



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

SKRIPSI

Oleh

Nur Fatjria Susilowati

NIM 122210101004

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



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

SKRIPSI

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

Oleh

Nur Fatjria Susilowati

NIM 122210101004

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Ibu Siti Fatimah dan Bapak Jatiroto yang selalu memberikan dukungan moril, materi maupun doa yang tiada henti untuk kesuksesan saya.
2. Kedua adik penulis, Moh. Jamaludin Setiady dan Achmad Maulana Subandrio yang saya cinta dan sayangi.
3. Seluruh keluarga, teman-teman kos, teman-teman penelitian *microspheres* dan keluarga petruk rolas yang telah memberikan semangat dan dukungannya selama ini.
4. Para guru sejak masa taman kanak-kanak hingga SMA, dosen dan segenap civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah berjasa.

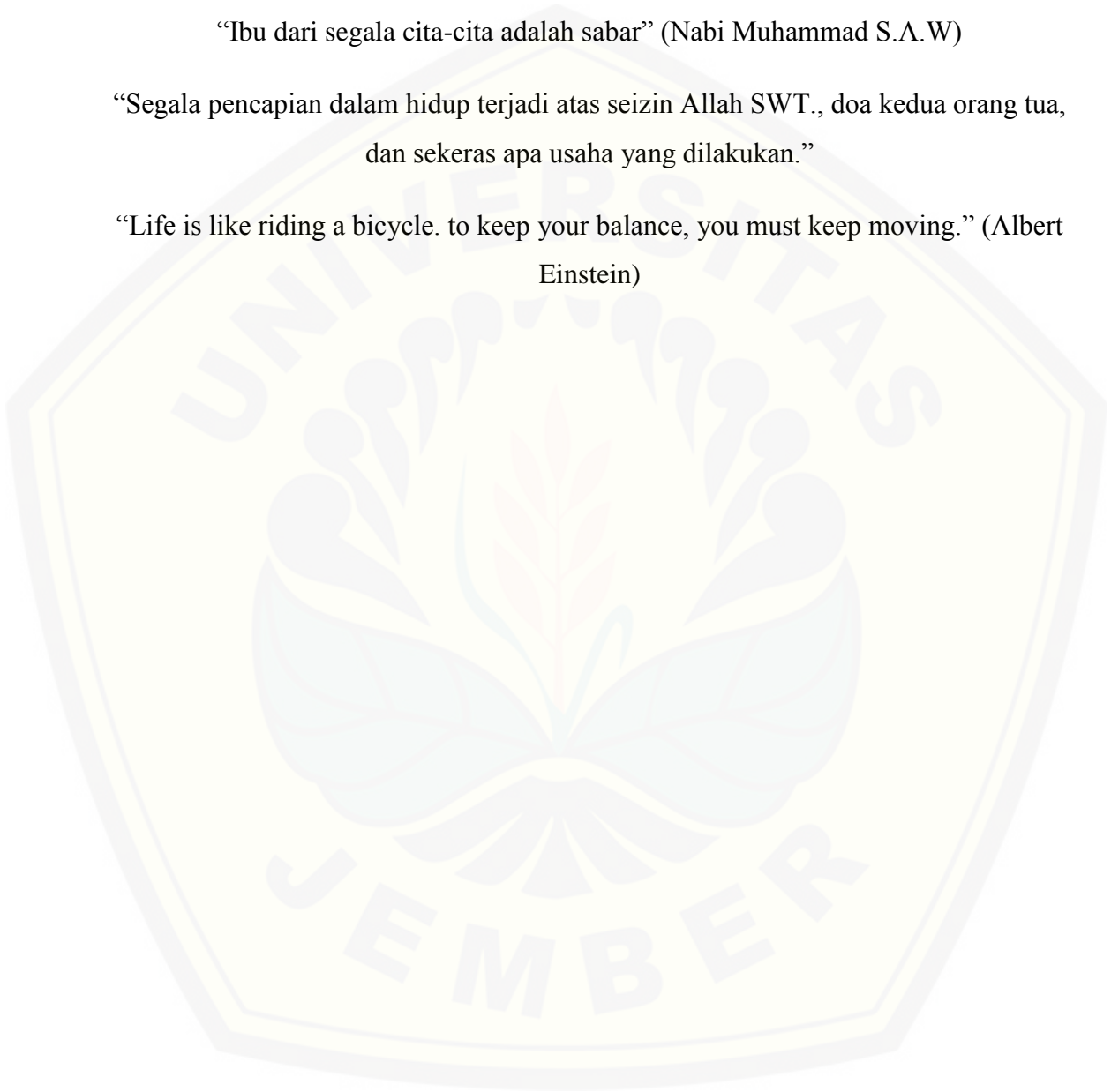
MOTTO

“Tidak ada balasan kebaikan kecuali kebaikan pula” (QS. Ar-Rahman: 60)

“Ibu dari segala cita-cita adalah sabar” (Nabi Muhammad S.A.W)

“Segala pencapaian dalam hidup terjadi atas seizin Allah SWT., doa kedua orang tua, dan sekeras apa usaha yang dilakukan.”

“Life is like riding a bicycle. to keep your balance, you must keep moving.” (Albert Einstein)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Fatjria Susilowati

NIM : 122210101004

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidrokloridan-Etil Selulosa* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan 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 paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari ini tidak benar.

Jember, 15 Agustus 2016

Yang Menyatakan,



Nur Fatjria Susilowati

SKRIPSI

**OPTIMASI KONSENTRASI SPAN 80 DAN LAMA PENGADUKAN DALAM
PREPARASI MIKROSPHERES METFORMIN HIDROKLORIDA-ETIL
SELULOSA**

Oleh:

Nur Fatjria Susilowati

NIM 122210101004

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi ini berjudul *Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida-Itil Selulosa* telah disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari : Senin
tanggal : 15 Agustus 2016
tempat : Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Jember

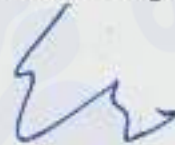
Dosen Pembimbing Utama,



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

NIP. 197910032003122001

Dosen Pembimbing Utama,



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

NIP. 197503092001121001

Dosen Penguji I,



(Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP. 198608302009121007

Dosen Penguji II,

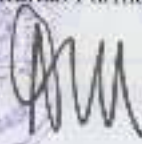


(Dwi Nurahmanto S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP. 198401242008011001

Mengesahkan

Dean Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa; Nur Fatjria Susilowati; 83 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Metformin HCl merupakan agen antihiperlipidemik yang banyak digunakan untuk terapi diabetes melitus tipe 2 yang termasuk dalam golongan biguanida dengan mekanisme kerja meningkatkan sensitivitas insulin yang disekresi pada hepar dan jaringan perifer. Umumnya dosis metformin HCl yang digunakan dalam sediaan konvensional sebesar 500 - 850 mg untuk pemakaian 1-3 kali sehari. Penggunaan metformin HCl dengan dosis besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan *gastrointestinal* dan toksisitas. *Bioavailabilitas* metformin HCl oral rendah yaitu 50-60% dan memiliki waktu paruh yang pendek yaitu 1,5-3 jam. Berdasarkan alasan tersebut perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan efektivitas metformin HCl sebagai terapi diabetes melitus tipe 2 yang mampu memberi kemudahan dan dapat meningkatkan kepatuhan penggunaannya.

Microspheres merupakan sediaan *multiple* unit dengan menggunakan bahan polimer yang efisien. *Microspheres* bersifat *biocompatible*, dapat meningkatkan *bioavailabilitas* suatu bahan aktif, dan mampu melepaskan bahan aktif dalam jangka waktu yang lama. *Microspheres* metformin HCl dapat dipreparasi dengan menggunakan polimer etil selulosa dengan teknik *non-aqueous solvent evaporation*. Etil selulosa telah banyak diteliti sebagai polimer *microspheres*, polimer ini bersifat tidak larut dalam air, *nonbiodegradable*, *biocompatible*, tidak beracun, dan banyak digunakan dalam produk farmasi.

Telah diketahui bahwa efek variabel pada proses preparasi *microspheres* seperti konsentrasi span 80 dan lama pengadukan berpengaruh pada karakteristik *microspheres* yang dihasilkan, seperti bentuk, ukuran, distribusi ukuran partikel, *entrapment efficiency*, dan laju pelepasan bahan aktif. Desain faktorial digunakan

sebagai metode optimasi dalam penelitian untuk menentukan proporsi pasangan faktor yang menghasilkan respon yang diinginkan, yaitu formulasi optimum *microspheres* metformin HCl. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa konsentrasi span 80 dan lama pengadukan berpengaruh signifikan terhadap respon yang dihasilkan. Kombinasi optimum antara konsentrasi span 80 dan lama pengadukan untuk menghasilkan respon nilai *entrapment efficiency* maksimum masing-masing adalah 2% v/v dan 2 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa memiliki nilai *entrapment efficiency* yang maksimum yaitu 79,981%, hasil tersebut relatif mendekati nilai *entrapment efficiency* yang di prediksi berdasarkan desain faktorial serta hasil karakterisasi *microspheres* dari formula optimum yang memenuhi spesifikasi *microspheres* yang baik dengan nilai *drug loading* sebesar 12,727% dan *yield* sebesar 90,010%. Morfologi permukaan *microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa berbentuk bulat, dan *spheres*, dengan permukaan yang halus bulat serta rata-rata ukuran partikel yang didapatkan dengan menggunakan SEM sebesar 136,7 μm . Analisis FTIR *microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa menunjukkan bahwa tidak adanya interaksi yang terjadi antara metformin hidroklorida dengan etil selulosa kompleks *microspheres* yang ditunjukkan dengan adanya 3 serapan khas dari metformin hidroklorida.

PRAKATA

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, inayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa*. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program sarjana farmasi (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, motivasi, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibunda dan ayahanda tercinta, ibu Siti Fatimah dan bapak Jatiroto yang tidak pernah lupa memberikan semangat, motivasi, nasihat, dukungan, doa, dan cinta kasihnya selama
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si, M.Farm., Apt. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini
3. Ibu Lusia Oktora Rama 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, perhatian, dan saran kepada penulis selama penulisan skripsi ini
4. Bapak Viddy Agustian R., S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Bapak Dwi Nurrahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji II terima kasih atas kritik dan sarannya
5. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph. D. selaku Dosen Pembimbing Akademik atas arahan dan bimbingan selama penulis menempuh perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Jember
6. Ibu Itus, Mbak Titin, Ibu Wayan, Mbak Hani, dan Mbak Ike yang telah membantu penulis saat melakukan penelitian di Laboratorium

7. Adikku Muhammad Jamaludin Setiady dan Achmad Maulana Subandrio yang telah mendukung, memberikan semangat serta senantiasa mendoakan penulis selama ini
8. Amalia Fadila, Ninda Sukmaningrum, dan Christyn Sianipar yang telah berjuang bersama selama penelitian *Microspheres* di laboratorium
9. Trias, Alni, Gilang, Mbak Ulya, dan Mbak Khalim yang telah membantu dan menghibur penulis saat di kampus maupun di kos
10. Ulya, Zarin, Quin, Fitria, Mia, Galuh, Umam, Uswah, Novia, Sendy, Herlita, Cici, Rani, Maharani, Riyyah, Dessy, Ifa, Aik, Lisa, Bannan yang telah memberi dukungan dan keseruan selama penelitian di Laboratorium Farmasetika
11. Teman-teman seperjuangan dan seangkatan, PETROK ROLAS, terima kasih atas kebersamaannya selama 4 tahun ini, kalian luar biasa.

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

Jember, 15 Agustus 2016

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
RINGKASAN	viii
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Microspheres</i>	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>	11
c) <i>Yield</i>	11
d) Analisis <i>Scanning Electron Microscope (SEM)</i>	11
e) Analisis <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i>	12
2.2 Metformin Hidroklorida.....	12
2.3 Etil Selulosa.....	13
2.4 Span 80.....	14

2.5 Desain Faktorial	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Rancangan Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	17
3.2.1 Alat	17
3.2.2 Bahan	17
3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	18
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Perancangan Optimasi Formula	19
3.4.2 Pembentukan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida	21
3.4.3 Penentuan Persen <i>Entrapment Efficiency</i>	22
a) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida	22
1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	22
2) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>Aquadest</i>	23
b) Persen <i>Entrapment Efficiency</i>	23
3.4.4 Penentuan Formula Optimum dengan <i>Software Design Expert</i>	23
3.4.5 Karakteristik <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida	24
a) Penentuan Persen <i>Drug Loading</i>	24
b) Penentuan Persen <i>Yield</i>	24
c) Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	24
d) Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil Pembuatan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa	26
4.2 Hasil Penentuan <i>Entrapment Efficiency Microspheres</i> Metformin	28

Hidroklorida-Etil Selulosa	
4.2.1 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida	28
a) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	28
b) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>Aquadest</i>	29
4.2.2 Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i>	29
4.3 Hasil Analisis Desain Faktorial dan Penentuan Daerah optimum	31
4.4 Karakterisasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Etil Selulosa Optimum	37
4.4.1 Perhitungan <i>Drug Loading</i>	38
4.4.2 Perhitungan <i>Yield</i>	38
4.4.3 Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	39
4.4.4 Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	41
BAB 5. PENUTUP	45
5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Rancangan Desain Faktorial Untuk Dua Faktor dan Dua <i>Level</i>	20
Tabel 3.2. Susunan <i>Level</i> Faktor Berdasarkan Desain Faktorial	21
Tabel 3.3. Formula <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida	21
Tabel 3.4. Preparasi <i>Mircrospheres</i> Metformin Hidroklorida	22
Tabel 4.1 Hasil pengujian <i>entrapment efficiency</i>	30
Tabel 4.2 Nilai efek faktor konsentrasi span 80, lama pengadukan dan interaksi keduanya	32
Tabel 4.3 Solusi yang ditawarkan oleh desain faktorial	37
Tabel 4.4 Data hasil perhitungan <i>drug loading</i>	38
Tabel 4.5 Hasil perhitungan <i>yield</i>	39
Tabel 4.6 Hasil penentuan ukuran partikel <i>microspheres</i> metformin hidroklorida	40
Tabel 4.7 Identifikasi puncak spektra spesifik metformin Hidroklorida.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi <i>Microspheres</i>	6
Gambar 2.2 Skematis Empat Langkah Proses Utama dalam Preparasi <i>Microspheres</i> Dengan Teknik <i>Solvent Evaporation</i>	9
Gambar 2.3 Struktur Metformin Hidroklorida	12
Gambar 2.4 Struktur Etil Selulosa	14
Gambar 2.5 Struktur Span 80	15
Gambar 2.6 Skematis Surfaktan Menempel Pada Permukaan <i>Droplet</i>	15
Gambar 3.1 Skema Langkah Kerja Penelitian.....	19
Gambar 4.1 Serbuk <i>microspheres</i> metformin-HCl semua formula.....	27
Gambar 4.2 Spektra panjang gelombang metformin hidroklorida dalam <i>aquadest</i>	28
Gambar 4.3 Kurva baku metformin HCl dalam <i>aquadest</i>	30
Gambar 4.4 <i>Contour plot</i> 2D untuk respon <i>entrapment efficiency</i>	34
Gambar 4.5 <i>Contour plot</i> 3D untuk respon <i>entrapment efficiency</i>	35
Gambar 4.6 <i>Overlay Plot</i> dari respon <i>entrapment efficiency</i>	36
Gambar 4.7 Hasil analisis morfologi permukaan dan bentuk <i>microspheres</i> menggunakan SEM	39
Gambar 4.8 Spektra FTIR metformin hidroklorida murni	41
Gambar 4.9 Spektra FTIR etil selulosa murni	42
Gambar 4.10 Spektra FTIR <i>microspheres</i> metformin hidroklorida-etil selulosa..	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. <i>Certificate Of Analysis</i> Metformin Hidroklorida.....	50
B. <i>Certificate Of Analysis</i> Etil Selulosa.....	51
C. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida.....	52
D. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades.....	56
E. Hasil Perhitungan Porsen <i>Entrapment Efficiency</i>	57
F. Contoh Perhitungan Porsen <i>Entrapment Efficiency</i>	57
G. Hasil Analisis Desain Faktorial.....	58
G.1. Kekuatan Faktor dari Desain Faktorial.....	58
G.2. Hasil Uji ANOVA.....	58
G.3. Perhitungan Efek Faktor dan Interaksinya Terhadap Porsen <i>Entrapment Efficiency</i>	60
G.4. Constraints.....	60
H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	60
H.1. Contoh Perhitungan Porsen <i>Drug Loading</i>	60
H.2. Contoh Perhitungan Porsen <i>Yield</i>	61
H.3. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel <i>Microspheres</i> Menggunakan SEM..	61
I. Dokumentasi Penelitian.....	63
I.1 Bahan yang Digunakan dalam Penelitian	63
I.2 Proses Penelitian yang Dilakukan	64

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus merupakan gangguan yang terjadi pada proses metabolisme karbohidrat dikarenakan insulin yang tidak dapat diproduksi atau penurunan aktivitas kerja insulin atau kombinasi keduanya. Penyakit ini ditandai dengan meningkatnya kadar gula dalam darah atau hiperglikemia (Sweetman, 2009). Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit degeneratif yang mendapat perhatian khusus dalam dunia medis. Data statistik *International Diabetes Federation Atlas* (2013) memperkirakan 382 juta populasi di seluruh dunia hidup dengan menderita penyakit diabetes melitus, angka ini akan terus meningkat hingga mencapai 592 juta orang pada tahun 2035. Obat-obat yang digunakan untuk terapi diabetes melitus merupakan obat-obatan yang dikonsumsi dalam jangka panjang (Siregar, 2005).

Metformin HCl merupakan agen antihiperglikemik yang banyak digunakan untuk terapi diabetes melitus tipe 2 yang termasuk dalam golongan biguanida dengan mekanisme kerja meningkatkan sensitifitas insulin yang disekresi pada hepar dan jaringan perifer. Umumnya dosis metformin HCl yang digunakan dalam sediaan konvensional sebesar 500 mg untuk pemakaian 2-3 kali sehari atau 850 mg untuk pemakaian 1-2 kali sehari. Penggunaan metformin HCl dengan dosis besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan *gastrointestinal* dan toksisitas (Stepensky, *et al.*, 2001). Metformin HCl memiliki kelarutan yang baik dalam air, dengan harga pKa 12,4 dan log koefisien partisi (log P) sebesar -1,21 (Kumar & Bansal, 2014). Metformin HCl diabsorpsi secara perlahan dan tidak sempurna dalam saluran pencernaan (Pandit *et al.*, 2013). *Bioavailabilitas* metformin HCl oral rendah yaitu 50-60% dan memiliki waktu paruh yang pendek yaitu 1,5-3 jam (Stepensky, *et al.*, 2001). Berdasarkan alasan tersebut perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan

efektivitas metformin HCl sebagai terapi diabetes melitus tipe 2 yang mampu memberi kemudahan dan dapat meningkatkan kepatuhan penggunaanya (Siregar & Wikarsa, 2010).

Salah satu sediaan farmasi yang dikembangkan saat ini adalah sediaan farmasetis dengan sistem pelepasan obat terkendali yang dirancang untuk meningkatkan efektivitas terapi, meminimalkan toksisitas, dan dapat meningkatkan kepatuhan pasien (Khan, *et al.*, 2001). Sistem pelepasan obat terkendali dapat mengendalikan pelepasan obat dalam *gastrointestinal track* (GIT), dan meningkatkan *gastro retention time* (GRT). GRT yang diperpanjang dapat membantu mempertahankan sistem pelepasan obat terkendali di lambung dalam waktu yang lama dan menentukan periode waktu yang dibutuhkan untuk pelepasan obat dari sistem *controlled release* dalam GIT (Goyal *et al.*, 2011). Sistem penghantaran obat yang bertujuan meningkatkan GRT dirancang dalam sistem *single* dan *multiple* unit. Bentuk sediaan *single* unit seperti tablet hanya terletak pada satu bagian dari *gastrointestinal* sehingga jika terjadi proses pengosongan lambung dapat mengurangi efek terapi dan menyebabkan *bioavailabilitas* yang tidak seragam. Selain itu sistem penghantaran hanya pada satu bagian yang dapat menyebabkan iritasi lokal pada *gastrointestinal* (Narang, 2011). Bentuk *multiple* unit dianggap dapat mengontrol laju pelepasan obat dan dapat tinggal di lambung dalam periode waktu yang lama dengan mengurangi terjadinya *dose dumping*. Selain itu bentuk *multiple* unit dapat mengurangi reaksi merugikan dalam lambung dan tidak sensitif dengan adanya makanan, sehingga akan mengurangi variabilitas antar dan intra pasien, serta meningkatkan prediktabilitas dari bentuk sediaan (Ghodake, *et al.*, 2010).

Microspheres merupakan sediaan *multiple* unit dengan menggunakan bahan polimer yang efisien. *Microspheres* bersifat *biocompatible*, dapat meningkatkan *bioavailabilitas* suatu bahan aktif, dan mampu melepaskan bahan aktif dalam jangka waktu yang lama (Varde & Pack, 2006; Vasir *et al.*, 2003). Secara fisika *microspheres* merupakan partikel bulat kecil dengan diameter dalam kisaran

mikrometer ($1\mu\text{m}$ - $1000\mu\text{m}$) dan sering pula disebut sebagai partikel mikro (Hereba, *et al.*, 2012).

Secara umum *microspheres* terdiri dari polimer yang akan menjebak dan menyerap molekul obat yang tersebar (Hire & Derle, 2014). Menurut Maji (2012) *microspheres* metformin HCl dapat dipreparasi dengan menggunakan polimer etil selulosa dengan teknik *non-aqueous solvent evaporation*. Etil selulosa telah banyak diteliti sebagai polimer *microspheres*, polimer ini bersifat tidak larut dalam air, *non-biodegradable*, *biocompatible*, tidak beracun, dan banyak digunakan dalam produk farmasi (Chowdary, *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian Maji (2012), pembuatan *microspheres* dengan menggunakan etil selulosa sebagai polimer dan *non-aqueous solvent evaporation* sebagai metode pembuatannya di pengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah konsentrasi surfaktan (span 80). Surfaktan memberikan peranan penting terhadap karakteristik *microspheres* yang dihasilkan. Span 80 merupakan surfaktan larut minyak dan menghasilkan emulsi yang stabil ketika media dispersinya adalah minyak. Konsentrasi surfaktan dapat mempengaruhi ukuran partikel *microspheres* yang dihasilkan. Semakin meningkatnya konsentrasi surfaktan, ukuran partikel *microspheres* yang dihasilkan lebih kecil, hal ini terjadi karena adanya hubungan antara konsentrasi surfaktan dan stabilitas *droplet* yang dihasilkan. Peningkatan konsentrasi surfaktan dapat mencegah proses penyatuan *droplet* kembali, sehingga stabilitas *droplet* tersebut menjadi lebih baik (Pachua & Mazumder, 2009). Selain itu, lama pengadukan juga dapat mempengaruhi karakteristik *microspheres*. Penelitian yang dilakukan oleh Rathod (2012) menunjukkan perbedaan lamanya pengadukan dalam preparasi *microspheres* dapat mempengaruhi persen *entrapment efficiency* dan ukuran partikel. Semakin lama waktu pengadukan menunjukkan penurunan terhadap persen *entrapment efficiency* dan ukuran partikel *microspheres* (Rathod *et al.*, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi span 80 dan lama pengadukan dalam preparasi *microspheres* dengan metode *non-aqueous*

solvent evaporation dan bantuan pengaduk menggunakan metode desain faktorial untuk menentukan proporsi pasangan faktor yang menghasilkan respon yang diinginkan, yaitu formulasi optimum *microspheres* metformin HCl.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap persen *entrapment efficiency microspheres* metformin HCl yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*?
2. Berapa konsentrasi span 80 dan lama pengadukan optimum yang menghasilkan *microspheres* metformin HCl dengan persen *entrapment efficiency* tertinggi?
3. Apakah terjadi interaksi kompleks antara metformin HCl dan etil selulosa dalam formula optimum *microspheres* metformin HCl yang dihasilkan dengan menggunakan FT-IR?
4. Bagaimana karakteristik (persen *drug loading*, persen *yield*, dan ukuran partikel) *microspheres* metformin HCl yang dihasilkan oleh formula optimum?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap persen *entrapment efficiency microspheres* metformin HCl yang dipreparasi dengan *non-aqueous solvent evaporation*.
2. Mengetahui konsentrasi span 80 dan lama pengadukan optimum yang menghasilkan *microspheres* metformin HCl dengan persen *entrapment efficiency* tertinggi.

3. Mengetahui interaksi kompleks antara metformin HCl dan etil selulosa dalam formula optimum *microspheres* metformin HCl yang dihasilkan dengan menggunakan FT-IR.
4. Mengetahui karakteristik (persen *drug loading*, persen *yield*, dan ukuran partikel) *microspheres* metformin HCl yang dihasilkan oleh formula optimum.

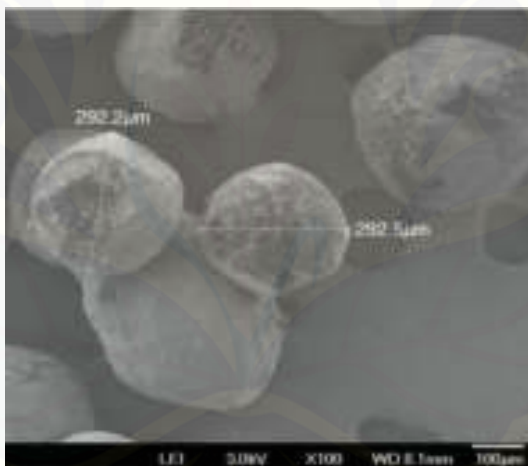
1.4 Manfaat

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

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Microspheres*

Microspheres dapat didefinisikan sebagai *monolithic sphere* atau agen terapeutik yang didistribusikan ke dalam matriks sebagai dispersi molekular ataupun dispersi partikel. *Microspheres* dapat juga didefinisikan sebagai struktur yang dibuat dari polimer dan terdapat partikel obat yang terdispersi pada tingkat *molecular* atau *macroscopic*. Memiliki ukuran partikel sekitar 1-1000 μm yang dapat melepaskan obat selama 12-24 jam (Prasanth, *et al.*, 2011).



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

2.1.1 Manfaat *Microspheres*

Microspheres digunakan untuk memodifikasi dan menghambat pelepasan obat. Ukuran partikel yang kecil, secara luas didistribusikan ke seluruh saluran pencernaan yang meningkatkan penyerapan obat dan mengurangi efek samping. Adapun keuntungan dari sediaan *microspheres*, antara lain (1). Memfasilitasi penghantaran obat secara akurat dan mengurangi konsentrasi obat pada tempat aksi selain organ dan jaringan target, (2). Melindungi obat yang tidak stabil sebelum dan setelah pemberian, sebelum sediaan mencapai tempat aksi, (3). Memberikan kemampuan

untuk memodifikasi aksi *in vivo* obat, profil farmakoterapi, distribusi jaringan, dan interaksi selular obat, (4). Memungkinkan mengontrol pelepasan dari obat, seperti narkotika, dan hormon steroid (Hire & Derle, 2014).

2.1.2 Preparasi *Microspheres*

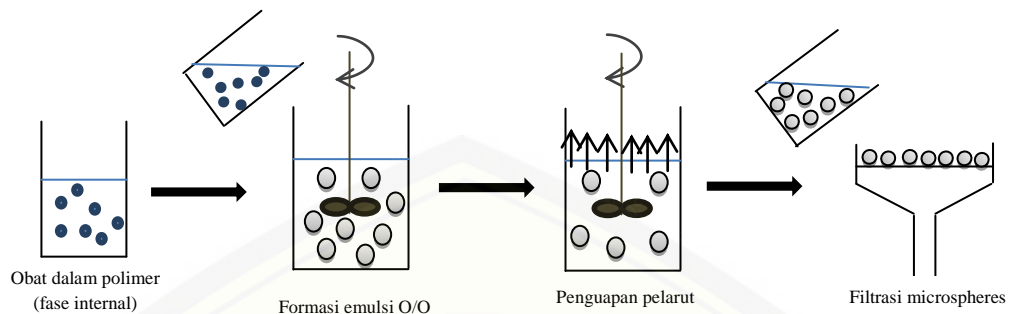
Penggabungan sediaan obat *solid*, *liquid*, atau gas ke dalam satu atau lebih polimer dapat dilakukan dengan menggunakan metode enkapsulasi *microspheres*. Teknik preparasi *microspheres* tergantung pada karakter dari bahan aktif dan polimer yang digunakan (Prasanth, *et al.*, 2011).

Terdapat beberapa teknik yang dapat digunakan dalam preparasi *microspheres* antara lain: 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*, 7) *Ionic gelation*, 8) *Hydroxyl appetite (HAP) microspheres in sphere morphology*. Teknik yang digunakan untuk preparasi harus memenuhi persyaratan sebagai berikut: a) stabilitas dan aktivitas biologis obat tidak boleh terpengaruh oleh parameter pengolahan yang digunakan dalam pembuatan *microspheres*, b) hasil dari *microspheres* harus memiliki kisaran ukuran yang diinginkan dan *drug encapsulation efficiency* harus tinggi, dan c) dapat dihasilkan kualitas dan profil pelepasan obat yang baik (Jalil & Nixon, 1990).

Teknik *emulsion solvent evaporation technique* telah digunakan secara luas dalam preparasi *microspheres* untuk bahan aktif yang berbeda-beda. Teknik ini dianggap paling sukses dalam pengaplikasiannya karena dapat menghasilkan *entrapment efficiency* bahan aktif dalam partikel tinggi, dan dapat digunakan untuk bahan aktif obat yang memiliki sifat baik ataupun buruk dalam larutan berair (Bodmeier & McGinity, 1987). Teknik *solvent evaporation* terdapat dua metode emulsifikasi, yaitu *single emulsion solvent evaporation* dan *multiple emulsion solvent evaporation*. Pemilihan metode bergantung pada sifat hidrofilisitas dan hidrofobisitas dari bahan aktif obat. Metode *multiple emulsion solvent evaporation* adalah teknik emulsifikasi air dalam minyak dalam air (W/O/W), sedangkan metode *single*

emulsion solvent evaporation dibagi menjadi dua, yaitu emulsifikasi minyak dalam air (O/W) dan emulsifikasi minyak dalam minyak (O/O). Sistem emulsi O/W dalam fase organik terdiri dari pelarut yang mudah menguap dengan polimer dan obat akan terenkapsulasi, sedangkan emulsi dalam fase air mengandung surfaktan. Metode ini sering digunakan untuk obat yang memiliki sifat sukar dan tidak larut dalam air serta memiliki proses yang sangat sederhana. Sedangkan teknik *single emulsion oil in oil emulsification* (O/O) digunakan untuk enkapsulasi bahan obat yang larut air kemudian diemulsifikasikan ke dalam fase lipofilik yang pada umumnya menggunakan *light mineral oil* (Wise, 2000; Naik *et al.*, 2012).

Teknik *single emulsion oil in oil* sering disebut sebagai *non aqueous solvent evaporation* karena ketiadaan penggunaan air dalam pelarut yang digunakan. Teknik *non-aqueous solvent evaporation* mudah untuk diaplikasikan dilaboratorium 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). Teknik *non-aqueous solvent evaporation* merupakan teknik yang disukai karena dapat digunakan untuk enkapsulasi bahan obat yang larut air dan menghasilkan *entrapment efficiency* hampir 100% (Herrmann & Bodmeier, 1998; O'Donnell & McGinity, 1997). Terdapat empat langkah pembuatan *microspheres* diantaranya: 1) pelarutan obat hidrofilik dalam pelarut organik yang mengandung polimer, 2) emulsifikasi dalam fase organik disebut dengan fase terdispersi, emulsifikasi dalam fase air disebut fase kontinyu, 3) ekstraksi pelarut dari fase terdispersi oleh fase kontinyu, disertai dengan penguapan pelarut, mengubah *droplet* pada fase terdispersi menjadi partikel padat, dan 4) penyaringan dan pengeringan *microspheres* untuk menghilangkan sisa pelarut. Preparasi *microspheres* dengan menggunakan metode *single emulsion solvent evaporation* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 2.2 Gambaran skematis empat langkah proses utama dalam preparasi *microspheres* dengan tehnik *solvent evaporation* (Sumber: Muhaimin, 2013)

Adapun mekanisme terbentuknya *microspheres* dibagi menjadi dua tahap, tahap pertama adalah pada saat proses emulsifikasi, polimer akan menjerap bahan aktif obat yang diikuti dengan penguapan pelarut dari polimer. Selama proses emulsifikasi, larutan polimer akan memecah menjadi *microdroplet* oleh bantuan pengaduk, tahap ini memberikan pengaruh pada distribusi ukuran partikel yang didapat. Tahap selanjutnya adalah proses penguapan pelarut dari *microdroplet* yang terbentuk diikuti dengan pengerasan partikel, tahap ini menentukan morfologi partikel *microspheres* (Rosca, *et al.* 2004).

2.1.3 Metode *non-aqueous solvent evaporation*

Teknik *non-aqueous solvent evaporation* merupakan proses pengembangan enkapsulasi untuk obat yang memiliki kelarutan yang baik dalam air (Herrmann & Bodmeier, 1998). Teknik *non-aqueous solvent evaporation* dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi enkapsulasi bahan obat larut dalam air. Bahan obat akan dilarutkan atau disuspensikan dalam fase minyak sebelum didispersikan dalam fase minyak yang lain. Pelarut organik seperti *acetonitrile* digunakan untuk melarutkan bahan obat (Tsai, 1986). Bahan obat dan *polimer* dalam teknik ini dilarutkan dalam suatu pelarut organik seperti *acetonitrile* (Naik *et al.*, 2012), *acetone* (Patel *et al.*, 2006), atau kombinasi *acetonitrile* dan *methanol* (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 *light liquid paraffin* (Pandit *et al.*, 2013),

mineral oil, cotton seed oil (Herrmann & Bodmeier, 1998) atau *triglyceride* (Naik *et al.*, 2012). Penambahan surfaktan seperti span 80 dilakukan untuk menghasilkan *oil-in-oil (non-aquoeus)* emulsi yang stabil (Tsai, 1986). Penelitian Maji (2012) menggunakan span 80 dengan variasi konsentrasi 2%, 4%, dan 6% v/v.

Proses emulsifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan bantuan pengaduk seperti *three-blades propeller* pada suhu ruang. Beberapa peneliti melakukan optimasi lama pengadukan dengan waktu yang berbeda. Penelitian yang dilakukan Maji (2012), proses emulsifikasi dilakukan dengan bantuan pengaduk *three-blades propeller* selama 2 jam dengan kecepatan 400, 600, dan 1000 rpm. Garud dan Garud (2012) melakukan proses emulsifikasi dengan variasi kecepatan 600, 1200, dan 1800 selama waktu 4 jam. Marliasih (2011) melakukan proses emulsifikasi dengan kecepatan pengadukan 500, 100, 1500, 2000, dan 3000 rpm selama rentang waktu 1 – 5 jam. Tahap selanjutnya adalah proses filtrasi. Filtrasi dilakukan menggunakan *membrane filter Whatman paper no 1* (Garud & Garud, 2012). *Microspheres* dibilas berulang kali dengan menggunakan *petroleum ether* (40° - 60°C) hingga bebas dari minyak. Selanjutnya *microspheres* dikeringkan selama 1 jam pada suhu 60°C dan disimpan dalam desikator (Maji, *et al.*, 2012).

2.1.4 Karakterisasi *Microspheres*

a) *Entrapment Efficiency* (EE)

Entrapment efficiency merupakan karakterisasi *microspheres* yang digunakan untuk menunjukkan seberapa besar jumlah obat yang terperangkap di dalam partikel *microspheres*. Analisis kandungan obat dalam *microspheres* dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri (Garud & Garud, 2012).

$$\text{Entrapment Efficiency \%} = \frac{\text{konsentrasi obat yang terperap}}{\text{konsentrasi obat teoritis}} \times 100\% \quad (1)$$

b) *Drug Loading*

Drug loading merupakan suatu karakterisasi *microspheres* yang menggambarkan efisien formula yang digunakan untuk menghasilkan *microspheres*. Perhitungan persen *drug loading* didapat dengan membandingkan berat bahan aktif sebenarnya dengan berat *microspheres* yang sebenarnya (Garud & Garud, 2012).

$$\text{Drug Loading \%} = \frac{\text{konsentrasi obat teoritis}}{\text{berat microsphere yang didapat}} \times 100 \% \quad (2)$$

c) *Yield*

Yield merupakan karakteristik *microspheres* yang menggambarkan efisiensi dari metode preparasi yang digunakan untuk mendapatkan jumlah *microspheres* yang maksimal, sehingga membantu menentukan metode pembuatan *microspheres* yang tepat (Sappidi, *et al.*, 2014). *Yield* dapat ditentukan dengan membandingkan hasil berat *microspheres* yang sebenarnya dengan berat *microspheres* teoritis (Garud & Garud, 2012).

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{berat microspheres sebenarnya (mg)}}{\text{berat microspheres teoritis (mg)}} \times 100\% \dots (3)$$

d) Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Ukuran partikel dari suatu *microspheres* dapat mempengaruhi laju pelepasan bahan aktif. Penurunan ukuran partikel akan mempengaruhi luas permukaan partikel *microspheres*. Permukaan partikel yang lebih kecil akan menurunkan laju erosi dari polimer yang tidak permeabel terhadap air. Ukuran partikel yang kecil mengalami pengerasan lebih cepat karena jarak yang pendek untuk menguapnya suatu pelarut. Partikel yang lebih kecil akan menjerap obat lebih seragam sebelum obat berdifusi ke permukaan partikel (Varde & Pack, 2006).

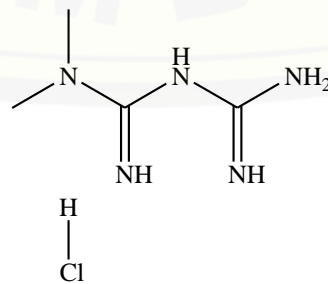
e) Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan suatu metode spektroskopi IR yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan gugus fungsi dalam suatu senyawa tetapi tidak dapat menentukan unsur penyusunnya (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 radiasi 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).

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

2.2 Metformin Hidroklorida

Metformin Hidroklorida ($C_4H_{11}N_5HCl$) memiliki berat molekul 165,6 g/mol. Berupa kristal putih atau hampir putih, sangat larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam aseton dan diklorometana. Metformin Hidroklorida merupakan obat antihiperqlikemik golongan biguanida (*N-1,1-dimethylbiguanide*) dan strukturnya berhubungan dengan phenformin (*phenethylbiguanide*), diberikan secara oral untuk terapi diabetes melitus tipe 2 dan merupakan obat pilihan pertama bagi pasien obesitas. Dosis lazim metformin hidroklorida 500 mg 2-3 kali sehari atau 850 mg 1-2 kali sehari dengan atau setelah makan (Sweetman, 2009).



Gambar 2.3 Struktur Metformin Hidroklorida

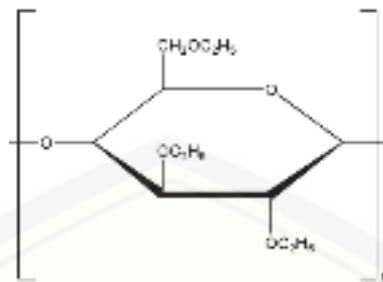
Metformin hidroklorida dapat memperbaiki transport glukosa sehingga memperbaiki pengeluaran glukosa non oksidasi dan mensintesis *glycogen*. Hal ini dapat meningkatkan kerja insulin untuk merangsang penyerapan glukosa. Penggunaan metformin hidroklorida selama 3 bulan dapat meningkatkan kerja insulin hingga 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 hidroklorida (Setter *et al.*, 2003).

Metformin Hidroklorida diabsorpsi secara perlahan dan tidak sempurna dalam saluran cerna. Telah dilaporkan bahwa dosis tunggal metformin hidroklorida 500 mg memiliki *bioavailabilitas* 50-60%, *bioavailabilitas* ini dapat berkurang dengan adanya makanan. Setelah proses absorpsi, protein plasma dapat mengikat obat, obat dieksresikan tidak berubah dalam urin. Waktu paruh eliminasi obat dalam plasma sekitar 1,5-3 jam setelah dosis oral. Metformin hidroklorida dapat menembus plasenta dan didistribusikan ke dalam ASI dalam jumlah kecil (Sweetman, 2009).

Metformin hidroklorida stabil pada suhu 30 - 70°C. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sharma *et al.* (2010), dekomposisi metformin hidroklorida konstan dan tidak menunjukkan perbedaan signifikan pada temperatur yang berbeda, yaitu 30, 40, 50, 60 dan 70°C.

2.3 Etil Selulosa

Etil selulosa ($C_{12}H_{23}O_6(C_{12}H_{22}O_5)_n C_{12}H_{23}O_5$) praktis tidak larut dalam gliserin, propilen glikol, dan air. Etil selulosa mengandung kurang dari 46,5% *ethoxyl groups* yang dapat larut dalam kloroform, metil asetat, tetrahidrofur, dan campuran hidrokarbon aromatik dengan etanol (95%) (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 2.4 Struktur Etil Selulosa

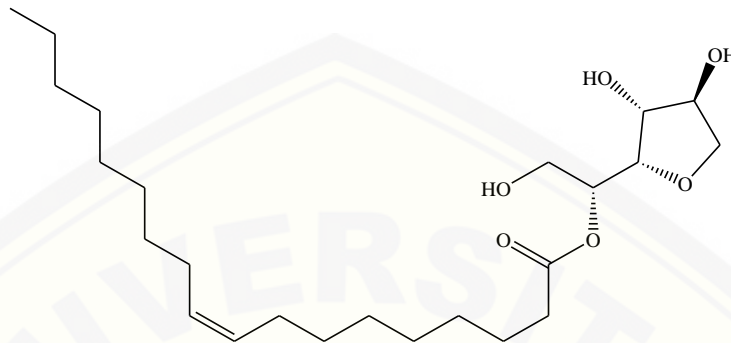
Etil selulosa merupakan salah satu bahan penyusun matriks hidrofobik. Etil selulosa sebagai matriks memiliki karakteristik tidak berasa, tidak berbau, tidak berwarna, dan bersifat inert. Laju disolusi dari etil selulosa rendah, kepadatan etil selulosa yang sangat tinggi membuat pelepasan obat bergantung pada porositas dari etil selulosa sebagai polimer hidrofobik (Murtaza, 2012).

Etil selulosa merupakan suatu polimer *non-biodegradable*, *biocompatible*, dan tidak bersifat *toxic*, secara luas digunakan dalam formulasi produk sediaan farmasi. Etil selulosa dipelajari secara ekstensif sebagai bahan enkapsulasi untuk sediaan lepas lambat dari berbagai obat. Peningkatan konsentrasi etil selulosa dapat meningkatkan viskositas fase internal yang dapat mempengaruhi ukuran partikel *droplet* (Maji, 2012).

2.4 Span 80

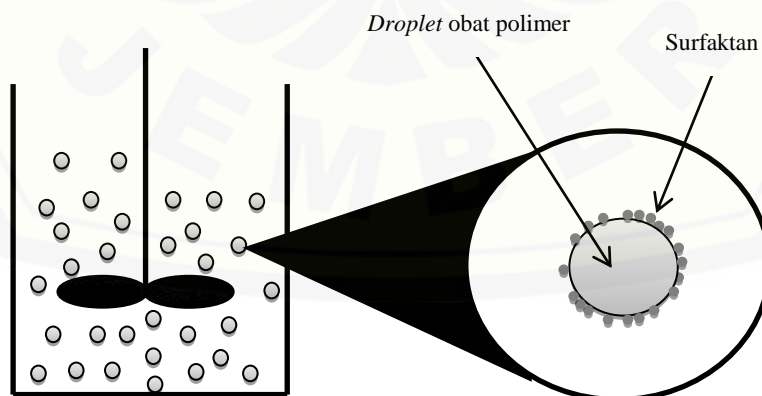
Span 80 mempunyai nama lain *sorbitan monooleat*. Pemerianya berupa warna kuning gading, cairan seperti minyak kental, bau khas tajam, terasa lunak. Kelarutannya tidak larut tetapi terdispersi dalam air, bercampur dengan alkohol, tidak larut dalam propilen glikol, larut dalam hampir semua minyak mineral dan nabati, sedikit larut dalam eter. Berat jenis pada temperatur 20°C adalah 1 gram. Memiliki nilai HLB 4,3. Viskositas pada 25°C span 80 secara luas digunakan dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi sebagai surfaktan nonionik lipofilik. Span 80 secara umum dalam formulasi berfungsi sebagai *emulsifying agent* nonionik yang memiliki gugus lipofil lebih dominan. Span 80 dapat dimasukkan dalam basis tipe parafin

untuk membentuk basis tipe anhidrat yang mampu menyerap sejumlah besar air (Anonim, 1988).



Gambar 2.5 Struktur Span 80

Penggunaan span 80 dalam preparasi *microspheres* berfungsi sebagai surfaktan yang dapat mencegah penggabungan *droplet* setelah terbentuk (gambar 6). Surfaktan digunakan untuk menstabilkan *droplet* yang telah terbentuk selama proses emulsifikasi pada fase terdispersi. Surfaktan secara alami akan membariskan diri pada permukaan *droplet* yang memberikan kestabilan dan menurunkan energi permukaan *droplet*. Berdasarkan penelitian Marliasih (2011) span 80 diketahui cukup kuat untuk mempertahankan *droplet* yang telah terbentuk sehingga tidak menyatu lagi menjadi gumpalan polimer.



Gambar 2.6 Skematis surfaktan menempel pada permukaan *droplet* (Birnbau & Peppas, 2004)

2.5 Desain Faktorial

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

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 :

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

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

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Tahapan penelitian meliputi : (1) Perancangan optimasi formula dengan konsentrasi span 80 dan lama pengadukan sebagai variabel bebas menggunakan desain faktorial; (2) Penentuan persen *entapment 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 (*Ohaous, USA*), *Oven (Mettler, Germany)*, alat-alat gelas, dan program perangkat lunak (*software design expert versi trial 10.0.2*).

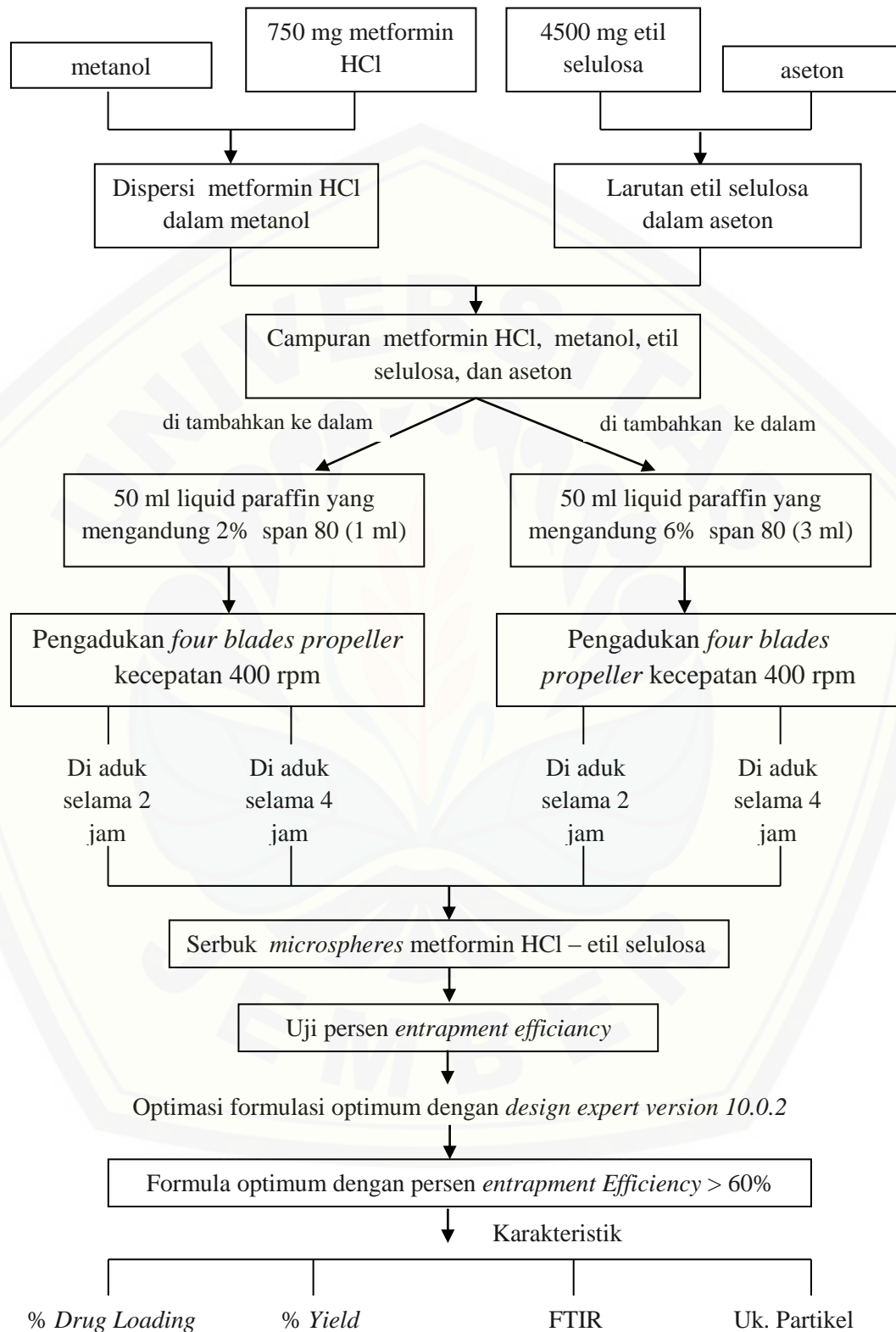
3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Metformin hidroklorida (*Hildose, RRC*), etil selulosa (*PT. Lawsim Zecha, Indonesia*), span 80 (*PT. Brataco, Indonesia*), metanol (*PT. Brataco, Indonesia*), aseton (*CV.Makmur Sejati, Indonesia*), *light paraffin liquid (PT. Brataco, Indonesia)*, *light petroleum ether (CV. Makmur Sejati Indonesia)*, aquademineralisata.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Solid Bagian Farmasetika dan Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Maret 2016 – Juli 2016.





Gambar 3.1 Skema langkah kerja penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Perancangan Optimasi Formula

Pada penelitian ini dibuat empat macam rancangan formula *microspheres* metformin hidroklorida. Tiap formula terdiri atas metformin hidroklorida dan etil selulosa. Perbedaan dari masing-masing formula adalah perbandingan konsentrasi span 80 dan perlakuan mengenai lama pengadukan *four blades propeller* dalam pembentukan *microspheres* metformin hidroklorida. Optimasi dalam penelitian ini menggunakan metode 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, suhu pengadukan (25°C), pengaduk *four blades propeller*, jumlah metformin HCl, etil selulosa, metanol, aseton, *light paraffin liquid*, dan *petroleum ether*
- c. Variabel terikat : persen *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.

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 sebagai berikut :

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 adalah sebagai berikut :

Tabel 3.3 Formula *microspheres* metformin hidroklorida

Bahan	Jumlah
Metformin HCl	750 mg
Etil Selulosa	4500 mg
Span 80	1 ml/3 ml
Acetone	24 ml
<i>Light Paraffin liquid</i>	50 ml
<i>Methanol</i>	5 ml
<i>Petroleum ether</i>	10 ml

3.4.2 Pembuatan *Microspheres* Metformin Hidroklorida

Microspheres metformin hidroklorida dipreparasi menggunakan teknik *non-aqueous solvent evaporation*. Bahan aktif metformin hidroklorida sebanyak 750 mg dan etil selulosa sebanyak 4500 mg dengan variasi konsentrasi span 80 sebesar 2% dan 6% dalam *light paraffin liquid* 50 ml. Metformin hidroklorida didispersikan dalam metanol, etil selulosa dilarutkan dalam aseton. Kedua campuran tersebut dicampur menjadi satu, kemudian tuang secara perlahan ke dalam 50 ml larutan *light paraffin liquid* yang mengandung 2% dan 6% span 80. Selanjutnya dilakukan

pengadukan menggunakan *four blades propeller* dengan kecepatan 400 rpm pada suhu ruang selama 2 dan 4 jam. Pada formula (1) konsentrasi span 80 yang digunakan sebesar 2% kemudian campuran metformin hidroklorida, etil selulosa, dan span 80 dalam *light paraffin liquid* diaduk dengan kecepatan 400 rpm selama 2 jam, formula (A) konsentrasi span 80 yang digunakan sebesar 6 % kemudian dilakukan pengadukan selama 2 jam, formula (B) konsentrasi span 80 yang digunakan sebesar 2% dilakukan pengadukan selama 4 jam, dan formula (AB) konsentrasi span 80 yang digunakan sebesar 6 % kemudian dilakukan pengadukan selama 4 jam. Preparasi *microspheres* secara ringkas dapat dilihat pada tabel 4. Kemudian larutan yang terbentuk disaring dengan menggunakan kertas *Whatman* no 1. *Microspheres* yang terbentuk dicuci secara berulang menggunakan *petroleum ether* dengan suhu (40 – 60°C) untuk menghilangkan fase minyak pada *microspheres*. *Microspheres* yang didapat dikeringkan dalam suhu 60°C selama 1 jam kemudian di simpan dalam desikator.

Tabel 3.4 Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida

For- mula	Metfor - min HCl (mg)	Metanol (mL)	Etil selulosa (mg)	Span 80 (% v/v)	Aseton (mL)	<i>light paraffin liquid mL</i>	Pengadukan kecepatan 400 rpm
(1)	750	5	4500	2 %	24	50	2 jam
(A)	750	5	4500	6 %	24	50	2 jam
(B)	750	5	4500	2 %	24	50	4 jam
(AB)	750	5	4500	6 %	24	50	4 jam

3.4.3 Penentuan Persen *Entrapment Efficiency*

a) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku induk dibuat dari 5 mg metformin hidroklorida dilarutkan dalam 100 ml aquades (50 ppm), dikocok hingga larut. Larutan baku induk kemudian di pipet dan dibuat beberapa seri larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm untuk

standar baku. Sebelum dilakukan penentuan kurva baku, maka dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dengan cara *scanning* standar baku dengan konsentrasi 6 ppm pada panjang gelombang 200-400 nm dan menentukan panjang gelombang maksimum.

2. Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades

Larutan baku standar dibuat dari larutan baku induk 50 ppm. Larutan baku induk 50 ppm digunakan untuk pengenceran baku standar 2, 4, 6, 8, 10 ppm. Masing-masing larutan standar ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum kemudian dibuat kurva baku dari hasil pengukuran tersebut.

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

Sejumlah *microspheres* yang setara dengan 50 mg metformin hidroklorida dibilas menggunakan *aquadest* untuk menghilangkan obat bebas. *Microspheres* kemudian digerus pada mortar lalu ditambahkan *aquadest* ad 100 ml dan disaring. Filtrat dianalisis menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan persen *entrapment efficiency* dilakukan menggunakan persamaan (1).

3.4.4 Penentuan Formula Optimum dengan *Software Design Expert*

Analisis data untuk memperoleh formula optimum dilakukan menggunakan metode desain faktorial. Dari data hasil pengujian persen *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida didapatkan harga untuk masing-masing respon untuk melengkapi persamaan (4), sehingga didapatkan persamaan umum hubungan antara faktor dan respon (persen *entrapment efficiency*).

Berdasarkan rumus $Y = b_0 + b_a X_A + b_b X_B + b_{ab} X_A X_B$ dapat dihitung harga koefisien b_0, b_a, b_b, b_{ab} . Dari hasil perhitungan menggunakan rumus ini, dapat dibuat *countour plot* dengan menggunakan *software design expert 10.0.2 versi trial*. Pembuatan *countour plot* 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 persen *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa.

3.4.5 Karakteristik *Microspheres* Metformin Hidroklorida

a. Penentuan Persen *Drug Loading* (Garud & Garud, 2012)

Drug loading menunjukkan berapa besar efisien formula yang digunakan dalam preparasi. Penentuan *drug loading* didapat dari rasio berat metformin yang sebenarnya dalam preparasi yang didapat dari perkalian antara persen EE dan berat metformin teoritis dibagi dengan berat *microspheres* yang sebenarnya setelah pengeringan. Perhitungan persen *drug loading* dapat dilakukan menggunakan persamaan (2).

b. Penentuan Persen *Yield* (Garud & Garud, 2012)

Presentase *yield* dihitung untuk mengetahui berapa besar efisien metode yang digunakan sehingga membantu menentukan metode pembuatan *microspheres* yang tepat. Untuk menghitung persen *yield* yang didapatkan dilakukan dari rasio jumlah *microspheres* yang dihasilkan dari preparasi dan jumlah total substansi obat dan polimer. Perhitungan persen *yield* dapat dilakukan menggunakan persamaan (3). Pada perhitungan persen *yield*, *microspheres* yang didapat dikeringkan dahulu pada *oven* dengan suhu 60°C hingga didapat berat konstan *microspheres* yang sebenarnya.

c. Analisis *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Maji *et al.*, 2012)

Ukuran, bentuk dan morfologi permukaan *microspheres* dapat dilihat menggunakan *scanning electron microscopy* (SEM). Sejumlah *microspheres* disebarkan pada bagian *double adhesive stub* dan ditempatkan di *scanning electron microscopy chamber*.

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

Analisis gugus fungsi menggunakan alat spektrofotometri FT-IR dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan gugus fungsi metformin hidroklorida dengan etil

selulosa setelah proses emulsifikasi. Untuk melakukan analisis dengan FT-IR, sampel *microspheres*, metformin hidroklorida dan etil selulosa masing masing ditambahkan dihaluskan terlebih dahulu menggunakan mortir. Kemudian diletakkan pada plat ATR. Pemeriksaan gugus fungsi dilakukan pada bilangan gelombang 450-4000 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1} . Setiap pergantian sampel dan setelah digunakan plat ATR dibersihkan menggunakan tisu basah isopropil 70% kemudian dikeringkan dengan tisu.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Peningkatan konsentrasi span 80 sebagai surfaktan dan lama pengadukan masing-masing memiliki pengaruh menurunkan nilai *entrapment efficiency*. dengan Interaksi antara kedua faktor tersebut juga memiliki pengaruh menurunkan nilai *entrapment efficiency*.
2. Kombinasi optimum antara konsentrasi span 80 dan lama pengadukan untuk memperoleh persen *entrapment efficiency* tertinggi adalah 2% dan 2 jam.
3. Karakteristik kompleks pada formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa dengan menggunakan metode *non aqueous solvent evaporation* ditunjukkan dengan munculnya puncak khas dari metformin hidroklorida dan tidak adanya interaksi yang dapat mempengaruhi gugus fungsi metformin hidroklorida sebagai bahan aktif obat.
4. *Microspheres* metformin hidroklorida-etil selulosa yang terbentuk memiliki persen *drug loading* sebesar 12,727 % , persen *yield* sebesar 90,010 % . Rata-rata ukuran partikel yang didapatkan dengan menggunakan SEM sebesar 136,7 μm .

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

- Anonim. 1988. *Emulgator dalam Bidang Farmasi*, 70-71. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Birnaum, D.T., & Peppas, L.B. 2004. *Microparticle drug delivery systems*. In: *Brown, D.*, (Editor), Drug delivery systems in cancer therapy. Humana Press, Totowa N.J.
- Bodmeier, R. & McGinity, J. W. 1987. Polylactic acid microspheres containing quinidine base and quinidine sulphate prepared by the solvent evaporation technique II. Some process parameters influencing the preparation and properties of microspheres. *J. Microencap.* Vol. 4, 289-297.
- Bolton, S., & Bon, C. 2004. *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications*. New York: Marcel Dekker..
- Chowdary, V.M., N.H. Rao, & Malathi, K., 2004. Ethyl cellulose microspheres of glipizide: characterization, in vitro and in vivo evaluation. *Indian J Pharm Sci.* Vol. 66 (4) : 412-416.
- 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 Microsphere Containing Antidiabetic (Metformin Hydrochloride) Drug. *Int. J. PharmTech Research.* Vol. 2 (1): 378-384.
- Goyal., M., Rajesh, P., Kapil, K. P., & Mehta, S. C. 2011. Floating Drug Delivery System. *IJPSR.* Vol. 5(1): 7-18
- Hereba AT., Elblbesy MA., & Shawki MM. 2012. Study of the Effect of Magnetic Microspheres on Some Biophysical Parameters of Human Blood (In vitro Study). *J Biotechnol Biomater.* Vol. 2:135.
- 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.* Vol. 45(1), 75– 82.

Hire, N. N., Derle, D.V. 2014. Microsphere As Drug Carrier: A Review. *RRJPPS*. Vol.2(3), 901-913.

International Diabetes Foundation Diabetes Atlas, 6th Edition, (2013). International Diabetes Foundation (IDF). Available from : http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf[Accessed 15 November 2015]

Jalil, R. & Nixon, JR. 1990. Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-coglycolide) microcapsules-problems associated with preparative techniques and release properties. *J. Microencap.* Vol. 7: 297-325.

Kencana, A. 2009. *Perlakuan Sonikasi Terhadap Kitosan: Viskositas dan Bobot Molekul Kitosan. Skripsi.* Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Khan, A. I., Lei, L., Norquist, A. J., & O'Hare, D. 2001. Intercalation and controlled release of pharmaceutically active compounds from a layered double hydroxide. *Chem. Commun.* 2342–2343.

Kumar, A., & Bansal, M. 2014. Formulation and evaluation of antidiabetic tablet: effect of absorbtion enhancer. *WJPR*. Vol. 3(10), 1426-1445.

Maji, R., Ray, S., Das, B., & Kumar, A. 2012. Ethyl Cellulose Microparticles Containing Metformin HCl by Emulsification-Solvent Evaporation Technique: Effect of Formulation Variables. *ISRN Polymer Science*.

Marliasih, P. H. 2011. *Pembuatan dan karakteristik mikrokapsul natrium diklofenak menggunakan HPMC HP-55 dan Eudagrit L 100-55 sebagai sediaan lepas lambat.* Universitas Indonesia.

Muhaimin. 2013. Study Of Microparticle Preparation By The Solvent Evaporation Method Using Focused Beam Reflectance Measurement (Fbrm) Disertation. University Berlin.

- Murtaza, G. 2012. Ethylcellulose Microsarticels: A Review. *Acta Pol. Pharm.* Vol. 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.* Vol. 3(4): 573–590.
- Narang, N. 2011. An Updated Review On : Floating Drug Delivery System (FDDS). *Int. J. App. Pharm.* Vol. 3(1): 7.
- O'Donnell, P. B., & McGinity, J. W. 1997. Preparation of Microspheres by The Solvent Evaporation Technique. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Vol.28(1), 25–42.
- Pachua., L., Mazmumder., B. 2009. A study on the effect of different surfactant on Ethylcellulose microsphere. *Int. J. PharmTech Research CODEN (USA)*: Vol.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), pp. 117–27.
- Patel, A., Ray, S., & Thakur, R. A. M. S. 2006. Invitro Evaluation And Optimization of Controlled Release Floating Drug Delivery System Of Metformin Hydrochloride. *Daru*, 14(2). pp. 57–64.
- Prasanth, V.V., Moy, A. C., Mathew, S. T., & Mathapan, R. 2011. Microspheres- An Overview. *J Pharm Biomed Sci.* Vol.2(2).
- 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.*, Vol. 4(3): 972–978.
- Rosca, I. D., Watari, F., & Uo, M. 2004. Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation. *J. Controlled Release.* Vol. 99: 271-280.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., & Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6th edition. 580-584. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association 2009. Washington D.C.

- Sappidi, S., Thadkala, K., Kota, J., & Aukunuru, J. 2014. Preparation and Characterization of Ethyl Cellulose Microspheres Encapsulating Metformin Hydrochloride and Glipizide. *Schol. Res. Lib.*, Vol. 6(4): 213–226.
- 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.*, Vol. 25(12): 2991–3026.
- Sharma, V. K., Nautiyal, V., Goel, K., K., Sharma, A. 2010. Assesment of Thermal Stability of Metformin Hydrochloride. *Asian J. Chem.* Vol. 22 (5): 3561-3566.
- Siregar, C. J. P. 2005. *Farmasi Klinik : Teori dan Penerapan*. Penebit Buku Keedokteran EGC. Jakarta.
- Siregar, C.J.P. dan Wikarsa, S. 2010. *Teknologi Farmasi Sediaan Tablet: Dasar-Dasar Praktis*. Jakarta: EGC. Halaman 13-14.
- Stepensky, D., Friedman, M., Sour, W., & Hoffmann A. 2001. Preclinical evaluation of pharmacokinetic pharmacodynamic rationale for oral CR metformin formulation. *J Control Rel.* Vol. 71:107-15.
- Sweetman, S.C. 2009. *Martindale 36 The Complete Drug Reference*. London: The Pharmaceutical Press.
- Tsai, D.C., 1986. Preparation and in vitro evaluation of polylactic acid mitomycin C microcapsules. *J. Microencap.* Vol. 3: 181-193.
- 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.*, Vol. 255(1-2), 13–32.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Wise, D.L. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. Marcel Dekker, Inc. New York.

LAMPIRAN

A. Certificate Of Analysis Metformin Hidroklorida

HILDOSE

SEYAM CEMBERS, 160186, 1ST FLOOR, S.V. ROAD, GOROGAON (WEST), MEMBAH-80062 •
TEL: 0025-22-2676699 / 2676477 / 73 • FAX: 0025-22-2676692

DATE : 08/07/2013

ISO-9001-2008
CERTIFIED

FQ/02
ISSUE NO. :- 01

CERTIFICATE OF ANALYSIS

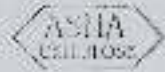
ITEM : METFORMIN HCL BP (PARTICLE SIZE = 100 MESH) ✓
 MFG. DT. : JUNE 2013
 EXP. DT. : MAY 2018 ✓
 BATCH QTY. : 999 KGS.
 BATCH NO. : E 0427 06 13-14 ✓

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 methyl-ene chloride	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in acetone and in methylene chloride ✓
Identification	A. MP: 223°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%	0.007% 0.053% 0.087%
Heavy metals	NMT 10 ppm	< 10 ppm
Substant 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	98.13% passing through 100 mesh sieve

NOTE: THE ABOVE PRODUCT IS GUARANTEEING TO THE SPECIFIED LIMITS MENTIONED ABOVE.

PREPARED BY : *Alhamdi* CHECKED BY : *lf*

B. Certificate Of Analysis Etil Selulosa


ASHA CELLULOSE (I) PVT. LTD.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Name of Product : **ASHACEL[®] - Ethylcellulose**
 Sample Number : **H91** Analytical Report No. : **PCPS/91**
 Sample Quantity : **1.0 Kg** Viscosity Grade : **MP-30**
 Date of Sample : **22.07.2014** Year of Mfg. : **Jun. 2014**
 Mfg. License No. : **CI/1659** Date of Exp. : **May. 2016**
 Name of Manufacturer : **Asia Cellulose (I) Pvt. Ltd., Village - 256 001, Gujarat, India**


Slr.	TEST	UNIT	RESULTS	SPECIFICATION	METHOD
1.	Appearance		Light to grayish powder, Almost odorless	White to light tan granular powder, odorless or faint odorless	IP/EP/IP
2.	Identification		Matches with standard IR	To meet requirement by IR	HPLC/QUALIMP
3.	Solubility		Passes	Insoluble in water, glycerol (25%) and propylene glycol. The solution may show slight opalescence. Soluble in methylene chloride and 80:20 mixture of Toluene: Ethanol. Slight soluble in ethyl acetate and ethanol.	IP/EP
4.	Loss on Drying	%	20.25	1.00 to 23.00	IP/EP/USP/EP
5.	Acid Insoluble Matter	%	0.01	0.00 to 0.04	IP/EP/USP/EP
6.	Loss on Ignition	%	1.04	Not more than 2.00	IP/EP/USP/EP
7.	pH of 1% w/v solution		7.24	5.50 to 8.00	IP
8.	Acid Insoluble Matter	%	Less than 0.05	Not more than 0.05	USP/EP/EP
9.	Residue on filtration		Passes	Test solution to pink with phosphoric acid and with methyl red.	USP/EP/EP
10.	Residue on ignition	%	0.58	Not more than 0.40	IP/EP/USP/EP
11.	Free Formaldehyde	ppm	Less than 10	Not more than 10	IP/EP/USP/EP
12.	Ammonia	ppm	Less than 2	Not more than 2	IP
13.	Lead	ppm	Less than 2	Not more than 2	USP/EP
14.	Iron	ppm	Less than 100	Not more than 100	USP/USP/EP
15.	Residue on ignition	ppm	Complies	To meet requirement	USP/EP

[Signature]
Approved

[Signature]
Approved (QC/QC I)

[Signature]
Director (Technical)

Date: 24.07.2014
 Date of Issue: 01.08.2014
 QCS/R45A



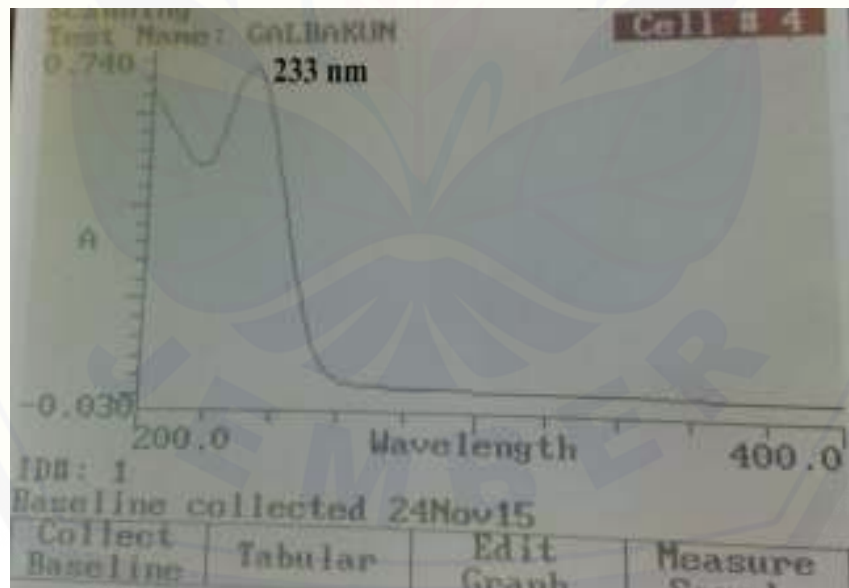
C. Scanning Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida

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		

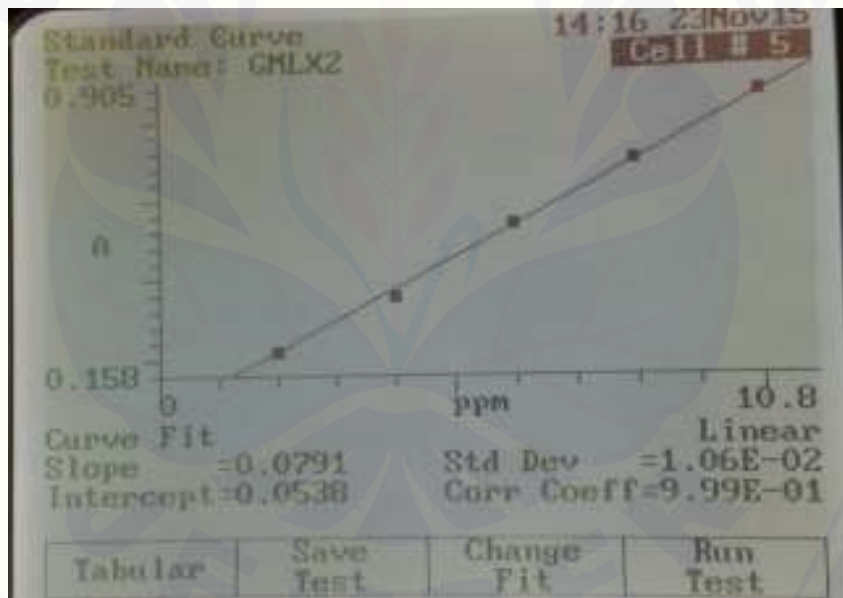


D. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades

Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
2,000	0,220
4,000	0,355
6,000	0,533
8,000	0,691
10,000	0,843

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

Persamaan Regresi Kurva Baku : $y = 0,0791x + 0,0538$



E. Hasil Perhitungan Persen *Entrapment Efficiency*

No	Formulasi	Replikasi	Notasi Desain Faktorial			Persen <i>Entrapment Efficiency</i>	Rata-rata persen <i>Entrapment Efficiency</i> ± SD
			X_A	X_B	$X_A X_B$		
1	(1)	1	-1	-1	+1	80,187 %	80,187 % ± 0,260 %
		2				79,927 %	
		3				80,447 %	

F. Contoh Perhitungan Persen *Entrapment Efficiency*

- Diketahui : Berat *microspheres* yang didapat = 4,8005 gram
Kadar Hasil Pengamatan = 4,023 ppm
- Menimbang *microspheres* yang setara dengan 5 mg metformin hidroklorida
- $$\frac{\text{berat metformin HCl yang ditimbang}}{\text{berat } microspheres \text{ yang didapat}} = \frac{0,005 \text{ gram}}{x}$$

$$\frac{0,750 \text{ gram}}{4,8005 \text{ gram}} = \frac{0,005 \text{ gram}}{x}$$

$$X = 0,032 \text{ gram}$$
- Hasil penimbangan = 0,0322 gram
- $$\text{Jumlah Metformin-HCl dalam sampel} = \frac{0,0322 \text{ g}}{4,8005 \text{ g}} \times 0,750 \text{ g} = 5,030 \times 10^{-3} \text{ g}$$

$$= 5,030 \text{ mg}$$
- $$\text{Kadar Metformin Teoritis} = \frac{5,030 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 50,30 \text{ ppm}$$
- $$\text{Kadar Teoritis setelah pengenceran} = \frac{50,30}{10} = 5,030 \text{ ppm}$$
- Persen *entrapment efficiency*

$$\frac{4,023}{5,030} \times 100\% = 79,981\%$$

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 (δ) = 20.00

Noise (σ) = 5.00 Signal/Noise (δ/σ) = 4.00

A	B
99.9 %	99.9 %

G.2. Hasil Uji ANOVA

Response 1 %EE

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F Value</i>	<i>P-value Prob > F</i>	
<i>Model</i>	4070.35	3	1356.78	1807.84	< 0.0001	significant
A-Konsentrasi Span 80	3244.89	1	3244.89	4323.65	< 0.0001	
B-Lama Pengadukan	734.35	1	734.35	978.48	< 0.0001	
AB	91.11	1	91.11	121.40	< 0.0001	
<i>Pure Error</i>	6.00	8	0.75			
<i>Cor Total</i>	4076.35	11				

The Model F-value of 1807.84 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.	0.87	R-Squared	0.9985
Mean	58.68	Adj R-Squared	0.9980

C.V. % 1.48 Pred R-Squared 0.9967
 PRESS 13.51 Adeq Precision 97.035
 -2 Log Likelihood 25.74 BIC 35.68
 AICc 39.46

The "Pred R-Squared" of 0.9967 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9980; 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 97.035 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	58.68	1	0.25	58.10	59.25	
A-Konsentrasi Span 80	-16.44	1	0.25	-17.02	-15.87	1.00
B-Lama Pengadukan	-7.82	1	0.25	-8.40	-7.25	1.00
AB	-2.76	1	0.25	-3.33	-2.18	1.00

Final Equation in Terms of Coded Factors:

Entrapment efficiency =
+58.68
-16.44 * A
-7.82 * B
-2.76 * AB

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:

EE =
+98.49950
-4.08892 * Konsentrasi Span 80
-2.31192 * Lama Pengadukan

-1.37771 * Konsentrasi Span 80 * Lama Pengadukan

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*

$$\text{Efek Faktor A} = \frac{52,809 + 31,653}{2} - \frac{80,187 + 70,019}{2} = -32,872$$

$$\text{Efek Faktor B} = \frac{70,019 + 31,653}{2} - \frac{80,187 + 52,809}{2} = -15,662$$

$$\text{Efek Faktor AB} = \frac{80,187 + 31,653}{2} - \frac{52,809 + 70,019}{2} = -5,494$$

G.4. Constraints

Constraints

Name	Goal	Lower		Upper		Importance
		Limit	Limit	Weight	Weight	
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	31.434	80.447	1	1	3

H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum *Microspheres Metformin Hidroklorida*

H.1. Contoh Perhitungan Persen *Drug Loading*

- Diketahui : Persen *entrapment efficiency* = 79,981%

Berat metformin HCl = 0,750 gram
 Berat *microspheres* = 4,8005 gram

- Persen *drug loading* = $\frac{79,981\% \times 0,750}{4,8005} \times 100\% = 12,49\%$

H.2. Contoh Perhitungan Persen Yield

- Diketahui : Berat *microspheres* didapat = 4,8005 gram
 Berat *microspheres* teoritis = 5,250 gram

Persen Yield = $\frac{4,8005 \text{ gram}}{5,250 \text{ gram}} \times 100\% = 91,438\%$

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

No	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	160	140	120
2	160	180	120
3	180	180	180
4	100	180	120
5	140	120	160
6	180	120	80
7	100	140	100
8	160	100	180
9	120	160	120
10	80	160	180
11	80	100	140
12	120	180	180
13	140	60	60
14	160	80	80

15	120	180	100
16	100	160	100
17	100	180	120
18	120	120	120
19	160	140	80
20	140	80	180
21	180	140	160
22	180	180	180
23	160	160	180
24	180	160	160
25	100	120	140
26	120	60	60
27	180	140	120
28	120	160	100
29	140	80	180
30	160	180	160
31	100	100	180
32	80	120	140
33	80	160	100
34	100	140	140
35	160	180	120
36	200	160	120
37	140	120	160
38	180	120	180

39	180	180	180
40	80	80	120
41	160	120	80
42	180	60	100
43	100	120	160
44	100	100	180
45	120	180	120
46	140	140	140
47	160	100	160
48	100	160	180
49	180	180	120
50	200	180	140
Rata-rata	137,6	136,8	135,6

I. Dokumentasi Penelitian

I.1. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian



Metformin hidroklorida yang digunakan



Etil Selulosa yang digunakan

I.2. Proses Penelitian yang Dilakukan



Proses penimbangan bahan aktif (metfomin hidroklorida) dan polimer (etil selulosa) menggunakan timbangan *analytic digital*



Proses pengadukan dengan
four blades propeller



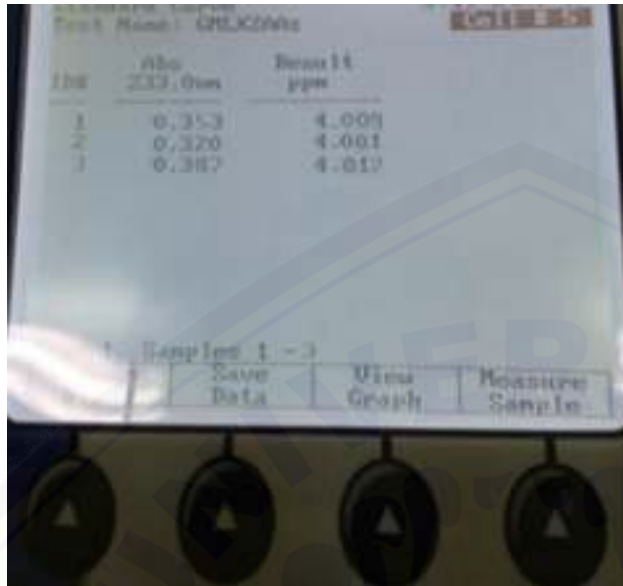
Microspheres yang terbentuk setelah proses
pengadukan dengan
four blades propeller



Proses penyaringan
microspheres menggunakan
corong *buchner*



Proses pencucian *microspheres*
dengan *Petroleum ether*



Ida	Abs	Conc 11 ppm
1	0.353	4.009
2	0.320	4.001
3	0.387	4.017

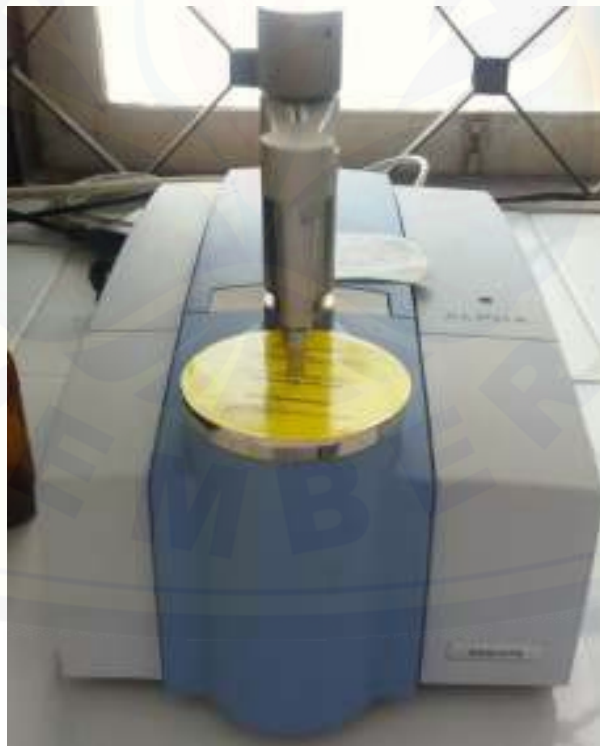
1. Samples 1 - 3

Save Data View Graph Measure Sample



Pengujian *entrapment efficiency* menggunakan spektrofotometer UV-VIS

Karakterisasi bentuk, ukuran dan morfologi *microspheres* dengan SEM



Karakterisasi kompleks *microspheres* dengan FTIR