



**EVALUASI DAN PROFIL DISOLUSI KAPSUL *MICROSPHERES*  
METFORMIN HIDROKLORIDA - KITOSAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Stella Christa Santoso  
NIM 132210101030**

**BAGIAN FARMASETIKA  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**EVALUASI DAN PROFIL DISOLUSI KAPSUL *MICROSPHERES*  
METFORMIN HIDROKLORIDA-KITOSAN**

**SKRIPSI**

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

Oleh

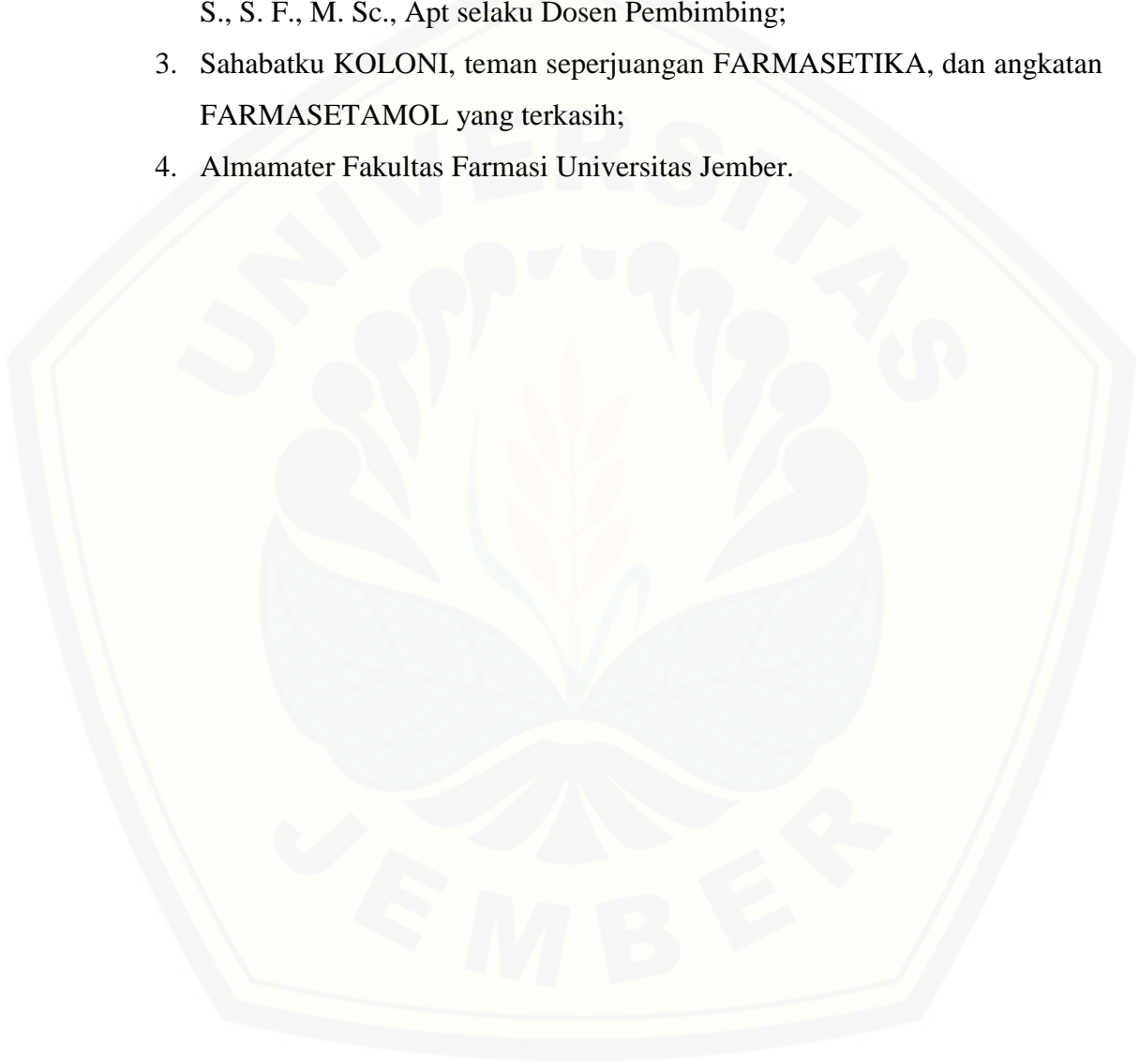
**Stella Christa Santoso  
NIM 132210101030**

**BAGIAN FARMASETIKA  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Mama Helena dan papa Soetikno Santoso yang tercinta;
2. Bapak Eka Deddy Irawan, S. Si., M. Sc., Apt dan Ibu Lusia Oktora R. K. S., S. F., M. Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing;
3. Sahabatku KOLONI, teman seperjuangan FARMASETIKA, dan angkatan FARMASETAMOL yang terkasih;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

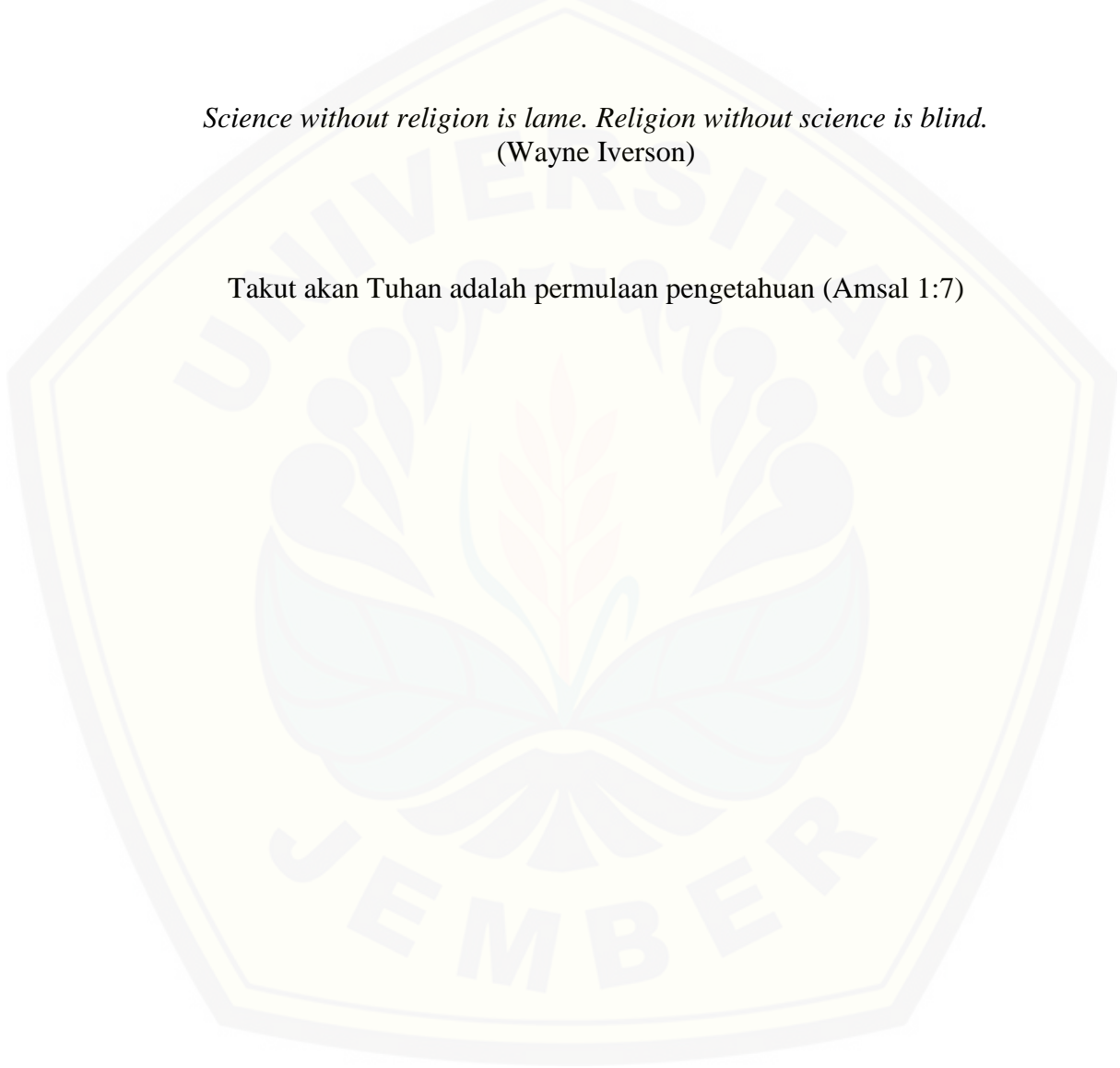


**MOTO**

*Research is to see what everybody else has seen and to think what nobody else has thought (Albert Szent-Gyorgi)*

*Science without religion is lame. Religion without science is blind.  
(Wayne Iverson)*

Takut akan Tuhan adalah permulaan pengetahuan (Amsal 1:7)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Stella Christa Santoso

NIM : 132210101030

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Evaluasi dan Profil Disolusi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 4 April 2017

Yang menyatakan,



(Stella Christa Santoso)

NIM 132210101030

**SKRIPSI**

**EVALUASI DAN PROFIL DISOLUSI KAPSUL *MICROSPHERES*  
METFORMIN HIDROKLORIDA-KITOSAN**

Oleh

Stella Christa Santoso

132210101030

Pembimbing:

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Evaluasi dan Profil Disolusi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan" karya Stella Christa Santoso telah diuji dan disahkan pada hari, tanggal : 18 April 2017  
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,



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

Dosen Pembimbing Anggota,



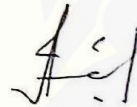
Lusya Oktora R. K. S. S. F. M. Sc., Apt.  
NIP. 197910032003122001

Dosen Penguji I,



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

Dosen Penguji II,



Lidya Ameliana, S. Si. Apt., M. Farm.  
NIP. 198004052005012005

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Stella W. Santoso, S. Si., Apt., M. Farm.  
NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Evaluasi dan Profil Disolusi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan;** Stella Christa Santoso, 132210101030; 2017; 100 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Metformin hidroklorida merupakan golongan biguanida yang digunakan sebagai *first line* terapi DM tipe 2. Bioavailabilitas yang rendah (50-60%) dan waktu paruh yang singkat (1,5–4,5 jam) menjadi permasalahan dalam terapi metformin hidroklorida. Dosis terapi yang besar dan frekuensi pemberian metformin hidroklorida yang berulang dapat meningkatkan resiko efek samping pada gastrointestinal. Sistem pelepasan terkendali telah dikembangkan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Ada dua bentuk sediaan dalam sistem pelepasan terkendali yaitu *single unit* dan *multiple unit*.

Salah satu bentuk *multiple unit* adalah *microspheres*. *Microspheres* merupakan partikel kecil *spheris* yang memiliki diameter 1 hingga 1000  $\mu\text{m}$ . Keuntungan *microspheres* ialah dapat memperpanjang waktu paruh, meminimalkan efek samping, meningkatkan akseptabilitas pasien, dan meningkatkan stabilitas obat. Pratiwi et al. (2015) dan Alhakimi (2015) telah melakukan optimasi formula *microspheres* metformin hidroklorida menggunakan kitosan, tetapi masih belum dilakukan uji disolusi untuk melihat keberhasilan formulanya. Tujuan penelitian ini adalah memformulasikan *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan hasil formula optimum kedua peneliti tersebut ke dalam kapsul kemudian melakukan evaluasi sediaan, mengamati profil disolusinya, dan menentukan hubungan antara pelepasan dengan *entrapment efficiency*.

*Microspheres* metformin hidroklorida dipreparasi menggunakan metode *non-aqueous solvent evaporation* dengan kecepatan (rpm) dan jumlah kitosan yang berbeda pada masing-masing formula. Metode *non-aqueous solvent evaporation* dipilih karena pengerjaannya mudah, ekonomis, dan dapat digunakan untuk enkapsulasi bahan aktif yang memiliki kelarutan baik dalam air. Kitosan



dipilih karena aman untuk digunakan, biaya produksinya murah, *biocompatible*, *biodegradable*, *bioadhesive*, dan memberikan pelepasan terkendali. Preparasi *microspheres* dilakukan dengan menggunakan *four-blade propeller stirrer*. Karakterisasi *microspheres* yang dilakukan adalah perhitungan *entrapment efficiency* menggunakan spektrofotometer UV-VIS dan uji sifat alir berdasarkan sudut diam menggunakan metode corong tetap. Kemudian *microspheres* dimasukkan ke dalam kapsul nomor 2 dan dievaluasi keseragaman bobot, waktu hancur, dan uji disolusi. Uji disolusi dilakukan dalam 900 mL *buffer* fosfat pH 6,8 dengan kecepatan pengadukan 50 rpm selama 480 menit menggunakan alat uji disolusi tipe I. Masing-masing formula dianalisis kinetika pelepasannya. Formula dengan nilai  $DE_{480}$  terbesar dianalisis morfologi dan ukuran partikelnya menggunakan SEM.

Hasil *entrapment efficiency* menunjukkan bahwa semakin besar kecepatan pengadukan dan semakin banyak jumlah kitosan yang digunakan memberikan nilai *entrapment efficiency* yang besar pula. Formula 2 memberikan *entrapment efficiency* terbesar yaitu 74,967 %. Semua formula memiliki sifat alir yang baik. Evaluasi kapsul menunjukkan bahwa semua formula memiliki bobot yang seragam, waktu hancur 2-4 menit, dan memberikan pelepasan metformin hidroklorida yang lambat. Profil disolusi semua formula menunjukkan adanya *initial burst release* pada 15 menit pertama dan dilanjutkan dengan pelepasan lambat hingga menit ke- 480. Pelepasan terbesar diamati pada formula 3 yaitu 49,720 % pada menit ke- 480. Formula 3 memberikan nilai  $DE_{480}$  terbesar yaitu 45,989 % dengan mekanisme pelepasan difusi Fickian mengikuti model Higuchi. Analisis SEM menunjukkan morfologi *microspheres* formula 3 memiliki bentuk *sub-angular* dan memiliki ukuran partikel rata-rata sebesar 84,333  $\mu\text{m}$ . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *entrapment efficiency* dan pelepasan obat memiliki hubungan yang tidak linier, artinya tidak selalu *entrapment efficiency* yang besar memberikan pelepasan yang besar dan sebaliknya.

## PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Evaluasi dan Profil Disolusi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Mama Helena dan papa Soetikno Santoso tercinta yang telah memberikan kasih sayang, dukungan moril maupun materi, doa, dan segala pengorbanannya demi mengiringi kesuksesan penulis;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S. Si, Apt, M. Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Bapak Eka Deddy Irawan, S. Si., M. Sc., Apt. dan Ibu Lusia Oktora R.K.S, S. F., M. Sc., Apt. selaku dosen pembimbing yang dengan sabar telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan memberikan dukungan, bantuan, dan perhatian kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini;
4. Bapak Viddy Agustian R., S. Farm., M. Sc., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Lidya Ameliana S. Si, Apt., M. Farm. selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran untuk kemajuan skripsi ini;
5. Para Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan;
6. Ibu Itus, Mbak Titin, Ibu Wayan, dan Mbak Hani yang telah membantu penulis saat melakukan penelitian di laboratorium farmasetika dan kimia;
7. Teman seperjuangan *microspheres crew*: Nur Khijjatul Meiliyah, Yuli Antika, dan Atika Sari. Mereka adalah partner pejuang skripsi dan terima kasih atas semua suka duka, semangat, bantuan, dan dukungan yang selalu kalian berikan;

8. Sahabatku KOLONI: Meiliyah, Ayunda, Rika, Fara, Fikri, Nindi, dan Milly atas suka duka, bantuan, semangat, dan doa yang diberikan kepada penulis mulai dari awal perkuliahan hingga saat ini;
9. Tim Farmasetika: Nike-Tiara, Geng *patch*: Ami, Nindi, Ratna, Geng *buccal*: Timeh, Rani, Nisa yang selama ini telah ikut membantu selama di laboratorium, memberikan banyak dukungan, semangat, dan masukan kepada penulis;
10. Grup *No Gosip Asoy Geboy* yang selalu memberikan dukungan dan *intermezzo* di tengah kesibukan skripsi;
11. Angkatan 2013 Farmasetamol yang sudah menemani selama perkuliahan dan berbagi suka duka bersama;
12. Cebu *team*: Edwin, Yuvi, Tari, Jeany, Mam Yollie, Mam Nelly, Mam Beth, Norman Jake C. Mabalot dan *Master Students*, Noralie, Glice, Louise, Drixie, dan semua *buddies*-ku yang sudah memberikan dukungan dan doa dari jauh demi kelancaran skripsi ini;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 4 April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 <i>Microspheres</i></b> .....	5
2.1.1 Manfaat <i>Microspheres</i> .....	5
2.1.2 Preparasi <i>Microspheres</i> .....	6
2.1.3 Metode <i>Non-aqueous Solvent Evaporation</i> .....	7
2.1.4 Karakterisasi <i>Microspheres</i> .....	8
<b>2.2 Metformin Hidroklorida</b> .....	10
<b>2.3 Kitosan</b> .....	11
<b>2.4 Kapsul</b> .....	12
2.4.1 Keseragaman Bobot .....	12
2.4.2 Waktu Hancur .....	13
2.4.3 Penetapan Kadar .....	13
<b>2.5 Disolusi</b> .....	13
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	16
<b>3.1 Rancangan Penelitian</b> .....	16
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	16
3.2.1 Alat .....	16
3.2.2 Bahan .....	16
<b>3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian</b> .....	16
<b>3.4 Prosedur Penelitian</b> .....	18
3.4.1 Preparasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida- Kitosan .....	18
3.4.2 Penentuan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	19

3.4.3 Sifat Alir <i>Microspheres</i> .....	19
3.4.4 Preparasi Kapsul <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida- Kitosan .....	20
3.4.5 Evaluasi Kapsul <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida- Kitosan .....	20
3.4.6 Analisis Kinetika Pelepasan.....	22
3.4.7 Karakterisasi Ukuran dan Morfologi <i>Microspheres</i> .....	22
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	23
<b>4.1 Preparasi <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Kitosan ...</b>	23
<b>4.2 Hasil Penentuan <i>Entrapment Efficiency</i></b> .....	24
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	24
4.2.2 Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>Aquadest</i> .....	25
4.2.3 Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	25
<b>4.3 Hasil Evaluasi Sifat Alir <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Kitosan</b> .....	27
<b>4.4 Evaluasi Kapsul <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida-Kitosan</b> .....	28
4.4.1 Hasil Evaluasi Keseragaman Bobot.....	28
4.4.2 Hasil Evaluasi Waktu Hancur .....	29
4.4.3 Hasil Uji Disolusi.....	30
4.4.4 Analisis Kinetika Pelepasan.....	35
<b>4.5 Karakterisasi SEM</b> .....	36
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	39
<b>4.1 Kesimpulan</b> .....	39
<b>4.2 Saran</b> .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	40
<b>LAMPIRAN</b> .....	45

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Persyaratan penyimpangan bobot kapsul.....	13
3.1 Formula <i>microspheres</i> metformin hidroklorida-kitosan.....	18
3.2 Kriteria sifat alir berdasarkan sudut diam.....	20
3.3 Bobot <i>microspheres</i> dalam kapsul.....	20
4.1 Organoleptis <i>microspheres</i> .....	24
4.2 Hasil pengujian <i>entrapment efficiency</i> .....	26
4.3 Hasil evaluasi sudut diam.....	28
4.4 Hasil uji keseragaman bobot kapsul.....	28
4.5 Hasil evaluasi waktu hancur kapsul.....	29
4.6 Hubungan <i>entrapment efficiency</i> dan pelepasan obat.....	33
4.7 Hasil DE <sub>480</sub> kapsul <i>microspheres</i> metformin hidroklorida.....	34
4.8 Hasil analisis model kinetika pelepasan.....	35
4.9 Hasil penentuan ukuran <i>microspheres</i> formula 3.....	38

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Morfologi <i>microspheres</i> .....	5
2.2 Struktur metformin hidroklorida.....	10
2.3 Struktur kitosan.....	11
3.1 Skema langkah kerja penelitian.....	17
4.1 <i>Microspheres</i> metformin hidroklorida-kitosan.....	23
4.2 Spektra panjang gelombang metformin hidroklorida dalam <i>aquadest</i>	24
4.3 Kurva baku metformin hidroklorida dalam <i>aquadest</i> .....	25
4.4 Spektra panjang gelombang dalam <i>buffer</i> fosfat pH 6,8.....	30
4.5 Kurva baku metformin hidroklorida dalam <i>buffer</i> fosfat pH 6,8.....	31
4.6 Profil disolusi kapsul <i>microspheres</i> .....	32
4.7 Model kinetika pelepasan kapsul <i>microspheres</i> .....	36
4.8 Morfologi <i>microspheres</i> formula 3.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. <i>Certificate of Analysis</i> .....	45
A1. Metformin Hidroklorida.....	45
A2. Kitosan .....	46
B. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum Metformin Hidroklorida ..	47
C. Kurva Baku Metformin Hidroklorida Dalam <i>Aquadest</i> .....	51
D. Hasil Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	52
E. Uji Sifat Alir .....	55
F. Uji Waktu Hancur .....	55
G. Uji Keseragaman Bobot .....	57
H. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang dalam <i>Buffer</i> Fosfat pH 6,8.....	60
I. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam <i>Buffer</i> Fosfat pH 6,8 .....	64
J. Hasil Uji Disolusi Kapsul <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida.....	65
K. Profil Pelepasan Kapsul <i>Microspheres</i> Metformin Hidroklorida .....	70
L. Hasil Perhitungan $DE_{480}$ .....	72
M. Plot Kinetika Pelepasan .....	76
N. Hasil Ukuran Partikel <i>Microspheres</i> Menggunakan SEM.....	79
O. Dokumentasi Penelitian .....	81



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan sekelompok gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dan kelainan metabolisme lemak, karbohidrat, dan protein yang disebabkan oleh kegagalan dalam sekresi insulin, sensitivitas insulin, atau keduanya (Dipiro *et al.*, 2014). Menurut *International Diabetes Federation* (2015), prevalensi DM pada orang dewasa (20-79 tahun) di Indonesia sebesar 6,2 % dari 161.572 populasi dan jumlah kematian akibat diabetes sebanyak 184.985 pada tahun 2015. Diabetes terdiri dari tiga tipe yaitu tipe 1 (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*), tipe 2 (*Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus*), dan diabetes gestasional.

Metformin hidroklorida merupakan golongan biguanida yang digunakan dalam terapi DM tipe 2 dengan mekanisme kerja meningkatkan sensitivitas insulin hepatic dan perifer (sel otot) (Dipiro *et al.*, 2014). Dosis awal metformin hidroklorida sebesar 500 mg dua atau tiga kali sehari atau 850 mg sekali atau dua kali sehari. Jika dibutuhkan, dosis dapat ditingkatkan menjadi 2 hingga 3 g per hari (Sweetman, 2011). Penggunaan metformin hidroklorida dengan dosis besar dan secara berulang dapat meningkatkan resiko efek samping pada gastrointestinal dan toksisitas (Deb *et al.*, 2013). Metformin hidroklorida digolongkan ke dalam *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas III karena memiliki kelarutan tinggi dalam air dan bioavailabilitas rendah. Bioavailabilitas metformin hidroklorida sebesar 50-60% dan waktu paruh yang singkat yaitu 1,5 – 4,5 jam (Diwedi *et al.*, 2012). Berdasarkan alasan tersebut, perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan formulasi sediaan metformin hidroklorida dalam rangka mencapai terapi yang optimal (Ghodake *et al.*, 2010).

Pelepasan obat terkendali merupakan salah satu sistem penghantaran obat yang dirancang untuk menjaga konsentrasi obat yang efektif dalam sirkulasi sistemik dalam waktu yang lama. Sistem pelepasan obat terkendali dapat meningkatkan durasi waktu paruh obat yang pendek, mengurangi efek samping dan toksisitas, mengurangi frekuensi pemberian dosis obat, serta meningkatkan

kepatuhan pasien (Kushal *et al.*, 2013). Ada dua bentuk sediaan dalam sistem pelepasan terkendali yaitu *single unit* dan *multiple unit*. Bentuk *single unit* mudah untuk dikembangkan, tetapi efek obat dapat hilang jika terjadi pengosongan lambung sehingga bioavailabilitas tidak seragam. Selain itu, bentuk *single unit* dapat menyebabkan iritasi lokal karena sejumlah obat dalam dosis besar hanya berada pada satu posisi di saluran pencernaan (Narang, 2011). Bentuk *multiple unit* memiliki beberapa keuntungan antara lain: mampu melepaskan obat dengan laju terkontrol, dapat mempertahankan obat di lambung dalam waktu yang lama, pengosongan lambung tidak dipengaruhi oleh adanya makanan, serta memiliki resiko yang lebih rendah untuk terjadinya *dose dumping* dan iritasi lambung (Ghodake *et al.*, 2010).

Salah satu bentuk *multiple unit* adalah *microspheres*. *Microspheres* merupakan partikel *spheris* yang memiliki ukuran berkisar antara 1 hingga 1000  $\mu\text{m}$ . Keuntungan *microspheres* ialah memperpanjang waktu paruh, meminimalkan efek samping, meningkatkan akseptabilitas pasien, dan meningkatkan stabilitas obat (Enriquez *et al.*, 2014). *Microspheres* metformin hidroklorida dapat memperpanjang waktu paruh 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).

*Microspheres* metformin hidroklorida dapat dipreparasi menggunakan polimer kitosan dengan menggunakan metode *non-aqueous solvent evaporation*. Metode *non-aqueous solvent evaporation* dipilih karena pengerjaannya mudah, ekonomis, dan dapat digunakan untuk enkapsulasi bahan aktif yang memiliki kelarutan baik dalam air. Kitosan merupakan polimer kationik yang berasal dari bahan alam sehingga aman untuk digunakan, biaya produksinya murah, *biocompatible*, *biodegradable*, dan *bioadhesive* (Garud & Garud, 2012). Berdasarkan penelitian Garud & Garud (2012), polimer kitosan memberikan pelepasan terkendali yang paling baik dibandingkan dengan polimer etil selulosa, HPMC, dan karbopol yaitu selama 15 jam. Peningkatan kecepatan pengadukan dapat meningkatkan laju pelepasan obat. Semakin tinggi konsentrasi polimer, laju pelepasan semakin menurun (Garud & Garud, 2012).

Berbagai penelitian tentang optimasi formulasi *microspheres* metformin hidroklorida dengan kitosan telah banyak dilakukan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi et al. (2015) dan Alhakimi (2015), formulasi optimum *microspheres* metformin hidroklorida dengan kitosan memiliki *entrapment efficiency* sebesar 81,191 % dan 84,141 %. Formulasi optimum pada kedua penelitian tersebut masih belum diketahui profil disolusinya. Uji disolusi perlu dilakukan untuk mengetahui berapa banyak obat yang dilepaskan sekaligus untuk membuktikan apakah *entrapment efficiency* yang besar juga berkorelasi dengan pelepasan yang besar atau sebaliknya. Selain itu, sejauh ini belum ada penelitian mengenai formulasi *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan ke dalam kapsul. Formulasi *microspheres* dalam kapsul dipilih karena praktis, menarik, mudah dibuat, dan dapat menutupi bau dan rasa yang tidak enak dari bahan obat. Berdasarkan pemikiran tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk memformulasikan *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan ke dalam kapsul kemudian melakukan evaluasi dan mengamati profil disolusinya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil evaluasi kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang dihasilkan?
2. Bagaimana profil disolusi kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang dihasilkan?
3. Bagaimana hubungan antara *entrapment efficiency* terhadap pelepasan kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang dihasilkan?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui hasil evaluasi kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang dihasilkan.
2. Mengetahui profil disolusi kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang dihasilkan.
3. Mengetahui hubungan antara *entrapment efficiency* terhadap pelepasan kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang dihasilkan.

### 1.4 Manfaat Penelitian

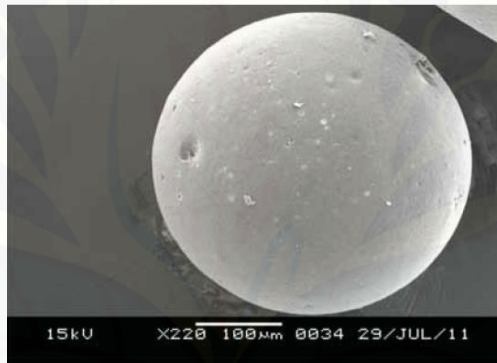
Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk:

1. Memberikan informasi terkait profil disolusi *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang diformulasikan ke dalam bentuk kapsul.
2. Data ilmiah yang dihasilkan dapat digunakan sebagai literatur dalam modifikasi atau pengembangan produk obat metformin hidroklorida oleh perusahaan Farmasi dan perguruan tinggi Farmasi.
3. Dapat memberikan informasi ilmiah untuk penelitian selanjutnya dalam pengembangan formulasi *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat terkendali.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Microspheres*

*Microspheres* merupakan partikel kecil *spheris* yang memiliki diameter 1 hingga 1000  $\mu\text{m}$ . *Microspheres* sering kali disebut sebagai mikropartikel. Ada dua tipe *microspheres* yaitu *microcapsule* dan *micromatrices*. *Microcapsule* menjebak obat menggunakan dinding kapsul, sedangkan *micromatrices* mendispersikan obat ke dalam suatu matriks (Kadam & Suvarna, 2015). *Microspheres* dapat dibentuk dari polimer bahan alam, semi sintetis, maupun sintetis. *Microspheres* memiliki peran penting dalam meningkatkan bioavailabilitas dan meminimalkan efek samping obat konvensional.



Gambar 2.1 Morfologi *microspheres* (Sharma *et al.*, 2013)

#### 2.1.1 Manfaat *Microspheres*

*Microspheres* dipreparasi untuk berbagai rute pemberian seperti okular, oral, nasal, intratumoral dan lokal, *buccal*, gastrointestinal, kolon, transdermal, vaginal, serta penghantaran gen dan tertarget (Kadam & Suvarna, 2015). *Microspheres* diformulasi dalam sediaan tablet untuk rute oral, *buccal* (Yedurkar *et al.*, 2012), dan vaginal (Gupta *et al.*, 2013). Selain tablet, *microspheres* untuk rute oral juga diformulasi dalam sediaan kapsul, larutan, sirup (Kumar, 2014), dan suspensi rekonstitusi (Devrim *et al.*, 2011). *Microspheres* untuk penggunaan topikal diformulasi ke dalam sediaan krim (Dinarvand, *et al.*, 2010) dan gel (Kumar *et al.*, 2014).

Adapun keuntungan *microspheres*, antara lain: a) ukuran partikel yang kecil dapat meningkatkan kelarutan obat yang kelarutannya rendah, b) memperlama efek terapi, c) meningkatkan akseptabilitas pasien dengan mengurangi frekuensi pemberian obat, d) menyediakan konsentrasi obat yang konstan dalam darah, e) menurunkan dosis dan toksisitas, f) melindungi obat dari aktivitas enzimatis maupun fotolisis sehingga menjadi sistem penghantaran obat yang paling baik untuk protein, g) meningkatkan bioavailabilitas obat dan mengurangi efek samping obat pada saluran pencernaan, h) mengontrol pelepasan dan degradasi obat, i) mengubah cairan menjadi bentuk padat dan menutupi rasa pahit (Kadam & Suvarna, 2015).

### 2.1.2 Preparasi *Microspheres*

Beberapa metode yang dapat digunakan dalam preparasi *microspheres* antara lain: a) *spray drying*, b) *solvent evaporation*, c) *phase separation coacervation technique*, d) *ionic gelation*, e) *quassi emulsion solvent diffusion* (Kadam & Suvarna, 2015 ; Prasad *et al.*, 2014). Pemilihan metode preparasi *microspheres* bergantung pada sifat polimer, bahan aktif, dan tujuan penggunaan (Wise, 2000). *Microspheres* paling banyak dipreparasi menggunakan metode *solvent evaporation*, terutama pada skala laboratorium (Kim & Pack, 2006). Metode *solvent evaporation* telah dikembangkan pada akhir tahun 1970. Berdasarkan studi perbandingan terhadap metode lain, metode *solvent evaporation* mudah untuk diaplikasikan di laboratorium karena menggunakan alat-alat laboratorium yang umum seperti *beaker glass* dan pengaduk, sederhana, ekonomis, serta *robust* (Naik *et al.*, 2012). Metode ini dapat digunakan untuk bahan aktif yang memiliki kelarutan yang baik ataupun buruk dalam air (Mishra, 2016). Beberapa variabel dalam proses *solvent evaporation* yang dapat mempengaruhi formulasi *microspheres* adalah jenis dan volume pelarut, tipe dan BM polimer, laju penguapan pelarut, perbandingan bahan aktif dan polimer, penambahan *buffer* dan garam ke dalam fase internal/eksternal, volume fase internal/eksternal, suhu preparasi, dan kecepatan pengadukan (Tiwari & Verma, 2011).

Metode *solvent evaporation* dibagi menjadi dua macam yaitu *single emulsion technique* dan *multi-emulsion technique*. *Single emulsion technique* dibedakan menjadi dua sistem yaitu *oil in water emulsification (o/w)* dan *oil in oil emulsification (o/o)*. Sistem *o/w* merupakan teknik yang sederhana dan digunakan untuk mengenkapsulasi bahan obat hidrofobik. Salah satu masalah dalam sistem *o/w* ialah rendahnya *encapsulation efficiency* untuk bahan obat yang sifatnya hidrofilik. Berbeda dengan sistem *o/w*, sistem *o/o* menghasilkan *encapsulation efficiency* yang tinggi untuk bahan obat yang hidrofilik karena dapat meminimalkan terjadinya *drug loss* pada saat pembentukan *microspheres* (Mishra, 2016). Teknik ini juga dapat digunakan pada bahan obat yang memiliki masalah stabilitas terhadap air. Metode *single emulsification o/o* disebut juga dengan *non-aqueous solvent evaporation* karena tidak adanya pelarut air dalam emulsifikasi minyak dalam minyak (Naik *et al.*, 2012 ; Wise, 2000).

### 2.1.3 Metode *Non-aqueous Solvent Evaporation*

Metode *non-aqueous solvent evaporation* merupakan salah satu metode yang digunakan dalam enkapsulasi bahan aktif yang memiliki kelarutan baik dalam air (Wise, 2000). Bahan obat dan polimer dilarutkan dalam suatu pelarut organik polar seperti asetonitril (Naik *et al.*, 2012) atau kombinasi asetonitril dan metanol. Setelah pencampuran bahan obat dan polimer dalam pelarut organik polar, kemudian dilakukan emulsifikasi ke dalam fase eksternal yang bersifat lipofilik seperti *light liquid paraffin* (Pandit *et al.*, 2013) atau *triglyceride* (Naik *et al.*, 2012). Penambahan surfaktan seperti span 80 dapat digunakan sebagai *stabilizer* untuk fase minyak yang kedua sehingga dihasilkan sistem emulsi yang stabil (Maji *et al.*, 2012). Proses emulsifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan bantuan pengaduk seperti *three-blade propeller* pada suhu ruang. Beberapa peneliti melakukan optimasi lama pengadukan dengan waktu yang berbeda. Maji *et al.* (2012) melakukan proses emulsifikasi dengan bantuan pengaduk *three-blade propeller* selama 2 jam dengan kecepatan 400, 600, dan 1000 rpm. Garud & Garud (2012) melakukan proses emulsifikasi dengan variasi kecepatan 600, 1200, dan 1800 selama waktu 4 jam. Setelah proses emulsifikasi

selesai, *microspheres* dikumpulkan melalui filtrasi. Filtrasi dilakukan menggunakan *membrane filter Whatman paper* no 1 (Garud & Garud, 2012). *Microspheres* dibilas berulang kali dengan menggunakan *petroleum ether* (40° - 60°C) untuk menghilangkan fase minyak dari tahap emulsifikasi. 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*

*Entrapment efficiency* menggambarkan kandungan atau jumlah obat yang terperap di dalam *microspheres*. *Entrapment efficiency* ditentukan menggunakan spektrofotometri dengan persamaan berikut (Garud & Garud, 2012):

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

##### b. *Drug Loading*

*Drug loading* menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan dalam preparasi *microspheres*. *Drug loading* dapat ditentukan dengan membandingkan berat bahan aktif sebenarnya dengan berat *microspheres* sebenarnya (Garud & Garud, 2012). Perhitungan *drug loading* menggunakan persamaan berikut:

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

##### c. *Yield*

*Yield* menggambarkan seberapa efisien metode yang digunakan untuk menghasilkan *microspheres* dalam jumlah maksimal, sehingga membantu dalam memilih metode pembuatan *microspheres* yang tepat (Sappidi *et al.*, 2014). *Yield* ditentukan dengan membandingkan berat *microspheres* sebenarnya dengan total berat bahan aktif dan polimer (Garud & Garud, 2012). Perhitungan *yield* menggunakan persamaan berikut:



$$\% \text{ yield} = \frac{\text{berat } \textit{microspheres} \text{ sebenarnya}}{\text{total berat bahan aktif dan polimer}} \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

d. Analisis Pembentukan Kompleks dengan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)

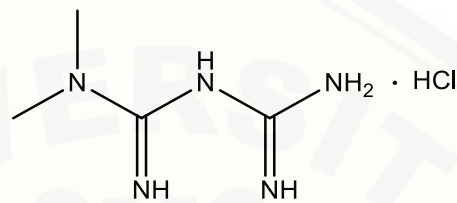
FTIR merupakan salah satu metode spektroskopi infra merah (IR) yang dapat mengidentifikasi kandungan gugus kompleks dalam senyawa tetapi tidak dapat menentukan unsur-unsur penyusunnya. Pada spektroskopi IR, radiasi IR dilewatkan pada sampel. Sebagian dari radiasi IR diserap oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan. Jika frekuensi dari suatu vibrasi spesifik sama dengan frekuensi radiasi IR yang langsung menuju molekul, molekul akan menyerap radiasi tersebut. Spektrum yang dihasilkan menggambarkan absorpsi dan transmisi molekular, membentuk suatu sidik jari molekular suatu sampel (Kencana, 2009). Spektra FTIR digunakan untuk mendeteksi identitas bahan aktif dan mendeteksi ada tidaknya interaksi antara bahan aktif dengan polimer yang digunakan (Sappidi *et al.*, 2014).

e. Ukuran dan Morfologi *Microspheres*

Ukuran dan morfologi *microspheres* dapat dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Ukuran partikel suatu *microspheres* dapat mempengaruhi laju pelepasannya. Semakin kecil ukuran partikel, maka rasio antara luas permukaan dengan volume semakin meningkat. Selain itu, penetrasi air ke dalam partikel kecil menjadi lebih cepat karena jarak yang lebih pendek dari permukaan ke pusat partikel. Partikel kecil mudah mengeras karena jarak yang lebih pendek untuk pelarut keluar dari droplet partikel sehingga distribusi obat yang terjebak di dalamnya menjadi lebih seragam (Varde & Pack, 2004).

## 2.2 Metformin Hidroklorida

Metformin hidroklorida ( $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ ) memiliki berat molekul sebesar 165,6 g/mol, berupa kristal putih atau hampir putih, mudah larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam aseton dan diklorometana (Sweetman, 2011). pKa metformin hidroklorida ialah 12,4 (Sutar *et al.*, 2012). Struktur metformin hidroklorida dapat dilihat pada Gambar 2.2.

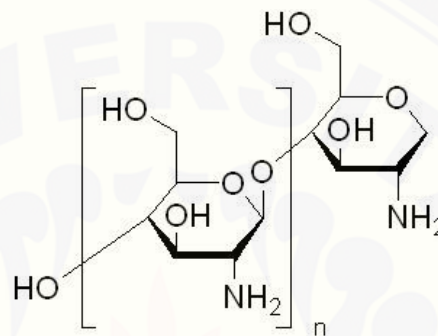


Gambar 2.2 Struktur metformin hidroklorida

Metformin hidroklorida menjadi *first line* dalam terapi DM tipe 2 pada pasien yang mengalami obesitas. Dosis awal metformin hidroklorida sebesar 500 mg dua kali sehari atau 850 mg sekali atau dua kali sehari. Jika dibutuhkan, dosis dapat ditingkatkan menjadi 2 hingga 3 g per hari. Dosis 3 g per hari dapat meningkatkan efek samping metformin hidroklorida pada saluran cerna (Sweetman, 2011). Efek samping pada saluran cerna berupa anoreksia, mual, muntah, abdomen tidak nyaman, dan diare yang terjadi pada 20 % pasien (Katzung *et al.*, 2011). Metformin hidroklorida memiliki waktu paruh 1,5 – 4,5 jam, tidak terikat pada protein plasma, tidak dimetabolisme, dan diekskresi oleh ginjal sebagai senyawa aktif. Bioavailabilitas metformin hidroklorida pada pemberian oral sebesar 50-60% dengan tempat absorpsi pada bagian atas intestinal. Penggunaan bersama dengan makanan dapat menurunkan efek samping tetapi dapat menurunkan laju absorpsi dari metformin hidroklorida (Sweetman, 2011).

### 2.3 Kitosan

Kitosan (*Poly- $\beta$ -(1,4)-2-Amino-2-deoxy-D-glucose*) merupakan polisakarida yang berasal dari deasetilasi kitin, terutama yang berasal dari Crustacea (kepiting, udang, dan lobster). Berat molekul kitosan sebesar 10.000 - 1.000.000 Da dan mempunyai struktur kristal yang keras melalui ikatan hidrogen inter dan intra molekulnya (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.3 Struktur kitosan

Kitosan memiliki bentuk serbuk atau serpihan berwarna putih atau putih kecoklatan dan tidak berbau. Kitosan agak sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol 95%, pelarut organik lain, larutan netral ataupun alkali di atas pH 6,5. Garam kitosan (klorida, glutamat, dll) dapat larut dalam air. Kelarutan kitosan dipengaruhi oleh derajat deasetilasi. Kitosan dengan derajat deasetilasi rendah (< 40%) larut dalam larutan hingga pH 9,0, sedangkan kitosan dengan derajat asetilasi (> 85%) larut dalam larutan hingga pH 6,5 (Pratiwi *et al.*, 2015). Kitosan aman untuk digunakan karena sifatnya yang tidak toksik, tidak mengiritasi, *biocompatible*, dan *biodegradable* (Rowe *et al.*, 2009).

Polimer yang banyak digunakan dalam preparasi *microspheres* untuk rute ophthalmik, oral, nasal, intratumoral dan lokal, *buccal*, transdermal, kolon, vaginal, dan sistem penghantaran gen dan tertarget ialah kitosan (Kadam & Suvarna, 2015). Kitosan dapat meningkatkan stabilitas obat dan berfungsi sebagai *permeation enhancer* bagi obat hidrofilik yang bioavailabilitasnya rendah. Kitosan memiliki sifat *mucoadhesive* atau dapat melekat pada permukaan mukosa. Kemampuan *mucoadhesive* kitosan lebih tinggi dibandingkan dengan polimer

bahan alam lain seperti, selulosa, xanthan, dan gum (Prasad *et al.*, 2014). Karakteristik ini diakibatkan oleh interaksi ionik antara gugus ammonium kuarterner kitosan dengan permukaan mukus yang bermuatan negatif. Saat melekat pada permukaan mukosa, kitosan dapat membuka sementara *tight junction* antar sel-sel epitel glikoprotein, yaitu asam sialat yang bersifat anionik. Pembukaan sementara ini memberi waktu yang lebih panjang bagi interaksi dan transpor obat ke dalam sel (Sinha *et al.*, 2004).

## 2.4 Kapsul

Kapsul adalah sediaan padat yang terdiri dari obat dalam cangkang keras atau lunak yang dapat larut. Cangkang umumnya terbuat dari gelatin, tetapi dapat juga terbuat dari pati atau bahan lain yang sesuai (Depkes RI, 1995). Ada dua macam kapsul yaitu kapsul cangkang keras (*hard capsule*) dan cangkang lunak (*soft capsule*). Kapsul cangkang keras terdiri atas wadah dan tutup yang dibuat dari campuran gelatin, gula dan air, jernih tidak berwarna dan pada dasarnya tidak mempunyai rasa. Biasanya cangkang ini diisi dengan bahan padat atau serbuk, butiran, atau granul. Ukuran cangkang kapsul keras bervariasi mulai dari yang besar sampai yang kecil yaitu 000, 00, 1, 2, 3, 4, dan 5.

Kapsul harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

### 2.4.1 Keseragaman Bobot

Uji keseragaman bobot kapsul yang berisi obat kering dilakukan dengan cara menimbang 20 kapsul satu per satu dan mengeluarkan isi semua kapsul. Seluruh bagian cangkang kapsul ditimbang. Kemudian bobot isi kapsul dan bobot rata-rata tiap isi kapsul dihitung. Perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata tiap isi kapsul tidak boleh lebih dari dua kapsul yang penyimpangannya lebih besar dari harga yang telah ditetapkan oleh kolom A dan tidak satu kapsul pun yang penyimpangannya melebihi yang ditetapkan oleh kolom B (Depkes RI, 1979). Persyaratan penyimpangan bobot kapsul dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Persyaratan penyimpangan bobot kapsul (Depkes RI, 1979)

Bobot rata-rata kapsul	Perbedaan bobot isi kapsul dalam %	
	A	B
< 120 mg	10	20
Lebih dari 120 mg	7,5	15

#### 2.4.2 Waktu Hancur

Uji ini dimaksudkan untuk menetapkan kesesuaian batas waktu hancur yang tertera dalam masing-masing monografi. Waktu yang diperlukan untuk menghancurkan kapsul tidak boleh lebih dari 15 menit, kecuali dinyatakan lain (Depkes RI, 1979).

#### 2.4.3 Penetapan Kadar

Penetapan kadar dilakukan untuk memastikan bahwa kandungan zat berkhasiat yang terdapat dalam kapsul telah memenuhi persyaratan dan sesuai dengan yang tertera pada etiket. Metode penetapan kadar yang digunakan sesuai dengan bahan aktif yang terkandung dalam sediaan kapsul.

### 2.5 Disolusi

Disolusi merupakan proses melarutnya bahan aktif dari suatu sediaan ke dalam medium. Ketika suatu sediaan padat seperti tablet atau kapsul dimasukkan ke dalam suatu wadah berisi air atau cairan saluran pencernaan, obat akan masuk ke dalam cairan tersebut. Obat mengalami disintegrasi menjadi granul. Granul mengalami deagregasi menjadi partikel halus (*fines*). Disintegrasi, deagregasi, dan disolusi terjadi secara simultan dengan pelepasan obat dari bentuk sediaannya. Ketika suatu obat terlarut dalam medium, molekul dari partikel padat tersebut akan bercampur dengan molekul cairan dan menjadi bagian dari cairan tersebut. Disolusi dapat dikatakan sebagai proses lepasnya obat dari suatu fase padat menuju fase cair (Sinko, 2010).

Kelarutan dalam air memiliki peran penting dalam laju disolusi dan pelepasan obat dari bentuk sediaan. Studi laju disolusi telah diawali oleh Noyes dan Whitney dengan persamaan (Sinko, 2010):

$$\frac{dM}{dt} = \frac{D \cdot S}{h} (C_s - C) \dots \dots \dots (4)$$

Keterangan:

$dM/dt$  : laju disolusi obat

M : massa solid yang terdisolusi dalam waktu t

D : koefisien difusi

S : luas permukaan solid

h : tebal lapisan difusi

$C_s$  : kelarutan pada permukaan solid yang terdisolusi

C : konsentrasi obat pada medium

Ketika kondisi *sink* tercapai ( $C \sim 0$ ), maka persamaan di atas dapat disederhanakan dalam bentuk:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{D \cdot S}{h} C_s \dots \dots \dots (5)$$

Berdasarkan persamaan Noyes dan Whitney, laju disolusi berbanding lurus dengan kelarutan pada permukaan solid yang terdisolusi ( $C_s$ ) dan luas permukaan solid (S). Artinya, laju disolusi dapat ditingkatkan dengan memperbesar luas permukaan. Luas permukaan yang besar diperoleh dengan memperkecil ukuran partikel.

Uji disolusi dilakukan untuk pengembangan produk baru (optimasi formula), kontrol kualitas, dan membantu menetapkan bioekivalensi. Kondisi uji disolusi disesuaikan dengan ketentuan untuk masing-masing obat sehingga kondisi uji disolusi untuk setiap obat berbeda satu dengan yang lain. Uji disolusi dapat dilakukan menggunakan dua tipe alat yaitu keranjang (alat tipe I) dan dayung (alat tipe II) sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan dalam Farmakope Indonesia (Depkes RI, 1995).

Media disolusi yang telah mengandung obat terlarut akan diambil sebagai sampel pada interval waktu tertentu. Sampel yang diambil harus digantikan dengan media baru selama waktu pengujian. Kemudian, sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji disolusi yang berupa absorbansi dikonversi supaya kadar sampel yang sebenarnya dapat ditentukan. Penentuan kadar sampel yang sebenarnya memerlukan faktor koreksi dikarenakan adanya pergantian cairan media disolusi setiap kali pengambilan sampel pada waktu yang ditentukan. Koreksi hasil uji disolusi menggunakan persamaan Wuster dapat dinyatakan sebagai berikut (Anggraeni *et al.*, 2012):

$$C_n = C'_n + \frac{a}{b} \sum_{i=1}^{N-1} C_s \dots\dots\dots (6)$$

Keterangan:

- $C_n$  : Kadar sebenarnya setelah dikoreksi (ppm)  
 $C'_n$  : Kadar terbaca (hasil perhitungan dari nilai serapan sampel yang terbaca pada spektrofotometer) dalam ppm  
 $C_s$  : Kadar terbaca dari sampel sebelumnya  
 $a$  : Volume sampel yang diambil  
 $b$  : Volume media

Kadar bahan aktif yang telah dikoreksi akan diakumulasikan sesuai dengan waktu sampling. Kadar akumulasi pada waktu tertentu diubah dalam bentuk persen terhadap kadar bahan aktif sebelum disolusi. Kurva profil disolusi terbentuk dari nilai x dan y dalam persamaan berikut:

$$y = bx + a \dots\dots\dots (7)$$

Keterangan:

- $y$  : persen akumulasi kadar bahan aktif dalam sampel  
 $x$  : waktu sampling saat uji disolusi  
 $a$  : *intercept*  
 $b$  : *slope*

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Tahapan penelitian meliputi: (1) Preparasi *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan; (2) Evaluasi *entrapment efficiency* dan sifat alir *microspheres*; (3) Preparasi kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan; (4) Evaluasi sediaan kapsul dan uji disolusi; (5) Analisis kinetika pelepasan; (6) Karakterisasi ukuran dan morfologi dari formulasi dengan  $DE_{480}$  terbesar.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: SEM (*Hitachi TM3000, Japan*), *dissolution tester* (*Logan UDT-840, USA*), spektrofotometer UV-VIS (*Genesys 10S, Thermo Scientific, USA*), *four-blade propeller stirrer* (*IKA Labortechnik RW 20.n, Germany*), *disintegration tester* (*Omron H3CR, USA*), pH meter (*Elmetron CP-502, Poland*), oven (*Memmert, Germany*), *hot plate* (*IKA C-MAG HS4, Germany*), neraca analitik (*Ohaus, USA*), *vacuum filtration, stop watch*, alat-alat gelas, mortir dan stamper, dan SPSS 16.0.

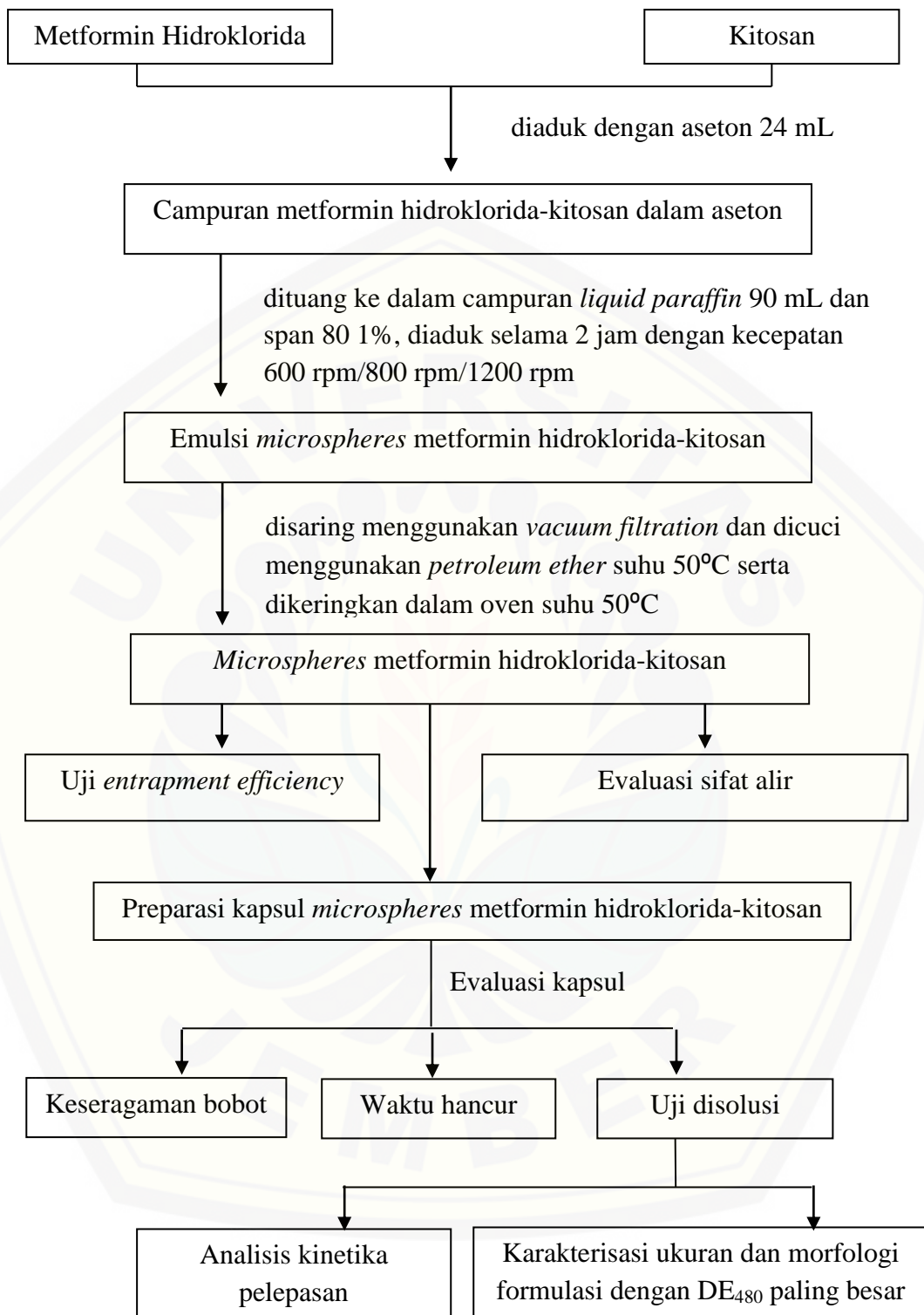
#### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: metformin hidroklorida (*Hildose, RRC*), kitosan (*Koyo Chemical, Japan*), aseton (*UD. Aneka Kimia*), *liquid paraffin* (*UD. Aneka Kimia*), *petroleum ether* (*Bratachem*), span 80 (*UD. Aneka Kimia*), *aquadest* (*Makmur Sejati*), natrium hidroksida (*Bratachem*), dan kalium fosfat monobasa (*Bratachem*).

### 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 Desember 2016 hingga Maret 2017.





Gambar 3.1 Skema langkah kerja penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

Tabel 3.1 Formula *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan

Formula	Metformin Hidroklorida (mg)	Kitosan (mg)	Liquid paraffin (mL)	Aseton (mL)	Span 80 (%)	Pengadukan (rpm)	Waktu pengadukan (jam)
1	750	2250	90	24	1	600	2
2	750	2250	90	24	1	1200	2
3	750	2250	90	24	1	800	2
4	750	750	90	24	1	800	2

Formula 1 dan 2 merupakan formula optimum penelitian Alhakimi (2015), sedangkan formula 3 dan 4 merupakan formula optimum penelitian Pratiwi et al. (2015).

#### 3.4.1 Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan

*Microspheres* metformin hidroklorida dipreparasi menggunakan metode *non-aqueous solvent evaporation*. Metformin hidroklorida sebanyak 750 mg dan variasi kitosan sebanyak 750 mg atau 2250 mg dicampurkan ke dalam 24 mL aseton. Campuran metformin hidroklorida-kitosan dalam aseton dimasukkan ke dalam campuran 90 mL *liquid paraffin* dan span 80 dengan konsentrasi 1%. Selanjutnya dilakukan pengadukan menggunakan *four-blade propeller stirrer* dengan suhu ruang selama 2 jam. Pada formula 1, 2, 3, dan 4 pengadukan dilakukan dengan kecepatan 600 rpm, 1200 rpm, dan 800 rpm. Preparasi metformin hidroklorida secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 3.1. Kemudian larutan yang terbentuk disaring dengan menggunakan *vacuum filtration* yang dilengkapi dengan kertas saring *Whatman* no 1. *Microspheres* yang terbentuk dicuci secara berulang menggunakan *petroleum ether* dengan suhu 50°C untuk menghilangkan fase minyak pada *microspheres*. *Microspheres* dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C. *Microspheres* yang sudah jadi disimpan di dalam desikator.

### 3.4.2 Penentuan *Entrapment Efficiency* (Pratiwi *et al.*, 2015)

#### a. Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida

##### 1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku induk dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dari 25 mg metformin hidroklorida yang dilarutkan dalam 250 mL *aquadest*. Larutan baku induk diencerkan untuk membuat larutan baku standar. Penentuan panjang gelombang dengan cara *scanning* larutan standar baku konsentrasi tertentu pada panjang gelombang 200-400 nm dan ditentukan panjang gelombang maksimum.

##### 2) Pembuatan Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam *Aquadest*

Larutan baku induk 100 ppm digunakan untuk membuat larutan baku standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing larutan baku standar ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang maksimum kemudian dibuat kurva baku dari hasil pengukuran tersebut.

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

Sejumlah *microspheres* yang setara dengan 50 mg metformin hidroklorida digerus dalam mortir. *Microspheres* disuspensikan ke dalam 100 mL *aquadest*, diaduk, lalu disaring. Filtrat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan *entrapment efficiency* dilakukan menggunakan persamaan (1). Hasil *entrapment efficiency* dari keempat formula diuji statistik menggunakan *one way ANOVA*.

### 3.4.3 Sifat Alir *Microspheres* (Deb *et. al.*, 2011)

Sebanyak 10 g *microspheres* ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam corong dan diratakan. *Microspheres* yang jatuh akan membentuk kerucut lalu diukur tinggi (h) dan jari-jari kerucut (r). Kemudian sudut diamnya ( $\alpha$ ) dihitung dengan rumus :

$$\tan \alpha = \frac{h}{r}$$

Tabel 3.2 Kriteria sifat alir berdasarkan sudut diam (Aulton &amp; Taylor, 2013)

Sudut diam	Sifat Alir
25-30	Sangat baik
31-35	Baik
36-40	Agak baik
41-45	Cukup ( <i>passable</i> )
46-55	Sukar
56-65	Sangat sukar
$\geq 66$	Sangat, sangat sukar

#### 3.4.4 Preparasi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan

*Microspheres* metformin hidroklorida-kitosan yang setara dengan 50 mg metformin hidroklorida dimasukkan ke dalam kapsul nomor 2. Bobot *microspheres* yang dimasukkan ke dalam kapsul dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Bobot *microspheres* dalam kapsul

Formula	Bobot (g)
1	0,195
2	0,191
3	0,166
4	0,082

#### 3.4.5 Evaluasi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan

##### a. Uji Keseragaman Bobot (Depkes RI, 1979)

20 kapsul ditimbang satu per satu dengan seksama dan isi setiap kapsul dikeluarkan. Setiap cangkang kapsul kosong ditimbang dengan seksama dan hitung bobot *netto* dari isi tiap kapsul dengan cara mengurangkan bobot cangkang kapsul dari masing-masing bobot kapsul. Perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata tiap isi kapsul tidak boleh lebih dari dua kapsul yang penyimpangannya lebih besar dari harga yang telah ditetapkan oleh kolom A

dan tidak satu kapsul pun yang penyimpangannya melebihi yang ditetapkan oleh kolom B. Persyaratan keseragaman bobot kapsul dapat dilihat pada Tabel 2.1.

b. Uji Waktu Hancur (Depkes RI, 1995)

6 kapsul dimasukkan ke dalam masing-masing tabung pada keranjang yang di bawahnya terdapat kasa baja berukuran 10 *mesh*. Media air yang digunakan bersuhu  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Pengamatan terhadap kapsul dilakukan, semua kapsul harus hancur, kecuali bagian dari cangkang kapsul. Bila 1 atau 2 kapsul tidak hancur sempurna, pengujian diulangi dengan 12 kapsul lainnya, tidak kurang dari 16 kapsul yang diuji hancur sempurna. Waktu yang diperlukan kapsul untuk hancur sempurna dicatat. Hasil waktu hancur dari keempat formula diuji statistik menggunakan *one way* ANOVA.

c. Uji Disolusi

1) Prosedur uji disolusi (Rajesh *et al.*, 2013)

Uji disolusi dilakukan menggunakan alat disolusi tipe 1 pada  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  dengan kecepatan 50 rpm dalam 900 mL larutan *buffer* fosfat pH 6,8 selama 8 jam. Kapsul dimasukkan ke dalam keranjang dan alat uji disolusi dijalankan. Sebanyak 5 mL sampel diambil pada menit ke-15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Setiap kali pengambilan 5 mL sampel diganti dengan memasukkan 5 mL *buffer* fosfat baru. Konsentrasi obat dalam sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada 233 nm.

2) Analisis Hasil Uji Disolusi (Hadisoewignyo, 2013)

Hasil absorbansi dianalisis untuk mendapatkan % kumulatif metformin hidroklorida pada interval waktu tertentu. Perhitungan kadar metformin hidroklorida dihitung menggunakan persamaan yang didapatkan dari perhitungan kurva baku dan dibuat profil pelepasan metformin hidroklorida dengan memplotkan jumlah metformin hidroklorida yang terlepas (%) terhadap waktu. Kemudian AUC dari kurva profil dihitung dan dibagi dengan luas bidang 100 % untuk menentukan *dissolution efficiency* (DE) pada waktu 480 menit ( $\text{DE}_{480}$ ) dari

kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan. Nilai  $DE_{480}$  dari keempat formula diuji statistik menggunakan *one way ANOVA*.

#### 3.4.6 Analisis Kinetika Pelepasan

Kinetika pelepasan masing-masing formula dianalisis menggunakan persamaan orde 0, orde 1, Higuchi, dan Korsmeyer-Peppas. Untuk menentukan model yang paling menggambarkan kinetika pelepasannya, digunakan koefisien determinasi disesuaikan (*adjusted R<sup>2</sup>*).

#### 3.4.7 Karakterisasi Ukuran dan Morfologi *Microspheres*

Ukuran, bentuk dan morfologi permukaan *microspheres* dari formulasi dengan nilai  $DE_{480}$  terbesar dapat diamati menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Sejumlah *microspheres* disebarkan pada bagian *glass stub* dan ditempatkan di *chamber SEM*, lalu dilakukan *scanning* dengan tegangan 20 kV dan tekanan *chamber* 0,1 mmHg dengan pembesaran 800 kali (Pratiwi *et al.*, 2015).

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Semua formulasi kapsul memiliki bobot yang seragam, waktu hancur 3-4 menit, dan menghasilkan pelepasan metformin hidroklorida yang lambat.
2. Profil disolusi semua formulasi menunjukkan *initial burst release* pada menit ke-15 dan dilanjutkan dengan pelepasan yang lambat hingga menit ke-480. Pelepasan metformin hidroklorida pada menit ke-480 dari yang terbesar hingga terkecil secara berurut-urut ialah formula 3 > formula 1 > formula 2 > formula 4. Kinetika pelepasan formula 1 dan 2 mengikuti orde 1, formula 3 mengikuti model Higuchi, dan formula 4 mengikuti model Korsmeyer-Peppas.
3. *Entrapment efficiency* dan pelepasan obat memiliki hubungan yang tidak linier, artinya tidak selalu *entrapment efficiency* yang besar memberikan pelepasan yang besar dan sebaliknya.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disarankan:

1. Perlu dilakukan uji stabilitas kapsul *microspheres* formula 3 untuk menjamin mutu sediaan.
2. Perlu dilakukan uji *in vivo* untuk mengetahui keberhasilan kapsul *microspheres* metformin hidroklorida formula 3 sebagai sistem penghantaran obat terkendali.
3. Perlu dilakukan pengembangan metode *entrapment efficiency* untuk menentukan jumlah bahan aktif yang terjerap dan obat bebas.
4. Perlu dilakukan studi lebih lanjut mengenai parameter yang berpengaruh terhadap spherisitas *micropsheres*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Alhakimi, A.R. 2015. Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan pada Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Al Sagheer, F. A., M. A. Al Sughayer, S. Muslim, dan M.Z. Elsabee. 2009. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate Polymers*. 77(2): 410-419.
- Anggraeni, Y., E. Hendradi, dan T. Purwanti. 2012. Karakteristik sediaan dan pelepasan natrium diklofenak dalam sistem niosom dengan basis gel carbomer 940. *Pharma Scientia*. 1: 1-15.
- Aulton, M. E. dan K. M. Taylor. 2013. *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines*. 4<sup>th</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Deb, J., B. S. Venkateswarlu, A. Ghosh, T. Choudhuri, P. Paul, M. Faizi. 2011. Formulation and evaluation of carbopol microspheres of metformin hcl. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 1(2): 11-19.
- Deb, P., N. Debangshu, C. Dipankar, B. Tejendra, dan C. Koushik. 2013. Study of various parameters effecting in formulation of water soluble metformin hydrochloride ethyl-cellulose micro-particles. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 3(2): 1-5.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Devrim, B., A. Bozkir, dan K. Canefe. 2011. Formulation and evaluation of reconstitutable suspensions containing ibuprofen-loaded Eudragit microspheres. *Acta Pol Pharm*. 68(4): 593-9.
- Dinarvand, R., E. Rahmani, dan E. Farbod. 2010. Gelatin microspheres for the controlled release of all-trans-retinoic acid topical formulation and drug delivery evaluation. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 47-50.
- Dipiro, J. T., R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, dan L. M. Posey. 2014. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. 9<sup>th</sup> ed. New York: Mc-Graw Hill Education.



- Diwedi, R. O., S. Alexandar, dan M. J. Chandrasekar. 2012. Preparation and in vitro evaluation of sustained release tablet formulations of metformin HCl. *Asian J Pharm Clin Res.* 5(1): 45-48.
- Enriquez, G. G., B. A. Orawiec, S. A. Rizvi, dan D. P. Do. 2014. Formulation development and in vitro evaluation of oral extended-release capsule containing biodegradable microspheres. *J Nanomed Nanotechnol.* 5(3): 1-7.
- Garud, N., dan A. Garud. 2012. Preparation and in-vitro evaluation of metformin microspheres using non-aqueous solvent. *Trop. J. Pharm. Res.* 11(4): 577-583.
- Ghodake, J. D., J. S. Vidhate, D. A. Shinde, dan A. N. Kadam. 2010. Formulation and evaluation of floating microsphere containing antidiabetic (metformin hydrochloride) drug. *Int. J. PharmTech Research.* 2(1): 378-384.
- Gupta, N. V., S. Natasha, A. Getyala, dan R. S. Bhat. 2013. Bioadhesive vaginal tablets containing spray dried microspheres loaded with clotrimazole for treatment of vaginal candidiasis. *Acta pharmaceutica.* 63(3): 359-372.
- Hadisoewignyo, L., L. O. Dewi, F. Mellisa, dan T. Jojana. 2013. Liquisolid Technique For Ibuprofen Tablet. *International Research Journal of Pharmacy.* 4(9): 123-127.
- International Diabetes Federation. 2015. *IDF Diabetes Atlas.* 7<sup>th</sup> ed. International Diabetes Federation.
- Islam, M. M., S. M. Masum, M. A. I. Molla, M. M. Rahman, A. A. Shaikh, dan S. K. Roy. 2011. Preparation of Chitosan from Shrimp Shell and Investigation of Its Properties. *International Journal of Basic and Applied Sciences.* 11(1): 116-130.
- Kadam, N. R., dan V. Suvarna. 2015. Microspheres: a brief review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences.* 5(47): 13-19.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan A. J. Trevor. 2011. *Basic & Clinical Pharmacology* 12<sup>th</sup> ed. San Fransisco: Mc Graw Hill.
- Kencana, A. L. 2009. Perlakuan Sonikasi Terhadap Kitosan: Viskositas dan Bobot Molekul Kitosan. *Skripsi.* Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Kim, K. K. dan D. W. Pack. 2006. *Microspheres for Drug Delivery.* Dalam Biological and Biomedical Nanotechnology. Editor M. Ferrari, A. P. Lee, dan L. J. Lee. USA: Springer.

- Kushal, M., M. Monali, M. Durgavati, P. Mittal, S. Ummesh, dan S. Pragna. 2013. Oral controlled release drug delivery system: an overview. *Int. Res. J. Pharm.* 3(2): 70-76.
- Kumar, J. R. 2014. Formulation and evaluation of sustained release ambroxol hydrochloride microsphere enriched syrup. *J. Pharm. Sci. & Res.* 6(7): 260-262.
- Kumar, J. R., S. Muralidharan, dan S. Parasuraman. 2014. In vitro and in vivo evaluation of microspheres loaded topical gel delivery system of ketoconazole in male rats against *Candida Glabrata*. *J. Pharm. Sci. & Res.* 6(11): 376-381.
- Ma, G. dan Su, Zhiguo. 2013. *Design, Preparation, and Application: Microspheres and Microcapsules in Biotechnology*. USA: Pan Stanford Publishing.
- Maji, R., S. Ray, B. Das, dan A. K. Nayak. 2012. Ethyl cellulose microparticles containing metformin HCl by emulsification-solvent evaporation technique: Effect of formulation variables. *ISRN Polymer Science*. 1-7.
- Murtaza, G., M. Ahmad, S. A. Khan, dan I. Hussain. 2012. Evaluation of cefixime-loaded chitosan microspheres: Analysis of dissolution data using DDSolver. *Dissolution Technologies*. 19(2): 13-19.
- Mishra, M. 2016. *Handbook of Encapsulation and Controlled Release*. New York: CRC Press.
- Naik, J. B., A. B. Lokhande, S. Mishra, dan R. D. Kulkarni. 2012. Development of sustained release micro/nanoparticles using different solvent emulsification technique: A review. *Int J Pharm Bio Sci.* 3(4): 573-590.
- Narang, N. 2011. An updated review on: floating drug delivery system (FDDS). *Int. J. App. Pharm.* 3(1): 1-7.
- Nethaji, R., A. Narayanan., M. Palanivelu., N.S. Surendiran, dan B. Ganesan, 2017. Formulation And Evaluation Of Metformin Hydrochloride Loaded Mucoadhesive Microspheres. *American Journal of Health Research.* 5(11) : 48-60.
- Pandit, V., R. S. Pai, V. Yadav, K. Devi, B. B. Surekha, M. N. Inamdar, dan S. Suresh. 2013. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of floating microspheres of metformin hydrochloride. *Drug development and industrial pharmacy.* 39(1): 117-127.

- Prasad, B., V. Gupta, N. Devanna, dan K. Jayasurya. 2014. Microspheres as drug delivery system—a review. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Science*. 5(3): 1961-1972.
- Pratiwi, T. L., E. D. Irawan, dan L. O. R. K. Sari. 2015. Optimasi Konsentrasi Kitosan dan Lama Pengadukan pada Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida. *Pustaka Kesehatan*. 3(3): 408-413.
- Qian, Qiang. 2014. Modulation of Drug Release from Polymeric Carriers and Systems. *Disertasi*. Italy: Department of Industrial Engineering. University of Trento.
- Rajesh, M., B. K. Kumar, S. M. Sundaram, dan M. K. Pipala. 2013. Formulation and evaluation of metformin hydrochloride microspheres by solvent evaporation method. *IJPRS*. 2(1): 121-127.
- Rowe, R., P. Sheskey, dan M. Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6<sup>th</sup> ed. Washington D.C: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Associatio.
- Sappidi, S., K. Thadkala, J. Kota, dan J. Aukunuru. 2014. Preparation and characterization of ethyl cellulose microspheres encapsulating metformin hydrochloride and glipizide. *Schol. Res. Lib*. 6(4): 213–226.
- Sharma, H. K., S. Lahkar, dan L. K. Nath. 2013. Formulation and in vitro evaluation of metformin hydrochloride loaded microspheres prepared with polysaccharide extracted from natural sources. *Acta Pharm*. 63(2): 209–222.
- Sinha, V. R., A. K. Singla, S. Wadhawan, R. Kaushik, R. Kumria, K. Bansal, dan S. Dhawan. 2004. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *Int. J. of Pharm*. 274(1): 1-33.
- Sinko, P. J. 2010. *Martin's Physical Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin.
- Sutar, P. S., K. P. Sutar, A. S. Sambrekar, V. S. Patil, dan C. R. Kudalagi. 2012. Formulation and evaluation of Metformin hydrochloride loaded chitosan microspheres. *JPSI*. 1(2): 12-16.
- Sweetman, S. 2011. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 37<sup>th</sup> ed. USA: Pharmaceutical Press.
- Tiwari, S. dan P. Verma. 2011. Microencapsulation technique by solvent evaporation method (study of effect of process variables). *Int. J. of Pharm. & Life Sci*. 2(8): 998-1005.
- Varde, N. K. dan D. W. Pack. 2004. Microspheres for controlled release drug delivery. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 4(1): 35-51.

Yedurkar, P., M. K. Dhiman, K. Petkar, dan K. Sawant. 2012. Mucoadhesive bilayer buccal tablet of carvedilol-loaded chitosan microspheres: in vitro, pharmacokinetic and pharmacodynamic investigations. *Journal of microencapsulation*. 29(2):126-137.

Wise, D. L. 2000. *Handbook of Controlled Release Technology*. New York: Marcel Dekker, Inc.



LAMPIRAN

A. Certificate of Analysis

A1. Metformin hidroklorida

**HILDOSE**

SHIVAM CHAMBERS, 106/108, 1<sup>ST</sup> FLOOR, S.V. ROAD, GOREGAON (WEST), MUMBAI-400062 •  
TEL NOS.91-22-26764099 / 26764172 / 73 • FAX NO. 91-22-26764054

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

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

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

Test	Specifications	Results
Description	White or almost white crystals.	White crystals
Solubility	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in acetone and in methylene chloride	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in acetone and in methylene chloride ✓
Identification	A. MP:- 222°C to 226°C B. IR- complies with Metformin Hydrochloride RS C. TLC- The principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, color and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution. D. A Pink color develops E. Chloride:- It gives reaction of chlorides	MP:- 223.9°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>5</sub> .HCL, calculated with reference to the dried substance	Metformin Hydrochloride contains 99.93% of C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> .HCL, calculated with reference to the dried substance ✓
Particle size	NLT 95% passing through 100 mesh sieve	98.33% passing through 100 mesh sieve

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

PREPARED BY :- <i>Shivam</i>	CHECKED BY :- <i>MF</i>
------------------------------	-------------------------

## A2. Kitosan

**KOYO CHEMICAL CO., LTD.**

Tokyo office: 3-17-7, Ueno, Taito-ku, Tokyo 110-0005, JAPAN  
Tel: +81-3-5807-8871 Fax: +81-3-5807-8730

Osaka office: 1-17, Taiyujicho, Kita-ku, Osaka-city, Osaka 530-0051, JAPAN  
Tel: +81-6-6365-1666 Fax: +81-6-6365-1757

Sakaiminato factory: Takenouchi Danchi 217, Sakaiminato, Tottori, 684-0046 JAPAN  
Tel: +81-859-45-3086 Fax: +81-859-45-3087

---

To whom it may concern:

**Certificate of analysis**

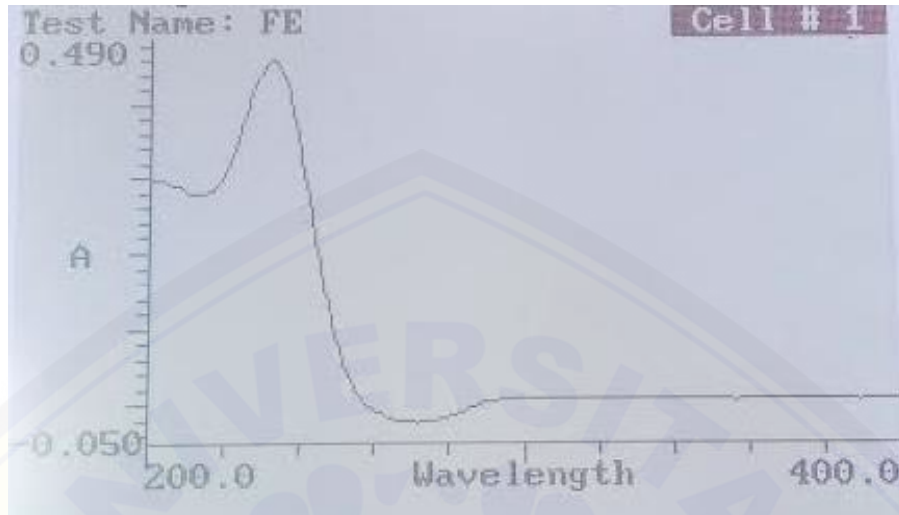
Product name: Koyo Chitosan FM-40  
 Lot No. 0402-27 ✓  
 Quantity: 25.10kg (25kg × 1, 0.10kg × 1)  
 Date of manufacture: April 2, 2015  
 Shelf life: April 2, 2017

List	Analytical value	Remark
Appearance	White ~ yellowish powder	Visual external exam
Particle size	42 mesh pass over 95%	JIS shifter
Loss on drying	8.1%	Japan's Specifications and Standards for Food Additives
Residue on ignition	0.13%	Japan's Specifications and Standards for Food Additives
Viscosity	29 mPa·s	M Viscometer 0.5% 20°C
Degree of deacetylation	91.6%	Colloidal titration method
Bacterium content	below $3 \times 10^3$ /g	Food hygiene analysis
Coliform	Negative	"
Heavy metals (as Pb)	Pass the test	Japan's Specifications and Standards for Food Additives
Arsenic (as As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	Pass the test	Japan's Specifications and Standards for Food Additives

January 15, 2016

*Yoshiko Hamada*  
 Koyo Chemical Co., Ltd.  
 Q.C.Dept.Manager Y.Hamada

Verified By :  
 PT. Sigma Husada  
*Ran*  
 QA Dept

**B. Scanning Panjang Gelombang Maksimum Metformin Hidroklorida**

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
200	0,416	212	0,377
201	0,418	213	0,376
202	0,416	214	0,374
203	0,412	215	0,375
204	0,408	216	0,376
205	0,405	217	0,379
206	0,400	218	0,385
207	0,398	219	0,392
208	0,394	220	0,403
209	0,390	221	0,415
210	0,386	222	0,431
211	0,382	223	0,450
Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
224	0,468	251	0,096
225	0,491	252	0,075

226	0,513	253	0,058
227	0,536	254	0,045
228	0,557	255	0,032
229	0,574	256	0,019
230	0,586	257	0,011
231	0,598	258	0,004
232	0,607	259	-0,003
233	0,611	260	-0,007
234	0,609	261	-0,009
235	0,602	262	-0,012
236	0,589	263	-0,015
237	0,571	264	-0,017
238	0,546	265	-0,019
239	0,516	266	-0,020
240	0,482	267	-0,022
241	0,444	268	-0,023
242	0,404	269	-0,023
243	0,368	270	-0,024
244	0,332	271	-0,024
245	0,289	272	-0,024
246	0,244	273	-0,024
247	0,204	274	-0,023
248	0,177	275	-0,023
249	0,149	276	-0,022
250	0,122	277	-0,021

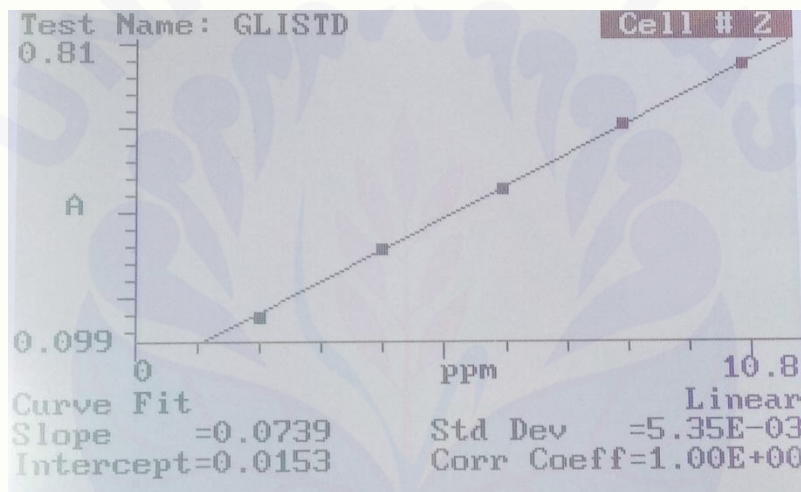


Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
278	-0,020	306	0,008
279	-0,019	307	0,008
280	-0,017	308	0,008
281	-0,015	309	0,007
282	-0,014	310	0,008
283	-0,012	311	0,007
284	-0,010	312	0,008
285	-0,008	313	0,008
286	-0,006	314	0,007
287	-0,004	315	0,007
288	-0,002	316	0,007
289	0,000	317	0,007
290	0,002	318	0,008
291	0,003	319	0,008
292	0,004	320	0,007
293	0,005	321	0,007
294	0,005	322	0,008
295	0,006	323	0,008
296	0,007	324	0,008
297	0,007	325	0,007
298	0,007	326	0,008
299	0,007	327	0,008
300	0,007	328	0,008
301	0,007	329	0,008
302	0,008	330	0,008
303	0,008	331	0,008
304	0,008	332	0,008
305	0,008	333	0,008

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
334	0,009	362	0,007
335	0,008	363	0,007
336	0,007	364	0,007
337	0,008	365	0,007
338	0,007	366	0,007
339	0,008	367	0,007
340	0,008	368	0,007
341	0,007	369	0,006
342	0,008	370	0,007
343	0,007	371	0,007
344	0,008	372	0,007
345	0,008	373	0,006
346	0,008	374	0,007
347	0,008	375	0,007
348	0,008	376	0,007
349	0,007	377	0,007
350	0,007	378	0,007
351	0,007	379	0,007
352	0,007	380	0,007
353	0,007	381	0,007
354	0,008	382	0,007
355	0,008	383	0,007
356	0,007	384	0,007
357	0,006	385	0,007
358	0,007	386	0,007
359	0,007	387	0,006
360	0,007	388	0,006
361	0,007	389	0,007

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
390	0,006	396	0,007
391	0,007	397	0,007
392	0,007	398	0,007
393	0,007	399	0,006
394	0,007	400	0,007
395	0,007		

### C. Kurva Baku Metformin Hidroklorida Dalam Aquadest



Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
2,000	0,158
4,000	0,317
6,000	0,459
8,000	0,610
10,00	0,751

Persamaan Regresi Kurva Baku:  $y = 0,0739x + 0,0153$

Koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9998

**D. Hasil Perhitungan *Entrapment Efficiency***

Formula	Replikasi	Absorbansi	Kadar (ppm)	<i>Entrapment Efficiency</i> (%)	Rata-rata ± SD (%)
1	1	0,506	6,640	66,281	68,408 ± 2,231
	2	0,520	6,829	68,213	
	3	0,538	7,073	70,731	
2	1	0,550	7,235	72,355	74,967 ± 2,287
	2	0,577	7,601	75,940	
	3	0,588	7,750	76,608	
3	1	0,558	7,344	73,437	72,533 ± 0,954
	2	0,544	7,154	71,535	
	3	0,552	7,263	72,625	
4	1	0,498	6,532	63,899	65,572 ± 1,665
	2	0,500	6,559	65,589	
	3	0,516	6,775	67,229	

**Contoh Perhitungan *Entrapment Efficiency***

- Diketahui:

Kadar yang didapatkan = 6,640 ppm

Berat *microspheres* yang didapatkan = 2,924 gram

- Menimbang *microspheres* setara dengan 50 mg metformin hidroklorida  

$$\frac{\text{berat metformin HCl yang ditimbang}}{0,05 \text{ gram}} = \frac{\text{berat } \textit{microspheres} \text{ yang didapatkan}}{x}$$

$$\frac{0,7503 \text{ gram}}{0,05 \text{ gram}} = \frac{2,924 \text{ gram}}{x}$$

$$x = 0,195 \text{ gram}$$

- Menimbang : 0,1952 gram

$$\frac{0,7503 \text{ gram}}{x} = \frac{2,924 \text{ gram}}{0,1952 \text{ gram}}$$

$$x = 50,090 \text{ gram}$$

- Kadar dalam labu 100 ml

$$\frac{50,090 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times 1000 = 500,9 \text{ ppm}$$

- Pengenceran sebanyak 50 kali

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 500,9 \text{ ppm} = 10,018 \text{ ppm}$$

- % entrapment efficiency

$$\frac{6,640 \text{ ppm}}{10,018 \text{ ppm}} \times 100 \% = 66,281\%$$

Analisis Statistik

- Hasil one way ANOVA

*Descriptives*

EE								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
FORMULA 1	3	6.84083E1	2.231421	1.288312	62.86518	73.95149	66.281	70.731
FORMULA 2	3	7.49677E1	2.287155	1.320489	69.28606	80.64927	72.355	76.608
FORMULA 3	3	7.25323E1	.954380	.551012	70.16152	74.90314	71.535	73.437
FORMULA 4	3	6.55723E1	1.665063	.961324	61.43609	69.70858	63.899	67.229
Total	12	7.03702E1	4.110155	1.186499	67.75870	72.98163	63.899	76.608

*Test of Homogeneity of Variances*

EE

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.858	3	8	.501

**ANOVA**

<i>EE</i>					
	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	158.040	3	52.680	15.167	.001
<i>Within Groups</i>	27.787	8	3.473		
<i>Total</i>	185.827	11			

- Uji Post-Hoc

**Multiple Comparisons**

*Dependent Variable:EE*

	<i>(I) Formula</i>	<i>(J) Formula</i>	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	<i>Sig.</i>	<i>95% Confidence Interval</i>	
						<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
Tukey HSD	FORMULA 1	FORMULA 2	-6.559333*	1.521709	.011	-11.43238	-1.68629
		FORMULA 3	-4.124000	1.521709	.100	-8.99705	.74905
		FORMULA 4	2.836000	1.521709	.314	-2.03705	7.70905
	FORMULA 2	FORMULA 1	6.559333*	1.521709	.011	1.68629	11.43238
		FORMULA 3	2.435333	1.521709	.430	-2.43771	7.30838
		FORMULA 4	9.395333*	1.521709	.001	4.52229	14.26838
	FORMULA 3	FORMULA 1	4.124000	1.521709	.100	-.74905	8.99705
		FORMULA 2	-2.435333	1.521709	.430	-7.30838	2.43771
		FORMULA 4	6.960000*	1.521709	.008	2.08695	11.83305
	FORMULA 4	FORMULA 1	-2.836000	1.521709	.314	-7.70905	2.03705
		FORMULA 2	-9.395333*	1.521709	.001	-14.26838	-4.52229
		FORMULA 3	-6.960000*	1.521709	.008	-11.83305	-2.08695

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**E. Uji Sifat Alir**

Formula	Replikasi	h (cm)	r (cm)	Sudut Diam ( $^{\circ}$ )	Rata-rata $\pm$ SD ( $^{\circ}$ )	Sifat Alir
1	1	2,400	4,000	30,964	30,203 $\pm$ 0,664	Baik
	2	2,300	4,000	29,899		
	3	2,300	3,500	29,745		
2	1	2,500	4,000	32,005	33,183 $\pm$ 2,040	Baik
	2	2,500	3,500	35,538		
	3	2,500	4,000	32,005		
3	1	2,300	3,500	33,311	33,687 $\pm$ 0,651	Baik
	2	2,300	3,500	33,311		
	3	2,400	3,500	34,439		
4	1	2,400	3,500	34,439	33,281 $\pm$ 2,006	Baik
	2	2,400	4,000	30,964		
	3	2,400	3,500	34,439		

**F. Uji Waktu Hancur**

- Hasil *one way* ANOVA

*Descriptives*

Waktu Hancur

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
FORMULA 1	3	3.05533	.047920	.027667	2.93629	3.17437	3.000	3.083
FORMULA 2	3	2.73333	.092587	.053455	2.50333	2.96333	2.650	2.833
FORMULA 3	3	4.40567	.082136	.047421	4.20163	4.60970	4.350	4.500
FORMULA 4	3	4.54467	.107221	.061904	4.27832	4.81102	4.467	4.667
Total	12	3.68475	.838821	.242147	3.15179	4.21771	2.650	4.667

*Test of Homogeneity of Variances*

Waktu Hancur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.911	3	8	.478

## ANOVA

Waktu Hancur					
	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	7.682	3	2.561	351.827	.000
<i>Within Groups</i>	.058	8	.007		
<i>Total</i>	7.740	11			

- Uji Post-Hoc

*Multiple Comparisons*

Waktu Hancur

Tukey HSD

(I) Formula	(J) Formula	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	<i>Sig.</i>	<i>95% Confidence Interval</i>	
					<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
FORMULA 1	FORMULA 2	.322000*	.069656	.007	.09894	.54506
	FORMULA 3	-1.350333*	.069656	.000	-1.57339	-1.12727
	FORMULA 4	-1.489333*	.069656	.000	-1.71239	-1.26627
FORMULA 2	FORMULA 1	-.322000*	.069656	.007	-.54506	-.09894
	FORMULA 3	-1.672333*	.069656	.000	-1.89539	-1.44927
	FORMULA 4	-1.811333*	.069656	.000	-2.03439	-1.58827
FORMULA 3	FORMULA 1	1.350333*	.069656	.000	1.12727	1.57339
	FORMULA 2	1.672333*	.069656	.000	1.44927	1.89539
	FORMULA 4	-.139000	.069656	.266	-.36206	.08406
FORMULA 4	FORMULA 1	1.489333*	.069656	.000	1.26627	1.71239
	FORMULA 2	1.811333*	.069656	.000	1.58827	2.03439
	FORMULA 3	.139000	.069656	.266	-.08406	.36206

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



**G. Uji Keseragaman Bobot**

Formula 1

bobot kapsul (g)	bobot cangkang kapsul (g)	<i>netto</i> (g)	% penyimpangan
0,268	0,076	0,192	0,812
0,275	0,078	0,197	1,354
0,273	0,079	0,195	0,322
0,274	0,079	0,195	0,683
0,274	0,079	0,196	0,993
0,274	0,078	0,196	0,890
0,269	0,079	0,190	2,153
0,274	0,078	0,196	1,096
0,275	0,079	0,197	1,354
0,269	0,080	0,189	2,360
0,264	0,079	0,186	4,165
0,278	0,080	0,198	2,128
0,275	0,079	0,196	1,302
0,269	0,075	0,194	0,116
0,275	0,079	0,196	0,890
0,274	0,078	0,196	1,044
0,274	0,078	0,196	0,993
0,270	0,080	0,190	2,257
0,275	0,079	0,196	0,941
0,269	0,080	0,189	2,360

Rata-rata *netto* = 0,194 gram

Formula 2

bobot kapsul (g)	bobot cangkang kapsul (g)	<i>netto</i> (g)	% penyimpangan
0,292	0,084	0,208	2,072
0,290	0,087	0,203	0,282
0,290	0,084	0,206	0,797
0,277	0,083	0,194	4,942
0,286	0,083	0,203	0,429
0,288	0,082	0,206	0,846
0,289	0,082	0,206	1,140
0,285	0,084	0,202	1,165
0,290	0,084	0,207	1,435

0,288	0,086	0,202	0,822
0,287	0,083	0,204	0,159
0,291	0,083	0,208	2,170
0,281	0,084	0,197	3,568
0,284	0,078	0,206	1,239
0,288	0,077	0,211	3,299
0,286	0,086	0,200	1,754
0,285	0,086	0,199	2,195
0,289	0,085	0,204	0,061
0,289	0,081	0,208	1,876
0,286	0,082	0,204	0,061

Rata-rata *netto* = 0,204 gram

### Formula 3

bobot kapsul (g)	bobot cangkang kapsul (g)	<i>netto</i> (g)	% penyimpangan
0,242	0,077	0,165	0,843
0,239	0,078	0,161	1,357
0,240	0,079	0,162	1,112
0,239	0,079	0,160	2,335
0,243	0,079	0,165	0,538
0,250	0,081	0,169	3,288
0,236	0,076	0,160	2,212
0,241	0,078	0,163	0,501
0,242	0,079	0,164	0,073
0,242	0,080	0,162	0,746
0,246	0,079	0,167	2,310
0,237	0,080	0,158	3,740
0,245	0,079	0,166	1,638
0,239	0,075	0,164	0,354
0,240	0,079	0,161	1,846
0,243	0,078	0,165	0,599
0,248	0,081	0,167	2,066
0,241	0,080	0,161	1,846
0,248	0,083	0,165	0,843
0,249	0,080	0,169	3,288

Rata-rata *netto* = 0,164 gram

Formula 4

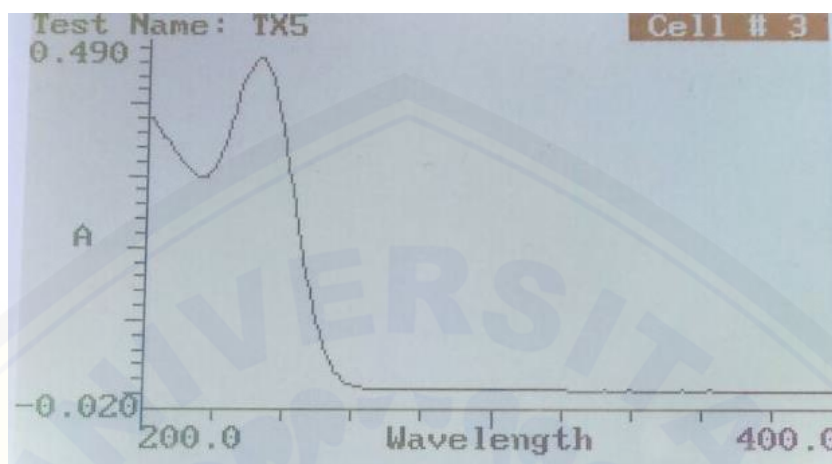
bobot kapsul (g)	bobot cangkang kapsul (g)	<i>netto</i> (g)	% penyimpangan
0,161	0,080	0,081	1,378
0,159	0,078	0,081	0,766
0,159	0,077	0,082	0,459
0,156	0,075	0,081	0,766
0,158	0,079	0,079	2,726
0,166	0,082	0,084	2,910
0,157	0,076	0,081	0,766
0,164	0,080	0,084	2,910
0,161	0,079	0,083	1,072
0,163	0,082	0,081	0,766
0,159	0,079	0,080	1,501
0,157	0,075	0,082	0,459
0,164	0,079	0,085	4,502
0,156	0,076	0,080	1,991
0,160	0,079	0,081	1,011
0,165	0,081	0,084	2,910
0,158	0,078	0,080	2,358
0,158	0,077	0,081	0,766
0,162	0,079	0,083	1,562
0,160	0,080	0,080	1,991

Rata-rata *netto* = 0,082 gram

Contoh perhitungan % penyimpangan

$$\begin{aligned} \text{\% penyimpangan} &= \frac{|\textit{netto kapsul} - \textit{rata-rata netto}|}{\textit{rata-rata netto}} \times 100 \% \\ &= \frac{|0,208 - 0,204|}{0,204} \times 100 \% = 2,072 \% \end{aligned}$$

**H. Scanning Panjang Gelombang Maksimum Metformin Hidroklorida dalam Buffer Fosfat pH 6,8**



Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
200	0,373	212	0,313
201	0,379	213	0,308
202	0,379	214	0,305
203	0,366	215	0,300
204	0,363	216	0,298
205	0,353	217	0,298
206	0,350	218	0,299
207	0,345	219	0,304
208	0,337	220	0,311
209	0,330	221	0,319
210	0,326	222	0,330
211	0,319	223	0,344

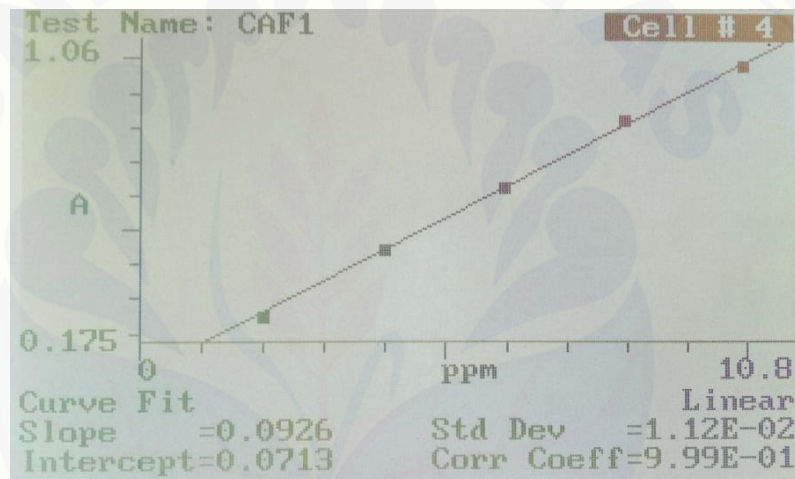
Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
224	0,357	251	0,081
225	0,375	252	0,067
226	0,392	253	0,054
227	0,410	254	0,046
228	0,426	255	0,036
229	0,438	256	0,028
230	0,447	257	0,023
231	0,456	258	0,019
232	0,463	259	0,015
233	0,467	260	0,013
234	0,465	261	0,012
235	0,459	262	0,011
236	0,450	263	0,010
237	0,437	264	0,009
238	0,417	265	0,008
239	0,396	266	0,008
240	0,370	267	0,007
241	0,342	268	0,008
242	0,312	269	0,008
243	0,283	270	0,007
244	0,257	271	0,007
245	0,228	272	0,008
246	0,189	273	0,007
247	0,161	274	0,007
248	0,141	275	0,007
249	0,122	276	0,007
250	0,102	277	0,007

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
278	0,007	306	0,007
279	0,007	307	0,007
280	0,007	308	0,007
281	0,007	309	0,006
282	0,007	310	0,006
283	0,007	311	0,006
284	0,007	312	0,006
285	0,007	313	0,006
286	0,007	314	0,006
287	0,007	315	0,006
288	0,007	316	0,006
289	0,007	317	0,006
290	0,007	318	0,006
291	0,007	319	0,006
292	0,007	320	0,006
293	0,007	321	0,006
294	0,007	322	0,006
295	0,007	323	0,006
296	0,007	324	0,005
297	0,007	325	0,005
298	0,007	326	0,005
299	0,007	327	0,005
300	0,007	328	0,005
301	0,007	329	0,006
302	0,007	330	0,005
303	0,007	331	0,005
304	0,007	332	0,005
305	0,007	333	0,005

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
334	0,005	362	0,003
335	0,005	363	0,006
336	0,005	364	0,005
337	0,005	365	0,006
338	0,005	366	0,005
339	0,005	367	0,005
340	0,006	368	0,005
341	0,006	369	0,004
342	0,005	370	0,005
343	0,005	371	0,005
344	0,005	372	0,005
345	0,005	373	0,005
346	0,005	374	0,005
347	0,005	375	0,005
348	0,005	376	0,005
349	0,005	377	0,005
350	0,005	378	0,004
351	0,005	379	0,005
352	0,004	380	0,005
353	0,005	381	0,005
354	0,006	382	0,006
355	0,006	383	0,005
356	0,005	384	0,005
357	0,005	385	0,005
358	0,005	386	0,005
359	0,005	387	0,005
360	0,005	388	0,005
361	0,005	389	0,005

Panjang gelombang	Absorbansi	Panjang gelombang	Absorbansi
390	0,005	396	0,005
391	0,005	397	0,005
392	0,005	398	0,005
393	0,005	399	0,005
394	0,005	400	0,005
395	0,005		

### I. Kurva Baku Metformin Hidroklorida dalam Buffer Fosfat pH 6,8



Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
2,000	0,249
4,000	0,446
6,000	0,630
8,000	0,825
10,00	0,986

Persamaan Regresi Kurva Baku:  $y = 0,0926x + 0,0713$

Koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9995



**J. Hasil Uji Disolusi Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida**

Formula 1

t (menit)	Abs			Abs rata- rata	C' (ppm)	C'' (µg/ml)	C kum (µg/ml)	Q (µg)	Fk	Q total (mg)	Pelepasan (%)
	Abs 1	Abs 2	Abs 3								
15	0,506	0,500	0,515	0,507	4,705	23,526	23,526	21173,326	0,000	21,173	42,347
30	0,512	0,504	0,516	0,511	4,745	23,724	47,250	21351,512	117,630	21,469	42,938
45	0,513	0,513	0,516	0,514	4,781	23,904	71,154	21513,499	236,249	21,750	43,499
60	0,517	0,515	0,524	0,519	4,831	24,156	95,310	21740,281	355,769	22,096	44,192
120	0,518	0,516	0,525	0,520	4,842	24,210	119,519	21788,877	476,548	22,265	44,531
180	0,521	0,518	0,527	0,522	4,867	24,336	143,855	21902,268	597,597	22,500	45,000
240	0,524	0,519	0,533	0,525	4,903	24,516	168,371	22064,255	719,276	22,784	45,567
300	0,526	0,520	0,532	0,526	4,910	24,552	192,923	22096,652	841,856	22,939	45,877
360	0,527	0,520	0,540	0,529	4,943	24,714	217,637	22242,441	964,615	23,207	46,414
420	0,536	0,521	0,541	0,533	4,982	24,912	242,549	22420,626	1088,184	23,509	47,018
480	0,565	0,532	0,566	0,554	5,216	26,082	268,630	23473,542	1212,743	24,686	49,373

Formula 2

t (menit)	Abs			Abs rata- rata	C' (ppm)	C'' (µg/ml)	C kum (µg/ml)	Q (µg)	Fk	Q total (mg)	Pelepasan (%)
	Abs 1	Abs 2	Abs 3								
15	0,386	0,440	0,475	0,434	3,913	19,566	19,566	17609,611	0,000	17,610	35,219
30	0,423	0,465	0,453	0,447	4,057	20,286	39,852	18257,559	97,831	18,355	36,711
45	0,445	0,447	0,454	0,449	4,075	20,376	60,229	18338,553	199,262	18,538	37,076
60	0,453	0,448	0,451	0,451	4,097	20,484	80,713	18435,745	301,143	18,737	37,474
120	0,451	0,450	0,452	0,451	4,100	20,502	101,215	18451,944	403,564	18,856	37,711
180	0,448	0,446	0,449	0,448	4,064	20,322	121,537	18289,957	506,075	18,796	37,592
240	0,454	0,465	0,450	0,456	4,158	20,790	142,327	18711,123	607,685	19,319	38,638
300	0,448	0,447	0,452	0,449	4,079	20,394	162,721	18354,752	711,636	19,066	38,133
360	0,450	0,451	0,451	0,451	4,097	20,484	183,206	18435,745	813,607	19,249	38,499
420	0,477	0,484	0,468	0,476	4,374	21,870	205,076	19683,045	916,028	20,599	41,198
480	0,517	0,490	0,515	0,507	4,709	23,544	228,620	21189,525	1025,378	22,215	44,430

Formula 3

t (menit)	Abs			Abs rata- rata	C' (ppm)	C'' (µg/ml)	C kum (µg/ml)	Q (µg)	Fk	Q total (mg)	Pelepasan (%)
	Abs 1	Abs 2	Abs 3								
15	0,514	0,499	0,500	0,504	4,676	23,382	23,382	21043,737	0,000	21,044	42,087
30	0,520	0,515	0,524	0,520	4,842	24,210	47,592	21788,877	116,910	21,906	43,812
45	0,522	0,523	0,526	0,524	4,885	24,426	72,018	21983,261	237,959	22,221	44,442
60	0,524	0,526	0,527	0,526	4,907	24,534	96,551	22080,454	360,088	22,441	44,881
120	0,534	0,529	0,530	0,531	4,964	24,822	121,373	22339,633	482,757	22,822	45,645
180	0,536	0,530	0,533	0,533	4,986	24,930	146,303	22436,825	606,866	23,044	46,087
240	0,538	0,533	0,534	0,535	5,008	25,038	171,341	22534,017	731,515	23,266	46,531
300	0,540	0,536	0,542	0,539	5,054	25,272	196,613	22744,600	856,704	23,601	47,203
360	0,544	0,542	0,551	0,546	5,123	25,614	222,226	23052,376	983,063	24,035	48,071
420	0,548	0,546	0,560	0,551	5,184	25,920	248,146	23327,754	1111,132	24,439	48,878
480	0,564	0,546	0,562	0,557	5,249	26,244	274,390	23619,330	1240,731	24,860	49,720

Formula 4

t (menit)	Abs			Abs rata- rata	C' (ppm)	C'' (µg/ml)	C kum (µg/ml)	Q (µg)	Fk	Qtotal (mg)	Pelepasan (%)
	Abs 1	Abs 2	Abs 3								
15	0,412	0,209	0,403	0,341	2,916	14,581	14,581	13122,570	0,000	13,123	26,245
30	0,420	0,405	0,404	0,410	3,654	18,270	32,851	16443,305	72,903	16,516	33,032
45	0,421	0,407	0,410	0,413	3,686	18,432	51,283	16589,093	164,255	16,753	33,507
60	0,430	0,411	0,423	0,421	3,780	18,900	70,184	17010,259	256,416	17,267	34,533
120	0,431	0,414	0,433	0,426	3,830	19,152	89,336	17237,041	350,918	17,588	35,176
180	0,433	0,425	0,444	0,434	3,917	19,584	108,920	17625,810	446,679	18,072	36,145
240	0,437	0,430	0,448	0,438	3,964	19,818	128,738	17836,393	544,600	18,381	36,762
300	0,441	0,431	0,451	0,441	3,992	19,962	148,701	17965,983	643,692	18,610	37,219
360	0,443	0,431	0,451	0,442	4,000	19,998	168,699	17998,380	743,503	18,742	37,484
420	0,444	0,437	0,456	0,446	4,043	20,214	188,913	18192,765	843,494	19,036	38,073
480	0,452	0,438	0,456	0,449	4,075	20,376	209,289	18338,553	944,564	19,283	38,566

Contoh perhitungan disolusi

Formula 1

- t pada 15 menit (abs = 0,507)

$$y = 0,0926x + 0,0713$$

$$0,507 = 0,0926x + 0,0713$$

$$x = C' = 4,705 \text{ ppm}$$

$$C'' = 4,705 \text{ ppm} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$C'' = 4,705 \times 5 = 23,526 \text{ ppm}$$

$$Q = C'' \times \text{volume media}$$

$$Q = 23,526 \mu\text{g/ml} \times 900 \text{ ml}$$

$$Q = 21173,326 \mu\text{g}$$

Fk = 0 karena belum ada obat yang diambil sebelumnya

$$Q_{\text{total}} = Q + Fk$$

$$Q_{\text{total}} = 21173,326 \mu\text{g} + 0 = 21173,326 \mu\text{g} = 21,173 \text{ mg}$$

$$\% \text{ pelepasan} = \frac{21,173 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 100 \% = 42,347 \%$$

- t pada 30 menit (abs = 0,511)

$$C' = x = 4,745 \text{ ppm}$$

$$C'' = 4,745 \text{ ppm} \times 5 = 23,724 \text{ ppm}$$

$$Q = 23,724 \mu\text{g/ml} \times 900 \text{ ml}$$

$$Q = 21351,512 \mu\text{g}$$

Fk = C kum sebelumnya x volume *sampling*

$$Fk = 23,526 \times 5 \text{ ml} = 117,630$$

$$Q_{\text{total}} = 21351,512 \mu\text{g} + 117,630 = 2146,142 \mu\text{g} = 21,469 \text{ mg}$$

$$\% \text{ pelepasan} = \frac{21,469 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 100 \% = 42,938 \%$$

- t pada 45 menit (abs = 0,514)

$$C' = x = 4,781 \text{ ppm}$$

$$C'' = 4,781 \times 5 = 23,904 \text{ ppm}$$

$$Q = 23,904 \mu\text{g/ml} \times 900 \text{ ml}$$

$$Q = 21513,499 \mu\text{g}$$

$$Fk = 47,250 \times 5 \text{ ml} = 236,249$$

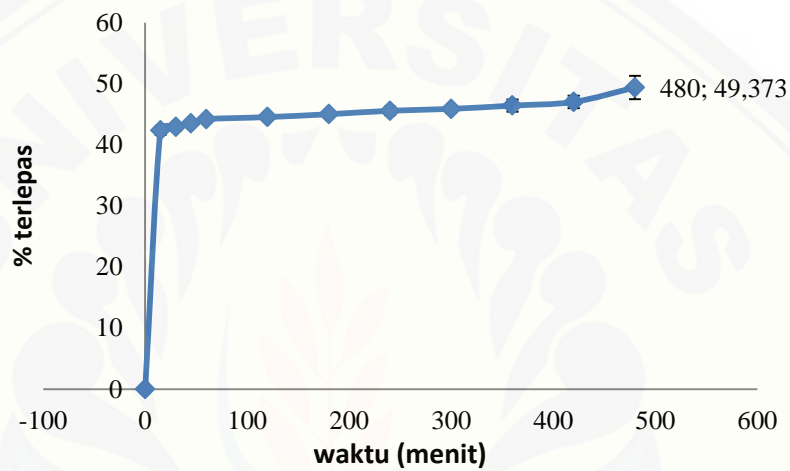
$$Q_{total} = 21513,499 + 236,249 = 21749,748 \mu\text{g} = 21,750 \text{ mg}$$

$$\% \text{ pelepasan} = \frac{21,750 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 100 \% = 43,499 \%$$

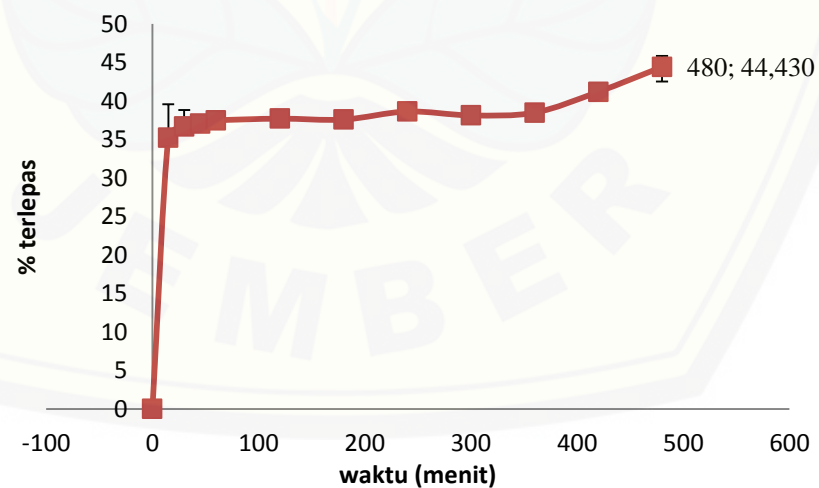
- dst

**K. Profil Pelepasan Kapsul *Microspheres* Metformin Hidroklorida-Kitosan**

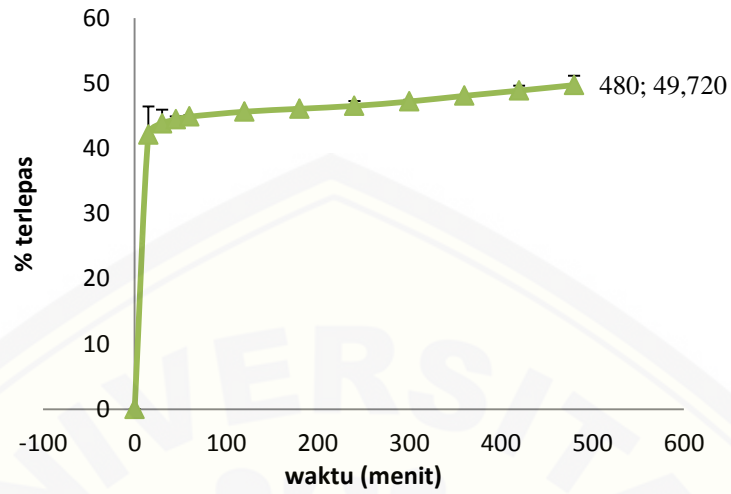
- Formula 1



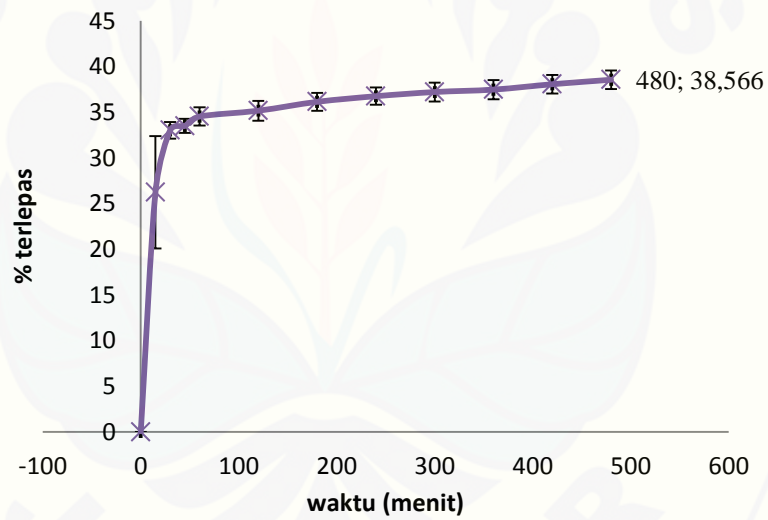
- Formula 2



- Formula 3



- Formula 4



**L. Hasil Perhitungan DE<sub>480</sub>**

t (menit)	Pelepasan (%)				AUC				DE <sub>480</sub> ± SD (%)			
	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
15	42,347	35,219	42,087	26,245	317,600	264,144	315,656	196,839	44,864 ± 0,710	38,082 ± 0,197	45,989 ± 0,301	35,615 ± 1,221
30	42,938	36,711	43,812	33,032	639,637	539,475	644,243	444,582				
45	43,499	37,076	44,442	33,507	648,283	553,398	661,905	499,043				
60	44,192	37,474	44,881	34,533	657,687	559,121	669,926	510,300				
120	44,531	37,711	45,645	35,176	2661,688	2255,544	2715,776	2091,278				
180	45,000	37,592	46,087	36,145	2685,917	2259,092	2751,965	2139,627				
240	45,567	38,638	46,531	36,762	2717,004	2286,890	2778,553	2187,209				
300	45,877	38,133	47,203	37,219	2743,322	2303,112	2812,010	2219,440				
360	46,414	38,499	48,071	37,484	2768,734	2298,944	2858,205	2241,093				
420	47,018	41,198	48,878	38,073	2802,952	2390,906	2908,460	2266,688				
480	49,373	44,430	49,720	38,566	2891,706	2568,839	2957,937	2299,163				



Contoh perhitungan DE<sub>480</sub>

Formula 3

Luas area

$$t_0^{15} = \frac{1}{2} \times 42,087 \times 15 = 315,656$$

$$t_{15}^{30} = \frac{1}{2} \times (42,087 + 43,812) \times (30-15) = 644,243$$

$$t_{30}^{45} = \frac{1}{2} \times (43,812 + 44,442) \times (45-30) = 661,905$$

$$t_{45}^{60} = \frac{1}{2} \times (44,442 + 44,881) \times (60-45) = 669,926$$

$$t_{60}^{120} = \frac{1}{2} \times (44,881 + 45,645) \times (120-60) = 2715,776$$

$$t_{120}^{180} = \frac{1}{2} \times (45,645 + 46,087) \times (180-120) = 2751,965$$

$$t_{180}^{240} = \frac{1}{2} \times (46,087 + 46,531) \times (240-180) = 2778,553$$

$$t_{240}^{300} = \frac{1}{2} \times (46,531 + 47,203) \times (300-240) = 2812,010$$

$$t_{300}^{360} = \frac{1}{2} \times (47,203 + 48,071) \times (360-300) = 2858,205$$

$$t_{360}^{420} = \frac{1}{2} \times (48,071 + 48,878) \times (420-360) = 2908,460$$

$$t_{420}^{480} = \frac{1}{2} \times (48,878 + 49,720) \times (480-420) = 2957,937$$

Total luas area = 22074,636

$$DE_{480} = \frac{AUC}{\text{Luas segi empat 100\% disolusi}} \times 100\%$$

$$DE_{480} = \frac{22074,636}{480 \times 100} \times 100\%$$

$$DE_{480} = 45,989 \%$$

Analisis Statistik DE<sub>480</sub>

- Hasil one way ANOVA

*Descriptives*

DE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					FORMULA 1	3		
FORMULA 2	3	3.80823E1	.196409	.113397	37.59443	38.57024	37.856	38.208
FORMULA 3	3	4.59890E1	.301244	.173923	45.24067	46.73733	45.647	46.215
FORMULA 4	3	3.56150E1	1.220857	.704862	32.58222	38.64778	34.236	36.558
Total	12	4.11300E1	4.625447	1.335252	38.19113	44.06887	34.236	46.215

*Test of Homogeneity of Variances*

DE	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	3.716	3	8	.061

**ANOVA**

DE	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	231.092	3	77.031	144.970	.000
Within Groups	4.251	8	.531		
Total	235.342	11			

- Uji *Post-Hoc*

*Multiple Comparisons*

DE

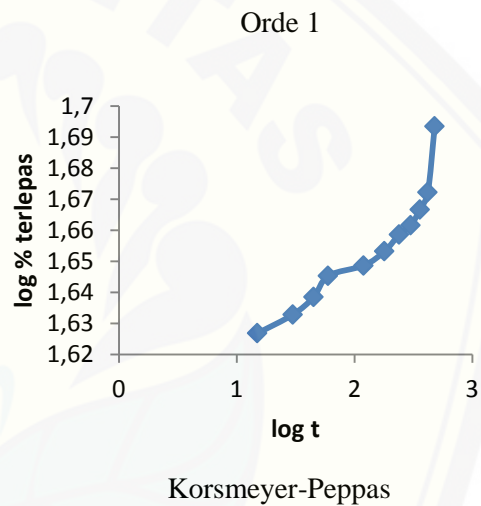
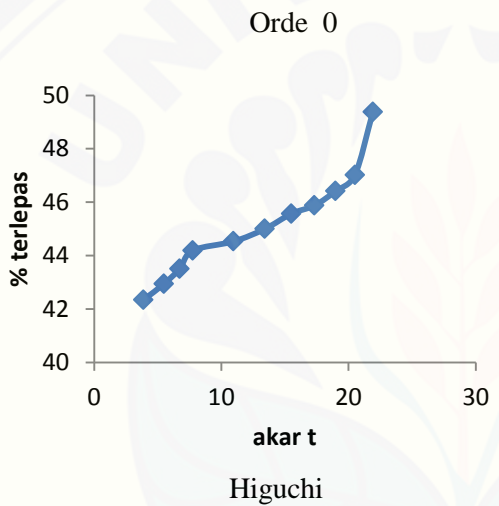
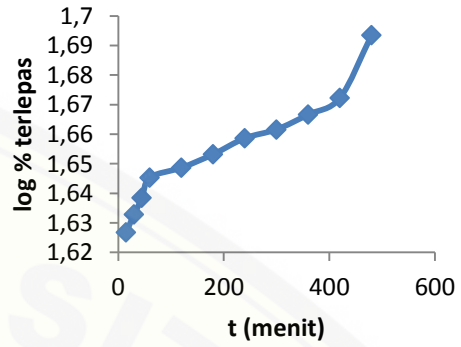
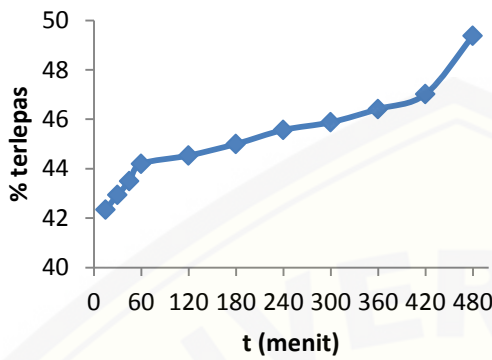
Tukey HSD

(I) Formula	(J) Formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
FORMULA 1	FORMULA 2	6.751333*	.595177	.000	4.84537	8.65730
	FORMULA 3	-1.155333	.595177	.285	-3.06130	.75063
	FORMULA 4	9.218667*	.595177	.000	7.31270	11.12463
FORMULA 2	FORMULA 1	-6.751333*	.595177	.000	-8.65730	-4.84537
	FORMULA 3	-7.906667*	.595177	.000	-9.81263	-6.00070
	FORMULA 4	2.467333*	.595177	.014	.56137	4.37330
FORMULA 3	FORMULA 1	1.155333	.595177	.285	-.75063	3.06130
	FORMULA 2	7.906667*	.595177	.000	6.00070	9.81263
	FORMULA 4	10.374000*	.595177	.000	8.46803	12.27997
FORMULA 4	FORMULA 1	-9.218667*	.595177	.000	-11.12463	-7.31270
	FORMULA 2	-2.467333*	.595177	.014	-4.37330	-.56137
	FORMULA 3	-10.374000*	.595177	.000	-12.27997	-8.46803

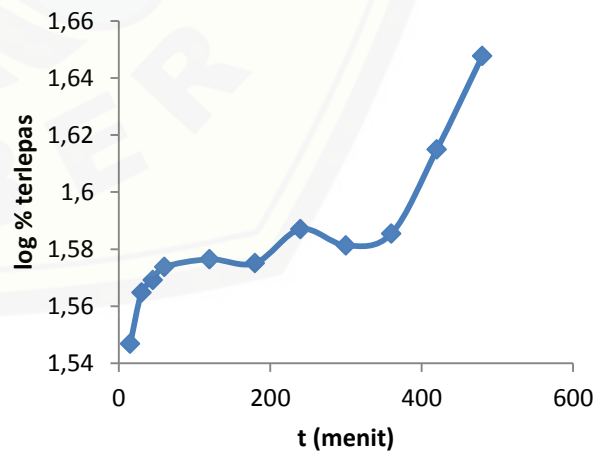
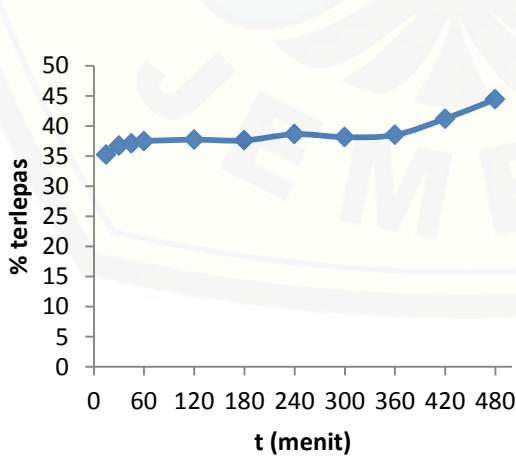
\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

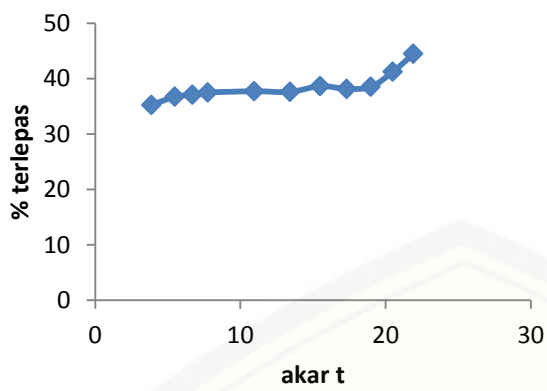
**M. Plot Kinetika Pelepasan**

- Formula 1

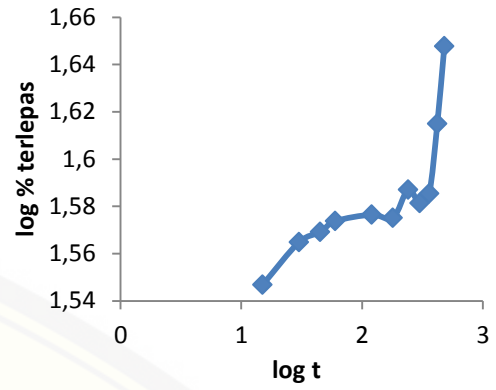


- Formula 2



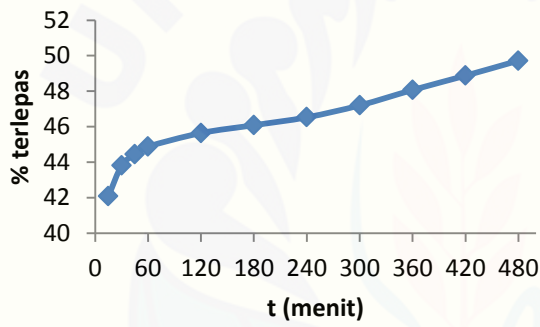


Higuchi

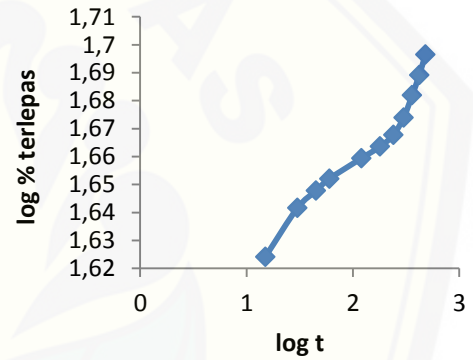


Korsmeyer-Peppas

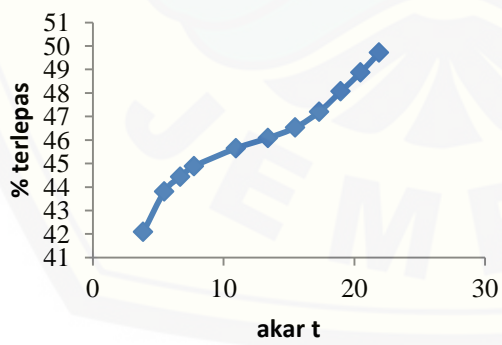
• Formula 3



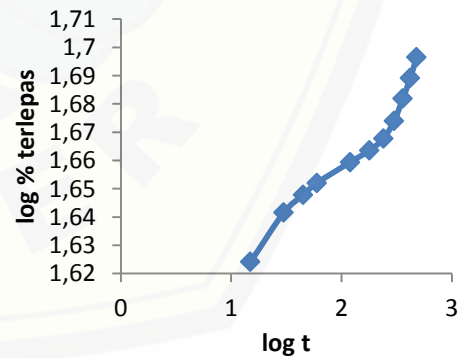
Orde 0



Orde 1

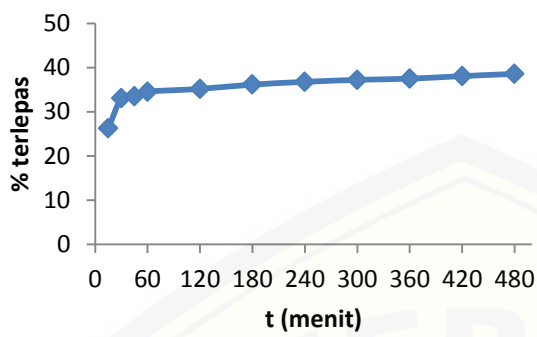


Higuchi

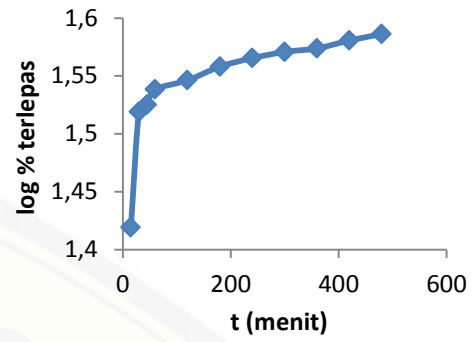


Korsmeyer-Peppas

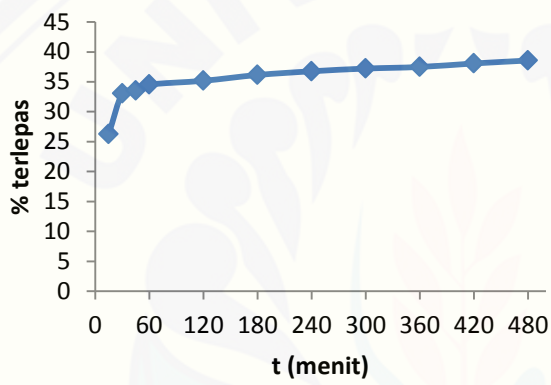
- Formula 4



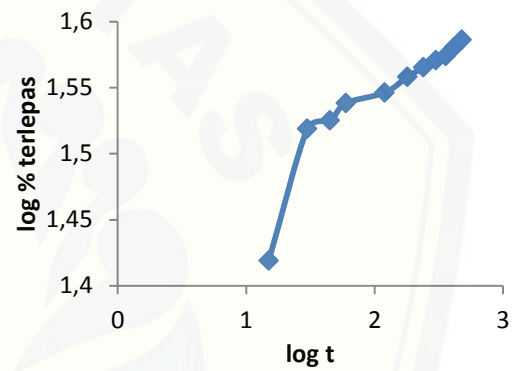
Orde 0



Orde 1



Higuchi



Korsmeier-Peppas

**N. Hasil Ukuran Partikel *Microspheres* Menggunakan SEM**

Replikasi 1 ( $\mu\text{m}$ )	Replikasi 2 ( $\mu\text{m}$ )	Replikasi 3 ( $\mu\text{m}$ )
110	100	120
120	100	90
90	120	80
90	60	50
120	100	110
120	100	100
110	110	90
130	120	100
60	50	110
40	30	40
80	60	20
50	50	60
30	40	50
50	30	110
50	50	80
30	70	90
60	65	50
30	90	30
55	90	40
110	120	130
100	110	100
25	90	100
25	30	25
90	100	90
50	20	40
110	120	120
110	100	120
180	100	120

120	100	100
140	90	110
120	100	80
120	100	70
100	90	50
80	120	50
130	80	90
50	50	110
60	60	120
60	60	80
110	110	90
25	30	50
120	120	90
110	140	120
90	90	50
90	50	60
50	90	70
40	100	110
110	110	100
120	90	90
120	120	80
110	100	90
<b>Rata-rata: 86,0</b>	<b>Rata-rata: 84,5</b>	<b>Rata-rata: 82,5</b>
Ukuran <i>microspheres</i> rata-rata = $84,333 \pm 1,756 \mu\text{m}$		



### O. Dokumentasi Penelitian



Bahan yang digunakan dalam penelitian



Penimbangan bahan



Proses pembentukan emulsi



Penyaringan *microspheres*



Pencucian *microspheres* dengan petroleum eter



Pengeringan *microspheres* dengan oven



*Microspheres* metformin hidroklorida



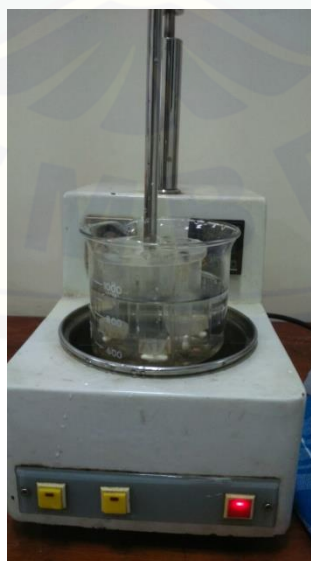
Kapsul *microspheres* metformin hidroklorida-kitosan



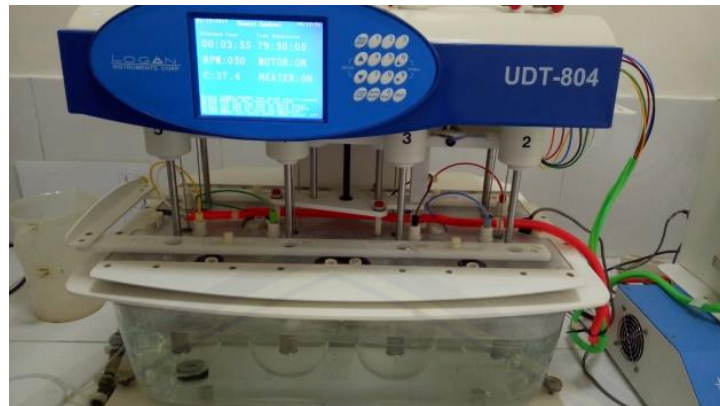
Uji keseragaman bobot



Uji sifat alir



Uji waktu hancur



Uji disolusi



Karakterisasi morfologi dan ukuran *microspheres* dengan SEM