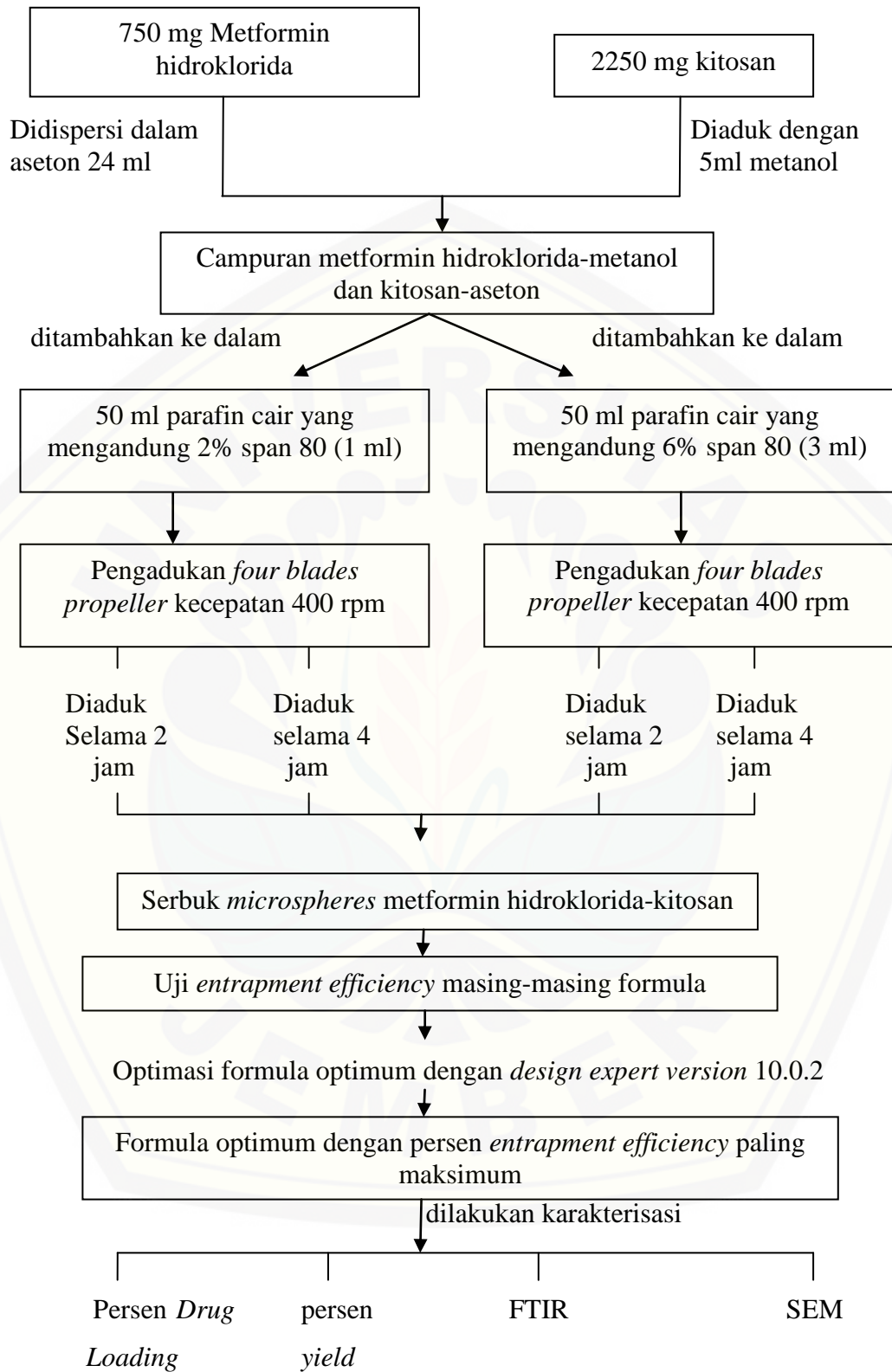
3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Metformin hidroklorida (Hildose, RRC), kitosan (PT. Brataco, Indonesia), span 80 (PT. Brataco, Indonesia), aseton (PT. Smart Lab., Indonesia), parafin cair (PT. Brataco, Indonesia), petroleum eter (PT. Brataco, Indonesia), metanol (PT. Brataco, 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 Maret-Juni 2016.





Gambar 3.1 Skema langkah kerja penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Optimasi Rancangan Formula *Microspheres* Metformin Hidroklorida

Pada penelitian ini dibuat 4 macam rancangan formula *microspheres* metformin hidroklorida. Tiap formula terdiri atas metformin hidroklorida, kitosan dan span 80 sebagai surfaktan. Perbedaan dari masing-masing formula adalah perbandingan konsentrasi span 80 dan perlakuan mengenai lama pengadukan *four blades propeller* dalam pembentukan *microspheres* metformin hidroklorida.

Optimasi pada penelitian ini menggunakan desain faktorial dua *level* dua faktor dengan variabel bebas (faktor) dan variabel terikat (respon) sebagai berikut:

- a. Variabel bebas : Konsentrasi span 80 dan lama pengadukan *four blades propeller*
- b. Variabel terkontrol : Kecepatan pengadukan *four blades propeller*, temperatur, konsentrasi metformin dan kitosan,
- c. Variabel terikat : Nilai *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 span 80 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 span 80) | 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, berdasarkan penelitian yang dilakukan Maji (2012)

Tabel 3.2 Susunan *level* faktor berdasarkan desain faktorial

| Faktor | <i>Level</i> rendah (-1) | <i>Level</i> tinggi (+1) |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|
| Konsentrasi span 80 | 2% v/v | 6% v/v |
| Lama pengadukan | 2 jam | 4 jam |

Adapun susunan formula *microspheres* metformin hidroklorida yang akan diteliti ditunjukkan pada tabel 3.3, formula disusun berdasarkan kombinasi penelitian yang dilakukan Maji (2012) dan Garud & Garud (2012) adalah sebagai berikut:

Tabel 3.3 Formula *Microspheres* Metformin Hidroklorida

| Bahan | Jumlah | Fungsi |
|------------------------|---------|------------------|
| Metformin HCl | 750 mg | Bahan Aktif |
| Kitosan | 2250 mg | Polimer |
| Span 80 | 2% / 6% | Surfaktan |
| Aseton | 24 ml | Fase Internal |
| Metanol | 5 ml | Agen Pendispersi |
| Parafin cair | 50 ml | Pelarut |
| <i>Petroleum ether</i> | 30 ml | Agen Pencuci |

3.4.2 Pembuatan *Microspheres* Metformin Hidroklorida (Garud & Garud, 2012)

Pembuatan *microspheres* metformin hidroklorida dengan teknik *non-aqueous solvent evaporation* menggunakan metformin hidroklorida sebanyak 750 mg didispersikan dalam 5 ml metanol dan kitosan sebanyak 2250 mg dicampur dengan aseton sebanyak 24 ml. Campuran metformin hidroklorida-metanol dan kitosan-aseton dimasukkan ke dalam larutan parafin cair sebanyak 50 ml yang mengandung span 80 2% dan 6% kemudian dilakukan pengadukan menggunakan *four blades propeller* pada suhu ruang. Larutan diaduk selama waktu yang berbeda dengan kecepatan 400 rpm. Pada formula (1) campuran metformin hidroklorida-metanol dan kitosan-aseton dalam parafin cair yang mengandung span 80 dengan konsentrasi 2% diaduk dengan kecepatan 400 rpm

selama 2 jam, formula (A) konsentrasi span 80 yang digunakan 6% kemudian dilakukan pengadukan selama 2 jam, formula (B) konsentrasi span 80 yang digunakan 2% dilakukan pengadukan selama 4 jam, dan formula (AB) konsentrasi span 80 yang digunakan 6% 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 ether* dengan suhu 30°C untuk menghilangkan fase minyak pada *microspheres*. *Microspheres* yang didapat dikeringkan dalam oven suhu 70°C sampai didapatkan bobot *microspheres* yang konstan.

Tabel 3.4 Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida

| Formula | Metformin HCl (mg) | Kitosan (mg) | Span 80 | Aseton (mL) | Metanol (mL) | Parafin cair (mL) | Pengadukan kecepatan 400 rpm |
|---------|--------------------|--------------|---------|-------------|--------------|-------------------|------------------------------|
| (1) | 750 | 2250 | 2% | 24 | 5 | 50 | 2 jam |
| (A) | 750 | 2250 | 6% | 24 | 5 | 50 | 2 jam |
| (B) | 750 | 2250 | 2% | 24 | 5 | 50 | 4 jam |
| (AB) | 750 | 2250 | 6% | 24 | 5 | 50 | 4 jam |

3.4.3 Penentuan Nilai *Entrapment Efficiency*

a) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida

(1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui ketika absorbansi mencapai maksimum sehingga meningkatkan proses absorbansi larutan terhadap sinar (Rohman, 2007).

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan scanning standar baku konsentrasi 6 ppm pada panjang gelombang 200-400 nm dan menentukan panjang gelombang maksimumnya dengan melihat nilai absorbansi yang terbesar.

(2) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades

Pembuatan larutan baku standar diawali dengan membuat larutan induk dengan menimbang 10 mg metformin hidroklorida dilarutkan dalam 100 ml aquades (100 ppm), dikocok hingga larut. Larutan baku standar induk dilakukan untuk pengenceran baku standar 4, 6, 8, 10, 12 ppm. Masing-masing konsentrasi dari larutan standar ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum kemudian dibuat kurva baku dari hasil pengukuran tersebut.

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

Microspheres (ekuivalen 50 mg dengan jumlah obat) kemudian dibilas dengan menggunakan *aquadest* untuk menghilangkan obat bebas dan kemudian digerus menggunakan mortir. Suspensi ditambahkan *aquadest* ad 100 ml air kemudian disaring. Filtrat dianalisis konsentrasi obat menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan nilai *entrapment efficiency* dilakukan menggunakan persamaan (1).

3.4.4 Penentuan Formula Optimum dengan *Software Design Expert*

Penentuan formula optimum dilakukan dengan menggunakan metode desain faktorial. Dari data hasil pengujian nilai *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida didapatkan harga untuk masing-masing respon, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan (4), sehingga didapatkan persamaan umum hubungan antara faktor dan respon (nilai *entrapment efficiency*). Berdasarkan rumus $Y = b_0 + b_a X_A + b_b X_B + b_{ab} X_A X_B$ dapat ditentukan harga koefisien dari b_0, b_a, b_b , dan b_{ab} . Menggunakan *software design expert 10.0.2 versi trial* dapat dibuat *countour plot* berdasarkan hasil perhitungan rumus diatas, pembuatannya meliputi nilai persen *entapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida, sehingga dapat diketahui efek faktor terhadap respon serta efek interaksi faktor terhadap respon.

Dari *countour plot* tersebut dapat diketahui komposisi optimum kombinasi konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap nilai *entrapment efficiency*

microspheres metformin hidroklorida-kitosan. Formula yang dipilih adalah formula yang menghasilkan respon (nilai *entapment efficiency*) lebih dari 60%, hal ini menunjukkan keberhasilan suatu sistem penghantaran obat terkendali.

3.4.5 Karakteristik *Microspheres* Metformin Hidroklorida

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

Drug loading menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan dalam preparasi. Sebelum melakukan penentuan *drug loading*, terlebih dahulu dilakukan penetapan bobot aktif yang sebenarnya dalam preparasi yang didapat dari perkalian antara persen EE dan bobot metformin teoritis. Kemudian bobot bahan aktif yang sebenarnya dibandingkan dengan bobot *microspheres* yang sebenarnya setelah pengeringan. Perhitungan persen *drug loading* dapat dilakukan menggunakan persamaan (2).

b) Penentuan Nilai *Yield* (Garud & Garud, 2012)

Penentuan presentase *yield* dilakukan untuk melihat seberapa efisiensinya metode yang digunakan sehingga dapat membantu menentukan metode yang tepat dalam pembuatan *microspheres*. Perhitungan persen *yield* dilakukan dengan membandingkan bobot *microspheres* yang dihasilkan dari preparasi (bobot *microspheres* teoritis) dengan jumlah total substansi obat dan polimer. Perhitungan persen *yield* dapat dilakukan menggunakan persamaan (3).

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

Analisis gugus fungsi menggunakan alat spektrofotometri FTIR dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan kompleks antara metformin hidroklorida dengan kitosan setelah proses emulsifikasi. Untuk melakukan analisis dengan FTIR, sampel *microspheres*, metformin hidroklorida dan kitosan masing-masing ditambahkan pada KBr. Pemeriksaan gugus fungsi dilakukan pada bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . Scanning dilakukan pada metformin hidrokloridan, kitosan dan kompleks metformin hidroklorida-kitosan. Lalu masing-masing spektra dibandingkan untuk mengetahui adanya interaksi.

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

Scanning electron microscopy (SEM) digunakan untuk karakterisasi *microspheres* dalam penentuan ukuran, bentuk dan morfologi permukaan *microspheres* yang dapat dilihat menggunakan sejumlah *microspheres* disebarkan pada bagian *glass stub* dan ditempatkan pada *scanning electron microscopy chamber*, lalu dilakukan *scanning* dengan tegangan 20Kv dan tekanan *chamber* 0,1 mmHg dengan pembesaran 600 kali.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Konsentrasi surfaktan (span 80) memiliki pengaruh dapat menurunkan nilai *entrapment efficiency*, sedangkan lama pengadukan memiliki pengaruh menurunkan nilai *entrapment efficiency*. Interaksi antara kedua faktor tersebut memiliki efek meningkatkan nilai *entrapment efficiency*.
2. Nilai *entrapment efficiency* tertinggi sebesar 87,150% diperoleh dari kombinasi optimum antara konsentrasi span 80 sebesar 2% dan lama pengadukan selama 2 jam.
3. Analisis FTIR karakteristik kompleks pada formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan menunjukkan tidak adanya interaksi yang terjadi yang dilihat dari muncul serapan khas dari metformin hidroklorida.
4. *Microspheres* metformin hidroklorida-kitosan optimum memiliki rata-rata nilai *drug loading* sebesar 24,571%, rata-rata persen *yield* sebesar 88,220%, dan rata-rata ukuran partikel sebesar 161,2 μm .

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan :

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

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- American Diabetes Association. 2013. Standards of Medical Care in Diabetes-2013. *Diabetes Care*, Vol. 36: s 11- s66.
- 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.
- Anonim. 1988. *Emulgator dalam Bidang Farmasi*, 70-71. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Anonim. 2009. *British National Formulary 58*. London: BMJ Group and RPS.
- Armstrong, N.A., & James, K.C., 1996. *Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation*, 131-165, Tylor and Francis, United States of America.
- Badhana, S., Garud, N., & Garud, A. 2013. Colon Specific Drug Delivery of Mesalamine Using Eudragit S100-Coated Chitosan Microspheres for the Treatment of Ulcerative Colitis. *Int. Curr. J. Pharm*, February 2013, 2(3): 42-48
- Bolton, 1997, *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications*, 3rd Ed., 610-619, New York: Marcel Dekker Inc.
- Bolton, S., & Bon, C. 2004. *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications*. New York: Marcel Dekker.
- Cetin, M., Atila, A., Sahin, S., & Vural, I. 2013. Preparation and Characterization of Metformin. *Pharm. Develop. Tech.*, 18(June 2011), 570–576. doi:10.3109/10837450.2011.604783.
- 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.
- 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 Anti Diabetic Drug. *Int. J. Pharm. Chem. Sci.*, 1(3), 1387–1396.
- Freitas, S., Merkle, P.H., & Gander, B. 2005. Microencapsulation by Solvent Extraction/Evaporation: Reviewing the State of the Art of Microsphere Preparation Process Technology. *J of Contr Rel .*, 102 (2005) 313 – 332.
- 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.
- 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, 2(1), 378–384.
- Hejazi, R., & Amiji, M. 2003. Chitosan-Based Gastrointestinal Delivery Systems. *J. Contr. Rel.*, 89, 151–165.
- 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.
- Hes, P., Davis, S. S., & Illum, L. 1999. Sustained Release Chitosan Microspheres Prepared By Novel Spray Drying Methods. *J. Microenc.*, 16(3), 343–355.
- Hire, & Derle. 2014. Microsphere 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.
- Kumari, K., & Rani, U. (2011). Controlled Release of Metformin Hydrochloride Through Crosslinked Blends of Chitosan-Starch. *Adv. App. Sci. Res*, 2(2), 48–54.
- Maji, R., Ray, M., Das, B., & Nayak, A.K. 2012. Ethyl Cellulose Microparticles Containing Metformin HCL by Emulsification-Solvent Evaporation Technique Effect of Formulation Variables. *Schol. Res. Lib.* 7(1), 7. doi: 10.5402/2012/801827.

- Mandal, U., Gowda, V., Ghosh, A., Selvan, S., Solomon, S., & Kumar, T. 2007. Formulation and Optimization of Sustained Release Matrix Tablet of Metformin HCl 500 mg Using Response Surface Methodology. *The Pharm. Soc. Japan*, 127(8), 1281–1290.
- Mohanty, S., & Panigrahi, A.,K. 2014. Preparation of 5-Fluorouracil Microspheres for Colonic Drug Delivery. *Int J Pharm* 2014; 4(3): 283-296.
- 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.
- Narang, N. 2011. An Updated Review On: Floating Drug Delivery System (FDDS). *Int. J. App. Pharm.*, 3(1), 7.
- 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
- 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.
- 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), 57–64.
- Pauchau, L., Sarkar, S., & Mazumder, B. 2009. The Study of The Effect of Surfactants on Ethylcellulose Microspheres Containing Salbutamol Sulphate. *Schol. Res. Lib. 1* (1):65-74.
- PERKENI, 2011, *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*, Jakarta: PB. PERKENI.
- Ramteke, K. H., Jadhav, V.B., & Dhole, S.N. 2012. Microspheres: As Carriers Used for Novel Drug Delivery System. *IOSR J. Pharma.* (July2012), pp 44-48.
- 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.

- Rijai, M. A. S., Mikail, A. & Sari, R., 2010. Pengaruh pH Larutan Triopolifosfat Terhadap Karakteristik Fisik Serta Profil Pelepasan Mikropartikel Teofilin-Chitosan. *Maj. Fram. Air.*, 8(2), pp. 28-33.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient 6th ed.*, London : Pharmaceutical Press And American Pharmacist Association.
- Roy, S., Panpalia, S.G., Nandy, B.C., Rai, V.K., Tyagi, L.K., Dey, S., Meena, K.C. 2009. Effect of Method of Preparation on Chitosan Microspheres of Mefenamic Acid. *Int. J. Pharm. Sci. and Drug Res.*, 1(1), 36-42.
- Sabitha, P., Ratna, J. V., & Reddy, K. R. 2010. Design And Evaluation Of Controlled Release Chitosan-Calcium Alginate Microcapsules Of Anti Tubercular Drugs For Oral Use. *Int. J. Chemt. Res.*, 2(1), 88-98.
- 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 to 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.
- Sinha, V. R., Singla, K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., & Dhawan, S. 2004. Chitosan Microspheres as A Potential Carrier for Drugs. *Int. J. Pharm.*, 274(1-2), 1-33. doi:10.1016/j.ijpharm.2003.12.026.
- Smolinske, S. C., 1992, *Handbook of Food, Drug and Cosmetic Excipient*, 295-296, CRC Press, USA.
- Sutar S, S., Sambrekar, Patil, & Kudalagi. 2012. Formulation and Evaluation Of Metformin Hidrochloride Loaded Chitosan Microspheres. *J. Pharm. Sci. Innov.*, 1(April), 12-16.
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale Thirty-sixth edition*. USA: Pharmaceutical Press.
- Ummadi, S., Sharavani, B., Rao, NG Raghavedra., Reddy, M Srikanth., & Sanjeev, B., 2013. Overvie on Controlled Released 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.*, 35–51.
- Vasir, J. K., Tambwekar, K., & Garg, S. 2003. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. *Int. J. Pharm.*, 255(1-2), 13–32. doi:10.1016/S0378-5173(03)00087-5.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Wise, D.L., 2000. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, New York : Marcel Dekker, Inc.
- Witschi C. & Doelker, E. 1998. Influence of the Microencapsulation Method and Peptide Loading on Polylactic Acid and Polylactic-co-glycolic Acid Degradation During in Vitro Testing. *J. Control. Release*, 51, 327-341.
- 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.
- Zimmer, A., & Kreuter, J. 1995. Microspheres and Nanoparticles Used in Ocular Delivery Systems. *Advan. Drug Deliv. Rev.*, 16(1), 61–73. doi:10.1016/0169-409X(95)00017-2.

LAMPIRAN

A. Certificate Of Analysis Metformin Hidroklorida

HILDOSE

SHIVAM CHAMBERS, 166/168, 1ST 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 :- <u>Wahambi</u> | CHECKED BY :- <u>[Signature]</u> |
|-------------------------------|----------------------------------|

B. Certificate Of Analysis 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 |



CIREBON, INDONESIA

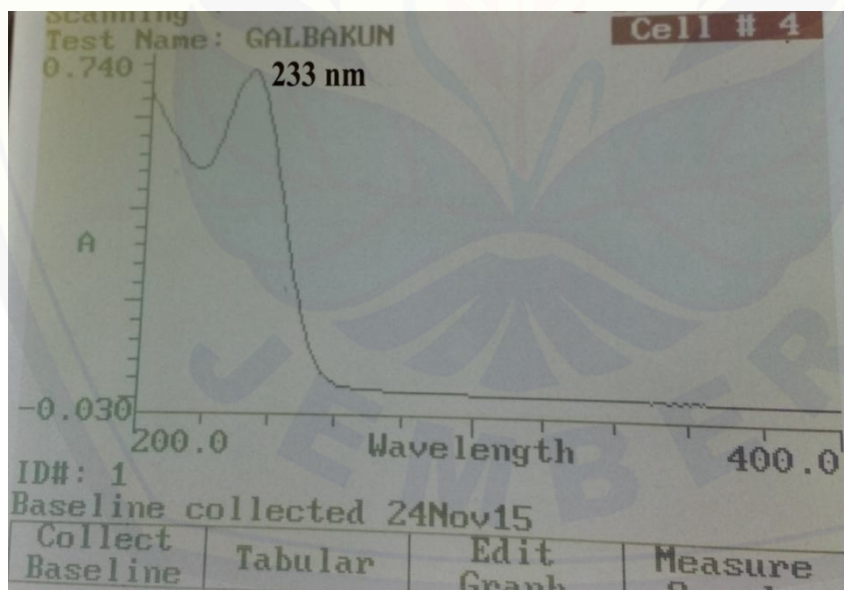
C. Scanning Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida

| Panjang gelombang | Absorbansi | Panjang gelombang | Absorbansi |
|-------------------|------------|-------------------|------------|
| 200 | 0,666 | 232 | 0,699 |
| 201 | 0,650 | 233 | 0,702 |
| 202 | 0,638 | 234 | 0,698 |
| 203 | 0,624 | 235 | 0,688 |
| 204 | 0,611 | 236 | 0,674 |
| 205 | 0,600 | 237 | 0,652 |
| 206 | 0,587 | 238 | 0,622 |
| 207 | 0,576 | 239 | 0,591 |
| 208 | 0,566 | 240 | 0,552 |
| 209 | 0,552 | 241 | 0,511 |
| 210 | 0,540 | 242 | 0,467 |
| 211 | 0,529 | 243 | 0,428 |
| 212 | 0,518 | 244 | 0,390 |
| 213 | 0,508 | 245 | 0,343 |
| 214 | 0,498 | 246 | 0,291 |
| 215 | 0,492 | 247 | 0,248 |
| 216 | 0,487 | 248 | 0,220 |
| 217 | 0,484 | 249 | 0,190 |
| 218 | 0,486 | 250 | 0,161 |
| 219 | 0,490 | 251 | 0,132 |
| 220 | 0,499 | 252 | 0,110 |
| 221 | 0,509 | 253 | 0,094 |
| 222 | 0,524 | 254 | 0,080 |
| 223 | 0,542 | 255 | 0,066 |
| 224 | 0,561 | 256 | 0,054 |
| 225 | 0,583 | 257 | 0,046 |
| 226 | 0,607 | 258 | 0,040 |
| 227 | 0,629 | 259 | 0,035 |
| 228 | 0,650 | 260 | 0,031 |
| 229 | 0,667 | 261 | 0,029 |
| 230 | 0,679 | 262 | 0,028 |

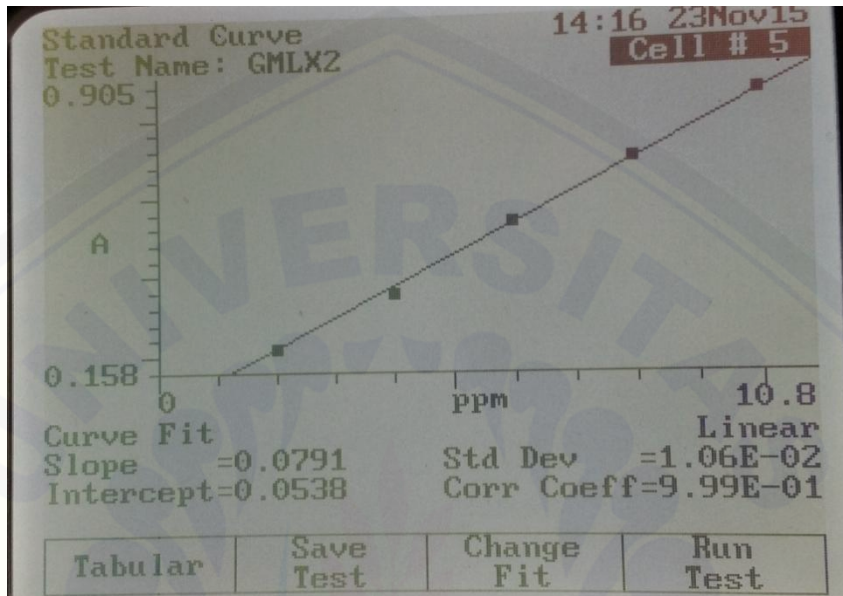
| | | | |
|-----|-------|-----|-------|
| 231 | 0,690 | 263 | 0,026 |
| 264 | 0,024 | 294 | 0,015 |
| 265 | 0,024 | 295 | 0,015 |
| 266 | 0,023 | 300 | 0,014 |
| 267 | 0,022 | 301 | 0,014 |
| 268 | 0,022 | 302 | 0,014 |
| 269 | 0,021 | 303 | 0,013 |
| 270 | 0,021 | 304 | 0,013 |
| 271 | 0,020 | 305 | 0,013 |
| 272 | 0,020 | 306 | 0,013 |
| 273 | 0,020 | 307 | 0,013 |
| 274 | 0,020 | 308 | 0,013 |
| 275 | 0,019 | 309 | 0,012 |
| 276 | 0,018 | 300 | 0,014 |
| 277 | 0,019 | 301 | 0,014 |
| 278 | 0,018 | 302 | 0,014 |
| 279 | 0,017 | 303 | 0,013 |
| 280 | 0,018 | 304 | 0,013 |
| 281 | 0,018 | 305 | 0,013 |
| 282 | 0,018 | 306 | 0,013 |
| 283 | 0,017 | 307 | 0,013 |
| 284 | 0,017 | 308 | 0,013 |
| 285 | 0,017 | 309 | 0,012 |
| 286 | 0,016 | 310 | 0,012 |
| 287 | 0,017 | 311 | 0,012 |
| 288 | 0,016 | 312 | 0,012 |
| 289 | 0,016 | 313 | 0,012 |
| 290 | 0,016 | 314 | 0,012 |
| 291 | 0,016 | 315 | 0,012 |
| 292 | 0,015 | 316 | 0,012 |
| 293 | 0,015 | 317 | 0,011 |
| 318 | 0,011 | 348 | 0,009 |
| 319 | 0,012 | 349 | 0,009 |
| 320 | 0,011 | 350 | 0,009 |

| | | | |
|-----|-------|-----|-------|
| 321 | 0,011 | 351 | 0,009 |
| 322 | 0,011 | 352 | 0,009 |
| 323 | 0,011 | 353 | 0,010 |
| 324 | 0,011 | 354 | 0,009 |
| 325 | 0,011 | 355 | 0,009 |
| 326 | 0,011 | 356 | 0,007 |
| 327 | 0,011 | 357 | 0,009 |
| 328 | 0,010 | 358 | 0,009 |
| 329 | 0,011 | 359 | 0,007 |
| 330 | 0,010 | 360 | 0,009 |
| 331 | 0,010 | 361 | 0,009 |
| 332 | 0,010 | 362 | 0,009 |
| 333 | 0,010 | 363 | 0,009 |
| 334 | 0,010 | 364 | 0,008 |
| 335 | 0,010 | 365 | 0,009 |
| 336 | 0,010 | 366 | 0,009 |
| 337 | 0,010 | 367 | 0,008 |
| 338 | 0,009 | 368 | 0,009 |
| 339 | 0,010 | 369 | 0,008 |
| 340 | 0,009 | 370 | 0,008 |
| 341 | 0,010 | 371 | 0,008 |
| 342 | 0,01 | 372 | 0,008 |
| 343 | 0,009 | 373 | 0,008 |
| 344 | 0,009 | 374 | 0,008 |
| 345 | 0,009 | 375 | 0,007 |
| 346 | 0,010 | 376 | 0,008 |
| 347 | 0,009 | 377 | 0,008 |
| 378 | 0,008 | 390 | 0,007 |
| 379 | 0,008 | 391 | 0,005 |
| 380 | 0,008 | 392 | 0,008 |
| 381 | 0,008 | 393 | 0,007 |
| 382 | 0,008 | 394 | 0,008 |
| 383 | 0,008 | 395 | 0,007 |
| 384 | 0,008 | 396 | 0,008 |

| | | | |
|-----|-------|-----|-------|
| 385 | 0,007 | 397 | 0,007 |
| 386 | 0,008 | 398 | 0,007 |
| 387 | 0,008 | 399 | 0,008 |
| 388 | 0,007 | 400 | 0,007 |
| 389 | 0,007 | 390 | 0,007 |
| 378 | 0,008 | 391 | 0,005 |
| 379 | 0,008 | 392 | 0,008 |
| 380 | 0,008 | 393 | 0,007 |
| 381 | 0,008 | 394 | 0,008 |
| 382 | 0,008 | 395 | 0,007 |
| 383 | 0,008 | 396 | 0,008 |
| 384 | 0,008 | 397 | 0,007 |
| 385 | 0,007 | 398 | 0,007 |
| 386 | 0,008 | 399 | 0,008 |
| 387 | 0,008 | 400 | 0,007 |
| 388 | 0,007 | | |



D. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades



E. Hasil Perhitungan Persen Entrapment Efficiency

| No | Formula | Replika | Notasi Desain Faktorial | | | Persen Entrapment Efficiency | Rata-rata persen Entrapment Efficiency ± SD |
|----|---------|---------|-------------------------|----------------|-----------------|------------------------------|---|
| | | | X _A | X _B | X _{AB} | | |
| 1 | (1) | 1 | -1 | -1 | +1 | 86,220 | 86,803 ± 0,544 |
| | | 2 | | | | 87,051 | |
| | | 3 | | | | 87,158 | |

F. Contoh Perhitungan Persen Entrapment Efficiency

- Diketahui : Berat *microspheres* yang didapat = 2,650 gram
 - Kadar Hasil Pengamatan = 4,318 ppm
- Menimbang *microspheres* yang setara dengan 5 mg metformin hidroklorida
- $\frac{\text{berat metformin HCl yang ditimbang}}{\text{berat } \textit{microspheres} \text{ yang didapat}} = \frac{0,005 \text{ gram}}{x}$
 - $\frac{0,750 \text{ gram}}{2,651 \text{ gram}} = \frac{0,005 \text{ gram}}{x}$
 - X = 0,018 gram
- Hasil penimbangan = 0,018 gram

- Jumlah Metformin-HCl dalam sampel = $\frac{0,018 \text{ g}}{2,651 \text{ g}} \times 0,750 \text{ g} = 5,009 \times 10^{-3} \text{ g}$
= 5,009 mg
- Kadar Metformin Teoritis = $\frac{5,009 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 50,09 \text{ ppm}$
- Kadar Teoritis setelah pengenceran = $\frac{50,09}{10} = 5,009 \text{ ppm}$
- Persen *entrapment efficiency*
 $\frac{4,318}{5,009} \times 100\% = 86.205\%$

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%.

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

G.2. Hasil Uji ANOVA

Response 1 EE

| 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 | |
| Model | 1961.21 | 3 | 653.74 | 516.21 | < 0.0001 | significant |
| <i>A-konsentrasi span 80</i> | 1506.76 | 1 | 1506.76 | 1189.79 | < 0.0001 | |
| <i>B-lama pengadukan</i> | 363.68 | 1 | 363.68 | 287.18 | < 0.0001 | |
| <i>AB</i> | 90.77 | 1 | 90.77 | 71.68 | 0.0011 | |
| Pure Error | 10.13 | 8 | 1.27 | | | |
| Cor Total | 1971.34 | 11 | | | | |

The Model F-value of 516.21 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. | 1.13 | R-Squared | 0.9949 |
| Mean | 67.35 | Adj R-Squared | 0.9929 |
| C.V. % | 1.67 | Pred R-Squared | 0.9884 |
| PRESS | 22.80 | Adeq Precision | 51.440 |

The "Pred R-Squared" of 0.9884 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9929; 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 51.440 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space

| Factor | Coefficient | | Standard Error | 95% CI | | VIF |
|-----------------------|-------------|----|----------------|--------|--------|------|
| | Estimate | df | | Low | High | |
| Intercept | 67.35 | 1 | 0.32 | 66.60 | 68.10 | |
| A-konsentrasi span 80 | -11.21 | 1 | 0.32 | -11.95 | -10.46 | 1.00 |
| B-lama pengadukan | -5.51 | 1 | 0.32 | -6.25 | -4.76 | 1.00 |
| AB | 2.75 | 1 | 0.32 | 2.00 | 3.50 | 1.00 |

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 EE &= \\
 &+67.35 \\
 &-11.21 * A \\
 &-5.51 * B \\
 &+2.75 * AB
 \end{aligned}$$

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:

$$\begin{aligned}
 EE &= \\
 &+122.77717 \\
 &-9.72825 \quad * \text{ konsentrasi span 80} \\
 &-11.00583 \quad * \text{ lama pengadukan} \\
 &+1.37517 \quad * \text{ konsentrasi span 80} * \text{ lama pengadukan}
 \end{aligned}$$

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.

G.3. Perhitungan Efek Faktor dan Interaksinya Terhadap Persen *Entrapment Efficiency*

$$\begin{aligned}
 \text{Efek Faktor A} &= \frac{58.898 + 53.388}{2} - \frac{87.143 + 70.299}{2} = -22,578 \\
 \text{Efek Faktor B} &= \frac{70.299 + 53.388}{2} - \frac{87.143 + 58.898}{2} = -11,177 \\
 \text{Efek Faktor A} &= \frac{87.143 + 53.388}{2} - \frac{58.898 + 70.299}{2} = 5,667
 \end{aligned}$$

G.4. Constraints

| Name | Goal | Lower Limit | Upper Limit | Lower Weight | Upper Weight | Importance |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|------------|
| A:Konsentrasi span 80 | Is in range | 2 | 6 | 1 | 1 | 3 |
| B:Lama Pengadukan | is in range | 2 | 4 | 1 | 1 | 3 |
| EE | maximize | 52,443 | 87,158 | 1 | 1 | 3 |

H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum *Microspheres* Metformin Hidroklorida

H.1. Contoh Perhitungan Persen Drug Loading

- Diketahui : Persen *entrapment efficiency* = 86,205%
 - Berat metformin HCl = 0,750 gram
 - Berat *microspheres* = 2,651 gram
- Persen *drug loading* = $\frac{86,205\% \times 0,750}{2,651} \times 100\% = 24,388\%$

H.2. Contoh Perhitungan Persen Yield

- Diketahui : Berat *microspheres* didapat = 2,651 gram
 Berat *microspheres* teoritis = 3.000 gram
- Persen Yield = $\frac{2,651 \text{ gram}}{3,000 \text{ gram}} \times 100\% = 88,367\%$

H.3. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel *Microspheres* Menggunakan SEM

| No | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 |
|----|-------------|-------------|-------------|
| 1 | 210 | 240 | 120 |
| 2 | 180 | 160 | 140 |
| 3 | 200 | 180 | 210 |
| 4 | 100 | 120 | 180 |
| 5 | 170 | 100 | 120 |
| 6 | 180 | 150 | 180 |
| 7 | 210 | 120 | 160 |
| 8 | 180 | 160 | 120 |
| 9 | 200 | 140 | 180 |
| 10 | 120 | 240 | 160 |
| 11 | 100 | 140 | 100 |
| 12 | 180 | 120 | 140 |
| 13 | 160 | 200 | 180 |

| | | | |
|-----------|-------|-------|-------|
| 14 | 160 | 140 | 160 |
| 15 | 150 | 160 | 120 |
| 16 | 160 | 180 | 100 |
| 17 | 100 | 180 | 160 |
| 18 | 160 | 210 | 200 |
| 19 | 160 | 200 | 210 |
| 20 | 140 | 180 | 120 |
| 21 | 120 | 100 | 160 |
| 22 | 120 | 160 | 160 |
| 23 | 120 | 180 | 160 |
| 24 | 120 | 140 | 160 |
| 25 | 120 | 180 | 120 |
| 26 | 140 | 180 | 210 |
| 27 | 180 | 120 | 160 |
| 28 | 200 | 180 | 120 |
| 29 | 210 | 240 | 180 |
| 30 | 160 | 210 | 120 |
| 31 | 160 | 120 | 180 |
| 32 | 120 | 100 | 210 |
| 33 | 200 | 120 | 160 |
| 34 | 180 | 100 | 160 |
| 35 | 200 | 210 | 180 |
| 36 | 160 | 140 | 180 |
| 37 | 210 | 180 | 180 |
| 38 | 100 | 120 | 120 |
| 39 | 180 | 160 | 160 |
| 40 | 180 | 210 | 180 |
| 41 | 100 | 140 | 120 |
| 42 | 140 | 210 | 180 |
| 43 | 160 | 180 | 140 |
| 44 | 180 | 100 | 140 |
| 45 | 160 | 120 | 200 |
| 46 | 140 | 160 | 160 |
| 47 | 120 | 140 | 180 |
| 48 | 210 | 180 | 150 |
| 49 | 200 | 220 | 180 |
| 50 | 210 | 240 | 200 |
| Rata-rata | 160,4 | 163,2 | 160,0 |

I. Dokumentasi Penelitian

I.1. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian



Metformin-HCl dan Kitosan yang digunakan

I.2. Proses Penelitian yang Dilakukan



Proses penimbangan bahan aktif dan polimer menggunakan timbangan *analytic digital*



Proses pengadukan dengan *four blades propeller*



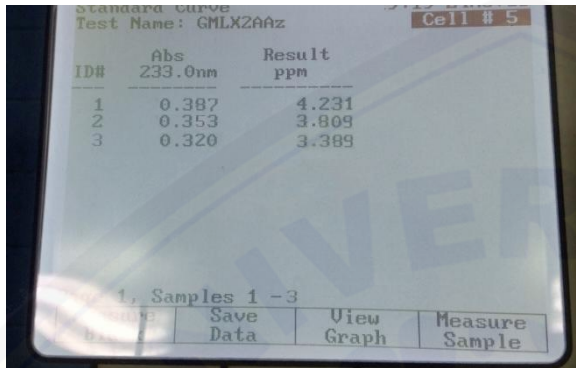
Microspheres yang terbentuk setelah proses pengadukan dengan *four blades propeller*



Proses penyaringan *microspheres* menggunakan corong *buchner*



Proses pencucian *microspheres* dengan *Petroleum ether*



| ID# | Abs 233.0nm | Result ppm |
|-----|----------------|---------------|
| 1 | 0.387 | 4.231 |
| 2 | 0.353 | 3.809 |
| 3 | 0.320 | 3.389 |

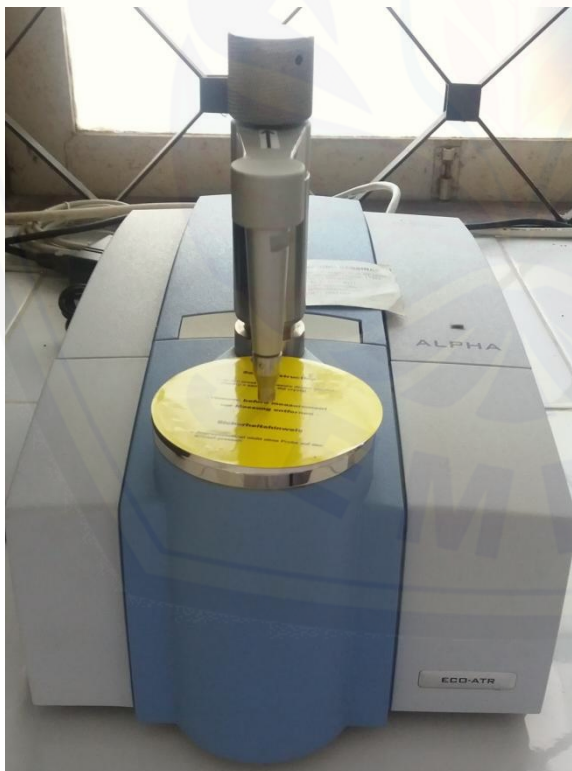
1. Samples 1 - 3

Save Data View Graph Measure Sample

Pengujian *entrapment efficiency* menggunakan spektrofotometer UV-VIS



Karakterisasi ukuran dan morfologi *microspheres* dengan SEM



Analisis spektrofotometer inframerah (FTIR)