

PERILAKU DISOLUSI KETOPROFEN DAN INDOMETASIN FARNESIL TERSALUT GEL KITOSAN-GG

Purwantiningsih Sugita^{1*)}, Achmad Sjahrizia¹⁾, Bambang Srijanto²⁾, dan Budi Arifin¹⁾

ABSTRACT

DISSOLUTION BEHAVIOUR OF KETOPROFEN AND INDOMETHACIN FARNESIL COATED WITH CHITOSAN-GUAR GUM GEL

Chitosan, a modification of shrimp-shell waste, has been utilized as microcapsule. However, its fragile gel property needs to be strengthened by adding glutaraldehyde (glu) and natural hydrocolloid guar gum (gg). This research's purposes were to determine rheological properties of chitosan-guar gum gel, to study diffusion and dissolution behaviour of ketoprofen and infar through optimum chitosan-guar gum gel membrane and microcapsule, respectively, and to test the coating stability of both medicines by the gel microcapsules, which are new drug's preparation, to determine their shelf lives and to predict the degradation mechanisms. This research was designed in six (6) steps: (1) chitin isolation and chitosan synthesis; (2) synthesis and optimization of chitosan-guar gum gel membrane; (3) *in vitro* study of ketoprofen and infar diffusion behaviour through the optimum membrane; (4) synthesis and optimization of chitosan-guar gum gel microcapsule to coat ketoprofen and infar; (5) *in vitro* study of ketoprofen and infar dissolution behaviour from the optimum microcapsule; and (6) physical and chemical microcapsule stability test using relative humidity (RH) and temperature controlled climatic chamber method. Studies on ketoprofen diffusion through chitosan-guar gum membrane showed that the formation of membrane small pores were appeared to be caused by membrane swelling, which was supported by the forcing force resulted from the difference of ketoprofen concentrations in the diffusion cells and from the temperature increase. This unique pore opening process is excellent for drug delivery process as a microcapsule. Spray drying process had successfully coated ketoprofen and infar in chitosan-guar gum microcapsule. Optimization by using Minitab Release 14 software showed that among the microcapsule compositions studied, [gg] and [glu] of 0.35% (w/v) and 3.75% (v/v), respectively were optimum to coat ketoprofen, whereas [gg] and [glu] of 0.05% (w/v) and 4.00% (v/v), respectively were optimum to coat infar, at constant chitosan concentration (1.75% [w/v]). *In vitro* dissolution profile showed that chitosan-guar gum gel microcapsule was more resistant in intestinal pH condition (rather basic) compared with that in gastric pH (very acidic). From stability test, formulation of ketoprofen preparation composed of 1.75% (w/v) chitosan, 0.35% (w/v) gg, and 3.50% (v/v) glu, was relatively the best, with ketoprofen percentage left in microcapsule after 3 months, degradation rate constant, and shelf life of 80.33%, 0.0351 % week⁻¹, and 18.92 months, respectively. The degradation of ketoprofen was seem to follow autocatalytic reaction mechanism controlled by the formation and growth of reaction core. In the other hand, the formulation with composition of 1.75% (w/v) chitosan, 0.19% (w/v) gg, and 5.00% (v/v) glu, was relatively the best microcapsule, with infar percentage left in microcapsule after 3 months, degradation rate constant, and shelf life of 77.67%, 0.0008 %⁻² week⁻¹, and 4.28 week or about 30 days, respectively. The degradation of infar was presumably caused by hydrolysis.

Keywords: *Chitosan-guar gum*, diffusion, dissolution, stability

ABSTRAK

Kitosan, salah satu modifikasi dari limbah kulit udang, telah dimanfaatkan sebagai mikrokapsul. Namun, sifat gelnya yang rapuh perlu diperkuat dengan menambahkan glu (glu) dan hidrokoloid alami gg (gg). Tujuan penelitian ini ialah menentukan sifat reologis gel kitosan-gg, mempelajari perilaku difusi dan disolusi

ketoprofen dan infar berturut-turut melalui membran dan mikrokapsul gel kitosan-gg yang optimum, serta menguji stabilitas mikrokapsul gel tersebut, yang merupakan sediaan-obat baru, untuk menentukan usia guna. Penelitian meliputi enam (6) tahap, (1) isolasi kitin dan sintesis kitosan; (2) sintesis dan optimalisasi membran gel kitosan-gg; (3) studi *in vitro* perilaku difusi ketoprofen dan infar melalui membran optimum; (4) sintesis dan optimalisasi mikrokapsul gel kitosan-gg untuk menyalut ketoprofen dan infar; (5) studi *in vitro* perilaku disolusi ketoprofen dan infar dari mikrokapsul optimum; serta (6) uji stabilitas mikro-kapsul secara fisik dan kimia menggunakan metode *climatic*

¹⁾ Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga Bogor

²⁾ Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika-BPPT, J. M. H. Thamrin No. 8 Jakarta

* Penulis Korespondensi: Email: ugiet@yahoo.com

chamber yang diatur kelembapan relatif (RH) dan suhunya. Studi difusi ketoprofen melalui membran kitosan-gg menunjukkan bahwa pembentukan pori-pori kecil pada membran disebabkan oleh pembengkakan membran, yang didukung oleh gaya dorong yang dihasilkan oleh perbedaan konsentrasi ketoprofen dalam sel-sel difusi dan oleh kenaikan suhu. Proses pembukaan pori yang khas ini sangat baik untuk proses pengantaran obat sebagai mikrokapsul. Proses pengeringan-semprot telah berhasil menyalut ketoprofen dan infar dalam mikrokapsul kitosan-gg. Optimalisasi dengan perangkat lunak Minitab Release 14 menunjukkan bahwa komposisi [gg] dan [glu] berturut-turut 0,35% (b/v) dan 3,75% (v/v) optimum menyalut ketoprofen [gg] dan [glu] berturut-turut 0,05% (b/v) dan 4,00% (v/v) optimum menyalut infar, pada konsentrasi kitosan tetap, 1,75% (b/v). Profil disolusi *in vitro* menunjukkan bahwa mikrokapsul gel kitosan-gg lebih tahan pada kondisi pH usus (agak basa) dibandingkan dengan pH lambung (sangat asam). Dari uji stabilitas, formulasi sediaan ketoprofen dengan komposisi kitosan 1,75% (b/v), gg 0,35% (b/v), dan glu 3,50% (v/v), relatif paling baik dengan persentase ketoprofen yang masih tersalut setelah 3 bulan, tetapan laju penguraian, dan usia guna berturut-turut 80,33%, 0,0351 (% b/b).minggu⁻¹, dan 18,92 bulan. Degradasi ketoprofen agaknya mengikuti mekanisme reaksi autokatalitik yang dikendalikan oleh pembentukan dan pertumbuhan inti reaksi. Di sisi lain, formulasi sediaan infar dengan komposisi kitosan 1,75% (b/v), gg 0,19% (b/v), dan glu 5,00% (v/v), relatif paling baik dengan persentase infar yang masih tersalut setelah 3 bulan, tetapan laju penguraian, dan usia guna berturut-turut 77,67 %, 0,0008 %⁻².minggu⁻¹, dan 4,28 minggu atau kira-kira 30 hari. Degradasi infar diduga disebabkan oleh hidrolisis.

Kata kunci: *kitosan-gg*, difusi, disolusi, stabilitas

PENDAHULUAN

Kitosan merupakan polimer alam yang bersifat non toksik, biokompatibel, biodegradabel serta polikationik dalam suasana asam (Sutriyo *et al.* 2005) dan dapat membentuk gel (hidrogel) karena adanya ikatan silang kitosan-kitosan yang terjadi secara ionic (Berger *et al.* 2004). Kitosan memiliki struktur mirip selulosa, beberapa polimer turunan selulosa seperti hidroksi propil metil selulosa (HPMC) dan etil selulosa (EC) telah banyak digunakan dalam sediaan lepas terkendali, baik dalam bentuk matriks maupun mikrokapsul (Wade 1994 dalam Sutriyo *et al.* 2005). Oleh karena kemiripan strukturnya, maka kitosan pun mampu membentuk gel dan berfungsi sebagai matriks dalam pengantaran obat (Sutriyo *et al.* 2005). Kitosan telah digunakan sebagai penyalut obat anti peradangan ketoprofen (Yamada *et al.* 2001) dan propranolol hidroklorida (Sutriyo *et al.* 2005) bahkan

kitosan yang ditaut silang dengan D,L-gliseraldehid juga telah digunakan untuk menyalut obat anti peradangan. Namun, gel kitosan bersifat rapuh, oleh karena itu perlu dilakukan modifikasi untuk memperbaiki sifat mekanik gelnya.

Pembentukan gel kitosan-polivinil alkohol (PVA) dengan glu sebagai penaut-silang telah dilaporkan oleh Wang *et al.* (2004) PVA bertindak sebagai *interpenetrating agent* (IPN). Polivinil alkohol ditambahkan karena sifat mekaniknya yang lebih baik daripada kitosan dan dapat terurai secara alami. Hasil yang diperoleh menunjukkan penambahan PVA dapat memperbaiki sifat gel kitosan, yaitu menurunkan waktu gelasi dan meningkatkan kekuatan mekanik gel. Modifikasi gel kitosan juga dikembangkan dengan menambahkan hidrokoloid alami, di antaranya dengan gg (Sugita *et al.* 2006a), alginat (Sugita *et al.* 2006b), karboksimetil selulosa (CMC) (Sugita *et al.* 2007a), dan gom xantan (Sugita *et al.* 2007b). Keempat modifikasi tersebut memiliki potensi untuk digunakan sebagai membran. Gel kitosan yang terbentuk dengan penambahan gg memiliki sifat reologi yang lebih baik dibandingkan dengan modifikasi lainnya. GG sendiri telah dimanfaatkan sebagai pembawa untuk memperbaiki sistem pengantaran obat ke dalam usus besar untuk mengobati radang usus besar dan kanker usus besar (Kshirsagar 2000).

Studi terhadap membran kitosan dan kitosan-termodifikasi telah banyak diaplikasikan, di antaranya sebagai membran ultrafiltrasi, osmosis balik, dialisis, pemisahan protein, pervaporasi, dan pemisahan isomer optik (Krajewska 2001). Cardenas *et al.* (2003), telah membuat gel kitosan dengan penambahan hidrokoloid alami alginat melalui pembentukan membran kompleks polielektrolit (PEC) yang berguna untuk bidang-bidang pangan, kosmetik, dan industri farmasi. Namun, dari hasil penelusuran pustaka, studi karakteristik membran gel kitosan-gg dan penggunaannya sebagai membran penyalut belum pernah dilakukan. Karena hasil sintesis gel kitosan-gg memberikan sifat reologi yang memenuhi syarat sebagai gel untuk mikroenkapsulasi, maka penelitian ini akan mempelajari perilaku difusi, disolusi dan uji stabilitas membran gel kitosan-gg sebagai membran penyalut obat-anti-peradangan ketoprofen dan indometasin farnesil.

Ketoprofen dan indometasin farnesil (infar) dipilih sebagai model bahan aktif dalam sediaan granul lepas terkendali. Keduanya merupakan obat anti-radang kelompok non-steroid (NSAID) yang bekerja menghambat sintesis prostaglandin. Kelarutan ketoprofen maupun infar dalam air rendah dan penggunaan keduanya dalam dosis tinggi dapat menyebabkan pendarahan pada lambung (AMA 1991). Kelemahan tersebut diharapkan dapat teratasi dengan menyalutnya dalam mikrokapsul gel kitosan-gg. Penelitian ini berlangsung selama dua tahun. Tujuan penelitian ini ialah menentukan sifat reologis gel kitosan-gg, mempelajari perilaku difusi dan disolusi ketoprofen dan infar berturut-turut melalui membran dan mikrokapsul gel kitosan-gg yang optimum, serta menguji stabilitas

penyalutan kedua obat oleh mikrokapsul gel tersebut, yang merupakan sediaan-obat baru, untuk menentukan usia guna.

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit udang pancet yang dibeli dari Muara Angke Jakarta Utara, kitosan niaga yang dibeli di CV Dinar Cikarang Bekasi, indometasin farnesil standar dari PT Eisai, NaOH teknis, HCl teknis, bufer asetat-pH 4, bufer fosfat pH 7, kertas indikator pH universal, asam asetat teknis, gg, glu 25%, etanol teknis, etanol absolut, air suling, larutan bufer klorida (KCl□HCl) pH 1,2, larutan bufer fosfat (KH₂PO₄□NaOH) pH 7,4, Tween-80, obat dialon dari PT Kalbe Farma. Alat-alat yang digunakan, spektrofotometer inframerah transformasi Fourier (FTIR) Bruker jenis Tentor 37, penganalisis tekstur Stevens LFRA, viskometer Ostwald, alat difusi spektrofotometer ultraviolet/sinar tampak (UV/Vis) UV-1700 PharmaSpec, pengering beku, pelapis ion Au JEOL JFC-1100E, mikroskop elektron susuran JEOL JSM-5200, pengering semprot Buchi 190, alat disolusi, pelapis ion Au IB-2, SEM JEOL JSM-5310LV, *climatic chamber*, *moisture analyzer* Precisa HA60, dan peranti lunak Minitab Release 14.

Pembuatan Kitosan (Purwantiningsih, 1992)

Kulit udang dibersihkan, dikeringkan, dan dipotong-potong kecil. Sebanyak 50g kulit udang dimasukkan dalam gelas piala yang dilengkapi pengaduk, termometer, dan lempeng pemanas. Setelah itu, ke dalam gelas piala ditambahkan 1000ml larutan NaOH 3,5% [1:20 (w/v)] untuk proses deproteinasi. Proses ini dilakukan selama 2 jam pada suhu 65°C. Residu dicuci dengan menggunakan akuades sampai pH 7, kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 70°C. Residu bebas-protein didemineralisasi dengan menambahkan larutan HCl 3,5% dengan nisbah residu:larutan HCl 3,5% 1:20. Proses ini dilakukan pada suhu kamar selama 2 jam sambil terus diaduk. Residu dicuci dengan menggunakan akuades sampai pH 7 kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 70°C. Residu hasil pemisahan ini adalah kitin. Kitin diubah menjadi kitosan melalui deasetilasi. Sebanyak 50g kitin dimasukkan ke dalam gelas piala kemudian ditambahkan 1,0l larutan NaOH 50% (1:20) dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 4 jam sambil terus diaduk. Residu dicuci dengan menggunakan akuades sampai pH 7 kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 70°C. Residu dari proses ini disebut kitosan, selanjutnya dilakukan pencirian kitosan yang meliputi kadar air (AOAC 1999), kadar abu (AOAC 1999), derajat deasetilasi (Domszy, Robert 1985 dalam Khan *et al.* 2002), dan bobot molekul (MW) (Tarbojevich & Cosani 1996).

Penentuan Kondisi Optimun Gel Kitosan-Gg (modifikasi dari Nasution 1999 dan Wang *et al.* 2004)

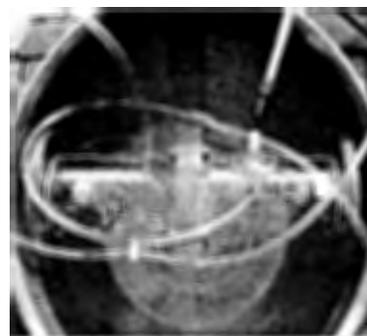
Gel kitosan-gg dibuat dengan melakukan ragam terhadap konsentrasi glu dan gg. Kitosan dengan derajat deasetilasi 73,61% dan berat molekul $4,30 \times 10^5 \text{g.mol}^{-1}$ dibuat larutannya dengan konsentrasi 2,5% (b/v) dengan pelarut asam asetat 1% (v/v). Sebanyak 30mL larutan kitosan 2,5% ditambahkan 5mL larutan gg dengan ragam konsentrasi 0,00;0,50, dan 1,00% (b/v) sambil diaduk dengan pengaduk magnetik sampai homogen. Glu ditambahkan perlahan-lahan sambil terus diaduk sebanyak 1mL dengan ragam konsentrasi 4, 5, dan 6% (v/v). Larutan yang terbentuk kemudian didiamkan pada suhu ruang dengan waktu pembentukan gel selama 24 jam. Gel yang terbentuk ditentukan sifat reologinya dengan penganalisis tekstur.

Pembuatan Membran Kitosan-Gg

Sebanyak 75 ml larutan kitosan 1,5% ditambahkan 12,5ml larutan gg dengan konsentrasi 0,33% (b/v) sambil diaduk sampai homogen. Kemudian ditambahkan 1,25ml glu 4,86% secara perlahan-lahan sambil terus diaduk. Larutan terus diaduk sampai 10 menit setelah penambahan glu. Larutan yang terbentuk dituangkan ke atas cetakan berukuran 21,40×28,25cm² pada suhu ruang. Pelarut dibiarkan menguap pada suhu ruang dan diperoleh membran yang kering. Membran dilepaskan dari cetakan dengan menambahkan larutan NaOH 1M ke atas membran. Pekerjaan ini diulang dengan meragamkan volume kitosan untuk memperoleh membran dengan ketebalan yang berbeda.

Uji Difusi Membran Secara *In Vitro* (Brazel & Peppas 2000)

Pada salah satu sel difusi diisikan larutan berisi larutan ketoprofen dengan konsentrasi 25, 50 dan 75µg.ml⁻¹, sementara pada sel lain diisikan pelarut. Alat difusi ini kemudian diletakkan dalam penangas air bersuhu 37°C dan 42°C untuk menjaga agar suhu sistem konstan. Pengadukan dibantu oleh aerator yang dipasang pada kedua sel difusi (Gambar 1). Selanjutnya alikuot diambil dari sel yang berisi pelarut untuk diukur konsentrasi ketoprofennya menggunakan spektrofotometer UV/Vis setelah difusi



Gambar 1 Alat Difusi Ketoprofen Melalui Membran

berlangsung 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 menit untuk uji difusi pada suhu 42°C, sementara untuk uji difusi pada suhu 37°C, alikuot diambil setelah difusi berlangsung 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 menit. Model hubungan matematik fluks ketoprofen (J) diturunkan dengan menggunakan metode respons permukaan (RSM) dalam peranti lunak Minitab Release 14 dengan faktor-faktor: konsentrasi ketoprofen dalam sel donor (C_d), suhu difusi (T), dan ketebalan membran (h).

Pembuatan Mikrokapsul (modifikasi dari Usmayanti 2007)

Mula-mula dibuat larutan kitosan 1,75% (b/v) dengan pelarut asam asetat 1% (v/v). Ke dalam 228,6mL larutan ini ditambahkan 38,6mL larutan gg dengan ragam konsentrasi 0,35; 0,55; dan 0,75% (b/v) untuk mikro-kapsul ketoprofen dan 0,05; 0,19; dan 0,33% (b/v) untuk mikrokapsul infar sambil diaduk dengan pengaduk magnet sampai homogen. Setelah itu, 7,62 ml glu ditambahkan perlahan-lahan sambil diaduk, dengan ragam konsentrasi 3, 3,5, dan 4% (v/v) untuk mikrokapsul ketoprofen dan 4, 4,5, dan 5% (v/v) untuk mikrokapsul infar. Campuran diaduk selama 20 menit untuk penyeragaman. Kedalam campuran mikrokapsul untuk ketoprofen, ditambahkan larutan 2g ketoprofen dalam 250ml etanol 96%, sedangkan larutan 100 mg infar (hasil ekstraksi dari obat Dialon) dalam 250ml etanol 96% ditambahkan ke dalam campuran mikrokapsul untuk infar. Setiap campuran kemudian diberi 5ml Tween-80 2% dan diaduk dengan pengaduk magnet selama 1 jam pada suhu kamar. Alat pengering semprot selanjutnya digunakan untuk mengubah mikro-kapsul dari bentuk suspensi menjadi serbuk/granul halus. Alat yang digunakan memiliki diameter lubang 1,5mm, suhu inlet 170–185°C, suhu outlet 65–95°C, pompa dengan laju alir 60rpm, dan tekanan semprot pada skala 2 bar. Pembuatan mikrokapsul ini dilakukan sebanyak dua kali ulangan. Mikrokapsul kosong tanpa penambahan obat juga dibuat sebagai pembanding.

Setiap mikrokapsul ditimbang 0,5g, diekstraksi dengan etanol 96% sebanyak 225mL selama 3 jam ($3 \times 75 \text{ ml jam}^{-1}$), dan ditentukan kandungan obatnya secara spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 254,6nm untuk ketoprofen dan 320,4nm untuk infar. Data gg, glu, dan kadar obat dari setiap mikrokapsul diolah dengan perangkat lunak Minitab 14 untuk mengetahui gg dan glu yang optimum untuk mikro-enkapsulasi.

Uji Disolusi (Depkes RI 1995)

Sebanyak 0,50g mikrokapsul pada kondisi optimum didisolusi dalam 750ml medium disolusi pada suhu ($37 \pm 0,5$)°C dengan laju pengadukan 100 rpm selama 2 jam. Sebanyak 20ml alikuot mikrokapsul diambil pada menit ke-20, 40, 60, 80, 100, dan 120. Setiap kali pengambilan alikuot, volume medium yang terambil digantikan dengan medium yang baru dengan volume dan suhu yang sama.

Aliquot disaring, lalu ditentukan serapannya dengan spektrofotometer UV pada λ_{maks} 258,0 dan 260,0 nm untuk ketoprofen (berturut-turut dalam medium lambung dan usus) dan 320,4nm untuk infar. Koreksi terhadap penyalut kitosan-gg juga dilakukan dengan menguji disolusi mikrokapsul kosong sebagai blangko. Morfologi mikrokapsul optimum sebelum dan sesudah disolusi, serta mikrokapsul kosong (blangko) diamati dengan SEM. Sebelum difoto dengan SEM, contoh disalut dengan logam emas selama 20 menit.

Uji Stabilitas

Setiap formula mikrokapsul sebanyak 100mg dikemas ke dalam kapsul. Mikrokapsul yang telah dikemas dimasukkan ke dalam botol berwarna cokelat ukuran 100ml sebanyak 12 botol untuk 12 minggu. Setiap botol berisi 18 kapsul dan 20 kapsul berturut-turut untuk formula mikrokapsul indometasin farnesil dan ketoprofen, dengan masing-masing 2 kapsul dari 9 dan 10 formula yang berbeda berturut-turut untuk formula mikrokapsul indometasin farnesil dan ketoprofen. Kemudian botol disimpan dalam *climatic chamber* pada suhu (40 ± 2)°C dan RH (75 ± 5)% selama 3 bulan. Uji stabilitas mikrokapsul dilakukan secara kimia dan fisika. Uji stabilitas secara kimia dilakukan dengan cara mengukur kadar senyawa aktif (indometasin farnesil atau ketoprofen) yang masih tersisa pada kurun waktu tertentu dengan menggunakan spektrofotometer UV. Konstanta reaksi (k) degradasi senyawa aktif tersalut bahan kitosan-gg dilakukan dengan menggunakan pendekatan berbagai model kinetika reaksi pada kondisi padatan. Nilai k degradasi senyawa aktif ditentukan dengan melihat kesesuaian antara model reaksi yang diusulkan dengan nilai data yang diperoleh. Usia guna sediaan ditentukan dengan batasan sediaan yang diuji minimal mengandung 90% kadar senyawa aktif mula-mula atau seperti yang dirumuskan pada persamaan (1):

$$\text{Usia guna} = \frac{0,1 \times \text{Kadar mula-mula}}{k} \dots \dots \dots (1)$$

Uji stabilitas secara fisika dilakukan dengan mengukur kadar air menggunakan alat *moisture analyzer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pencirian Kitin dan Kitosan

Kadar air kitin dan kitosan hasil isolasi berturut-turut adalah 8,53% dan 5,89%, kadar abunya berturut-turut 0,44% dan 0,15%. Keduanya memenuhi persyaratan spesifikasi kitin dan kitosan niaga $\geq 70\%$. Berdasarkan analisis diperoleh bobot molekul kitosan sebesar $1,53 \times 10^5$ dan $1,18 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$, derajat deasetilasi kitin 58,27%, kitosan 73,61% dan 74,02%. Nilai derajat deasetilasi ini:

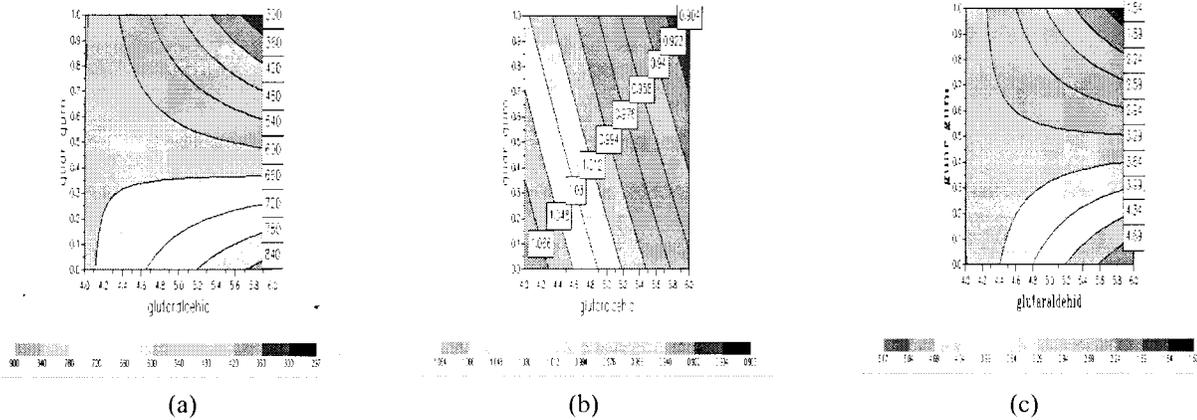
Tabel 1 Nilai D dan J yang Didapatkan dari Uji Difusi

No.	Difusi ke-	C_d (mg.L ⁻¹)	T (°C)	h (□m)	$D \times 10^6$ (cm ² .det ⁻¹)	$J \times 10^9$ (g.cm ⁻² .det ⁻¹)
1	1	25	37	28,5	0,401	3,5175 ^c
2	2	25	37	32,5	0,6052	4,6555
3	3	25	37	57,5	1,2373	5,3797 ^c
4	4	25	37	57	0,9199	4,0348
5	15	25	37	79	0,9481	3,0002
6	16	25	37	75	0,807	2,6898
7	31	25	42	31,5	0,5866	5,1728 ^c
8	32	25	42	32	0,4767	3,7244
9	33	25	42	59	0,9034	3,8279
10	34	25	42	53	0,7457	3,5175
11	35	25	42	78	1,2266	3,9313
12	36	25	42	82,5	0,9901	3,0002
13	5	50	37	34	0,5347	7,8626
14	6	50	37	36	0,581	8,0695
15	7	50	37	64	0,9534	7,4488
16	8	50	37	60	0,9187	7,6557
17	17	50	37	82,5	0,9047	5,4831
18	18	50	37	75	0,8535	5,69
19	19	50	42	27	0,4246	7,8626
20	20	50	42	31	0,5452	8,7937 ^c
21	21	50	42	61,5	0,7508	6,1039 ^c
22	22	50	42	55,5	0,8727	7,8626
23	23	50	42	83	1,3395	8,0695 ^c
24	24	50	42	88,5	1,0621	6,0004
25	9	75	37	31	0,62	15,001 ^c
26	10	75	37	34,5	0,552	12,0008
27	11	75	37	55	0,7966	10,8628
28	12	75	37	54	0,8492	11,7939 ^c
29	13	75	37	77	0,9134	8,8972
30	14	75	37	72,5	0,8501	8,7937
31	25	75	42	35	0,4973	10,6559
32	26	75	42	37,5	0,5483	10,9663
33	27	75	42	58,5	0,8392	10,7594
34	28	75	42	57,5	0,809	10,5525
35	29	75	42	91	1,0419	8,5868
36	30	75	42	84,5	0,8859	7,8626 ^c

menunjukkan bahwa kitin telah mengalami penghilangan gugus asetil selama proses isolasinya. Sementara itu, kitosan tidak seluruhnya terdeasetilasi, masih ada sekitar 26,39% gugus asetil, walaupun kitosan tersebut telah memenuhi spesifikasi yang disyaratkan untuk kitosan niaga, yaitu □70%. Dengan demikian, penghilangan gugus asetil kitin relatif terhadap kitosan adalah $(73.61-58.27)\% = 15,34\%$.

Optimasi dan Analisis Sifat Reologi Gel

Pada gambar 2a memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi glu yang terdapat dalam gel, semakin besar kekuatan gel. Kurva ini juga memperlihatkan bahwa gg tidak berpengaruh pada kekuatan gel (600–660g.cm⁻²). Pada saat konsentrasi glu tinggi, seharusnya kekuatan gel meningkat, tetapi penambahan gg menurunkannya. Diduga gg mendesak ikatan silang yang ada dalam gel sehingga melemah, dan mengakibatkan menyebabkan kekuatan gel menurun. Peningkatan glu dan gg menurunkan titik pecah gel (Gambar 2b). Penetrasi pecah yang semakin dalam



Gambar 2 Kurva Pengaruh gg dan glu Terhadap (a) Kekuatan Gel, (b) Titik Pecah Gel (c) Ketegaran Gel.

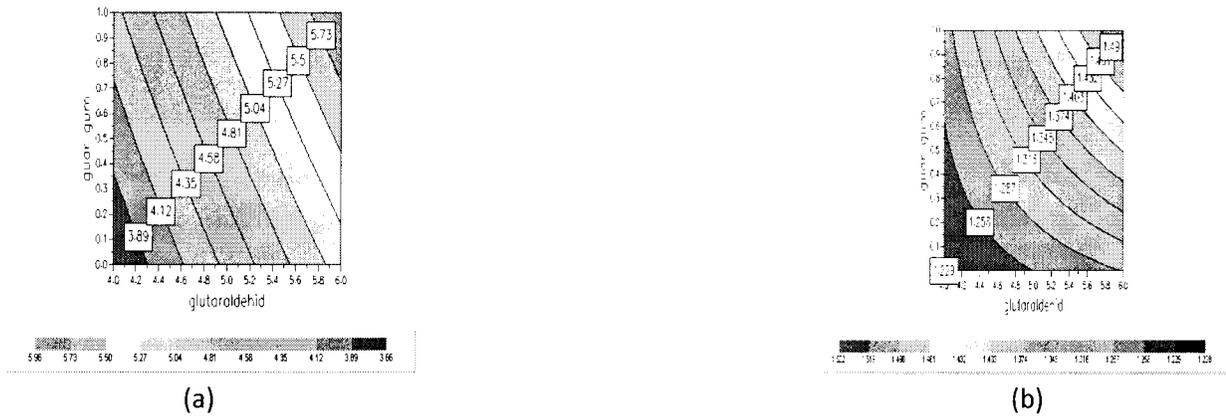
berarti titik pecah gel meningkat, menyiratkan kekuatan gel semakin meningkat. Dalam penelitian ini titik pecah gel didapatkan menurun, sesuai dengan penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa penurunan kekuatan gel didapatkan menurun diakibatkan gg. Pada gambar 2c menunjukkan bahwa semakin tinggi glu dalam gel, semakin besar ketegaran gel, gg tidak mempengaruhi nilai ketegaran gel (3,29–3,64g.cm⁻¹).

Kurva pada Gambar 3a menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi glu dan gg, semakin besar pembengkakan gel. Semakin bertambahnya glu ikatan silang yang terdapat pada jaringan gel semakin rapat dan cairan yang masuk ke dalam struktur tiga dimensinya semakin sulit sehingga menyebabkan daya serap airnya berkurang. Namun dengan adanya gg dalam gel yang berfungsi sebagai polimer tambahan dan dikenal sebagai semi-IPN dapat meningkatkan kemampuan gel untuk menarik air sehingga melemahkan ikatan silang. Adanya gugus -NH₂ pada kitosan yang tidak bereaksi dengan glutaral-dehida menjadi -NH₃⁺ merupakan hasil reaksi dengan asam dari bufer asetat menyebabkan terjadinya gaya tolak-menolak elektrostatis -NH₃⁺ dengan -NH₃⁺ dapat memperlebar pori-pori gel sehingga cairan lebih mudah masuk ke dalam struktur gel. Kurva pada Gambar 3b

menunjukkan bahwa semakin tinggi [glu] dan [gg], semakin besar pengerutan. Diduga karena reaksi antara glu dan kitosan mengeluarkan air. Pengerutan juga dibantu dengan adanya gugus -NH₂ dalam kitosan yang tidak bereaksi dengan glu dapat membentuk ikatan hidrogen antar molekulnya mengakibatkan struktur gel semakin rapat sehingga air terperas keluar gel. Hasil analisis keragaman atau Anova, nilai optimum yang memenuhi syarat gel untuk mikroenkapsulasi memiliki kekuatan, titik pecah, dan pembengkakan yang maksimum, serta ketegaran dan pengerutan minimum adalah saat [glu] 4,86 % dan [gg] 0,33% terhadap konsentrasi larutan kitosan 2,5%.

Perilaku Difusi Membran Gel Kitosan-Gg

Tabel 1 menampilkan ragam ketebalan membran yang digunakan dalam uji difusi. Sementara luas permukaan membran yang membatasi cairan sel donor dan sel resipien tetap, yaitu 16,11cm². Model persamaan fluks ketoprofen (J) dari metode respons permukaan adalah $J = 14,6207 + 0,165C_d - 0,398T - 0,2035h - 0,0007h^2 - 0,0006C_dh - 0,007Th$ dengan nilai R=98,4%. Dengan nilai R²=98,4%, persamaan ini cukup baik untuk menjelaskan nilai-nilai J yang diperoleh dalam percobaan. Hasil analisis parameter

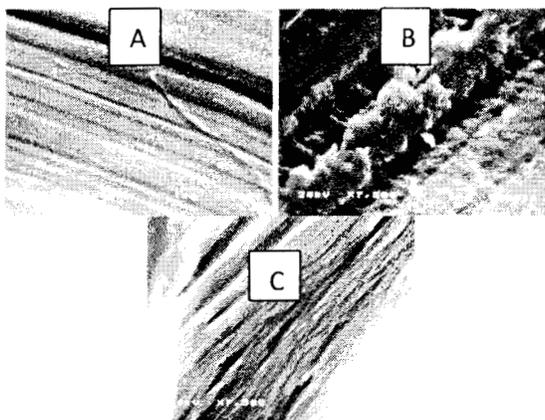


Gambar 3 Kurva pengaruh gg dan glu terhadap (a) Pembengkakan , (b) Pengerutan Gel

statistik, t dan P , terhadap persamaan J menguatkan dugaan bahwa nilai J dipengaruhi oleh C_d , T , dan h . Faktor C_d , T , h , h^2 , $C_d h$, dan Th dalam persamaan J memiliki nilai $P < 0,01$, yang berarti variabel-variabel tersebut memberikan pengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 99%^c. Tidak dimasukkan dalam pemodelan RSM karena memiliki galat yang relatif besar. Persamaan Fick menunjukkan bahwa nilai J berbanding lurus terhadap konsentrasi donor (C_d) dan suhu (T), dan berbanding terbalik dengan ketebalan (h). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai J cenderung meningkat dengan meningkatnya C_d . Hal ini disebabkan gaya dorong yang tercipta akibat perbedaan C_d dan C_r lebih besar. Dengan lebih besarnya gaya dorong ini, membran akan lebih terdesak, sehingga proses pembengkakan membran akan lebih mudah, dan molekul ketoprofen lebih mudah melewati membran. Hubungan linear antara fluks tetrametilpirazina dengan konsentrasi sel donor telah dilaporkan oleh Liu *et al.* (2002) Demikian juga Sutriyo *et al.* (2005) melaporkan hal yang serupa untuk permeasi salbutamol sulfat. Hubungan linear antara J dan C_d menunjukkan proses yang terjadi adalah difusi pasif. Nilai J dalam percobaan juga menurun dengan naiknya h , namun, hasil dalam percobaan ini menunjukkan nilai J cenderung tetap terhadap pengaruh T . Nilai J bahkan menurun ketika membran uji difusi dilakukan dengan menggunakan membran tipis dan $C_d = 25 \text{ mg.l}^{-1}$. Penurunan nilai J dengan naiknya T menguatkan dugaan bahwa membran yang digunakan memiliki jumlah dan besar rongga yang beragam. Diduga nilai J meningkat dengan meningkatnya T , tetapi karena rentang suhu yang diteliti dalam percobaan ini tidak terlalu besar ($5 \text{ }^\circ\text{C}$), maka pengaruh perubahan T menurun terhadap pengaruh porositas membran yang terjadi.

Porositas Membran

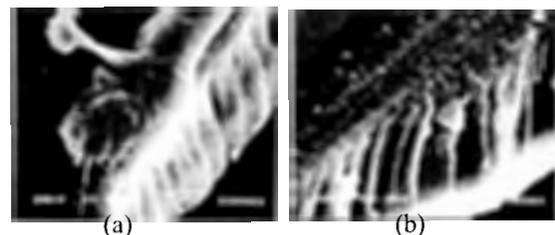
Foto-foto SEM pada Gambar 4 menunjukkan membran kitosan-gg yang terbentuk tidak memiliki pori ataupun



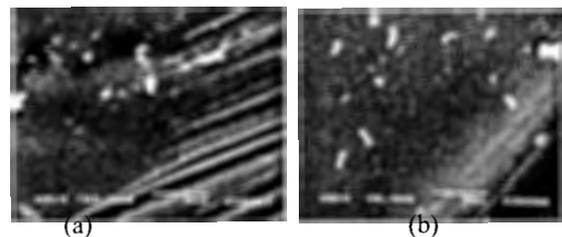
Gambar 4 Foto SEM Permukaan Membran (a) Belum Diuji; (b) Digunakan dalam Uji Difusi ke-9; (c) Digunakan dalam Uji Difusi ke-25 pada Perbesaran 7500 \times .

porositas yang merata. Secara mikroskopik, pada perbesaran 7 500 \times , permukaan membran yang belum diuji difusi tidak memiliki pori-pori (Gambar 4a). Sementara, membran yang telah digunakan dalam uji difusi ke-9 ($C_d = 75 \text{ mg/l}$; $T = 37 \text{ }^\circ\text{C}$; $h = 31 \mu\text{m}$) hanya memiliki lubang-lubang dangkal yang tak menembus membran (Gambar 4b). Diduga ikatan silang yang terbentuk antarmolekul kitosan sangat rapat. Lubang-lubang kecil yang terjadi pada membran yang digunakan dalam uji difusi ke-9 sendiri diduga terjadi akibat pembengkakan membran yang didukung oleh adanya gaya dorong akibat perbedaan konsentrasi ketoprofen dan juga pemuatan akibat meningkatnya suhu.

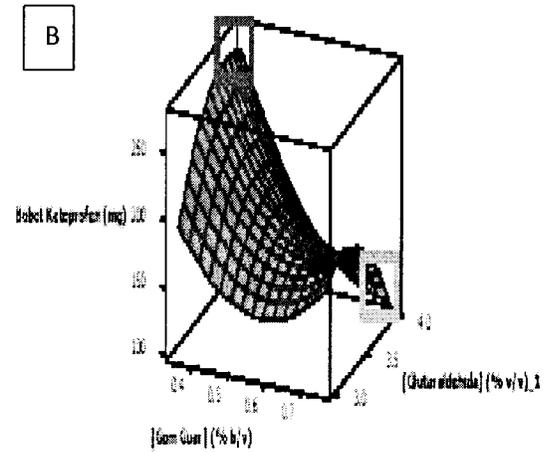
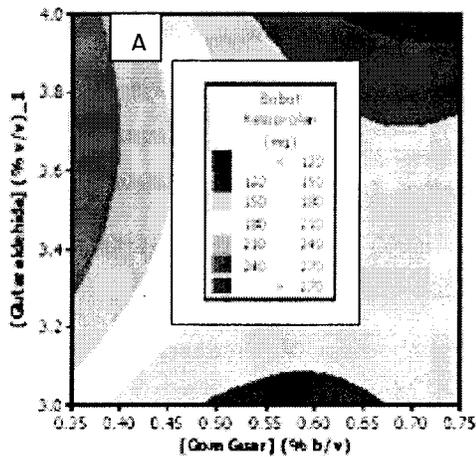
Hasil pengamatan terhadap penampang melintang membran juga menunjukkan hal yang serupa (Gambar 5). Terlihat bahwa membran memiliki rongga pada bagian dalam. Namun, seperti ditunjukkan pada Gambar 4a, rongga ini tidak sampai menembus permukaan membran. Pembengkakan membran menyebabkan rongga ini menjadi lebih besar (Gambar 5b) dan pori-pori membran yang merupakan terusan dari rongga tersebut menjadi terbuka (Gambar 4c). Pembengkakan membran diduga lebih mudah terjadi dengan meningkatnya suhu. Hal ini didukung oleh hasil pengamatan terhadap permukaan membran yang telah digunakan dalam uji difusi ke-25 ($C_d = 75 \text{ mg.l}^{-1}$; $T = 42 \text{ }^\circ\text{C}$; $h = 35 \mu\text{m}$) yang menjadi berpori, lebih bergelombang, dan lebih kasar (Gambar 4c). Namun, nilai fluks ketoprofen untuk kedua uji difusi tersebut menunjukkan hasil yang berkebalikan (Tabel 1). Nilai fluks ketoprofen pada difusi ke-9 ($15,001 \text{ g cm}^{-2} \text{ det}^{-1}$) lebih besar daripada nilai fluks ketoprofen pada difusi ke-25 ($10,6559 \text{ g cm}^{-2} \text{ det}^{-1}$). Hal ini diduga karena membran yang digunakan untuk kedua uji



Gambar 5 Foto SEM Penampang Melintang Membran (a) Belum Diuji Difusi; (b) Digunakan dalam Uji Difusi ke-25 pada Perbesaran 3500 \times .



Gambar 6 Foto SEM Permukaan Membran (a) Digunakan dalam Uji Difusi ke-9; (b) Digunakan dalam Uji Difusi ke-25 pada Perbesaran 5000 \times .



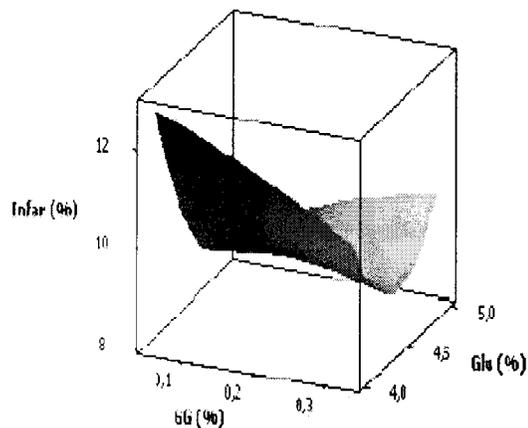
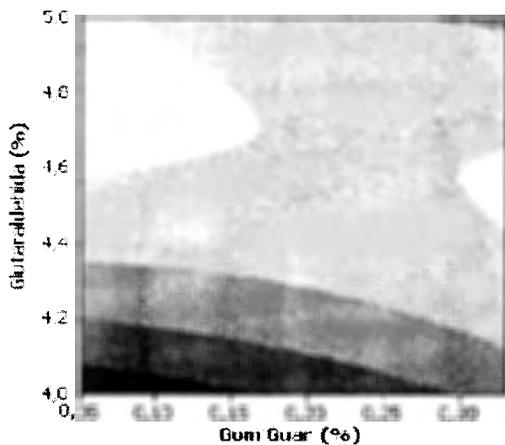
Gambar 7 Pengaruh Konsentrasi gg ([gg]) dan glu ([glu]) Terhadap Bobot Ketoprofen yang Tersalut (a). Penentuan [gg] dan [glu] yang Optimum (Merah) dan Minimum (Hijau) Menyalut Ketoprofen (b).

difusi tersebut tidak memiliki jumlah dan besar rongga yang seragam sehingga porositas yang terjadi akibat pembengkakan pun tidak seragam. Selain itu porositas yang terjadi tidak merata pada seluruh permukaan membran. Hal ini dibuktikan oleh hasil pengamatan terhadap membran yang sama, tetapi pada daerah yang berbeda (Gambar 6). Pada daerah yang berbeda dari yang ditampilkan pada Gambar 4b dan 4c, membran yang digunakan dalam uji difusi ke-9 (Gambar 6a) tidak memiliki lubang-lubang kecil, serta membran yang digunakan dalam uji difusi ke-25 tidak memiliki pori-pori (Gambar 6b). Kemungkinan besar membran yang digunakan dalam uji difusi ke-9 memiliki jumlah rongga yang lebih banyak. Pada pengamatan sifat reologi membran gel kitosan-gg, pembengkakan gel kitosan-gg pada kondisi optimumnya adalah $4,0772\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ gel. Proses pembukaan pori-pori yang unik ini sangat baik untuk digunakan dalam pengantaran obat, misalnya mikroenkapsulasi dengan penyalut gel kitosan-gg. Proses pembengkakan membran ini dapat membuat obat

terlepas ketika mikro kapsul berinteraksi dengan cairan di dalam tubuh.

Optimalisasi Mikroenkapsulasi

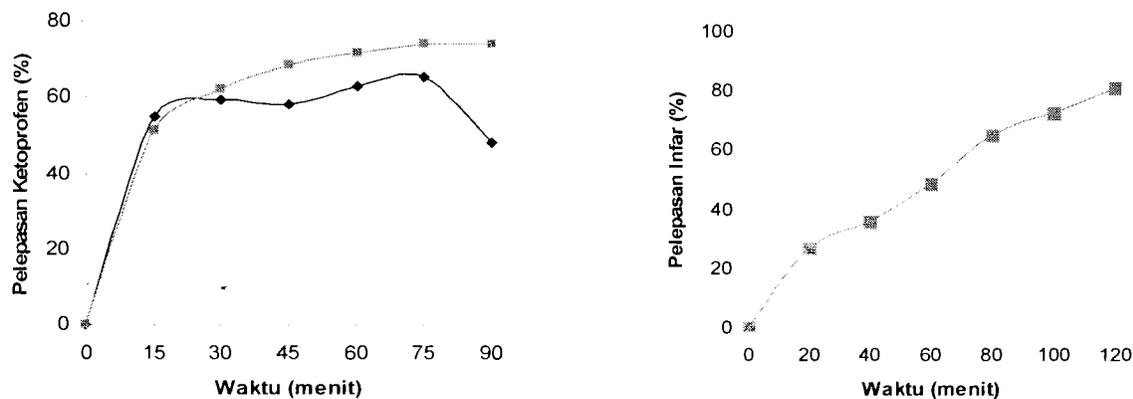
Komposisi mikro kapsul optimum ditentukan dengan meragamkan [gg] dan [glu] pada [kit] yang tetap. Pada percobaan pendahuluan, digunakan gg 0,05, 0,33, dan 0,75% serta glu 4,00, 4,86, dan 5,00%, dengan [kit] 1,75%. Konsentrasi 0,33% gg dan 4,86% glu ialah kondisi optimum Sugita *et al.* (2006a). Komposisi-komposisi yang tidak membentuk gel dapat disempnot melalui alat pengering-semprot, diekstraksi ketoprofen atau infarnya dan diukur konsentrasinya. Komposisi dengan konsentrasi obat-tersalut paling tinggi kembali diragamkan dengan menaikkan gg dan menurunkan glu, dan konsentrasi obat-tersalut pada setiap komposisi ditentukan. Optimalisasi data dengan perangkat lunak Minitab Release 14 menghasilkan kurva-kurva pada Gambar 7 untuk ketoprofen dan Gambar 8 untuk infar. Pada gg 0,35%,



(a)

(b)

Gambar 8 Pengaruh Konsentrasi gg ([gg]) dan glu ([glu]) Terhadap Bobot Infar yang Tersalut (a). Penentuan [gg] dan [glu] yang Optimum (Merah) dan Minimum (Hijau) Menyalut Infar (b). Kotak Putus-Putus Menandakan Lokasi Terhalangi Kurva Kontur.



Gambar 9 Kurva Pengaruh Waktu Terhadap Persen Rerata Pelepasan Ketoprofen (A) dan Infar (B) pada Medium Lambung (◆) dan Usus (■).

semakin tinggi gli (sampai 4,0%), semakin banyak ketoprofen yang terekstraksi (warna berubah dari merah muda ke merah tua) Gambar 7a. Sebanyak 240–270 mg ketoprofen akan tersalut pada gg 0,35–0,39% dan glu 3,3–>4,0%. Bobot ketoprofen optimum diperoleh saat gg dan glu berturut-turut 0,35% (b/v) dan 3,75% (v/v) (kotak merah pada Gambar 7b). Semakin besar [gg] keluar dari daerah optimum tersebut, bobot ketoprofen yang tersalut cenderung menurun (perubahan warna dari merah ke biru) dan mencapai minimum pada gg 0,75% dan glu>4,0% (kotak hijau pada Gambar 7b). Peran gg sebagai bahan saling-tembus akan melemahkan ikatan silang antara kitosan dan glu telah dilaporkan oleh Sugita *et al.* (2006a). Pelemahan ikatan-silang ini menyebabkan matriks gel menjadi rapuh. Akibatnya, ketoprofen tidak tersalut dengan baik sehingga menurunkan bobot ketoprofen hasil ekstraksi. Secara umum, peningkatan gg (dengan glu tetap) cenderung menurunkan bobot ketoprofen yang tersalut. Sebaliknya, peningkatan glu (dengan gg tetap) tidak selalu menaikkan bobot ketoprofen yang tersalut. Sebagai penaut-silang, penambahan lebih banyak glu akan memperkuat penyalut dan meningkatkan kekuatan mekanik gel sehingga meningkatkan daya salut mikrokapsul terhadap ketoprofen. Namun, ketika glu terlalu tinggi (4,0%), hal ini tampaknya juga menyebabkan ketoprofen akan semakin sulit diekstraksi dan didisolusi keluar dari mikrokapsul.

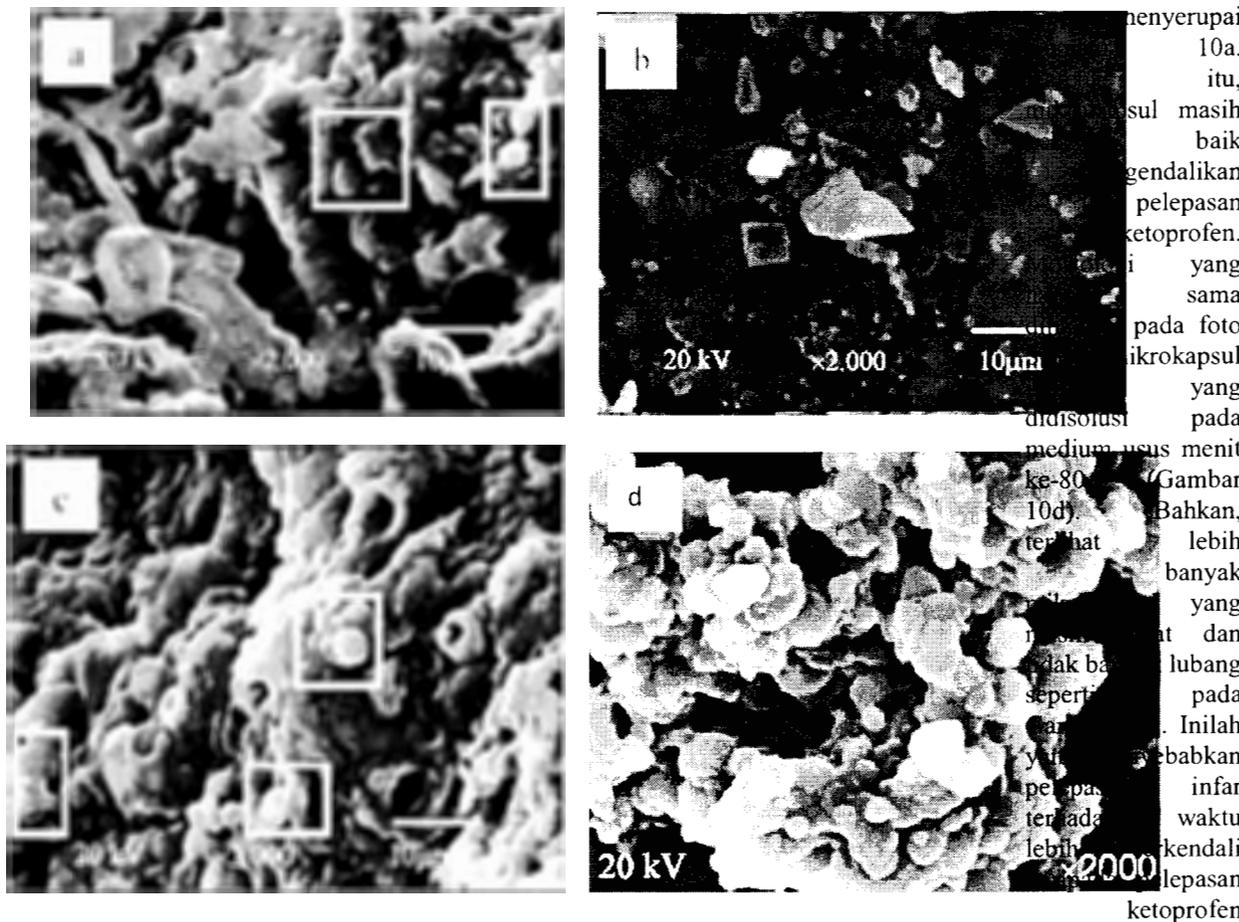
Kurva kontur pada Gambar 8a menunjukkan bahwa pada gg 0,05–0,17% dan glu 4,0–4,09%, konsentrasi infar tersalut akan melebihi 12% (lebih dari 60 mg). Komposisi optimum untuk penyalutan infar pada kitosan 1,75% ialah gg 0,05% dan glu 4% (kotak merah pada Gambar 8b). Semakin tinggi gg dan glu keluar dari daerah optimum tersebut, kandungan infar mikrokapsul akan menurun, kemudian meningkat kembali pada gg>0,30% dan glu > 5,0%. Konsentrasi infar minimum terjadi saat gg <0,17% dengan glu>4,6% serta pada gg>0,30% dengan glu 4,45–4,6% (kotak hijau pada Gambar 8b). Hasil ini menunjukkan bahwa pada gg yang rendah (0,05%), peran glu sebagai penaut-silang yang memperkuat matriks gel lebih dominan.

Infar tersalut dengan baik dan tetap mudah dilepaskan kembali pada saat ekstraksi atau disolusi. Ketika glu dinaikkan, matriks gel akan menjadi semakin rapat sehingga infar yang tersalut akan sulit terlepas kembali. Sebaliknya, menaikkan gg sebagai bahan saling-tembus yang mengisi rongga-rongga dalam matriks gel akan mendesak dan karena itu, melemahkan tautan-silang yang terbentuk oleh adanya glu. Ketika gg yang ditambahkan cukup banyak (>0,30%), pelemahan tautan-silang tersebut mampu mengatasi pertambahan tautan-silang akibat meningkatnya glu. Bobot infar yang terekstraksi pun kembali meningkat, karena infar yang telah tersalut akan mudah dilepaskan kembali. Namun, pada gg dan glu yang tinggi, campuran cenderung mengegel sehingga menyulitkan penyemprotan ke dalam alat pengering-semprot.

Uji Disolusi Mikrokapsul

Uji disolusi ketoprofen dari mikrokapsul dilakukan secara *in vitro* dalam medium yang dikondisikan menyerupai pH lambung (bufer klorida pH 1,2) dan pH usus (bufer fosfat pH 7,2-air suling [1:4]) pada suhu 37 °C, dengan laju pengadukan 100 rpm. Sementara uji disolusi infar dari mikrokapsul hanya dilakukan pada pH usus, karena dari uji disolusi ketoprofen diketahui bahwa matriks mikrokapsul kitosan-gg tidak tahan pada pH lambung. Uji disolusi dilakukan terhadap mikrokapsul yang optimum menyalut obat, yaitu gg dan glu berturut-turut 0,35% (b/v) dan 3,75% (v/v) untuk mikrokapsul yang berisi ketoprofen dan 0,05% (b/v) dan 4,00% (v/v) untuk yang berisi infar, dengan konsentrasi kitosan 1,75% (b/v). Profil disolusi ketoprofen dan infar diberikan pada Gambar 9.

Pada medium lambung, meningkatnya jumlah ketoprofen yang terdisolusi dengan bertambah lamanya waktu disolusi hanya teramati sampai menit ke-30 dan setelah itu, berfluktuasi Gambar 9a (kurva biru). Hal ini didukung oleh foto SEM pada Gambar 10a dan b yang menunjukkan bahwa ketika didisolusi pada medium



Gambar 10 Foto SEM Permukaan Mikrokapsul Ketoprofen Hasil Disolusi pada Medium Lambung (Gambar 9a) dan ke-90 (b) serta pada Medium Usus Menit ke-90 (c). Foto SEM Permukaan Mikrokapsul Hasil Disolusi pada Medium Usus Menit ke-80 (d). Perbesaran 2000× (Mikrokapsul yang Masih Intak Ditunjukkan dalam Kotak Putih atau Diberi Panah Warna Merah).

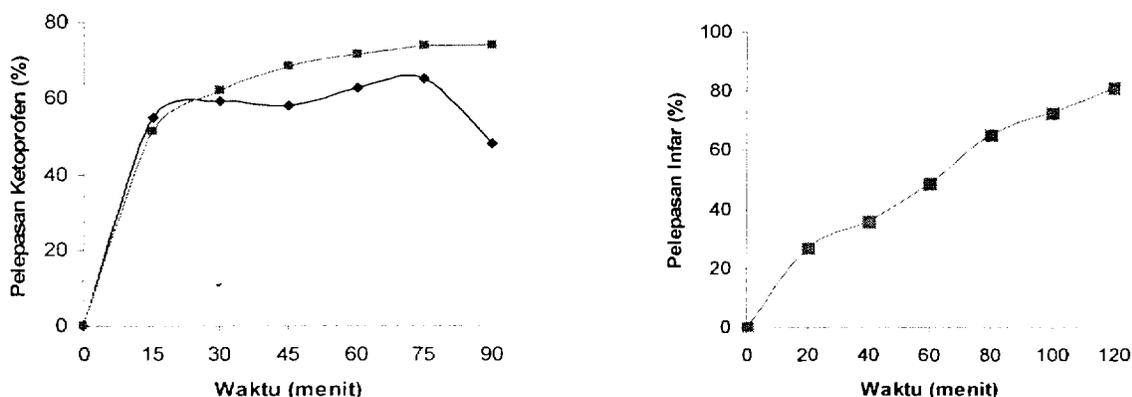
lambung, mikrokapsul masih relatif utuh pada menit ke-30. Mikrokapsul hanya membengkak, dan masih ada yang bulat. Namun pada menit ke-90, mikrokapsul telah betul-betul hancur. Karena itu, sampai menit ke-30, mikrokapsul masih berperan mengendalikan pelepasan ketoprofen, tetapi setelah itu, mikrokapsul tidak lagi mengungkung ketoprofen dengan baik karena berangsur-angsur mulai hancur. Akibatnya, konsentrasi ketoprofen yang terukur dalam medium lambung menjadi berfluktuasi dan tidak dapat dikaji kinetika pelepasan ketoprofennya.

Tidak demikian halnya pada disolusi ketoprofen dalam medium usus. Sampai menit ke-90, ketoprofen yang terdisolusi terus bertambah (Gambar 9a, kurva ungu). Foto SEM pada Gambar 10c menjelaskan hal ini: pada menit ke-90, mikrokapsul masih relatif utuh dan morfologinya

mudah terhidrolisis dalam medium yang sangat asam. Adanya gg dalam matriks gel diduga ikut mempercepat hidrolisis ini, karena kemampuannya menarik air (Berger *et al.* 2004). Karena itu, mikrokapsul kitosan-gg menunjukkan kinerja yang kurang baik dalam menyalut ketoprofen pada medium lambung. Matriks ini tampaknya lebih tahan dalam medium yang agak basa sehingga pelepasan ketoprofen berlangsung perlahan-lahan dan terkendali. Hal ini juga sesuai dengan sifat ketoprofen yang mudah larut dan terurai dalam usus (Depkes RI 1995).

Stabilitas Fisik Mikrokapsul Ketoprofen dan Infar Tersalut Kitosan-Gg

menyerupai
10a.
itu,
sul masih
baik
gendalikan
pelepasan
ketoprofen.
i yang
sama
pada foto
mikrokapsul
yang
didisolusi
pada
medium usus menit
ke-80 (Gambar
10d). Bahkan,
terlihat lebih
banyak
yang
n... at dan
adak ba... lubang
seperti... pada
... Inilah
y... sebabkan
pelepas... infar
terada... waktu
lebih... kendali
lepasan
ketoprofen



Gambar 9 Kurva Pengaruh Waktu Terhadap Persen Rerata Pelepasan Ketoprofen (A) dan Infar (B) pada Medium Lambung (♦) dan Usus (■).

semakin tinggi gli (sampai 4,0%), semakin banyak ketoprofen yang terekstraksi (warna berubah dari merah muda ke merah tua) Gambar 7a. Sebanyak 240–270 mg ketoprofen akan tersalut pada gg 0,35–0,39% dan glu 3,3–>4,0%. Bobot ketoprofen optimum diperoleh saat gg dan glu berturut-turut 0,35% (b/v) dan 3,75% (v/v) (kotak merah pada Gambar 7b). Semakin besar [gg] keluar dari daerah optimum tersebut, bobot ketoprofen yang tersalut cenderung menurun (perubahan warna dari merah ke biru) dan mencapai minimum pada gg 0,75% dan glu>4,0% (kotak hijau pada Gambar 7b). Peran gg sebagai bahan saling-tembus akan melemahkan ikatan silang antara kitosan dan glu telah dilaporkan oleh Sugita *et al.* (2006a). Pelemahan ikatan-silang ini menyebabkan matriks gel menjadi rapuh. Akibatnya, ketoprofen tidak tersalut dengan baik sehingga menurunkan bobot ketoprofen hasil ekstraksi. Secara umum, peningkatan gg (dengan glu tetap) cenderung menurunkan bobot ketoprofen yang tersalut. Sebaliknya, peningkatan glu (dengan gg tetap) tidak selalu menaikkan bobot ketoprofen yang tersalut. Sebagai penaut-silang, penambahan lebih banyak glu akan memperkuat penyalut dan meningkatkan kekuatan mekanik gel sehingga meningkatkan daya salut mikrokapsul terhadap ketoprofen. Namun, ketika glu terlalu tinggi (4,0%), hal ini tampaknya juga menyebabkan ketoprofen akan semakin sulit diekstraksi dan didisolusi keluar dari mikrokapsul.

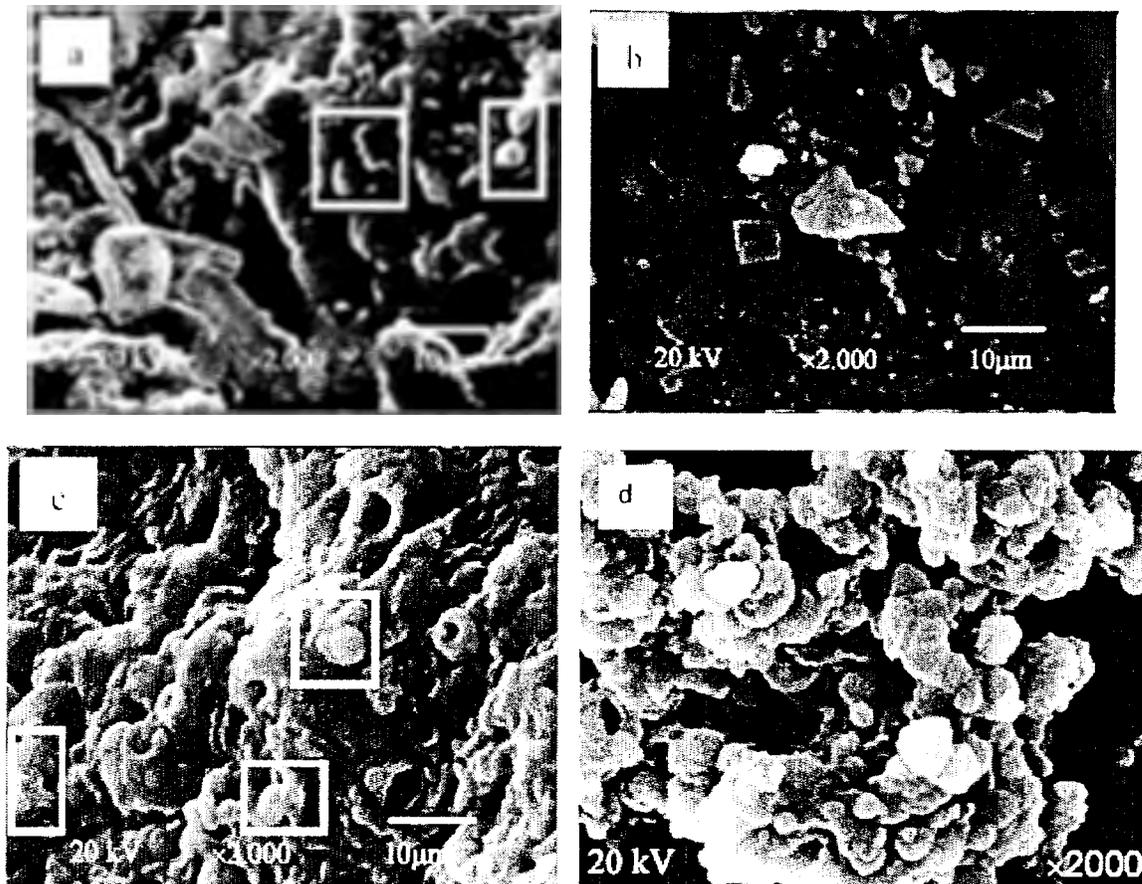
Kurva kontur pada Gambar 8a menunjukkan bahwa pada gg 0,05–0,17% dan glu 4,0–4,09%, konsentrasi infar tersalut akan melebihi 12% (lebih dari 60 mg). Komposisi optimum untuk penyalutan infar pada kitosan 1,75% ialah gg 0,05% dan glu 4% (kotak merah pada Gambar 8b). Semakin tinggi gg dan glu keluar dari daerah optimum tersebut, kandungan infar mikrokapsul akan menurun, kemudian meningkat kembali pada gg>0,30% dan glu > 5,0%. Konsentrasi infar minimum terjadi saat gg <0,17% dengan glu>4,6% serta pada gg>0,30% dengan glu 4,45–4,6% (kotak hijau pada Gambar 8b). Hasil ini menunjukkan bahwa pada gg yang rendah (0,05%), peran glu sebagai penaut-silang yang memperkuat matriks gel lebih dominan.

Infar tersalut dengan baik dan tetap mudah dilepaskan kembali pada saat ekstraksi atau disolusi. Ketika glu dinaikkan, matriks gel akan menjadi semakin rapat sehingga infar yang tersalut akan sulit terlepas kembali. Sebaliknya, menaikkan gg sebagai bahan saling-tembus yang mengisi rongga-rongga dalam matriks gel akan mendesak dan karena itu, melemahkan tautan-silang yang terbentuk oleh adanya glu. Ketika gg yang ditambahkan cukup banyak (>0,30%), pelemahan tautan-silang tersebut mampu mengatasi pertambahan tautan-silang akibat meningkatnya glu. Bobot infar yang terekstraksi pun kembali meningkat, karena infar yang telah tersalut akan mudah dilepaskan kembali. Namun, pada gg dan glu yang tinggi, campuran cenderung menggegel sehingga menyulitkan penyemprotan ke dalam alat pengering-semprot.

Uji Disolusi Mikrokapsul

Uji disolusi ketoprofen dari mikrokapsul dilakukan secara *in vitro* dalam medium yang dikondisikan menyerupai pH lambung (bufer klorida pH 1,2) dan pH usus (bufer fosfat pH 7,2-air suling [1:4]) pada suhu 37 °C, dengan laju pengadukan 100 rpm. Sementara uji disolusi infar dari mikrokapsul hanya dilakukan pada pH usus, karena dari uji disolusi ketoprofen diketahui bahwa matriks mikrokapsul kitosan-gg tidak tahan pada pH lambung. Uji disolusi dilakukan terhadap mikrokapsul yang optimum menyalut obat, yaitu gg dan glu berturut-turut 0,35% (b/v) dan 3,75% (v/v) untuk mikrokapsul yang berisi ketoprofen dan 0,05% (b/v) dan 4,00% (v/v) untuk yang berisi infar, dengan konsentrasi kitosan 1,75% (b/v). Profil disolusi ketoprofen dan infar diberikan pada Gambar 9.

Pada medium lambung, meningkatnya jumlah ketoprofen yang terdisolusi dengan bertambah lamanya waktu disolusi hanya teramati sampai menit ke-30 dan setelah itu, berfluktuasi Gambar 9a (kurva biru). Hal ini didukung oleh foto SEM pada Gambar 10a dan b yang menunjukkan bahwa ketika didisolusi pada medium



Gambar 10 Foto SEM Permukaan Mikrokapsul Ketoprofen Hasil Disolusi pada Medium Lambung Menit ke-30 (a) dan ke-90 (b) serta pada Medium Usus Menit ke-90 (c). Foto SEM Permukaan Mikrokapsul Infar Hasil Disolusi pada Medium Usus Menit ke-80 (d). Perbesaran 2000 \times (Mikrokapsul yang Masih Bulat Ditunjukkan dalam Kotak Putih atau Diberi Panah Warna Merah).

lambung, mikrokapsul masih relatif utuh pada menit ke-30. Mikrokapsul hanya membengkak, dan masih ada yang bulat. Namun pada menit ke-90, mikrokapsul telah betul-betul hancur. Karena itu, sampai menit ke-30, mikrokapsul masih berperan mengendalikan pelepasan ketoprofen, tetapi setelah itu, mikrokapsul tidak lagi mengungkung ketoprofen dengan baik karena berangsur-angsur mulai hancur. Akibatnya, konsentrasi ketoprofen yang terukur dalam medium lambung menjadi berfluktuasi dan tidak dapat dikaji kinetika pelepasan ketoprofennya.

Tidak demikian halnya pada disolusi ketoprofen dalam medium usus. Sampai menit ke-90, ketoprofen yang terdisolusi terus bertambah (Gambar 9a, kurva ungu). Foto SEM pada Gambar 10c menjelaskan hal ini: pada menit ke-90, mikrokapsul masih relatif utuh dan morfologinya menyerupai Gambar 10a. Karena itu, mikrokapsul masih bekerja baik mengendalikan pelepasan ketoprofen. Morfologi yang hampir sama dijumpai pada foto SEM mikrokapsul infar yang didisolusi pada medium usus menit ke-80 (Gambar 10d). Bahkan, terlihat lebih banyak mikrokapsul yang masih bulat dan tidak banyak lubang

seperti pada Gambar 10c. Inilah yang menyebabkan pelepasan infar terhadap waktu lebih terkendali daripada pelepasan ketoprofen (Gambar 9b).

Tautan-silang imina antarpolimer kitosan yang terbentuk dengan adanya glu lebih mudah terhidrolisis dalam medium yang sangat asam. Adanya gg dalam matriks gel diduga ikut mempercepat hidrolisis ini, karena kemampuannya menarik air (Berger *et al.* 2004). Karena itu, mikrokapsul kitosan-gg menunjukkan kinerja yang kurang baik dalam menyalut ketoprofen pada medium lambung. Matriks ini tampaknya lebih tahan dalam medium yang agak basa sehingga pelepasan ketoprofen berlangsung perlahan-lahan dan terkendali. Hal ini juga sesuai dengan sifat ketoprofen yang mudah larut dan terurai dalam usus (Depkes RI 1995).

Stabilitas Fisik Mikrokapsul Ketoprofen dan Infar Tersalut Kitosan-Gg

Secara umum kadar air untuk kedua jenis sediaan tersebut rerata memiliki nilai yang tinggi dan berfluktuasi

Tabel 2. Tetapan Kinetika dan Model Laju Reaksi Degradasi Ketoprofen Tersalut Kitosan-gg.

Formula	Komposisi	Tetapan Kinetika, k (minggu ⁻¹)	R ²	Pendekatan model	k (% b/b. minggu ⁻¹)	[A] ₀ ^a (% b/b)	Usia Guna, bulan
1	Kit : 1,75%; GG : 0,35 %; Glu : 3,00%	0,1541	0,9834	Persamaan Prout-Tompkins	0,1541	26,58	4,31
2	Kit : 1,75 %; GG : 0,35 %; Glu : 3,50%	0,0351	0,9166	Persamaan Avram-Erofeev, n=2/3	0,0351	26,57	18,92
3	Kit : 1,75 %; GG : 0,35 %; Glu : 4,00%	0,1195	0,9315	Persamaan Prout-Tompkins	0,1195	29,25	6,12
4	Kit : 1,75 %; GG : 0,55 %; Glu : 3,00%	0,1903	0,9576	Persamaan Prout-Tompkins	0,1903	26,42	3,47
5	Kit : 1,75 %; GG : 0,55 %; Glu : 3,50%	0,0168	0,9482	Persamaan Avram-Erofeev, n=1 atau laju reaksi order satu	0,168	26,29	39,12
6	Kit : 1,75 %; GG : 0,55 %; Glu : 4,00%	0,397	0,9438	Laju reaksi orde nol	0,397	33,02	2,08
7	Kit : 1,75 %; GG : 0,75 %; Glu : 3,00%	0,2191	0,9852	Persamaan Prout-Tompkins	0,2191	26,93	3,07
8	Kit : 1,75 %; GG : 0,75 %; Glu : 3,50%	0,464	0,9557	Laju reaksi orde nol	0,464	27,94	1,51
9	Kit : 1,75 %; GG : 0,75 %; Glu : 4,00%	0,0485	0,9156	Persamaan Avram-Erofeev, n=1/3	0,485	24,45	12,60
10	Kit : 1,75 %; GG : 0,35 %; Glu : 3,75%	0,4368	0,9164	Laju reaksi orde nol	0,4368	28,51	1,63

Secara umum kadar air untuk kedua jenis sediaan tersebut rerata memiliki nilai yang tinggi dan berfluktuasi (data, tabel, atau lampiran). Fluktuasi nilai kadar air mikrokapsul kedua jenis sediaan tersebut diduga diakibatkan oleh ukuran partikel mikrokapsul yang tidak seragam sehingga penyerapan air oleh masing-masing partikel tidak sama. tingginya kadar air kemungkinan disebabkan oleh sifat membrane kitosan-gg yang hidroskopis. Gom-guar memiliki kemampuan yang tinggi dalam menyerap air telah dilaporkan Sugita, *et al.* (2006a). Kadar air rerata kedua sediaan melebihi nilai 10 % sehingga berpotensi dapat menyebabkan tumbuhnya mikroba seperti *Staphylococcus aureus* dan mempercepat reaksi hidrolisis pada senyawa aktif yang terkandung di dalam sediaan. Pertumbuhan mikroba yang di luar batas toleransi akan menyebabkan bentuk sediaan tersebut tidak layak untuk dikonsumsi, percepatan reaksi hidrolisis akan mempercepat degradasi senyawa aktif yang terkandung didalamnya sehingga efektivitasnya juga akan berkurang secara cepat. Akibat yang lebih jauh, usia guna dari sediaan tersebut akan semakin pendek.

Stabilitas Kimia Mikrokapsul Ketoprofen dan Infar Tersalut Kitosan-Gg

Secara umum kadar senyawa aktif di dalam kedua sediaan tersebut mengalami penurunan setelah disimpan selama 3 (tiga) bulan (data, tabel, atau lampiran). Nilai

kadar senyawa aktif indometasin farnesil yang tersalut sangat berfluktuasi, sementara untuk ketoprofen relatif konstan laju degradasinya. Hal ini diduga sediaan mikrokapsul indometasin farnesil yang terbentuk tidak seragam kandungan senyawa aktif sehingga mempengaruhi pengukuran nilai kadarnya, kandungan ketoprofen dalam sediaan mikrokapsul lebih beragam. Ketidak-beragaman kandungan indometasin farnesil di dalam sediaan mikrokapsul kemungkinan disebabkan oleh sifat senyawa tersebut yang tercampur dengan vitamin E sehingga homogenitas pada saat proses pembuatan partikel sulit dilakukan. Tetapan kinetika dan model laju reaksi degradasi senyawa ketoprofen yang tersalut bahan kitosan dan gom-guar ditampilkan pada Tabel 2.

Penentuan laju degradasi ketoprofen menggunakan berbagai model pendekatan khususnya model kinetika reaksi degradasi pada kondisi padatan. Namun dalam kenyataannya ada beberapa formula yang tidak cocok jika digunakan model laju reaksi degradasi pada kondisi padatan sehingga untuk kondisi seperti ini digunakan model reaksi degradasi pada kondisi cairan (formula no 6, 8 dan 10). Hasil perhitungan juga menunjukkan bahwa degradasi ketoprofen yang tersalut kitosan-gg diduga diakibatkan oleh reaksi autokatalitik yang dikontrol oleh pembentukan dan pertumbuhan inti reaksi dengan berbagai modifikasinya. Menurut Agoes (2001), sediaan obat dikatakan masih stabil jika kadar bahan aktifnya sekurang-kurangnya mengandung 90% dari kadar awal. Dengan menggunakan persamaan (1).

Tabel 3. Tetapan Kinetika dan Model Laju Reaksi Degradasi Infar Tersalut Kitosan-gg

Formula	Komposisi	Tetapan Kinetika, k minggu ⁻¹	R ²	Pendekatan model	[A] ₀ ^a (% b/b)	[A] ₁₂ ^b (% b/b)	Usia Guna, minggu
1	Kit : 1,75 % GG : 0,05 % Glu: 4,00 %	0,0006 , (% b/b) ⁻²	0,9391	Laju reaksi orde ke-3	8,77	6,04	2,54
2	Kit : 1,75 % GG : 0,05 % Glu: 4,50 %	0,2448 , (% b/b)	0,9132	Laju reaksi orde ke-0	10,07	7,13	4,11
3	Kit : 1,75 % GG : 0,05 % Glu: 5,00 %	0,0050 , (% b/b) ⁻¹	0,8990	Laju reaksi orde ke-2	7,78	5,30	2,85
4	Kit : 1,75 % GG : 0,19 % Glu: 4,00 %	0,3888 , (% b/b)	0,9878	Laju reaksi orde ke-0	7,25	2,58	1,86
5	Kit : 1,75 % GG : 0,19 % Glu: 4,50 %	0,2440 , (% b/b)	0,9252	Laju reaksi orde ke-0	7,17	4,24	2,94
6	Kit : 1,75 % GG : 0,19 % Glu: 5,00 %	0,0008 , (% b/b) ⁻²	0,8167	Laju reaksi orde ke-3	5,85	4,54	4,28
7	Kit : 1,75 % GG : 0,33 % Glu: 4,00 %	0,0049 , (% b/b) ⁻¹	0,7791	Laju reaksi orde ke-2	8,08	5,48	2,81
8	Kit : 1,75 % GG : 0,33 % Glu: 4,50 %	0,0024 , (% b/b) ⁻²	0,8964	Laju reaksi orde ke-3	7,76	3,67	0,81
9	Kit : 1,75 % GG : 0,33 % Glu: 5,00 %	0,0017 , (% b/b) ⁻²	0,9464	Laju reaksi orde ke-3	7,62	4,15	1,19

Keterangan : ^a Kadar awal ketoprofen; ^b Kadar ketoprofen pada t=12 minggu

maka dapat ditentukan usia guna sediaan ketoprofen yang tersalut kitosan-gg seperti terlihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2 tersebut terlihat bahwa usia guna sediaan ketoprofen bervariasi antara 1,51 bulan hingga 39,12 bulan. Dengan demikian ada beberapa formula yang relatif cukup bagus tingkat kestabilannya, yakni lebih dari 3 tahun untuk formula no 5 dengan komposisi Kitosan: 1,75%; Gg: 0,55%; dan Glutaraldehyd: 3,50%. Meskipun demikian hal ini bukan satu-satunya aspek yang ditinjau untuk menentukan kelayakan suatu sediaan obat. Penentuan formula mikrokapsul terbaik dilakukan pembobotan dengan memperhatikan faktor usia guna dan kadar air sediaan ketoprofen yang tersalut dalam kitosan-gg maka dapat ditentukan formula sediaan yang terbaik. Dari hasil pembobotan dengan berdasarkan pada usia guna dan kadar air, maka dapat disimpulkan formula terbaik dari sediaan ketoprofen yang tersalut kitosan-gg berturut-turut adalah formula no 2, 5, 3, 4, 10, 9, 7, 8, 1, 6.

Berbeda dengan kondisi pada formula tersebut di atas, formula sediaan indometasin farnesil yang tersalut kitosan-gg tidak cocok didekati dengan model laju reaksi degradasi senyawa aktif pada kondisi padatan. Tetapan kinetika dan model laju reaksi degradasi senyawa infar yang tersalut bahan kitosan dan gom-guar ditampilkan pada Tabel 3. Perbedaan model antara sediaan ketoprofen dan infar ini

diduga karena faktor ketelitian data yang diperoleh selama penelitian. Perbedaan model antara sediaan ketoprofen dan indometasin farnesil ini diduga karena faktor ketelitian data yang diperoleh selama penelitian. Seperti disebutkan di atas, sediaan indometasin farnesil mempunyai tingkat kesulitan yang lebih besar dalam hal preparasi contoh dibandingkan dengan sediaan ketoprofen. Dengan memperhatikan model laju reaksi degradasi yang terjadi, diduga mekanisme yang terjadi adalah melalui reaksi hidrolisis karena adanya kadar air yang cukup tinggi di dalam sediaan infar tersalut kitosan-gg. Usia guna sediaan infar tersalut kitosan-gg dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan parameter uji stabilitas, maka formula dengan komposisi Kitosan:1,75%; Gg:0,19% dan Glutaraldehyd: 5,00% (formula 6) merupakan formula yang relatif paling baik. Menurut Berger *et al.* (2004) dan Sugita *et al.* (2006b), penambahan senyawa pengikat silang menyebabkan jejaring gel semakin rapat dan cairan akan sulit masuk. Penambahan gg dengan konsentrasi sama pada mikrokapsul formula Kitosan: 1,75%; Gg:0,19% dan Glutaraldehyd: 4,00% (formula 4) dan formula 6 mampu melemahkan ikatan, namun kekuatan membran pada mikrokapsul formula 4 lebih lemah karena konsentrasi glutaraldehyd yang lebih rendah, sehingga ketika disimpan pada suhu tinggi (40±2 °C) membran mikrokapsul formula

4 akan lebih membengkak dibandingkan dengan membran formula 6. Akibatnya uap air yang ada di lingkungan sekitar akan lebih mudah masuk dan mempercepat terjadinya reaksi hidrolisis. Dugaan telah terjadi degradasi infar melalui mekanisme hidrolisis diperkuat dengan melihat gugus kimia yang terkandung di dalam senyawa tersebut.

KESIMPULAN

Profil difusi menghasilkan model fluks (J) ketoprofen yaitu $J=14,6207+0,165C_d-0,398T-0,2035h-0,0007h^2-0,0006C_dh-0,007Th$ dengan nilai $R^2=98,4\%$. Pembukaan pori membran diawali melalui pembekakan adalah proses yang unik sehingga sangat baik untuk digunakan dalam pengantaran obat dalam bentuk mikroenkapsulasi. Profil disolusi *in vitro* menunjukkan bahwa mikrokapsul gel kitosan-gg lebih tahan pada kondisi pH usus (agak basa) dibandingkan dengan pH lambung (asam). Stabilitas mikrokapsul ketoprofen dengan komposisi Kitosan: 1,75%; Gg: 0,35%; dan Glutaraldehyd: 3,50% (formula 2) merupakan formula yang relatif paling baik. Sementara, stabilitas mikro-kapsul infar dengan komposisi Kitosan: 1,75%; Gg: 0,19% dan Glutaraldehyd: 5,00% (formula 6) merupakan mikrokapsul yang relatif paling baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana karena bantuan dana melalui Hibah Bersaing XIV tahun 2007 dan 2008 Dirjen Pendidikan Tinggi (DIKTI) Departemen Pendidikan Nasional. Ucapan terima kasih diberikan kepada rekan peneliti (Ahmad Sjahriza, Bambang Srijanto dan Budi Arifin), mahasiswa (Santi Indah Lestari, Feri Nata, Fithri Amelia, Mahdi Mubarak, Elin Vina setyowati dan Deby Isdarulyanti) dan tenaga penunjang Lab. Kimia Organik (Sabur, Yeni Karmila dan Siti Robiah) atas kerjasamanya yang baik sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes G.2001, Studi Stabilitas Sediaan Farmasi. Teknologi Farmasi, Program Pasca Sarjana, Institut Teknologi Bandung.
- [AMA] American Medical Association. 1991. *Drug Evaluations*. Ed. ke-8.
- [AOAC] Associations of Official Analytical Chemists. 1999. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 5th Revision. Vol ke-2. Cunniff P, editor. Maryland: AOAC Int.
- Berger J., et al. 2004. Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications. *Eur J of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57:19–34.
- Brazel CS., Peppas NA. 2000. Modeling of Drug Release from Swellable Polymers. *Eur J Pharm Biopharm* 49:47–58.
- Cardenas A, Monal WA, Goycoolea FM, Ciapara IH, Peniche C. 2003. Diffusion Through Membranes of the Polyelectrolyte Complex of Chitosan and Alginate. *Macromol Biosci* 3:535–539.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-4. Jakarta: Depkes RI.
- Khan TA, Peh KK, Ch'ng HS. 2002. Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: the Influence of Analytical Methods. *J Pharm Pharmaceut Sci* 5:205–212.
- Krajewska B. 2001. Diffusional Properties of Chitosan Hydrogel Membranes. *J Chem Technol Biotechnol* 76:636–642.
- Kshirsagar NA. 2000. Drug Delivery System. *Indian J Pharmacol* 32: 54–61.
- Liu C, Xu HN, Li XL. 2002. *In vitro* Permeation of Tetramethylpyrazine Across Porcine Buccal Mucosa. *Acta Pharmacol Sin* 23:792–796.
- Nasution IR. 1999. Mempelajari Pengaruh pH, Penambahan NaCl, dan gg Terhadap Karakteristik Gel Cincin Hijau [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Purwantiningsih. 1992. Isolasi Kitin dan Komposisi Senyawa Kimia dari Limbah Udang Windu (*Panaeus monodon*) [tesis]. Bandung: Program Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.
- Sugita P., Sjahriza A, Lestari SI. 2006a. Sintesis dan Optimasi Gel Kitosan-gg. *J Nature* 9:32–36.
- Sugita P, A. Sjahriza, D. Wahyono. 2006b. Sintesis dan Optimalisasi Gel Kitosan-Alginat. *J. Sains dan Teknologi Indonesia* Vol. 8 (3): 133–137.
- Sugita P., Sjahriza A., Rachmanita. 2007a. Sintesis dan Optimalisasi Gel Kitosan-Karboksimetilselulosa. *Jurnal Alchemy* Vol. 6 (1): 57–62.
- Sugita P, A. Sjahriza, DW utomo. 2007b. Optimization Synthesis of Chitosan-Xanthan Gum Gel for Metal Ion Adsorption. *International Conference on Chemical Sciences : Innovation in Chemical Science for Better Life*, Presenter, Yogyakarta Indonesia, 24–25 Mei 2007.

- Sutriyo, Joshita D, Indah R. 2005. Perbandingan Pelepasan Propanolol Hidroklorida dari Matriks Kitosan, Etil Selulosa, dan Hidroksipropil Metil Selulosa. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2:145-153.
- Tarbojevich M, Cosani A. 1996. Molecular Weight Determination of Chitin and Chitosan. Di dalam Muzarelli RAA & Peter MG (Editor) 1997. *Chitin Handbook*. Grotammare: European Chitin Society 85-108.
- Wang T, Turhan M, Gunasekaram S. 2004. Selected Properties of pH-Sensitive, Biodegradable Chitosan-poly(vinyl alcohol) Hydrogel. Society of Chemical Industry. *Polym Int* 53: 911-918.
- Yamada T, Onishi H, Machida Y. 2001. In Vitro and In Vivo Evaluation of Sustained Release Chitosan-Coated Ketoprofen Micropartikel. *Yakugaku Zasshi* 121:239-245.