

Optimasi Konsentrasi Kitosan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida (*Optimization of Chitosan Concentration and Stirring Time on Preparation of Metformin Hydrochloride Microspheres*)

Tintia Lintang Pratiwi, Eka Deddy Irawan dan Lusia Oktora Ruma Kumala Sari
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: tintialintang@gmail.com

Abstract

Microspheres is multiple dosage unit controlled drug delivery system with the range of a particle size of 1-1000 μm . Chitosan was used as a polymer and metformin hydrochloride (MH) was used as a drug, and non-aqueous solvent evaporation was chosen for the techniques of microspheres preparation. MH is the first line for treatment of diabetes mellitus type 2. It has relatively low bioavailability and short half-life, therefore it is appropriate to be prepared as microspheres. Many factors affect the result of microspheres preparation, such as chitosan concentration and stirring time which used in preparation. Factorial design optimization used to determine the chitosan concentration and stirring time to produce MH-chitosan microspheres with the highest entrapment efficiency (EE). The result of microspheres preparation used 2250 mg of chitosan and 2 hours stirring time produced 81.191 % EE, and drug loading and yield of 22.673 and 89.602 %, respectively. The microspheres had spheres shape and a relatively smooth and bright surface morphology. The particle size was 653.333 μm . FT-IR analysis indicated that there were no changes in the functional groups on MH as an active ingredient.

Keywords: *metformin hydrochloride-chitosan microspheres, non-aqueous solvent evaporation, factorial design, chitosan concentration, time stirring*

Abstrak

*Microspheres merupakan sediaan multiple unit dalam sistem penghantaran obat terkendali dengan rentang ukuran partikel 1-1000 μm . Kitosan digunakan sebagai polimer dan metformin hidroklorida (MH) sebagai bahan obat, serta *non aqueous solvent evaporation* dipilih sebagai teknik preparasi *microspheres*. MH merupakan pilihan pertama pengobatan diabetes mellitus tipe 2 dengan bioavailabilitas relatif rendah dan waktu paruh yang pendek sehingga tepat dipreparasi menjadi *microspheres*. Banyak faktor yang mempengaruhi hasil preparasi *microspheres* di antaranya adalah konsentrasi kitosan dan lama pengadukan yang digunakan. Optimasi desain faktorial digunakan untuk menentukan konsentrasi kitosan dan lama pengadukan untuk menghasilkan *microspheres* MH-kitosan dengan *entrapment efficiency* (EE) tertinggi. Hasilnya *microspheres* yang menggunakan konsentrasi kitosan sebanyak 2250 mg dan lama pengadukan selama 2 jam menghasilkan EE sebesar 81,191 % dengan nilai *drug loading* dan *yield* masing-masing adalah 22,673 % dan 89,602 %. *Microspheres* memiliki bentuk mendekati sferis dan morfologi permukaan yang relatif halus dan cerah serta ukuran partikel sebesar 653,333 μm . Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa tidak ada perubahan gugus fungsi pada MH sebagai bahan aktif.*

Kata kunci: *microspheres metformin hidroklorida-kitosan, non-aqueous solvent evaporation, desain faktorial, konsentrasi kitosan, lama pengadukan*

Pendahuluan

Rute pemberian obat secara peroral lebih disukai dalam pemberian agen terapeutik karena memberikan kemudahan dan kenyamanan dalam penggunaan. Contoh bentuk sediaan oral adalah tablet dan kapsul dengan beberapa

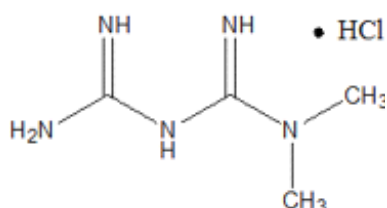
kelemahan seperti mengakibatkan fluktuasi obat dalam plasma [1], memiliki waktu paruh yang pendek sehingga cepat dieliminasi, dan membutuhkan pemberian obat secara berulang [2]. Masalah tersebut dapat diatasi dengan sistem pelepasan obat terkendali dengan keuntungan meningkatkan waktu paruh obat

yang pendek, mengurangi efek samping, mengurangi frekuensi pemberian obat, dan meningkatkan kepatuhan pasien [3].

Salah satu contoh sistem penghantaran obat terkendali adalah *microspheres*. *Microspheres* merupakan suatu partikel berbentuk padat mengandung bahan aktif yang tersebar didalamnya memiliki rentang ukuran 1-1000 μm [4]. Keuntungan *microspheres* memberikan absorpsi yang lebih seragam karena penyebaran yang lebih merata pada *gastrointestinal* [3], mengurangi iritasi yang terjadi, serta menghindari gangguan absorpsi karena adanya makanan [5].

Preparasi *microspheres* dapat dilakukan dengan menggunakan metode *solvent evaporation*. Metode ini paling banyak digunakan dalam preparasi *microspheres* karena mudah untuk diaplikasikan dan ekonomis [6]. Salah satu tipe dari metode *solvent evaporation* adalah *non-aqueous solvent evaporation*. Teknik ini digunakan untuk preparasi *microspheres* dengan bahan aktif yang larut dalam air [7]. Preparasi *microspheres* dengan teknik *non aqueous solvent evaporation* menggunakan metformin hidroklorida (MH) sebagai bahan aktif dan kitosan sebagai bahan polimer.

Rumus molekul MH adalah $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$ dengan struktur dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur MH mengandung gugus biguanida yang tersubstitusi dua gugus metil.

MH merupakan agen antidiabetes mellitus tipe 2 yang memiliki bioavailabilitas sebesar 50-60 % dan waktu paruh yang pendek yaitu 1,5-4,5 jam [8]. Bioavailabilitas dan waktu paruh MH yang rendah dapat diatasi dengan sistem penghantaran obat terkendali *microspheres* [9].

Kitosan merupakan polimer karbohidrat (polisakarida) yang dihasilkan dari deasetilasi kitin yang terdapat pada cangkang hewan *crustacea*, serangga dan beberapa jamur. Kitosan baik diaplikasikan dalam sediaan farmasi karena bersifat *biocompatible*, *biodegradable*, dan tidak toksik [9].

Salah satu faktor keberhasilan suatu preparasi *microspheres* adalah nilai *entrapment efficiency* (EE). Nilai EE menunjukkan seberapa besar bahan obat yang berhasil terjerap dalam partikel *microspheres*. Banyak faktor yang mempengaruhi nilai EE. Menurut penelitian yang

dilakukan oleh Garud & Garud [11] dan Rathod *et al.* [12] terdapat hubungan antara jumlah kitosan dan lama pengadukan yang digunakan terhadap nilai EE pada *microspheres* yang dihasilkan. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi kitosan dan lama pengadukan untuk memperoleh respon EE tertinggi.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian desain faktorial dua *level* dua faktor yang dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah MH sebagai bahan aktif (Zenith Pharmaceutical), kitosan sebagai polimer (Biotech Surindo), aseton sebagai fase internal (Smart Lab. Indonesia), *light paraffin liquid* (LPL) sebagai fase eksternal (Brataco Chemika), dan *petroleum ether* sebagai bahan pencuci (Brataco Chemika).

Preparasi *microspheres* dilakukan dengan cara mencampurkan MH dan kitosan ke dalam aseton. Campuran MH-kitosan dalam aseton dimasukkan dalam LPL kemudian dilakukan pengadukan dengan *four blades propeller* kecepatan 800 rpm suhu ruang. *Microspheres* yang terbentuk disaring menggunakan *vacuum filtration* dilengkapi kertas *Whatman* no 1. Serbuk *microspheres* yang terbentuk dicuci menggunakan *petroleum ether* suhu 50⁰C kemudian dikeringkan dalam oven suhu 70⁰C. Preparasi *microspheres* MH-kitosan untuk masing-masing formula dapat dilihat pada Tabel 1.

Masing-masing *microspheres* dari tiap formula yang terbentuk dilakukan pengujian EE sebagai respon dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS panjang gelombang 233 nm.

Tabel 1. Preparasi *microspheres* MH-kitosan

F	MH (mg)	Kitosa n (mg)	Aseton (ml)	LPL (ml)	Pengadukan (jam)
1	750	750	24	90	2
2	750	2250	24	90	2
3	750	750	24	90	4
4	750	2250	24	90	4

Sejumlah *microspheres* setara dengan 50 mg MH dibilas menggunakan akuades untuk menghilangkan obat bebas. *Microspheres* kemudian ditambahkan akuades hingga 100 ml untuk digerus dalam mortar dan disaring. Filtrat

dianalisis kemudian dilakukan perhitungan menurut Persamaan 1.

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

Nilai EE yang diperoleh tiap formula dimasukkan dalam *software design expert 9.0.4.1* versi *trial* untuk mendapatkan formula optimum. Berdasarkan data hasil pengujian akan didapatkan harga untuk masing-masing respon melengkapi Persamaan 2.

$$Y = b_0 + b_a X_A + b_b X_B + b_{ab} X_A X_B \dots (2)$$

Berdasarkan hasil pengolahan data dapat diketahui efek faktor serta interaksinya terhadap respon, kemudian dapat dibuat *contour plot* dan *overlay plot*. *Contour plot* dan *overlay plot* digunakan untuk mengetahui komposisi optimum kombinasi konsentrasi kitosan dan lama pengadukan yang menghasilkan nilai EE tertinggi.

Formula optimum *microspheres* yang dihasilkan berdasarkan pengujian menggunakan *software design expert 9.0.4.1* versi *trial* dilakukan karakterisasi yaitu *drug loading* (DL), *yield*, analisis *fourier transform infrared* (FT-IR), dan *scanning electron microscope* (SEM). Perhitungan DL dapat dilakukan menurut Persamaan 3.

$$DL(\%) = \frac{\% EE \times \text{berat bahan aktif sebenarnya}}{\text{berat microspheres yang didapat}} \times 100\% \dots (3)$$

Perhitungan *yield* dapat dilakukan menurut Persamaan 4.

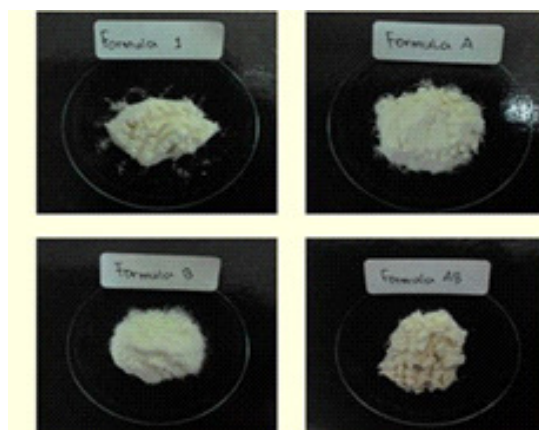
$$Yield(\%) = \frac{\text{berat microspheres yang didapat}}{\text{total berat obat dan polimer teoritis}} \times 100\% \dots (4)$$

Analisis FT-IR dilakukan dengan meletakkan sampel *microspheres*, MH dan kitosan masing-masing pada wadah sampel. Pemeriksaan gugus fungsi dilakukan pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} .

SEM dilakukan dengan meletakkan sejumlah *microspheres* pada bagian *glass stub* lalu ditempatkan di *scanning electron chamber*. *Scanning* dilakukan pada tegangan 20 kV, tekanan *chamber* 0,1 mmHg, dan perbesaran 800x.

Hasil Penelitian

Hasil pembuatan empat formula *microspheres* MH dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pembuatan empat formula *microspheres* MH-kitosan yaitu serbuk berwarna putih kekuningan.

Berdasarkan Gambar 2, *microspheres* MH yang dihasilkan memiliki bentuk yang hampir sama yaitu serbuk dengan warna putih kekuningan. Masing-masing formula kemudian dilakukan pengujian EE dan didapatkan hasil pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian EE tiap formula

F	Kitosan	Lama pengadukan	EE (%)
1	750 mg	2 jam	70,600± 1,401
2	2250 mg	2 jam	81,191± 0,543
3	750 mg	4 jam	42,191± 3,448
4	2250 mg	4 jam	66,241± 4,338

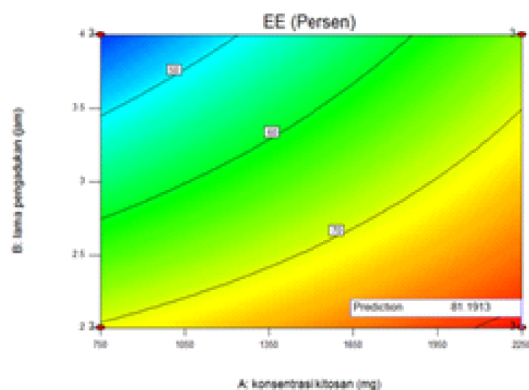
*data disajikan dalam rerata±SD(n=3)

Nilai EE dari masing-masing formula selanjutnya dimasukkan dalam *software design expert 9.0.4.1* versi *trial* sehingga didapatkan Persamaan 5.

$$EE = +65.05 + 8.67 \cdot A - 10.84 \cdot B + 3.37 \cdot AB \dots (5)$$

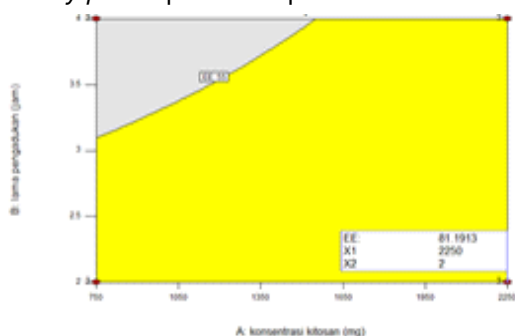
Berdasarkan Persamaan 5, maka konsentrasi kitosan paling berpengaruh terhadap peningkatan nilai EE, sedangkan lama pengadukan dapat menurunkan nilai EE. Selain persamaan diatas, *design expert* juga dapat memberikan *contour plot* dan *overlay plot*.

Contour plot menggambarkan efek konsentrasi kitosan dan lama pengadukan terhadap EE. Daerah yang berwarna biru menunjukkan nilai EE terendah sedangkan daerah berwarna merah menunjukkan nilai EE tertinggi. Semakin banyak jumlah kitosan dan semakin rendah lama pengadukan yang digunakan maka akan meningkatkan nilai EE. Gambar *countor plot* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Contour plot* konsentrasi kitosan dan lama pengadukan terhadap EE ditunjukkan dengan gradien warna. Warna biru memiliki nilai EE paling rendah warna merah yang memiliki nilai EE paling tinggi.

Overlay plot menunjukkan daerah optimum respon EE yang ditunjukkan oleh daerah warna abu-abu dan kuning. Respon EE di atas 50% didapatkan pada daerah berwarna kuning, sedangkan pada daerah berwarna abu-abu didapatkan respon EE di bawah 50%. Pada daerah warna kuning dapat dibuat flag di sembarang titik yang akan menampilkan jumlah kitosan dan lama pengadukan beserta respon yang dihasilkan pada titik tersebut. Gambar *overlay plot* dapat dilihat pada Gambar 4.

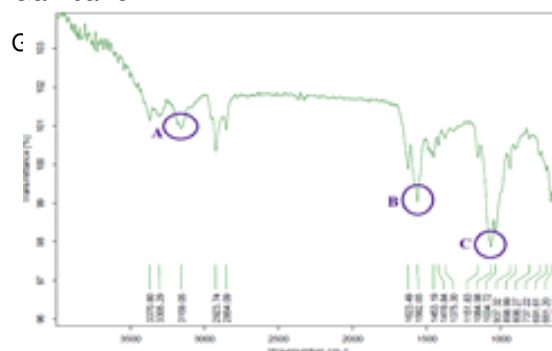


Gambar 4. *Overlay plot*, pada daerah berwarna abu-abu memiliki respon EE di bawah 50% dan daerah berwarna kuning memiliki respon EE di atas 50%. Respon EE tertinggi menggunakan kitosan sebanyak 2250 mg dengan lama pengadukan 2 jam.

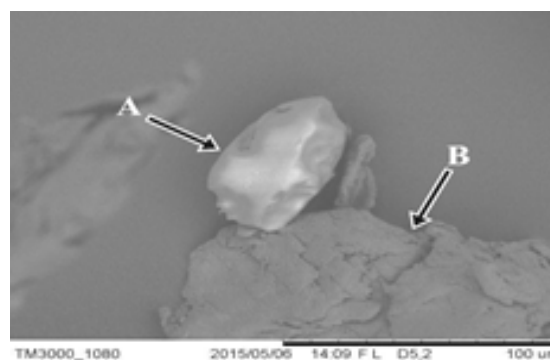
Karakterisasi dilakukan pada formula optimum terpilih yaitu menggunakan kitosan 2250 mg dan lama pengadukan 2 jam. Hasil karakterisasi formula optimum menunjukkan bahwa *microspheres* MH memiliki nilai DL dan *yield* masing-masing sebesar $22,673 \pm 0,523 \%$ dan $89,602 \pm 1,314 \%$.

Analisis FT-IR menunjukkan bahwa tidak ada perubahan gugus fungsi pada MH ditandai dengan adanya kesamaan puncak yang khas pada MH murni yaitu N-H pada panjang gelombang 3159 cm^{-1} , C-N pada panjang

gelombang 1064 cm^{-1} , dan N-H tekuk pada panjang gelombang 1562 cm^{-1} . Hasil analisis FT-IR *microspheres* ditampilkan dalam Gambar 5.



Hasil karakterisasi ukuran partikel dan morfologi *microspheres* MH-kitosan menggunakan SEM didapat rerata ukuran $653,333 \pm 3,055 \mu\text{m}$. Morfologi *microspheres* memiliki bentuk hampir sferis, permukaan yang relatif halus, dan berwarna cerah. Morfologi *microspheres* dapat dilihat pada Gambar 6 dengan menggunakan perbesaran 800x.



Gambar 6. Hasil analisis SEM dengan perbesaran 800x : (A) *microspheres*, (B) kitin.

Pembahasan

Hasil preparasi *microspheres* menggunakan *design expert* menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan serta interaksi antara konsentrasi kitosan dan lama pengadukan memberikan pengaruh meningkatkan nilai EE sedangkan lama pengadukan dapat menurunkan nilai EE. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi jumlah kitosan yang digunakan maka akan meningkatkan kemampuan kitosan untuk melingkupi MH, sehingga menghalangi MH berdifusi keluar ke dalam fase eksternal LPL [12,14]. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Premaletha *et al.* [13] bahwa peningkatan jumlah kitosan yang digunakan meningkatkan nilai EE.

Pengadukan yang terlalu lama dapat mengakibatkan penurunan terhadap EE. Hal ini disebabkan menurunnya ukuran partikel *microspheres* akan berpengaruh pada jumlah

obat yang berhasil dijerap oleh *microspheres*, sehingga berpengaruh menurunkan nilai EE [11]. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rathod *et al.* [11] bahwa peningkatan lama pengadukan yang dilakukan dapat menurunkan nilai EE.

Formula optimum yang terpilih menggunakan kitosan sebesar 2250 mg dan lama pengadukan 2 jam kemudian dilakukan karakterisasi. DL merupakan suatu karakterisasi *microspheres* yang menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan. Faktor yang mempengaruhi nilai DL adalah tipe viskositas dari polimer yang digunakan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Bansode *et al.* [15] bahwa peningkatan jumlah polimer yang digunakan dapat berpengaruh pada viskositas larutan sehingga dapat meningkatkan nilai EE dan *yield* tetapi dapat menurunkan nilai DL.

Karakterisasi *yield* digunakan untuk mengetahui seberapa efisien metode yang digunakan sehingga membantu menentukan metode pembuatan *microspheres* yang tepat. Nilai *yield* yang dihasilkan mendekati 100 % sehingga menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat menghasilkan jumlah yang maksimal. Kehilangan bahan yang terjadi pada saat proses penyaringan dapat mempengaruhi nilai *yield* [4].

Analisis FT-IR pada Gambar 5 menunjukkan tidak adanya perubahan gugus fungsi MH pada *microspheres* sehingga preparasi *microspheres* tidak mengganggu gugus farmakofor dari MH yaitu gugus biguanida. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maji *et al.* [12] bahwa preparasi *microspheres* MH menunjukkan tidak adanya interaksi yang terbentuk antara obat dan polimer.

Ukuran partikel *microspheres* yang terbentuk dipengaruhi oleh banyaknya kitosan yang digunakan. Semakin besar konsentrasi kitosan yang digunakan akan memperbesar ukuran partikel *microspheres* yang terbentuk. Morforologi *microspheres* menunjukkan bentuk hampir sferis. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Choudhury & Kar [16] bahwa *microspheres* memiliki bentuk sferis yang seragam pada tiap partikel yang dihasilkan. Perbedaan bentuk *microspheres* yang dihasilkan karena perbedaan penggunaan alat pengaduk. Pada penelitian ini menggunakan *four blades propeller*, sedangkan pada penelitian Choudhury & Kar [16] menggunakan *three blades propeller*. Perbedaan alat pengaduk ini dapat menyebabkan perbedaan terhadap bentuk *microspheres*.

Berdasarkan hasil karakterisasi tersebut maka preparasi *microspheres* dapat dikatakan berhasil. Namun keberhasilan suatu preparasi

microspheres juga perlu diikuti dengan pengujian bioavailabilitas *in vivo* dan *in vitro* untuk mengetahui keberhasilan *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat terkendali. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian mutu sediaan untuk mengetahui stabilitas sediaan *microspheres*.

Simpulan dan Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan dan lama pengadukan terbukti memiliki pengaruh yang besar pada nilai EE *microspheres* MH-kitosan yang dihasilkan. Kombinasi optimum antara konsentrasi kitosan dan lama pengadukan untuk memperoleh nilai EE optimal adalah 2250 mg dan 2 jam.

Penelitian yang perlu dikembangkan selanjutnya adalah pengujian disolusi, bioavailabilitas, dan stabilitas untuk mengetahui profil pelepasan, profil bioavailabilitas serta mutu sediaan *microspheres*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Zenith Pharmaceutical, Semarang, Indonesia yang telah memberikan bantuan bahan aktif yaitu metformin hidroklorida pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Yadav A, Jain DK. Formulation and evaluation of gastroretentive floating microballoons of anti diabetic drug. *Asian J Pharm Life Sci.* 2011;1(2):101– 12.
- [2] Ami M, Hejal P, Yogi P. Advancements in controlled release gastroretentive drug delivery system: a review. *J Drug Deliv Ther.* 2012;2(3):12–21.
- [3] Narang N. An updated review on: floating drug delivery system (FDDS). *Int J App Pharm.* 2011; 3 (1): 7.
- [4] Sappidi S, Thadkala K, Kota J, Aukunuru J. Preparatio an characterization of ethyl cellulose microspheres encapsulating metformin hydrochloride and glipizide. *Sch Res Lib.* 2014;6(4):213–26.
- [5] Patel A, Ray S, Thakur RAMS. In vitro evaluation and optimization of controlled release floating drug delivery system of metformin

- hydrochloride Daru. 2006; 14(2):57–64.
- [6] Naik JB, Lokhande AB, Mishra S, Kulkarni RD. Development of sustained release micro / nano particles using different solven emulsification techniques: a review. *Int J Pharma Bio Scie.* 2012;3(4):573–90.
- [7] Herrmann J, Bodmeier R. Biodegradable, somatostatin acetate containing microspheres prepared by various aqueous and non-aqueous solvent evaporation methods. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft für Pharm Verfahrenstechnik eV* [Internet]. 1998 Jan;45(1):75–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9689538>
- [8] Pandit V, Pai RS, Yadav V, Devi K, Surekha BB, Inamdar MN, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of floating microspheres of metformin hydrochloride. *Drug Dev Ind Pharm* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Nov 18];39(1):117–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22372865>
- [9] Semalty A. Preparation and evaluation of chitosan microsphere of metformin hydrochloride and to study the effect o drug to polymer ratio. *Int J Pharm. Chem Sci.* 2014;3(2):316–20.
- [10] Garud N, Garud A. Preparation and in-vitro evaluation of metforin microspheres using non-aqueous solvent. *Top J Pharm Res August.* 2012;11(May):577–83.
- [11] Rathod UC, Patel AK, Shah D. Statistical evaluation and optimization of influence of stirring speed and polymer concentration on hollow microspheres of diltiazem HCl. *Sch Res Lib.* 2012;4(3):972–8.
- [12] Maji R, Ray S, Das B, Nayak AK. HCL by emulsification-solvent evaporation technique: Effect of Formulation Variables. *Int Sch Res Net.* 2012;2012.
- [13] Premaletha K, Licy CD, Jose S, Saraladevi A, Shirwaikar A, Shirwaikar A. Formulation , characterization and optimization of hepatitis B surface antigen (HBsAg)-loaded chitosan microspheres for oral delivery. *Pharm Dev Tech.* 2012;17(April 2010):251–8.
- [14] Ramachandran S, Nandhakumar S. Formulation and characterization of glutaraldehyde cross-linked chitosan biodegradable microspheres loaded with famotidine. *Trop J Pharm Res.* 2011;10(September 2010):309–16.
- [15] Bansode SD, Kasture VS, Pawar SS, Kasture SB. formulation and evaluation of telmisartan microspheres by emulsion solvent evaporation technique. *J App Pharm Sci.* 2012;2(10):113–6.
- [16] Choudhury, P. K., & Kar, M. Controlled release metformin hydrochloride microspheres of ethyl cellulose prepared by different methods and study on the polymer affected parameters. *J. Microenc.,*2009.26(1), 46–53.