



**Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin  
Hidroklorida Menggunakan Polimer Etil Selulosa**

**SKRIPSI**

Oleh

**Amalia Fadila  
NIM 122210101006**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**OPTIMASI KECEPATAN DAN LAMA PENGADUKAN DALAM  
PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN HIDROKLORIDA  
MENGUNAKAN POLIMER ETIL SELULOSA**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Studi Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember dan meraih gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Amalia Fadila  
NIM 122210101006**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Kedua orang tuaku Ibu Marwati dan Bapak Tarsik Wardiono yang telah memberikan dukungan materi maupun *non* materi dan tidak pernah lelah maupun mengenal waktu untuk membimbingku;
2. Seluruh keluarga, keluarga kos Kalimantan X no 39, keluarga kos Kalimantan X no.139, teman-teman kelompok penelitian *microspheres* dan teman-teman petruk rolas yang memberikan dukungan dan semangat pada masa perkuliahan sampai penulis menyelesaikan studi strata satu (S1);
3. Semua bapak/ibu guru sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mengajarkan banyak ilmu, dan
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

“Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah.” (Thomas Alva Edison)

"Kebanggaan kita yang terbesar adalah bukan tidak pernah gagal, tetapi bangkit kembali setiap kali kita jatuh." (Confusius)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amalia Fadila

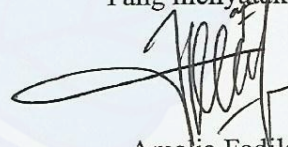
NIM : 122210101006

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida Menggunakan Polimer Etil Selulosa “ adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada intitusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Karya tulis ilmian ini merupakan hasil penelitian yang telah dilakukan sendiri selama lima bulan (mulai 1 November 2015 s/d 10 maret 2016). 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 Mei 2016

Yang menyatakan,



Amalia Fadila

NIM.122210101006

**SKRIPSI**

**OPTIMASI KECEPATAN DAN LAMA PENGADUKAN  
DALAM PREPARASI *MICROSPHERES* METFORMIN  
HIDROKLORIDA MENGGUNAKAN POLIMER ETIL SELULOSA**

Oleh

Amalia Fadila

NIM 122210101006

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

Hari, Tanggal : Selasa, 19 April 2016

Tempat : Ruang Kuliah 2

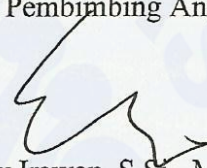
Dosen Pembimbing Utama,



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

NIP: 197910032003122001

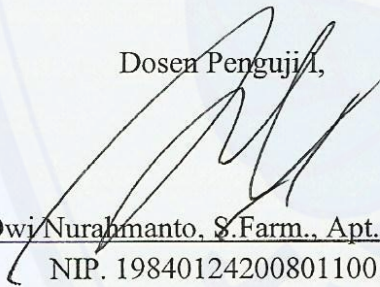
Dosen Pembimbing Anggota,



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

NIP: 197503092001121001

Dosen Penguji I,



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

NIP. 198401242008011001

Dosen Penguji II,



(Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D)

NIP. 196902011994031002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

NIP.197604142002122001

## RINGKASAN

**Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida Menggunakan Polimer Etil Selulosa;** Amalia Fadila; 64 halaman; Fakultas Farmasi; Universitas Jember.

Metformin HCl merupakan obat antihiperlikemik golongan biguanida yang digunakan secara peroral pada terapi diabetes mellitus *noninsulin-dependent* dan menjadi *first line* pada terapi pengobatan diabetes karena tidak menyebabkan efek samping hipoglikemia pada dosis yang rasional seperti halnya obat lain. Metformin memiliki beberapa kekurangan seperti waktu paruh biologis yang pendek, bioavailabilitas yang kurang baik dan efek samping terjadi gangguan gastrointestinal.

Sediaan Metformin HCl yang beredar dipasaran berupa sediaan oral konvensional. Rute pemberian peroral paling disukai sebagai rute penghantaran obat menuju sirkulasi sistemik, namun sediaan oral dalam bentuk konvensional umumnya tidak dapat menahan dan melokalisasi sediaan pada sistem *gastrointestinal*. Masalah-masalah tersebut dapat diatasi dengan menggunakan formulasi *controlled released* (CR) oral yang salah satu manfaatnya adalah meningkatkan *gastro retention time* (GRT).

Sistem Penghantaran obat yang meningkatkan GRT dapat dirancang *single unit* maupun *multiple unit*. Penggunaan sistem *multiple unit* seperti *microspheres* dapat menghindari sifat *all or none* pada proses pengosongan lambung, selain itu sediaan ini juga menunjukkan hasil yang lebih baik dari pada *single unit*.

Metode preparasi *microspheres* yang paling umum digunakan adalah metode *non-aqueous solvent evaporation*. Metode ini memiliki kemudahan dalam fabrikasi tanpa menurunkan aktivitas bahan aktif. Selain itu metode ini juga sangat tepat diaplikasikan pada bahan obat yang mudah larut air.

Etil selulosa merupakan polimer *nonbiodegradable*, *biocompatible*, tidak beracun, dan banyak digunakan dalam formulasi produk farmasi. Etil selulosa telah banyak diteliti sebagai polimer enkapsulasi sediaan *sustained released* pada beberapa



obat dan saat ini banyak diteliti penggunaan polimer etil selulosa dalam sediaan *microspheres*.

Tahap preparasi seperti kecepatan dan lama pengadukan telah diketahui berpengaruh pada beberapa aspek seperti bentuk, ukuran dan distribusi ukuran partikel, laju pelepasan dan *entrapment efficiency* yang dimiliki *microspheres*. Desain faktorial digunakan sebagai metode optimasi dalam penelitian untuk menentukan komposisi kecepatan dan lama pengadukan serta interaksi keduanya untuk memperoleh *entrapment efficiency* paling optimum. Hasil analisis menunjukkan bahwa kecepatan dan lama pengadukan berpengaruh signifikan terhadap respon yang dihasilkan. Berdasarkan analisis dengan *software design expert* versi *trial 10.0.0* Kecepatan pengadukan berpengaruh meningkatkan *entrapment efficiency*, Lama pengadukan berpengaruh menurunkan *entrapment efficiency*, dan interaksi keduanya berpengaruh meningkatkan *entrapment efficiency*. Kombinasi optimum antara kecepatan dan lama pengadukan untuk memperoleh nilai *entrapment efficiency* maksimum adalah 1000rpm selama 2 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *microspheres* metformin HCl yang terbentuk memiliki nilai *entrapment efficiency* = 84,470 %, hasil tersebut relatif mendekati nilai *entrapment efficiency* hasil prediksi desain faktorial serta memiliki *drug loading* = 12,067 %  $\pm$  0,0649 dan nilai *yield* = 99,44 %  $\pm$  0,123. Partikel *microspheres* metformin HCl yang dihasilkan memiliki morfologi permukaan relatif halus, berwarna putih kekuningan, dan berbentuk *spheris* dengan rata-rata ukuran partikel 157,5  $\mu\text{m}$   $\pm$  1,007. Pembentukan kompleks *microspheres* antara metformin HCl dan etil selulosa juga tidak menunjukkan adanya interaksi yang mengakibatkan perubahan gugus fungsi pada metformin HCl sebagai bahan aktif.

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida Menggunakan Polimer Etil Selulosa”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Walaupun penulis telah berusaha maksimal dalam menyelesaikan skripsi ini namun penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih sangat banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Lusia Oktora Ruma K.S, S.F., M.Sc., Apt dan Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah meluangkan waktu, dengan sabar membimbing, mengarahkan dan memberikan motivasi kepada penulis yang dalam penulisan skripsi ini;
2. Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Semua staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat kepada penulis.
4. Seluruh tim penelitian *microspheres* yakni Nindut, Choi dan Daon yang telah turut saling membantu dalam proses penelitian di Laboratorium.
5. Laboran Bu Itus, Mbak Titin, Bu Wayan dan Mbak Hani yang telah banyak membantu dalam proses penelitian skripsi ini.
6. Ayah Tarsik Wardiono dan Ibu Marwati yang telah merawat dan membesarkan penulis dengan penuh cinta kasih sayang, selalu memberikan semangat dan mendoakan dalam mengerjakan skripsi ini. Semoga beliau selalu diberikan kesehatan dan dirahmati oleh Allah SWT.

7. Anshory yang telah memberiku semangat, dukungan, serta doanya dalam mengerjakan skripsi.
8. Sahabat-sahabatku dan semua anak kost Kalimantan No 139. Teman-teman seperjuangan Petruk Rolas dan teman-teman KKN 111 terima kasih atas semangat dan kebersamaan yang sangat membantu terselesainya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat.

Jember, 26 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>ii</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>MOTTO.....</b>	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>viii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>5</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>6</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 <i>Microspheres</i>.....</b>	<b>7</b>
2.1.2 Manfaat <i>Microspheres</i> .....	7
2.1.2 Preparasi <i>Microspheres</i> .....	8
2.1.3 Metode <i>non-aqueous solvent evaporation</i> .....	10
2.1.4 Karakteristik <i>Microspheres</i> .....	11
<b>2.2 Metformin Hidroklorida.....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Etil selulosa.....</b>	<b>14</b>
<b>2.4 Desain faktorial.....</b>	<b>14</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
<b>3.1 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan.....</b>	<b>17</b>
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan.....	17
<b>3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>3.4 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>20</b>

3.4.1 Rancangan Optimasi Formula.....	20
3.4.2 Preparasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	21
3.4.3 Penetapan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	22
3.4.4 Penentuan Formula Optimum.....	23
3.4.5 Karakterisasi Formula Optimum.....	23
<b>BAB 4. PEMBAHASAN</b>	
<b>4.1 Hasil Pembuatan <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida .....</b>	<b>25</b>
<b>4.2 Hasil Penentuan <i>Entrapment Efficiency Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....</b>	<b>27</b>
4.2.1 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida.....	27
4.2.2 Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	29
<b>4.3 Analisis Desain Faktorial dan Penentuan Daerah Optimum.....</b>	<b>31</b>
<b>4.4 Karakterisasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida Optimum.....</b>	<b>37</b>
4.4.1 <i>Drug loading</i> .....	37
4.4.2 <i>Yield</i> .....	38
4.4.3 Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) .....	38
4.4.4 Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	40
<b>BAB 5. PENUTUP</b>	
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>46</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Rancangan desain faktorial untuk dua faktor dan dua <i>level</i> .....	20
3.2 Susunan <i>level faktor</i> berdasarkan desain faktorial.....	20
3.3 Formula <i>microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	20
3.4 Preparasi <i>microspheres</i> metformin hidroklorida.....	21
4.1 Hasil pengujian <i>entrapment efficiency</i> .....	29
4.2 Nilai efek faktor kecepatan dan lama pengadukan serta interaksi keduanya..	31
4.3 Solusi yang ditawarkan oleh desain faktorial.....	36
4.4 Nilai persen <i>drug loading</i> formula optimum.....	37
4.5 Nilai persen <i>yield</i> untuk formula optimum.....	38
4.6 Hasil penentuan ukuran partikel <i>microspheres</i> metformin hidroklorida.....	40
4.7 Identifikasi puncak spektra spesifik metformin Hidroklorida.....	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Penampakan <i>Microspheres</i> .....	7
2.2 Skema tahapan preparasi nanopartikel dengan metode <i>solvent evaporation</i>	9
2.3 Struktur Kimia Metformin.....	13
2.4 Struktur Etil Selulosa.....	14
3.1 Skema Langkah Kerja Penelitian.....	19
4.1 Serbuk <i>microspheres</i> metformin-HCl.....	26
4.2 Spektra panjang gelombang Metformin Hidroklorida.....	27
4.3 Kurva baku metformin hidroklorida.....	28
4.4 Kurva rata-rata hasil penentuan EE masing-masing formula.....	30
4.5 <i>Contour plot</i> 2D untuk respon persen <i>entrapment efficiency</i> .....	34
4.6 <i>Contour plot</i> 3D untuk respon persen <i>entrapment efficiency</i> .....	35
4.7 <i>Overlay plot</i> .....	36
4.8 Hasil analisis morfologi permukaan dan bentuk <i>microspheres</i> .....	39
4.9 Spektra FTIR metformin hidroklorida murni.....	41
4.10 Spektra FTIR etil selulosa murni.....	41
4.11 Spektra FTIR <i>microspheres</i> metformin hidroklorida.....	42
4.12 <i>Overlay</i> spektra kompleks metformin HCl, metformin HCl, dan etil selulosa.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. <i>Certificate Of Analysis</i> Metformin Hidroklorida.....	49
B. <i>Certificate Of Analysis</i> Etil Selulosa.....	50
C. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida.....	51
D. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades.....	55
E. Penentuan Lenieritas, LOD dan LOQ Standart	55
F. Hasil Perhitungan Persen <i>Entrapment Efficiency</i> .....	56
G. Contoh Perhitungan Persen <i>Entrapment Efficiency</i> .....	56
H. Hasil Analisis Desain Faktorial.....	57
H.1. Kekuatan Faktor dari Desain Faktorial.....	57
H.2. Hasil Uji ANOVA.....	57
H.3. Perhitungan Efek Faktor dan Interaksinya Terhadap Persen <i>Entrapment Efficiency</i> .....	59
H.4. Constraints.....	59
H.5 Solusi yang ditawarkan <i>design expert</i> .....	59
I. Hasil Karakterisasi Formula Optimum <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	59
I.1. Contoh Perhitungan Persen <i>Drug Loading</i> .....	59
I.2. Contoh Perhitungan Persen <i>Yield</i> .....	60
I.3. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel <i>Microspheres</i> Menggunakan SEM	60
J. Dokumentasi Penelitian.....	61



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia. Kondisi ini timbul sebagai akibat kurangnya sekresi insulin, daya kerja insulin yang menurun atau dapat keduanya (Block *et al.*, 2008). Diabetes merupakan penyebab kematian dalam kategori mayor di dunia. Berdasarkan pencatatan dari WHO teridentifikasi 171 juta jiwa terjangkit diabetes pada tahun 2005 dan akan meningkat menjadi 366 juta jiwa pada tahun 2030 (Ghodake *et al.*, 2010). Dilansir dari majalah Tempo Indonesia, menurut Profesor Nam Cho, Ketua *International Diabetes Federation* untuk kawasan Asia Pasifik (IDF-WPR), Indonesia menduduki peringkat ke-5 penderita diabetes tertinggi di Dunia dengan total penderita sebanyak 9,1 juta penduduk pada November 2014 dan diperkirakan akan mencapai 14,1 juta penduduk pada tahun 2035 (Yakin, 2014).

Metformin HCl merupakan obat antihiperglikemik golongan biguanida yang digunakan secara peroral pada terapi diabetes mellitus *noninsulin-dependent* (diabetes mellitus tipe II), bekerja dengan memperbaiki sensitivitas hepatic dan peripheral terhadap insulin tanpa menstimulasi sekresi insulin serta menurunkan absorpsi glukosa dari saluran lambung-usus. Obat ini dapat digunakan secara tunggal atau dikombinasikan dengan hipoglikemik lainnya (Block *et al.*, 2008). Dosis metformin HCl adalah 500 mg, 850 mg, 1000 mg, dua sampai tiga kali sehari (Sweetman, 2009). Obat ini menjadi *first line* pada terapi pengobatan diabetes karena tidak menyebabkan efek samping hipoglikemia pada dosis yang rasional seperti halnya obat lain (Ghodake *et al.*, 2010).

Metformin memiliki waktu paruh biologis yang pendek yaitu sekitar 4,5 jam dan umumnya dibutuhkan sebanyak 1,5-3 gram / hari, sehingga untuk

mempertahankan kadar obat dalam plasma tetap efektif perlu diberikan 2-3 kali sehari (Nath *et al.*, 2009 & Kshirsagar *et al.*, 2009). Selain itu obat ini memiliki bioavailabilitas yang kurang baik yakni 60% dan efek samping yang sering muncul adalah gangguan gastrointestinal dan toksisitas yakni sebanyak 30%. Berdasarkan alasan tersebut perlu dirancang formulasi metformin HCl yang dapat mengurangi frekuensi pemberian sehingga dapat meningkatkan kepatuhan pasien (Setter *et al.*, 2003 ; Ghadoke *et al.*, 2010).

Penghantaran obat secara *controlled release* (CR) dapat mengatasi masalah-masalah yang disebabkan penghantaran obat secara konvensional dan meningkatkan efikasi terapi dari obat yang digunakan. Penggunaan agen penghantaran obat menjadi sangat penting untuk mengatur pelepasannya sehingga didapatkan hasil terapeutik yang maksimal. Dengan demikian frekuensi penggunaan obat dapat dikurangi sehingga efek samping yang mungkin ditimbulkan juga berkurang dan kepatuhan pasien meningkat (Alagusdaram *et al.*, 2009)

Sediaan metformin-HCl yang beredar di pasaran adalah sediaan peroral dalam bentuk tablet. Rute pemberian obat secara oral merupakan rute yang paling disukai dan paling nyaman sebagai sarana penghantaran obat menuju sirkulasi sistemik tubuh. Sebagian besar obat yang diberikan secara oral terutama dalam bentuk konvensional tidak dapat menahan dan melokalisasi sediaan pada sistem *gastrointestinal* (Parmar *et al.*, 2010). Pada keadaan lambung tak terisi makanan terjadi proses pengosongan sedangkan saat terisi makanan terjadi gerakan *peristaltic* yang tak beraturan pada bagian *antrum*. Gerakan lambung ini sangat berpengaruh pada sistem penghantaran obat secara konvensional (Ami *et al.*, 2012).

Sistem penghantaran secara CR dapat dibuat dengan meningkatkan waktu tinggal obat di lambung (*gastro retention time*). Sistem obat yang meningkatkan *gastro retention time* (GRT) ini dapat dirancang *single unit* (misalnya tablet, kapsul, dan pil) maupun *multiple unit* (misalnya *microspheres*, *microballon*, liposom dan niosom). Bentuk sediaan CR *single unit* lebih mudah dikembangkan namun memiliki beberapa kelemahan diantaranya; (1) memiliki resiko kehilangan efeknya karena

adanya pengosongan lambung dengan sifat *all-or-none*, (2) perbedaan bioavailabilitas yang sangat tinggi, (3) dapat mengakibatkan iritasi lokal karena perbedaan jumlah obat pada posisi tertentu di *gastrointestinal track* (GIT). Penggunaan sistem *multiple unit* dengan ukuran *micro* dapat menghindari sifat *all-or-none* pada pengosongan lambung. Selain itu distribusinya lebih seragam di GIT sehingga dapat mengurangi variabilitas dalam penyerapan maupun masalah yang terkait lainnya. Preparasi *microspheres* lebih sederhana dan menghasilkan sediaan yang lebih stabil dibanding sediaan CR *multiple unit* lainnya sehingga sediaan ini lebih potensial untuk dikembangkan (Narang, 2011).

*Microspheres* merupakan sediaan yang terdiri dari polimer dan terdapat bahan obat yang terdispersi pada tingkat *molecular* atau *macroscopic*. Rentang ukuran yang dimiliki *microspheres* adalah 1-1000 mikrometer (Parmar *et al.*, 2010). Formulasi *microspheres* Metformin HCL ini juga dapat memperpanjang  $t_{1/2}$  metformin-HCL dari  $4,5 \pm 2,41$  jam menjadi  $14,12 \pm 4,81$  jam sehingga dapat meningkatkan durasi aksi obat dalam tubuh (Pandit *et al.*, 2013).

Secara umum *Microspheres* terdiri dari polimer yang akan menjerat atau menyerap molekul obat. Beberapa polimer baik polimer *biodegradable* maupun *nonbiodegradable* telah banyak diteliti sebagai matriks *microspheres*. Etil selulosa merupakan polimer *biocompatible*, tidak beracun, dan banyak digunakan dalam formulasi produk farmasi. Etil selulosa juga telah banyak diteliti sebagai polimer enkapsulasi sediaan *sustained released* pada beberapa obat (Maji *et al.*, 2012). Pada hasil penelitian Garud *et al.*, (2012) tentang preparasi dan evaluasi *in-vitro microspheres* Metformin-HCL menunjukkan bahwa pelepasan obat paling stabil dan ukuran partikel yang dihasilkan paling kecil pada *microspheres* dengan polimer etil selulosa dibandingkan polimer lain seperti chitosan, carbopol dan HPMC (Garud *et al.*, 2012).

Terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan untuk preparasi *microspheres* yakni : *solvent evaporation*, *Phase separation coacervation technique*, *Emulsion cross linked method*, *ionic gelatin*, *Spray drying*, dan *Multiple emulsion*

*polymerization technique* (Hemiata *et al.*, 2012). Preparasi menggunakan teknik *solvent evaporation* merupakan tehnik yang paling umum digunakan untuk pembuatan *microspheres*. Tehnik *solvent evaporation* merupakan tehnik yang mudah karena hanya membutuhkan alat-alat skala laboratorium seperti *beaker glass* dan *stirrer*, ekonomis, serta dapat dikontrol dengan baik untuk dilakukan preparasi yang membutuhkan faktor dan parameter pelepasan dalam skala besar. Tehnik ini telah banyak dikembangkan sejak tahun 1970-an (Naik *et al.*, 2012). Selain itu tehnik *solvent evaporation* mendapat banyak perhatian dan lebih disukai karena kemudahan dalam fabrikasi tanpa menurunkan aktivitas dan bahan aktif (Garud & Garud, 2012).

Tehnik *solvent evaporation* untuk pembuatan *microspheres* dilakukan dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*, yaitu bahan aktif obat dan bahan polimer dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian dilakukan emulsifikasi ke dalam fase eksternal yang bersifat lipofilik. Metode *non-aqueous solvent evaporation* ini tidak menggunakan air sebagai pelarut sehingga cocok untuk mengenkapsulasi bahan obat yang bersifat larut air (Herrmann & Bodmeier, 1998).

Pada penelitian Maji *et al.*, (2012) dilakukan penelitian tentang pembuatan *microspheres* menggunakan Etil selulosa sebagai polimer, span 80 sebagai surfaktan dan menggunakan tehnik *Emulsification-Solvent Evaporation*. Pembuatan *microspheres* yang mengandung Metformin HCl sangat dipengaruhi oleh beberapa variabel seperti konsentrasi polimer, kecepatan pengadukan, lama pengadukan, dan konsentrasi surfaktan (Maji *et al.*, 2012). Kecepatan pengadukan menjadi variabel yang berpengaruh pada bentuk *microspheres* yang dihasilkan. Semakin tinggi kecepatan pengadukan yang dilakukan, ukuran partikel *microspheres* yang dihasilkan akan semakin kecil (Tiwari & Verma, 2011).

Mengacu pada beberapa penjelasan diatas sangatlah diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimasi kecepatan dan lama pengadukan guna memperoleh formula yang paling optimum.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1 Apakah peningkatan kecepatan dan lama pengadukan serta interaksinya dapat mempengaruhi *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan metode *non-aqueous solvent evaporation*?
- 2 Berapa kecepatan dan lama pengadukan yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan *entrapment efficiency* optimum?
- 3 Adakah interaksi antara bahan aktif metformin hidroklorida dan polimer etil selulosa yang digunakan pada preparasi *microspheres* metformin hidroklorida?
- 4 Bagaimana karakteristik formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida (meliputi : *drug loading*, *yield*, dan ukuran partikel) yang dihasilkan?

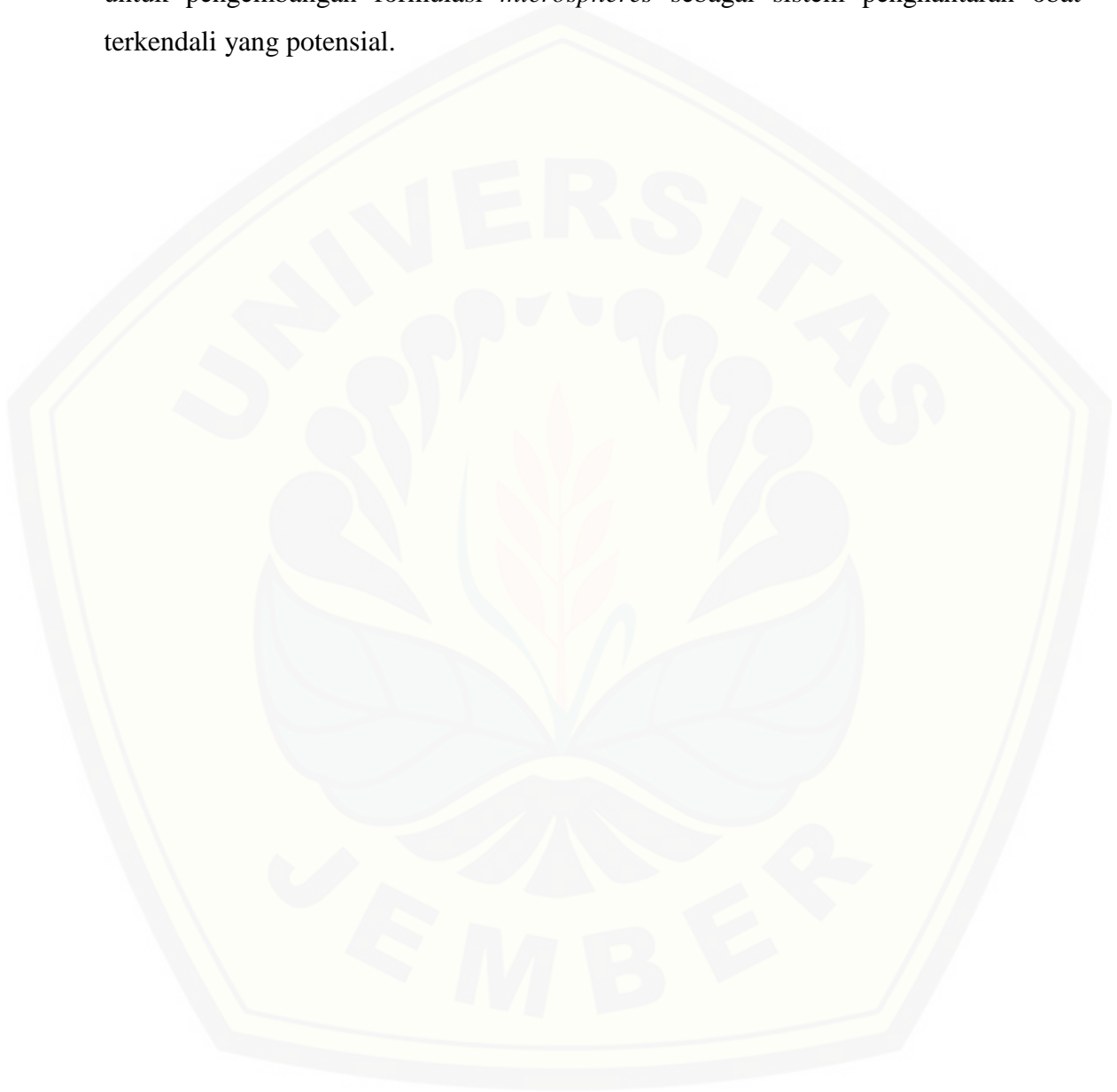
## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1 Mengetahui pengaruh peningkatan atau penurunan kecepatan dan lama pengadukan serta interaksinya terhadap *entrapment efficiency microspheres* metformin hidroklorida yang dipreparasi dengan *non-aqueous solvent evaporation*.
- 2 Mengetahui kecepatan dan lama pengadukan yang menghasilkan *microspheres* metformin hidroklorida dengan *entrapment efficiency* yang optimum.
- 3 Mengetahui adanya interaksi antara bahan aktif metformin hidroklorida dan polimer etil selulosa yang digunakan pada preparasi *microspheres* metformin hidroklorida.
- 4 Mengetahui karakteristik formula optimum *microspheres* metformin hidroklorida (meliputi : *drug loading*, *yield*, dan ukuran partikel) yang dihasilkan.

#### 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* adalah pembawa obat pada sistem pelepasan obat terkendali dengan ukuran partikel 1-1000  $\mu\text{m}$ , terdiri dari bagian inti berisi bahan aktif obat dan dilapisi bagian luar yang terdiri dari polimer (Parmar *et al.*, 2010). *Microspheres* juga dikenal dengan micropartikel dengan karakteristik serbuk yang dapat mengalir dengan bebas (Rathore *et al.*, 2012). Bentuk dan penampakan *microspheres* dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2.1 Penampakan *Microspheres* (Maji *et al.*, 2012).

Penghantaran obat dengan *microspheres* dapat meningkatkan GRT dan melepaskan obat secara perlahan (*controlled released*). Peningkatan GRT berlangsung dengan mekanisme *mucoadhesive*, yakni polimer yang digunakan akan berinteraksi membentuk *cross-linked* dengan mukosa atau jaringan lunak pada dinding lambung sehingga terbentuk struktur yang saling mengunci antara polimer dan jaringan atau mukosa (Hemiata *et al.*, 2012).

#### 2.1.1 Manfaat *Microspheres*

*Microspheres* merupakan pembawa obat yang berukuran kecil dan memiliki luas permukaan yang besar. Adapun beberapa kelebihan *microspheres* sebagai sistem

penghantar obat ialah : (a) meningkatkan bioavailabilitas obat, (b) meningkatkan kepatuhan pasien, (c) dapat menargetkan obat pada organ target yang spesifik dan mempertahankan konsentrasi obat pada organ tersebut serta mengurangi efek samping yang mungkin terjadi, (d) mengurangi aktivitas bahan aktif obat terhadap lingkungan luar, (e) dapat mengkonversi bahan aktif cair ke padat untuk menutupi rasa pahit dari obat, (f) melindungi GIT dari efek iritasi obat (g) mengurangi evaporasi dari bahan yang bersifat *volatile* (Rathore *et al.*, 2012).

*Microspheres* telah banyak digunakan untuk beberapa agen penghantaran obat seperti penghantaran vaksin untuk memodulasi pelepasan antigen, pembawa obat untuk organ spesifik yaitu *microspheres* memungkinkan berinteraksi secara spesifik dengan target, *tergetting antibody monoclonal*, *topical porous microspheres*, dan *surfaced modified microspheres* (Alagusdaram *et al.*, 2009). Selain itu *microspheres* juga banyak digunakan dalam aplikasi medis dan analisis, seperti *microspheres* radioaktif sebagai penghantaran radioterapi lokal misalnya pada tumor hati, *Flourosence microspheres* sebagai penampak pada aliran darah, *Hollow microspheres* digunakan untuk menurunkan densitas suatu materi, *Monodispere microspheres* sebagai apparatus penghitung partikel dan kalibrasi ukuran partikel, *Ceramic microsphere*, serta *magnetic microspheres* (Rathore *et al.*, 2012).

### 2.1.2 Preparasi *Microspheres*

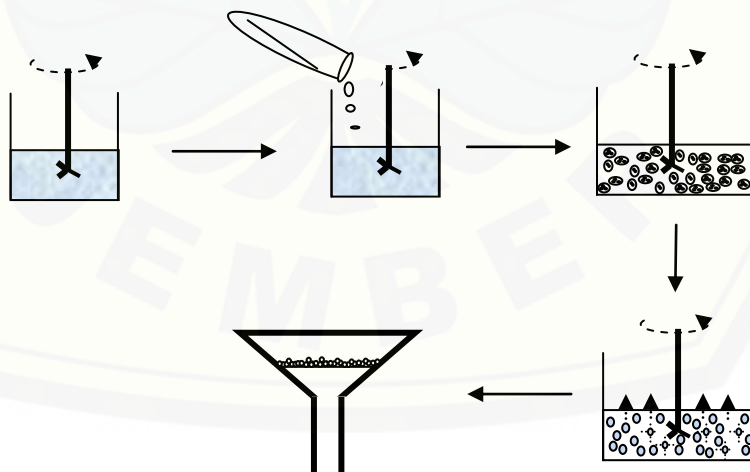
Preparasi pada pembuatan *microspheres* harus dapat menghasilkan *microspheres* yang memenuhi kriteria tertentu yakni : (I) kemampuan menjerat obat dengan konsentrasi tinggi, (II) memiliki stabilitas yang dapat diterima secara klinis, (III) ukuran partikel yang terbentuk terkendali, (IV) pelepasan bahan aktif terkontrol dengan baik pada skala waktu yang luas, serta (V) Biokompatibel dengan tubuh dan kerentanan terhadap modifikasi kimia dapat terkontrol (Hemiata *et al.*, 2012).

Preparasi *microspheres* dapat dilakukan dengan beberapa tehnik yaitu : *solvent evaporation*, *Phase separation coacevation technique*, *Emulsion cross linked method*, *ionic gelatin*, *Spray drying*, dan *Multiple emulsion polymerization technique*



(Hemiata *et al.*, 2012). Teknik yang paling banyak digunakan untuk preparasi *Microspheres* adalah teknik *solvent evaporation*. Teknik ini paling banyak digunakan oleh peneliti untuk sistem penghantaran obat dan telah lama dikembangkan pada akhir 1970-an. Teknik ini mudah untuk diaplikasikan karena menggunakan alat-alat laboratorium yang umum seperti *beaker glass* dan pengaduk, ekonomis, serta teknik yang dapat dikontrol dengan baik untuk dilakukan preparasi yang membutuhkan faktor dan parameter pelepasan dalam skala besar (Naik *et al.*, 2012).

Pada teknik *solvent evaporation*, polimer dilarutkan dalam larutan organik, bahan obat didispersikan pada larutan polimer atau obat dilarutkan terlebih dahulu dalam air kemudian dibuat emulsi larutan obat – larutan polimer organik. Proses emulsifikasi dilakukan dengan bantuan pengadukan, ketika bahan obat tercampur dengan polimer *coating*, maka akan terbentuk *microspheres*. *Solvent* yang memisah dengan *microspheres* dihilangkan dengan evaporasi, ekstraksi atau difusi. *Microspheres* yang dihasilkan kemudian disaring dan dikeringkan. Skema dari proses *solvent evaporation* dapat dilihat pada gambar 2 (Alagusdaram *et al.*, 2009 ; Naik *et al.*, 2012 ; Parmar *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 Skema tahapan preparasi nanopartikel dengan metode *solvent evaporation*

Pada tahap emulsifikasi, terdapat beberapa tipe emulsi yang dapat dibuat tergantung kelarutan bahan aktif yang digunakan yakni emulsi *oil in water* (O/W), emulsi *oil in oil* (O/O), dan *multiple* emulsi. Pada tipe emulsi O/W digunakan untuk bahan obat dan polimer yang bersifat hidrofobik dan larut dalam pelarut organik yang tidak larut air. Pada metode ini polimer dilarutkan dalam pelarut organik, kemudian bahan obat dilarutkan pada campuran pelarut dan polimer, hasil dari fase minyak diemulsifikasikan pada larutan *aqueous* yang mengandung emulsifier. Tipe emulsi O/O yang lebih dikenal dengan *non-aqueous emulsion technique*, digunakan untuk mengenkapsulasi bahan obat yang larut air kemudian diemulsifikasikan ke dalam fase lipofilik. Hal ini dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan emulsi tipe O/W yang memiliki efisiensi rendah untuk bahan larut air (Naik *et al.*, 2012).

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

Teknik *non-aqueous solvent evaporation* merupakan proses enkapsulasi untuk obat yang mudah larut dalam air (Herrmann & Bodmeier, 1998). Bahan obat dan polimer dalam teknik ini dilarutkan dalam suatu pelarut yang bersifat polar seperti *acetonitrile* (Naik *et al.*, 2012), *acetone* (Patel *et al.*, 2006), dan kombinasi *acetonitrile* dan *methanol* (Herrmann & Bodmeier, 1998) dengan berbagai kombinasi konsentrasi yang digunakan. Apabila bahan obat tidak benar-benar larut dalam fase pertama, maka partikel obat harus diperkecil misalnya menjadi ukuran *submicron* sehingga dapat meminimalisasi bahan aktif obat terlepas lebih cepat dari *microspheres* (Naik *et al.*, 2012). Selanjutnya dilakukan emulsifikasi ke dalam fase eksternal yang bersifat lipofilik seperti *light liquid paraffin* (Pandit *et al.*, 2013), *mineral oil*, *cotton seed oil* atau *triglyceride* (Naik *et al.*, 2012). Span dapat digunakan sebagai surfaktan seperti pada penelitian Maji *et al.*, (2012) span dilarutkan pada *light liquid paraffin* sebelum penambahan fase internalnya. Penambahan span berfungsi sebagai surfaktan yang membantu menurunkan tegangan permukaan antar muka cairan (Maji *et al.*, 2012).

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. Selanjutnya *microspheres* yang terbentuk dikumpulkan dengan cara filtrasi menggunakan *membrane filter Whatman paper* no 1 (Garud & Garud, 2012 & Maji *et al.*, 2012). Kemudian dilakukan pencucian pada *Microspheres* yang terbentuk selama proses filtrasi berulang kali untuk menghilangkan fase minyak pada tahap emulsifikasi menggunakan pelarut organik seperti *petroleum ether* suhu 40 - 60 (Garud & Garud, 2012). *Microspheres* yang terkumpul dikeringkan pada suhu ruang dan kemudian disimpan pada desikator (Patel *et al.*, 2006).

#### 2.1.4 Karakteristik *microspheres*

##### a *Entrapment Efficiency*

*Entrapment Efficiency* merupakan persen kandungan atau jumlah jeratan *microspheres* terhadap bahan obat. Dihitung dengan rasio konsentrasi obat hasil analisis dengan konsentrasi obat secara teoritis (Hemiata *et al.*, 2012). Analisis kandungan obat dalam *microspheres* dapat dilakukan secara spektrofotometri (Garud & Garud, 2012).

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

##### b *Drug Loading*

*Drug Loading* merupakan karakteristikasi *microspheres* yang menggambarkan seberapa efisien formula yang digunakan. *Drug loading* dapat dihitung dengan membandingkan berat obat yang terjerap dalam *microspheres* dengan berat *microspheres* keseluruhan setelah proses pengeringan (Garud & Garud, 2012).

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

*c Yield*

*Yield* dihitung untuk mengetahui metode yang memberikan efisiensi paling baik dalam menghasilkan *microspheres*, sehingga membantu dalam pemilihan metode yang sesuai untuk produksi *microspheres* yang lebih optimal. Persentasi *yield* dihitung dengan membandingkan jumlah *microspheres* yang diperoleh dalam sekali produksi, dengan total bahan meliputi semua eksipien yang digunakan dalam pembuatan *microspheres* (Sappidi *et al.*, 2014).

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

*d Analisis Scanning Electron Microscope (SEM)*

*Scanning Electron Microscope (SEM)* merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk memvisualisasikan mikropartikel menggunakan sinar terfokus dan electron berenergi tinggi. Karakteristik yang dapat diamati dengan SEM berupa ukuran partikel, permukaan topografi sampel, tekstur, morfologi eksternal, retakan atau belahan permukaan, komposisi kimi, informasi kristalografi, dan konduktivitas listrik dari spesimen padat (Sappidi *et al.*, 2014).

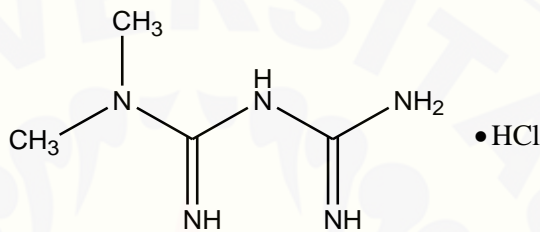
*e Analisis Fourier Transform Infrared (FTIR)*

*Fourier Transform Infrared (FTIR)* adalah metode spektroskopi *Infrared (IR)* yang digunakan untuk mengkonfirmasi identitas obat atau bahan lainnya, dan mengetahui adanya interaksi tiap bahan dalam formulasi namun tidak mengetahui unsur-unsur penyusunnya (Sappidi *et al.*, 2014).

Pada spektroskopi IR, radiasi IR dilewatkan pada sampel. Sebagian dari radiasi IR diserap oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan. Apabila frekuensi dari suatu vibrasi sama dengan frekuensi adisi IR yang angung menuju molekul, molekul akan menyerap radiasi tersebut., sehingga akan digambarkan spektrum yang menggambarkan absorpsi dan transmisi membentuk sidik jari molecular (Kencana, 2009).

## 2.2 Metformin Hidroklorida

Metformin Hidroklorida ( $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ ) memiliki berat molekul 165,6 g/mol, berupa kristal putih atau hampir putih, larut air, sedikit larut dalam alkohol, dan praktis tidak larut dalam aseton dan diklorometana. Metformin merupakan obat antidiabetes golongan biguanida yang digunakan sebagai pilihan pertama dalam terapi diabetes tipe II (*Independen Insulin Diabetic*). Dosis yang diberikan pada umumnya 500-850 mg satu sampai tiga kali sehari (Sweetman, 2009).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Metformin

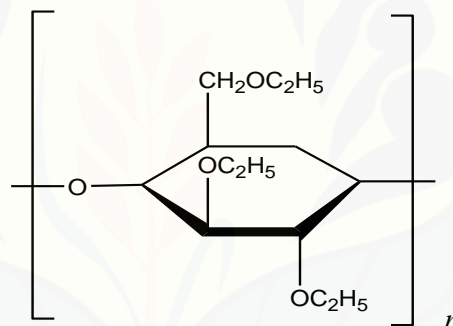
Metformin HCl tidak dapat menstimulasi pengeluaran insulin, namun efek antidiabetiknya dapat diperoleh melalui mekanisme penurunan absorpsi glukosa pada saluran gastrointestinal, meningkatkan sensitivitas insulin, meningkatkan *uptake* glukosa menuju sel, dan menghambat proses *gluconeogenesis* (Sweetman, 2009). Kemampuan mereduksi *gluconeogenesis* metformin HCl adalah 0,6 mg/kg per menit, dan 75% mengurangi pengeluaran glukosa oleh hepar (Setter *et al.*, 2003).

Bioavailabilitas metformin secara oral adalah 50-60 % dan akan tereliminasi dari plasma 2-6 jam setelah dikonsumsi peroral. Metformin dapat menembus plasenta dan dapat terdistribusi pada cairan ASI dalam jumlah yang kecil (Sweetman, 2009). Metformin memiliki waktu paruh biologis yang pendek yakni sekitar 4,5 jam dan umumnya dibutuhkan sebanyak 1,5-3 gram / hari (Nath *et al.*, 2009). Efek samping yang sering muncul pada penggunaan metformin peroral adalah gangguan saluran pencernaan yakni dengan total kasus 30% (Ghodake *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian Kumar *et al.*, (2010) laju degradasi bahan aktif metformin mengikuti kinetika reaksi orde ke nol. Metformin relatif stabil terhadap pemanasan hingga pada suhu diatas 70°C (Kumar *et al.*, 2010).

### 2.3 Etil Selulosa

Etil Selulosa ( $C_{12}H_{23}O_6(C_{12}H_{22}O_5)_n C_{12}H_{23}O_5$ ) Berupa serbuk berwarna putih atau hampir putih, mudah mengalir, tidak terlarut dalam gliserin, propilen glikol, dan alcohol. Etil selulosa yang mengandung kurang dari 46,5% gugus etoksi dapat terlarut dalam kloroform, metil asetat, sedangkan etil selulosa yang memiliki gugus etoksil tidak kurang dari 46,5% mudah larut di kloroform, etanol (95%), etil asetat, methanol dan toluene (Rowe *et al.*, 2006). Etil selulosa merupakan polimer *nonbiodegradable*, *biocompatible*, tidak beracun, dan banyak digunakan dalam formulasi produk farmasi. Selain itu Etil selulosa juga telah banyak diteliti sebagai polimer enkapsulasi sediaan *sustained released* pada beberapa obat (Maji *et al.*, 2012)



Gambar 2.4 Struktur Etil Selulosa

Etil selulosa umumnya digunakan sebagai bahan pengikat tablet, bahan pengisi, dan saat ini banyak diteliti sebagai *hydrofobic coating* pada sediaan tablet maupun granul. *Coating* dengan etil selulosa dapat memodifikasi pelepasan obat, menyamarkan rasa obat yang tidak enak, atau untuk memperbaiki stabilitas bahan obat. Konsentrasi Etil selulosa yang digunakan mikroenkapsulasi adalah berkisar 10-20% (Rowe *et al.*, 2006).

### 2.4 Desain faktorial

Desain faktorial merupakan pilihan desain yang digunakan untuk menentukan efek simultan yang ditimbulkan oleh beberapa faktor beserta interaksinya. Metode ini

digunakan pada penelitian ketika efek dari faktor yang berbeda atau kondisi yang berbeda perlu dijelaskan. Pada umumnya dalam dunia kefarmasian desain faktorial digunakan pada penelitian optimasi untuk mendapatkan formula maupun kondisi paling optimum (Bolton & Bon, 2004)

Terdapat beberapa istilah dalam desain faktorial seperti Faktor, *level*, efek dan interaksi. Faktor merupakan variabel yang berpengaruh pada efek, dan ditentukan sesuai dengan percobaan yang dilakukan. Faktor dapat dikategorikan faktor kualitatif dan kuantitatif. Secara kuantitatif dijelaskan berdasarkan tingkatan angka seperti tingkatan konsentrasi, kondisi dan sebagainya. *Level* merupakan tingkatan dari faktor, pada penelitian dengan desain faktorial dua faktor terdapat dua *level*, yakni *level* tinggi dan *level* rendah. Efek adalah perubahan respon yang disebabkan berbagai tingkatan yang berbeda pada faktor. “Efek utama” merupakan efek yang paling berpengaruh diantara rerata efek dari semua faktor. Interaksi adalah hubungan antar faktor yang berpengaruh pada respon yang dihasilkan (Bolton & Bon, 2004).

Persamaan umum desain faktorial dua faktor adalah sebagai berikut :

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

Y = Respon ruang diamati

X<sub>a</sub> = *level* A

X<sub>b</sub> = *level* B

B<sub>0</sub>, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>12</sub> = Koefisien, dapat dihitung dari hasil percobaan

Desain faktorial memiliki banyak keuntungan, diantaranya sebagai berikut :

1. Dengan tidak adanya interaksi, desain faktorial dapat memiliki efisiensi maksimum dalam memperkirakan efek utama.
2. Jika terdapat interaksi, desain faktorial diperlukan untuk mengungkapkan dan mengidentifikasi interaksi tersebut.
3. Efek yang diukur juga juga pada tingkat faktor lain, sehingga kesimpulan berlaku untuk berbagai kondisi.

4. Dapat menghemat biaya dibandingkan melakukan penelitian tunggal untuk mendapat tingkat ketelitian yang sama.
5. Dapat menentukan efek utama dari berbagai faktor.





## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

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

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *four blades propeller (IKA Labortechnik, Germany)*, spektrofotometer FTIR (*Genesys 10s*), Spektrofotometer UV-VIS (*Genesys 10S, Thermo Scientific, USA*), *stop watch*, neraca analitik (*Edventurer<sup>TM</sup> Ohaous, USA*), *Oven (Memmert, Germany)*, alat-alat gelas, dan program perangkat lunak (*software design expert versi trial 9.0.2*).

#### 3.2.2 Bahan

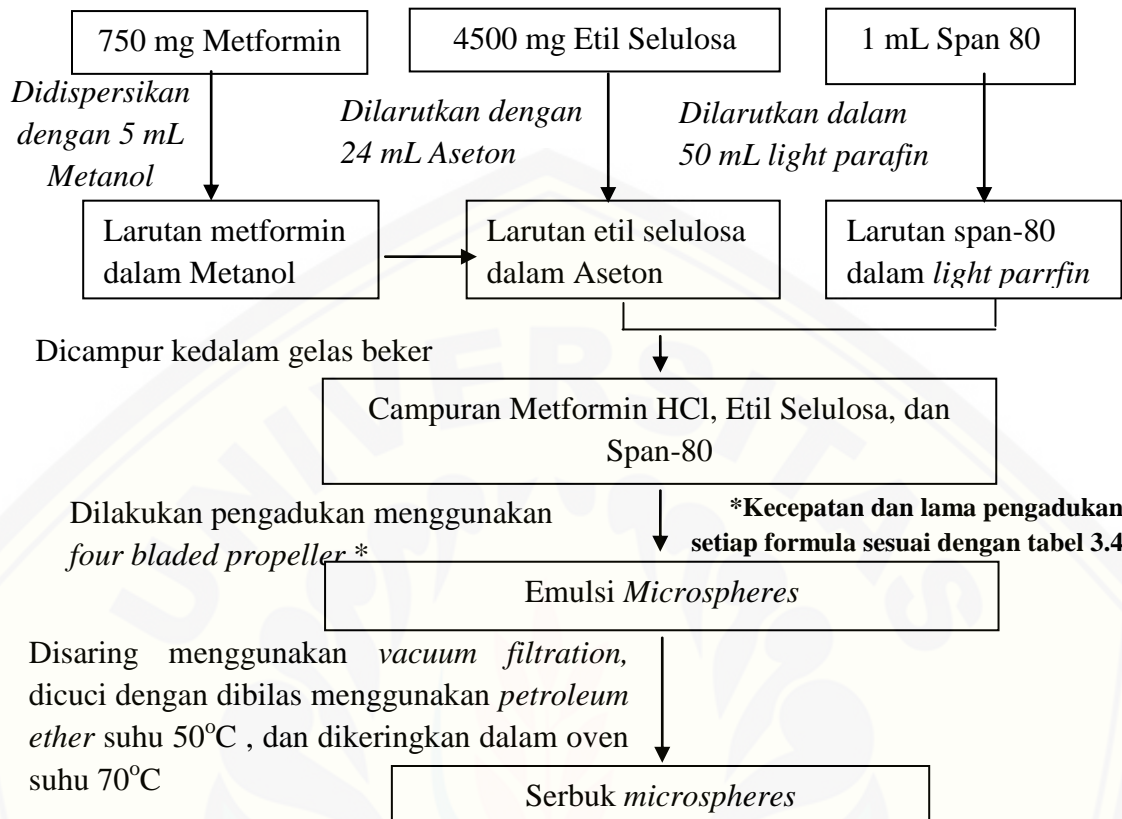
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Metformin hidroklorida (*Hildose, RRC*), Etil Selulosa (*PT. Lawsim Zecha, Indonesia*), Span 80 (*PT. Brataco, Indonesia*), Metanol (*PT. Brataco, Indonesia*), aseton (*CV.Makmur Sejati, Indonesia*), *light paraffin liquid (PT. Brataco, Indonesia)*,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

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

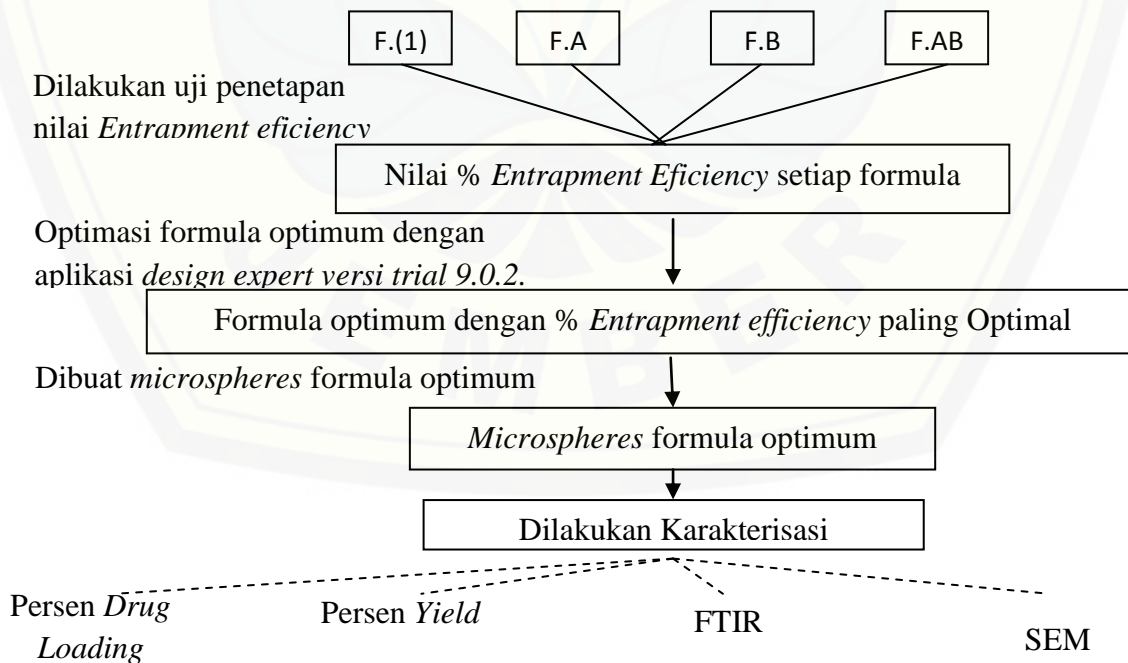
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Solida Bagian Farmasetika dan Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Desember 2015 - April 2016.



**Tahap Pembuatan *microspheres* Metformin-HCl**



**Tahap penentuan dan karakterisasi *microspheres* formula optimum**



Gambar 3.1 Skema Langkah Kerja Penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Rancangan Optimasi Formula

Pada penelitian ini dibuat empat formula *microspheres* Metformin Hidroklorida. Hal yang membedakan dari tiap formula tersebut adalah perlakuan kecepatan dan lama pengadukan menggunakan *four-blades propeller* dalam pembentukan *microspheres* Metformin Hidroklorida. Optimasi pada penelitian ini menggunakan desain factorial dua *level* sehingga dibutuhkan empat formula untuk percobaan, yakni :

**Tabel 3.1** Rancangan desain factorial untuk dua factor dan dua *level*

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

Susunan *level* rendah dan *level* tinggi untuk masing-masing faktor dapat dilihat pada tabel 3.2.

**Tabel 3.2** Susunan *level* faktor berdasarkan desain factorial

Faktor	<i>Level</i> rendah (-1)	<i>Level</i> tinggi (+)
Kecepatan pengadukan	400 rpm	1000 rpm
Lama pengadukan	2 jam	4 jam

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

**Tabel 3.3** Formula *microspheres* Metformin hidroklorida

Bahan	Jumlah yang digunakan	Fungsi
Metformin hidroklorida	750 mg	Bahan aktif
Etil Selulosa	4500 mg	Polimer
Span 80	1 mL	Surfaktan
Metanol	5 mL	Fase eksternal
Aseton	24 mL	Fase Internal
<i>Light paraffin liquid</i>	50 mL	Fase eksternal
<i>Petroleum ether</i>	5 mL	Agen pencuci

Berikut adalah variable-variabel dalam penelitian ini :

- a Variabel bebas : Kecepatan dan lama pengadukan *four blades propeller*
- b Variabel terkontrol : Jumlah Metformin hidroklorida, Etil asetat, Span 80, Metanol, Aseton, dan *light paraffin liquid*.
- c Variabel terikat : persen *entrapment efficiency*

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

Sebanyak 750 mg Metformin hidroklorida didispersikan dalam 5 mL methanol, 4500 mg Etil selulosa dilarutkan dalam 24 mL aseton, dan 1 mL Span 80 dilarutkan dalam 50 mL *light liquid paraffin*. Kemudian dicampurkan dispersi metformin hidroklorida dan etil selulosa. Larutan Span-80 2% dalam *light paraffin liquid* diaduk dengan *four bladed propeller* kemudian ditambahkan campuran larutan metformin hidroklorida dan etil selulosa. Tahap Pengadukan dilakukan menggunakan *four bladed propeller* dengan kecepatan dan lama pengadukan yang berbeda, untuk formula (1) diaduk dengan kecepatan 400 rpm selama 2 jam, formula A diaduk dengan kecepatan 1000 rpm selama 2 jam, formula B diaduk dengan kecepatan 400 rpm selama 4 jam, dan formula AB diaduk dengan kecepatan 1000 rpm selama 4 jam, untuk penjabaran lebih jelas dapat dilihat pada table 3.4.

**Tabel 3.4** Preparasi *microspheres* metformin hidroklorida

For- mula	Metformin hidroklori da (mg)	Etil selulosa (mg)	Meta nol (mL)	Ase- ton (mL)	Span 80 (mL)	<i>Light paraffin liquid</i> (mL)	Pengadukan	
							Kecepatan (rpm)	Lama (jam)
(1)	750	4500	5	24	1	50	400	2
A	750	4500	5	24	1	50	1000	2
B	750	4500	5	24	1	50	400	4
AB	750	4500	5	24	1	50	1000	4

Setelah proses pengadukan selesai, *microspheres* yang terbentuk disaring menggunakan *vacuum filtration* yang dilengkapi dengan kertas saring Whatmann no.1. Selanjutnya *microspheres* dicuci dengan 5 mL *pethroleum ether* pada suhu 40°-

60° C hingga terbebas dari fase minyak. Kemudian *microspheres* yang telah dicuci dikeringkan pada suhu ruang selama 1 jam dan disimpan pada desikator.

### 3.4.3 Penetapan *Entrapment Efficiency*

#### 3.4.3.1 Preparasi Kurva Baku Metformin hidroklorida dalam Aquades

Larutan baku induk dibuat dari 10 mg metformin hidroklorida dilarutkan dalam 100 ml aquades (100 ppm), dikocok hingga larut. Larutan baku induk kemudian di pipet dan dibuat beberapa seri larutan dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12 ppm untuk standar baku.

#### 3.4.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum dilakukan kurva baku, maka dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dengan cara *scanning* standar baku dengan konsentrasi 8 ppm pada panjang gelombang 200-400 nm dan menentukan panjang gelombang maksimum.

#### 3.4.3.3 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Aquades

Larutan baku induk 100 ppm digunakan untuk pengenceran baku standar 4, 6, 8, 10, 12 ppm. Masing-masing larutan standar ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum kemudian dibuat kurva baku dari hasil pengukuran tersebut.

#### 3.4.3.4 Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Dibuat larutan standart dengan sepuluh sepuluh konsentrasi dibawah larutan standart terkecil. Larutan baku induk 20 ppm digunakan untuk pengenceran standart 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; dan 2,0 ppm. Absorbansi masing-masing larutan ditentukan dan dilakukan analisis BD dan BK menggunakan *software Validation Method of Analysis*.

#### 3.4.3.4 Pengukuran *Entrapment Efficiency* (Maji *et al*, 2012)

Jumlah *microspheres* yang setara 5 mg dengan jumlah obat dibilas dengan menggunakan aquades untuk menghilangkan obat bebas. Kemudian digerus pada mortir. Suspensi ditambahkan aquades ad 100 ml air kemudian disaring. Filtrat

selanjutnya diencerkan 10 kali. Larutan uji dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 233 nm. Perhitungan *entrapment efficiency* dilakukan menggunakan persamaan (1).

#### 3.4.4 Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan dengan menganalisis data yang didapatkan. Data tersebut diperoleh dari analisis desain factorial dengan respon “*Entrapment Efficiency (%)*”. Dari analisis ini akan didapatkan persamaan hubungan antara faktor (Kecepatan dan lamaa pengadukan) terhadap respon (*entrapment efficiency*) yang akan dibuat dalam persamaan (4).

Berdasarkan persamaan data dapat ditentukan nilai koefisien  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ , dan  $b_{12}$ . Hasil perhitungan persamaan tersebut akan dibuat dalam bentuk *counter plot* dengan menggunakan *software design expert* versi *trial 10.0.0.0*. sehingga dapat diketahui pengaruh kedua faktor serta interaksinya terhadap respon yang dihasilkan.

#### 3.4.5 Karakterisasi Formula Optimum

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

Sebelum menentukan penetapan *drug loading*, dilakukan penetapan berat bahan aktif yang sebenarnya melalui perkalian % EE dengan berat bahan aktif teoritis. Kemudian berat bahan aktif yang sebenarnya dibandingkan dengan berat *microspheres* setelah pengeringan (Berat *microspheres* sebenarnya), dihitung menggunakan persamaan (2).

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

Presentase *yield* dihitung dari rasio jumlah *microspheres* yang dihasilkan dari preparasi dan jumlah total substansi obat dan polimer. Perhitungan *yield* dapat dilakukan menggunakan persamaan (3). Pada perhitungan *yield*, *microspheres* yang didapat dikeringkan dahulu pada *oven* dengan suhu 70 hingga didapat berat konstan *microspheres* yang sebenarnya.

#### 3.4.5.3 Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

*Scanning electron microscopy* (SEM) digunakan untuk menganalisis ukuran, bentuk dan morfologi permukaan *microspheres*. Sejumlah *microspheres* disebarakan pada bagian *glass stub* dan ditempatkan di *scanning electron microscopy chamber*, lalu dilakukan scanning dengan tegangan 20Kv dan tekanan chamber 0,1 mmHg dengan pembesaran 600 kali.

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

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 dihaluskan dahulu dengan mortir, kemudian diletakkan pada plat ATR. Pemeriksaan gugus fungsi dilakukan pada bilangan gelombang  $4000\text{ cm}^{-1}$  -  $400\text{ cm}^{-1}$  dengan resolusi 4. Setiap pergantian sampel, plat ATR dibersihkan dengan tisu basah isopropyl 70% kemudian dikeringkan dengan tisu.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Peningkatan kecepatan pengadukan memiliki efek meningkatkan nilai persen *entrapment efficiency* sebesar 10,08, peningkatan lama pengadukan memiliki efek menurunkan nilai *entrapment efficiency* sebesar -18,6 dan interaksi antara kedua faktor tersebut memiliki efek meningkatkan nilai persen *entrapment efficiency* sebesar 1,48.
2. Kombinasi optimum antara kecepatan dan lama pengadukan untuk memperoleh *entrapment efficiency* tertinggi adalah 1000 rpm selama 2 jam.
3. Karakteristik kompleks *microspheres* metformin-HCl dan etil selulosa dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* berdasarkan formula optimum tidak menunjukkan adanya interaksi yang mengakibatkan perubahan gugus fungsi pada metformin hidroklorida sebagai bahan aktif.
4. *Microspheres* metformin hidroklorida yang terbentuk memiliki *drug loading* sebesar 12,067 %  $\pm$  0,0649, persen *yield* sebesar 99,44 %  $\pm$  0,123 , dan ukuran partikel sebesar 157.5  $\mu\text{m}$   $\pm$  1.007.

### 5.3 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disarankan :

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

## DAFTAR PUSTAKA

- Alagusundaram, M., Madhu S., Umashankari, Attuluri V., Lavanya C., & Ramakanth S. 2009. Microsphere as a Novel drug Delivery system- a review. *Int. J. ChemTech Res.* 1(3), pp. 526-534.
- 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.
- Block, L. O., Schemling, A. G., Couto, S. C., Mour~ao, & T. M.B. Bresolin., 2008. Pharmaceutical equivalence of metformin tablets with various binders. *J. Applied PharScience*, 29(1), pp. 29–35.
- Bolton, S., & Bon, C. 2004. *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications*. New York: Marcel Dekker.
- 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, J. S. Vidhate, D.A. Shinde, & Kadam. A. N, 2010. Formulation and Evaluation of Floating Microsphere Containing Anti-Diabetic (Metformin Hydrochloride) Drug. *Int. J PharmTech Research.* 2(1), pp. 378-384
- Hemiata, K., Hari K., & Amanpreet, K. 2012. Mucoadhesive Microspheres as carier in Drug Delivery system. *Int. J Drug Developmement & Research.* 4(2)
- 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.
- 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.
- Kshirsagar, Jain R V., & Wattamwar, S., 2009. Effect of different viscosity grade HPMC polymers on gastroretentive drug delivery of metformin HCl, *Int. J Applied Pharmaceutics*, 1, pp. 44–50.

- Kumar, V. S., Nautliyal, V., Goel, K. K. & Sharma, A., 2010. Assesment of Thermal Stability of Metformin Hydroclorida. *Asian Journal of Chemistry*. 22(5). pp. 2561-3566
- Laurier, L., Schramm, Elaine, N., Stasiuk & Gerrard M, 2003. Surfactants and their applications. *Dept. of Chemical & Petroleum Engineering, University of Calgary*, 3(48).
- Maji, R., Ray, S., Das, B., & Nayak, A, K.,. 2012. Ethyl Cellulose Microparticles Containing Metformin HCl by Emulsification-Solvent Evaporation Technique: Effect of Formulation Variables. *Int Scholarly Research Network*. 2012(7)
- Mao, S., Guo, Chunqiang., Shi, y., Li, & Luk C., 2012. Recent Advances in Polymeric Microspheres for Parenteral Drug Delivery-part 1. *Expert opin, Drug Delivery.*, 9(10), pp. 1209-1223
- Naik, J. B., Lokhande, A. B., Mishra, S., & Kulkarni, R. D. 2012. Development of Sustained Release Micro/Nano Particles Using Different Solvent Emulsification Techniques : *Int. J Pharma and Bioscience*, 3(4). Pp 573-590.
- Narang, N. An Updated Review On : Floating Drug Delivery System (FDDS). *Int. J. App. Pharm.*, 3(1), 7. 2011
- Nath, L. K., Nath, Mazumdar, B., Sharma, N. K., & Sarkar, M. K., 2009. Preparation and in vitro evaluation of gastric floating microcapsules of metformin HCl, *Indian J Pharm Education and Research*, 43. pp. 177–186
- Pachua, L., & Mazumder, B. A. 2009. study on the effects of different surfactants on Ethylcellulose microspheres. *Int J PharmTech Research*. 1(4). pp. 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.
- Parmar, H., Bakliwal, S., Gujarathi, N., Rane, B., & Pawar, S. 2010. Different method of formulation and evaluation of mucoadhesive microsphere. *Int. J Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 1(3). pp. 1157-1167.
- Patel, A., Ray, S., & Thakur, R. A. M. S. 2006. Invitro Evaluation And Optimization of Controlled Release Floating Drug Delivery System Of Metformin Hydrochlhoride. *Daru*, 14(2). pp. 57–64.
- 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

- Rathore, B., Yadav, A., Nayak, G., Saraogi, K., & Singhal, A, K., 2012. a review of microspheres drug delivery carrier for management of diabetic mellitus. *IJPLS*. 3(10). pp. 0976-7126
- Rohman, A. 2009. *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Pustaka Graha Ilmu.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E. eds., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient ed.*, London : Pharmaceutical Press And American Pharmacist Association.
- Sabitha, P., Ratna, J. V., & Reddy, K. R. (2010). Design And Evaluation Of Controlled Release Chitosan-Calcium 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), pp. 213–226.
- Setter, S M , J. L. Iltz, J. Thams, & R. K. Campbell. 2003. Metformin hydrochloride in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a clinical review with a focus on dual therapy, *Clinical Therapeutics*, 25(12). pp. 2991–3026.
- Sweetman S.C. Editor, 2009. *Martindale ; The Complete Drug eference 36<sup>th</sup> Edition*. London : Pharmaceutical Press
- Tiwari, Shashank, Verma, & Prerana, 2011. Microencapsulation technique by solvent evaporation method (Study of effect of process variables). *Int, J Of Pharmacy & Life Sciences*. 2(8).
- 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.
- Yakin, A., 2014. Indonesia Peringkat 5 Jumlah Penderita Diabetes. Majalah Tempo (on line). <http://gaya.tempo.co/read/news/2014/11/14/060621870/indonesia-peringkat-5-jumlah-penderita-diabetes>. (2 November 2015)

## LAMPIRAN

## A. Certificate Of Analysis Metformin Hidroklorida

## HILDOSE

SHIVAM CHAMBERS, 166/168, 1<sup>ST</sup> FLOOR, S.V. ROAD, GOREGAON (WEST), MUMBAI-400062 •  
 TEL.NOS.91-22-26764899 / 26764172 / 73 • FAX NO. 91-22-26764054

DATE :- 08/07/2013 ISO:9001-2008  
CERTIFIED F/Q/02  
ISSUE NO.:- 01

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

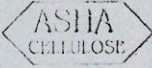
ITEM : METFORMIN HCL BP (PARTICLE SIZE :- 100 MESH) ✓  
 MFG. DT. : JUNE 2013  
 EXP. DT. : MAY 2018 ✓  
 BATCH QTY. : 950 KGS.  
 BATCH NO. : H 0427 06 13-14 ✓

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 <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> .HCL, calculated with reference to the dried substance	Metformin Hydrochloride contains 99.93% of C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> .HCL, calculated with reference to the dried substance ✓
Particle size	NLT 95% passing through 100 mesh sieve	98.33% passing through 100 mesh sieve

**NOTE: THE ABOVE PRODUCT IS CONFORMING TO THE SPECIFIED LIMITS MENTIONED ABOVE.**

PREPARED BY :- Oktambir      CHECKED BY :- [Signature]

**B. Certificate Of Analysis Etil Selulosa**



**ASHA CELLULOSE (I) PVT. LTD.**

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Name of Product : **ASHACEL® - Ethylcellulose**

Sample Number : 1491      Analytical Report No. : EC/S/191


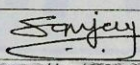
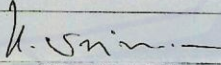
Sample Quantity : 1.0 Kg      Viscosity Grade : MP - 20

Date of Analysis : 22.07.2014      Date of Mfg. : Jun.'2014


Mfg License No. : G / 1059      Date of Exp. : May.'2016

Name of Manufacturer : **Asha Cellulose (I) Pvt. Ltd., Valsad - 396 001. Gujarat, India**

Sr. #	TEST	UNIT	RESULTS	SPECIFICATION	METHOD
1.	Description / Appearance		Light tan granular powder, Almost odourless	White to light tan granular powder, odourless or almost odourless	IP / EP / BP
2.	Identification		Matches with standard IR	To meet requirement, by IR	IP/USP-NF/EP/BP
3.	Solubility		Passes	Insoluble in water, glycerol (85%) and propylene glycol. The solution may shows slight opalescence. Soluble in methylene chloride and in 80:20 Mixture of Toluene: Ethanol; And slightly soluble in ethyl acetate and methanol.	BP / EP
4.	Viscosity @ 25 °C	cPs	20.33	18.00 to 22.00	IP/USP-NF/EP/BP
5.	Acidity (Dry Content)	%	48.91	48.00 to 49.50	IP/USP-NF/EP/BP
6.	Loss on drying	%	1.04	Not more than 2.00	IP/USP-NF/EP/BP
7.	pH (1% water extract)		7.24	5.50 to 8.00	IP
8.	Chlorides (As NaCl)	%	Less than 0.05	Not more than 0.05	USP-NF/EP/BP
9.	Acidity or Alkalinity		Passes	Test Solution is Pink with phenolphthalein & Red with methyl red.	USP -NF/EP/BP
10.	Residue on Ignition	%	0.28	Not more than 0.40	IP/USP-NF/EP/BP
11.	Heavy Metals	ppm	Less than 10	Not more than 10	IP/USP-NF/EP/BP
12.	Arsenic	ppm	Less than 2	Not more than 2	IP
13.	Lead	ppm	Less than 2	Not more than 2	USP- NF
14.	Acetyldehyde	ppm	Less than 100	Not more than 100	USP- NF/EP/BP
15.	Residual Solvents	ppm	Complies	To meet requirement	USP- NF

 Analyst	 Approved by (HOD QC)	 Director (Technical)
Date : 23.07.2014		
RLV-05	Date Effective: 01.07.2012	QC/TR/05A

© Registered Trademark



**C. Scanning Panjang Gelombang Metformin Hidroklorida**

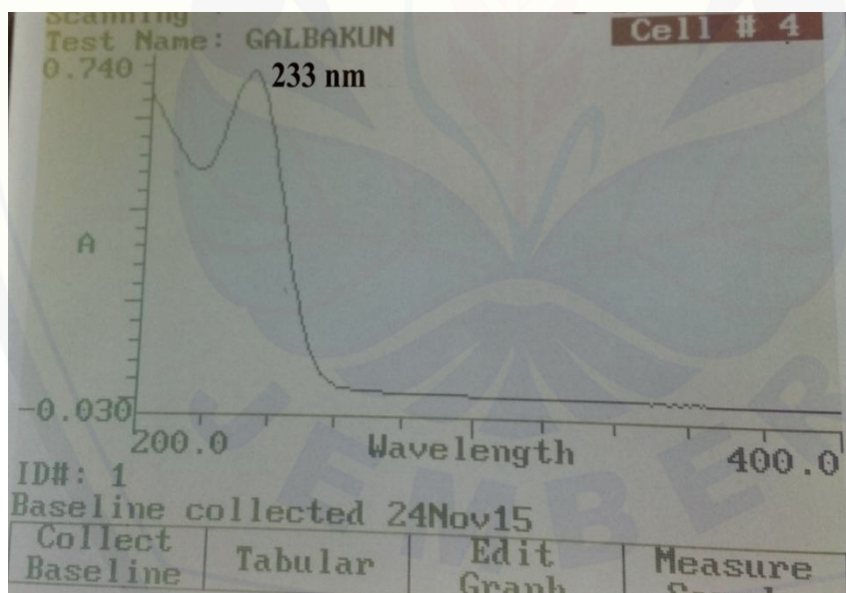
Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
200	0,666	232	0,699
201	0,650	233	0,702
202	0,638	234	0,698
203	0,624	235	0,688
204	0,611	236	0,674
205	0,600	237	0,652
206	0,587	238	0,622
207	0,576	239	0,591
208	0,566	240	0,552
209	0,552	241	0,511
210	0,540	242	0,467
211	0,529	243	0,428
212	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

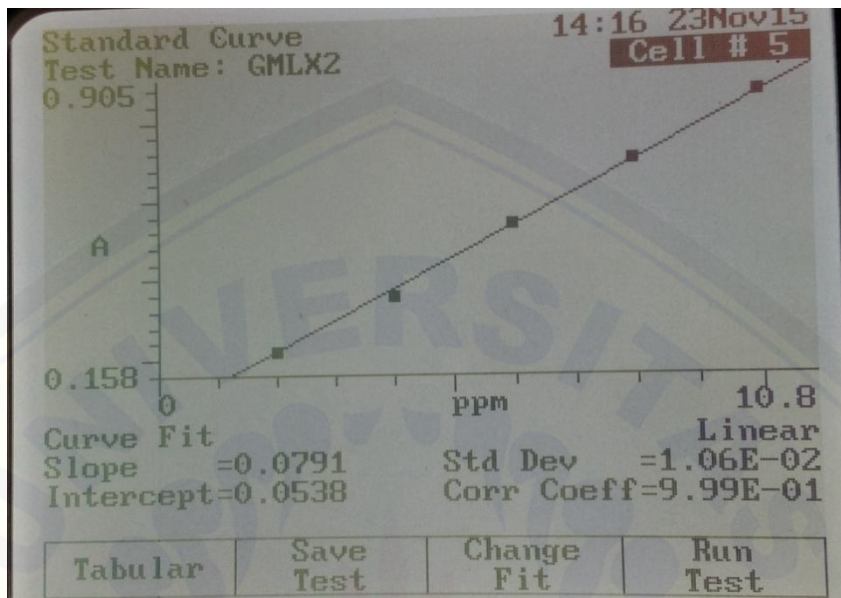


322	0,011	352	0,009
323	0,011	353	0,010
324	0,011	354	0,009
325	0,011	355	0,009
326	0,011	356	0,007
327	0,011	357	0,009
328	0,010	358	0,009
329	0,011	359	0,007
330	0,010	360	0,009
331	0,010	361	0,009
332	0,010	362	0,009
333	0,010	363	0,009
334	0,010	364	0,008
335	0,010	365	0,009
336	0,010	366	0,009
337	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. Penentuan Linieritas, LOD dan LOQ Standart

Method : Linearity  
 Probability : 95%  
 Number of data : 9  
 Line equation :  $Y = -0.01293225 + 0.07833871X$   
 Corelation coefficient : 0.99772260  
 Sy value : 0.00332273  
 Vx0 value : 3.60127100%  
 Xp value : 0.19890500

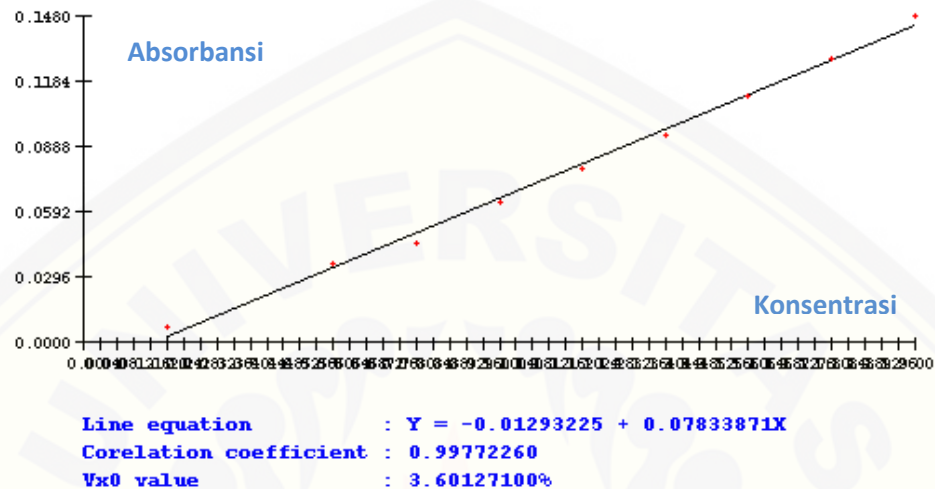
The Corelation coefficient is fullfilled the requirement ( $> 0.99$ )

The Vx0 value is fullfilled the requirement (0% to 5%)

The Xp value is OK ( $< 0.20000000$ )

BD = Xp value = 0.19890500

BK =  $10/3 * BD = 10/3 * 0.199 = 0,663$



F. Hasil Perhitungan Persen *Entrapment Efficiency*

No	Formula	Replikasi	Notasi Desain Faktorial			Persen <i>Entrapment Efficiency</i>	Rata-rata persen <i>Entrapment Efficiency</i> ± SD
			X <sub>A</sub>	X <sub>B</sub>	X <sub>AB</sub>		
1	(A)	1	+1	-1	-1	85.502	84.792 ± 0.975
		2				83.994	
		3				85.879	

G. Contoh Perhitungan Persen *Entrapment Efficiency*

- Diketahui : Berat *microspheres* yang didapat = 5,228 gram
  - Kadar Hasil Pengamatan = 4,231 ppm
- Menimbang *microspheres* yang setara dengan 5 mg metformin hidroklorida
- $$\frac{\text{berat metformin HCl yang ditimbang}}{\text{berat } \textit{microsp heres} \text{ yang didapat}} = \frac{0,005 \text{ gram}}{x}$$

$$\frac{0,750 \text{ gram}}{5,228 \text{ gram}} = \frac{0,005 \text{ gram}}{x}$$

$$X = 0,035 \text{ gram}$$
- Hasil penimbangan = 0,0349 gram
- Jumlah Metformin-HCl dalam sampel =  $\frac{0,0349 \text{ g}}{5,228 \text{ g}} \times 0,750 \text{ g} = 5,007 \times 10^{-3} \text{ g}$ 

$$= 5,007 \text{ mg}$$

- Kadar Metformin Teoritis =  $\frac{5,007 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 50,07 \text{ ppm}$
- Kadar Teoritis setelah pengenceran =  $\frac{50,07}{10} = 5,007 \text{ ppm}$
- Persen *entrapment efficiency*  

$$\frac{4,231}{5,007} \times 100\% = 84,502\%$$

## H. Hasil Analisis Desain Faktorial

### H.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%.

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

### H.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	
<b>Model</b>	1377.95	3	459.32	967.38	< 0.0001	<b>significant</b>
<i>A-Kecepatan</i>	304.87	1	304.87	642.09	< 0.0001	
<i>B-Lama</i>	1066.48	1	1066.48	2246.14	< 0.0001	
<i>AB</i>	6.61	1	6.61	13.92	0.0058	
<b>Pure Error</b>	3.80	8	0.47			
<b>Cor Total</b>	1381.75	11				

The Model F-value of 967.38 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that an F-value this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, AB are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

<b>Std. Dev.</b>	0.69	<b>R-Squared</b>	0.9973
<b>Mean</b>	71.07	<b>Adj R-Squared</b>	0.9962
<b>C.V. %</b>	0.97	<b>Pred R-Squared</b>	0.9938
<b>PRESS</b>	8.55	<b>Adeq Precision</b>	72.733
<b>-2 Log Likelihood</b>	20.25	<b>BIC</b>	30.19
		<b>AICc</b>	33.97

The "Pred R-Squared" of 0.9938 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9962; 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 72.733 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

<b>Factor</b>	<b>Coefficient</b>	<b>df</b>	<b>Standard</b>	<b>95% CI</b>		<b>VIF</b>
	<b>Estimate</b>		<b>Error</b>	<b>Low</b>	<b>High</b>	
Intercept	71.07	1	0.20	70.61	71.52	
A-Kecepatan	5.04	1	0.20	4.58	5.50	1.00
B-Lama	-9.43	1	0.20	-9.89	-8.97	1.00
AB	0.74	1	0.20	0.28	1.20	1.00

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

EE =
+71.07
+5.04 * A
-9.43 * B
+0.74 * 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 =
+92.78144
+9.38056E-003 * Kecepatan
-11.15878 * Lama
+2.47361E-003 * Kecepatan * Lama

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the

relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space. Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

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

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

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

$$\text{Efek Faktor A} = \frac{84,792 + 67,421}{2} - \frac{76,195 + 55,856}{2} = 10,081$$

$$\text{Efek Faktor B} = \frac{55,856 + 67,421}{2} - \frac{76,195 + 84,792}{2} = -18,855$$

$$\text{Efek Faktor AB} = \frac{76,195 + 67,421}{2} - \frac{84,792 + 55,856}{2} = 1,482$$

### H.4. Constraints

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A:Kecepatan	is in range	400	1000	1	1	3
B:Lama	is in range	2	4	1	1	3
EE	maximize	55.146	85.879	1	1	3

### H.5 Solusi yang Ditawarkan *Design Expert*

No.	Kecepatan Pengadukan (rpm)	Lama Pengadukan (jam)	EE (%)	Desirability	
1	1000,000	2,000	84,792	0,965	Terpilih
2	996,037	2,000	84,735	0,963	
3	990,280	2,000	84,652	0,960	
4	981,598	2,000	84,528	0,956	

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

### I.1. Contoh Perhitungan Persen *Drug Loading*

- Diketahui : Persen *entrapment efficiency* = 84,502%

$$\text{Berat metformin HCl} = 0,750 \text{ gram}$$

$$\text{Berat microspheres} = 5,228 \text{ gram}$$

- Persen drug loading =  $\frac{84,502\% \times 0,750}{5,228} \times 100\% = 12,123\%$

### I.2. Contoh Perhitungan Persen Yield

- Diketahui : Berat microspheres didapat = 5,228 gram  
Berat microspheres teoritis = 5,250 gram

$$\text{Persen Yield} = \frac{5,228 \text{ gram}}{5,250 \text{ gram}} \times 100\% = 99,530\%$$

### I.3. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel Microspheres Menggunakan SEM

No	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1	80	180	160
2	80	180	100
3	100	160	200
4	120	180	220
5	160	180	240
6	200	100	140
7	140	80	100
8	160	180	180
9	180	180	160
10	100	200	180
11	80	140	140
12	100	100	160
13	200	180	180
14	180	160	100
15	160	180	80
16	180	160	100
17	160	200	200
18	180	220	180
19	180	240	160
20	200	140	180
21	100	180	180
22	100	160	200
23	100	180	100
24	80	160	100
25	200	180	100
26	180	160	180
27	220	180	160
28	240	80	200



29	240	100	220
30	220	80	180
31	140	160	160
32	180	140	180
33	200	80	160
34	140	80	100
35	240	200	80
36	140	180	200
37	200	220	180
38	180	140	160
39	160	180	180
40	180	200	80
41	140	140	180
42	120	200	200
43	100	180	140
44	80	160	240
45	180	100	140
46	160	80	160
47	100	100	140
48	200	200	80
49	220	180	80
50	240	160	200
Rata-rata	158.4	157.6	156.4

## J. Dokumentasi Penelitian

### I.1. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian



Metformin-HCl dan Etil selulosa 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

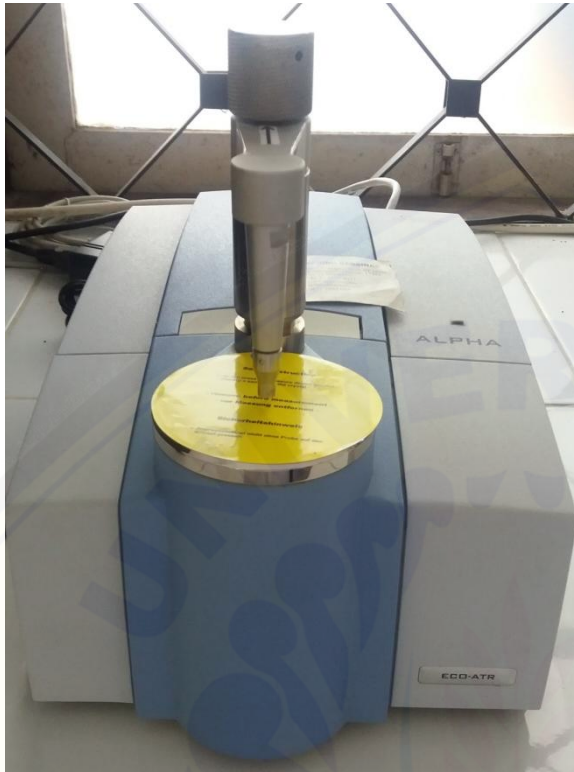
1, Samples 1 - 3

Save Data View Graph Measure Sample

Pengujian *entrapment efficiency* menggunakan spektrofotometer UV-VIS



Karakterisasi ukuran dan morfologi *microspheres* dengan SEM



Analisis spektrofotometer inframerah (FT-IR)