

NASKAH PUBLIKASI

**FORMULASI HIDROGEL HESPERIDIN MENGGUNAKAN
KOMBINASI POLIMER PEKTIN-KITOSAN**



Oleh:

DEA THENDRIANI

NIM. I21111008

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2016

NASKAH PUBLIKASI

**FORMULASI HIDROGEL HESPERIDIN MENGGUNAKAN
KOMBINASI POLIMER PEKTIN-KITOSAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
(S. Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura Pontianak**



Oleh

DEA THENDRIANI

NIM. I21111008

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2016

FORMULASI HIDROGEL HESPERIDIN MENGGUNAKAN KOMBINASI POLIMER PEKTIN-KITOSAN

Dea Thendriani¹, Hafrizal Riza¹, Andhi Fahrurroji¹,

¹Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura,

Email: *Dthendriani@gmail.com*

ABSTRAK

Hesperidin merupakan glikosida flavanon yang terbukti memiliki aktivitas terapeutik terhadap berbagai penyakit, salah satunya penyakit kolon; akan tetapi, kelarutannya yang kecil (<100 mg/L) menjadikan absorpsinya rendah dalam tubuh sehingga diperlukan sistem penghantaran yang dapat menghantarkan hesperidin menuju target terapi. Hidrogel merupakan salah satu sistem penghantaran yang dikembangkan dalam beberapa dekade terakhir ini karena sensitivitasnya terhadap perubahan lingkungan, seperti pH, enzim, dan bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh formula optimum dari hidrogel dengan kombinasi polimer pektin-kitosan yang dapat mengontrol pelepasan hesperidin secara *in vitro*. Penentuan formula optimum hidrogel menggunakan Design Expert 7.0.0 Trial dengan metode desain faktorial, menghasilkan rancangan formula dengan perbandingan konsentrasi pektin:kitosan berturut-turut: (P3% : C1%), (P3% : C2%), (P5% : C1%), (P5% : C2%). Hasil observasi menunjukkan bahwa formula optimum dengan perbandingan konsentrasi pektin : kitosan (5% : 1%) memiliki efisiensi penjeratan sebesar 96,658%; k(/jam) indeks pengembangan pada pH 5,0, 6,8, dan 7,4 sebesar 34,917, 15,766, dan 8,146; pelepasan obat pada pH 5,0, 6,8, dan medium kandungan sekum tikus 2% sebesar 0,461, 20,116, dan 52,955%; serta kekuatan mukoadhesif sebesar 0,184 N/cm². Berdasarkan analisis menggunakan program SPSS 22 *trial*, diketahui bahwa formula optimum memiliki nilai respon yang tidak berbeda bermakna antara hasil observasi dan nilai prediksi ($p > 0,05$).

Kata Kunci : hesperidin, hidrogel, kitosan, kolon, pektin

FORMULATION OF HESPERIDIN HYDROGEL USING PECTIN-CHITOSAN POLYMER COMBINATION

Dea Thendriani¹, Hafrizal Riza¹, Andhi Fahrurroji¹,

¹Pharmacy Department, Faculty of Medicine, Tanjungpura University,

Email: *Dthendriani@gmail.com*

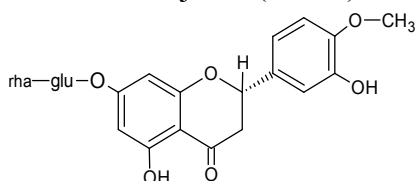
ABSTRACT

Flavanones hesperidin are glycosides shown to have therapeutic activity against several diseases, one of them is colonic disease. However, its small solubility (<100 mg/L) make a low absorption in the body, therefore, the delivery system that can conduct hesperidin toward therapeutic targets is needed. Hydrogel is a drug delivery system developed in the last few decades because of their sensitivity to environmental changes, such as pH, enzymes, and bacteria. This study purpose is to obtain optimum hydrogel formulation using combination of pectin-chitosan polymers that can control *in vitro* hesperidin release. Optimum hydrogel formula is determined using factorial design method in Design Expert 7.00 *Trial*, and resulting in formulas with concentration ratio of pectin : chitosan respectively: (P3%:C1%), (P3%:C2%), (P5%:C1%), (P5%:C2%). The observation results presented optimum formula with concentration ratio of pectin : chitosan (5% : 1%) with response to the entrapment efficiency 96.658%; k(/hour) swelling index in pH 5.0. 6.8. and 7.4 respectively 34.917, 15.766, and 8.146; drug release in pH 5.0, 6.8, and rat cecal medium 2% respectively 0.461, 20.116, and 52.955%; and the strength of mucoadhesive 0.184 N/cm². Based on *SPSS 20 trial* analysis, it's known that the optimum formula has response value with no significant difference between observation results and design predictions ($p > 0.05$).

Key Words: hesperidin, hydrogel, chitosan, colon, pectin

1. Pendahuluan

Hesperidin merupakan glikosida flavanon yang diisolasi dari tanaman jeruk (*Citrus*)¹.



Gambar 1. Struktur Hesperidin¹

Hesperidin telah terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antihemoroid, dan antikanker sehingga dapat digunakan dalam terapi beberapa penyakit kolon seperti hemoroid, insufisiensi vena kronis, kanker kolon, dan kolitis ulseratif^{1,2,3,4,5}, akan tetapi, hesperidin memiliki

kelarutan yang rendah pada saluran cerna (<100 mg/L) dan bioavailabilitas yang rendah ($<25\%$)^{1,6}. Oleh karenanya, suatu sistem penghantaran diperlukan untuk dapat meningkatkan bioavailabilitas dan efektivitas terapi dari hesperidin, salah satunya hidrogel.

Pektin merupakan salah satu polimer penyusun hidrogel yang sering digunakan untuk penghantaran obat ke kolon. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pelepasan ibuprofen dari hidrogel berbahan pektin berkurang seiring dengan menurunnya pH medium disolusi yang digunakan, mengindikasikan adanya pelepasan obat yang terkontrol berdasarkan pH⁷. Penelitian lain menunjukkan bahwa *beads* hidrogel pektin-*zein* dapat melindungi indometasin dari kondisi saluran pencernaan atas dan pelepasannya dikontrol berdasarkan degradasi pektin oleh pektinase; akan tetapi, kelarutan pektin yang tinggi di dalam air menyebabkan dibutuhkan polimer lain, yang kelarutannya dalam air lebih rendah, untuk menghasilkan gel yang lebih kuat dan efektif dalam membawa obat yang terjerat melewati cairan lambung dan usus halus^{8,9}. Salah satu polimer yang dapat digunakan untuk mengatasi hal ini adalah kitosan di mana gugus karboksilat dari pektin dapat berikatan secara ionik dengan gugus amin kitosan¹⁰. Studi tentang peran kitosan sebagai

penyalut dalam memodifikasi pelepasan obat telah dilakukan terhadap hidrogel pektin amida¹¹; yang menyebutkan bahwa pelepasan obat, baik obat larut dalam air maupun obat tidak larut dalam air, dalam simulasi kondisi usus berkurang secara signifikan dibandingkan dengan hidrogel pektin tanpa penyalut kitosan. Penelitian lain menyatakan bahwa hidrogel yang diformulasikan dari kombinasi pektin-kitosan terbukti mampu mengurangi pelepasan vankomisin dalam kondisi asam, dan melepaskan obat dengan cepat dalam kondisi kolon¹². Maka dari itu, akan diformulasikan hesperidin ke dalam bentuk hidrogel dengan menggunakan kombinasi polimer pektin-kitosan.

2. Alat dan Bahan

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu tipe 2450[®]), timbangan digital (Precisa tipe XB 4200C[®] dan BEL tipe M254Ai[®]), *hot plate* (Schott tipe D-55122[®]), pH meter digital (HANNA tipe H198107), mikropipet (Scorex Acura Manual Model 815.0010Y), sonikator, dan pengaduk magnetik (Schott model D-55122 Mainz).

2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain hesperidin, (Sigma Aldrich, *Batch*

Number: SLBJ1579V), kitosan (Biotech Surindo, *Batch Number*: 10A0215.F.HM.CHC), pektin, asam asetat (Merck), natrium asetat (Merck), natrium hidroksida, natrium dihidrogen fosfat, dinatrium hidrogen fosfat, *zinc acetate*, dan akuades.

3. Metode

3.1 Pembuatan Hidrogel

Larutan pektin dipersiapkan dengan cara melarutkan pektin dengan akuades bebas CO₂ dengan melakukan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik (kecepatan 300 rpm selama 15 menit) pada suhu kamar (25°C). Larutan kitosan dipersiapkan dengan mencampurkan sejumlah kitosan ke dalam larutan asam asetat 2% (b/v), setelah itu dilakukan pengadukan dengan kecepatan 300 rpm hingga kitosan terlarut sepenuhnya. Larutan *zinc acetate* dipersiapkan dengan

melarutkan sejumlah *zinc acetate* ke dalam akuades bebas CO₂. Selanjutnya, ditambahkan larutan *zinc acetate* ke dalam larutan kitosan dan diaduk dengan pengaduk magnetik hingga keduanya tercampur. Hidrogel dibuat dengan terlebih dahulu mendispersikan hesperidin ke dalam larutan pektin sambil terus diaduk hingga homogen. Larutan hesperidin-pektin kemudian ditetaskan perlahan ke dalam campuran kitosan-*zinc acetate* menggunakan *hypodermic syringe* 10 mL, dan diaduk dengan pengaduk magnetik pada kecepatan 300 rpm sampai terbentuk *beads* hidrogel. Hidrogel tersebut kemudian dicuci dengan akuades bebas CO₂ dan dikeringkan pada suhu kamar selama 48 jam¹³. Hidrogel yang telah kering selanjutnya dievaluasi. Desain formula hidrogel dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Desain Formula Hidrogel Hesperidin

No.	Komposisi	F1	F2	F3	F4
1.	Hesperidin (mg)	50	50	50	50
2.	Pektin (%)	3	3	5	5
3.	Kitosan (%)	1	2	1	2
4.	<i>Zinc acetate</i> (%)	2	2	2	2

Ket: Volume larutan pektin, larutan kitosan, dan larutan *zinc acetate* yang digunakan dalam setiap formula adalah 10 ml. Volume total tiap formula adalah 30 mL.

3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Hesperidin

Penentuan panjang gelombang maksimum hesperidin dilakukan dalam larutan dapar pH 7,4. Hesperidin ditimbang seksama sebanyak 5,0 mg, dan dilarutkan ke dalam dapar pH 7,4 hingga

diperoleh larutan baku konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, dibuat larutan uji dari larutan baku dengan konsentrasi 16 ppm. Larutan uji dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm¹⁴.

3.3 Pembuatan Kurva Baku

Hesperidin

Kurva baku hesperidin dibuat dalam dapar pH 5,0, dapar pH 6,8, dapar pH 7,4 (untuk uji pelepasan obat), dan dalam NaOH 0,2 M (untuk uji efisiensi penjeratan) sebagaimana dipaparkan dalam tabel 2. Selanjutnya, seri konsentrasi larutan tersebut dianalisis

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum hesperidin. Proses pembuatan seri konsentrasi larutan untuk kurva baku dilakukan repetisi 6 kali yang dilakukan dari larutan baku yang tersedia. Persamaan yang paling baik digunakan untuk menghitung kadar obat dalam uji pelepasan obat secara *in vitro*¹⁵.

Tabel 2. Pembuatan Kurva Baku pada Medium Dapar pH 5,0, Dapar pH 6,8, Dapar pH 7,4, dan NaOH 0,2 M

Jenis Medium	Jumlah Hesperidin (mg)	Konsentrasi Larutan Baku (ppm)	Seri Konsentrasi Pengenceran (ppm)
Dapar Asetat pH 5,0	10,0	100	4,10,16,22,28
Dapar fosfat pH 6,8	10,0	100	4,10,16,22,28
Dapar fosfat pH 7,4	5,0	100	8,12,16,20,24,28
NaOH 0,2 M	50,0	500	12,16,22,28,34,40

3.4 Uji Efisiensi Penjeratan

Sejumlah hidrogel kering yang ekuivalen dengan kurang lebih 50 mg hesperidin ditempatkan dalam NaOH 0,2 M dan dibiarkan selama 24 jam. Larutan disaring menggunakan kertas saring, dan filtrat hasil penyaringan dianalisis kandungan hesperidinnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum hesperidin. Hasil yang diperoleh menunjukkan jumlah hesperidin yang terjerat dalam matriks hidrogel. Efisiensi penjeratan ditentukan menurut persamaan (1)¹⁶.

$$E(\%) = \frac{\text{jumlah obat yang diperoleh}}{\text{jumlah obat total}} \times 100\% \dots (1)$$

3.5 Uji Daya Pengembangan

Uji daya pengembangan dilakukan dengan menyiapkan hidrogel dari tiap formulasi, dan

larutan dapar pH 5,0, dapar pH 6,8, dan dapar pH 7,4. Kemudian hidrogel ditimbang masing-masing sebanyak $\pm 5,0$ mg, dan ditempatkan dalam larutan dapar. Sampel dikeluarkan dari larutan dapar pada interval waktu yang telah ditetapkan dan ditimbang bobot hidrogel basah. Indeks pengembangan hidrogel ditentukan berdasarkan persamaan (2)^{17,18}.

$$IP(\%) = \left(\frac{W_s - W_d}{W_d} \right) \times 100\% \dots (2)$$

Keterangan :

Ws : Bobot hidrogel yang mengembang

Wd : Bobot hidrogel kering

IP : Indeks Pengembangan

3.6 Uji Pelepasan Obat secara *In Vitro*

Uji pelepasan hesperidin secara *in vitro* dilakukan menggunakan alat disolusi tipe keranjang (*basket*). Disolusi dilakukan dalam medium dapar pH 5,0, dapar pH 6,8, dan

medium kandungan sekum tikus 2%. Volume medium yang digunakan sebanyak 900 mL untuk dapar pH 5,0, dan dapar pH 6,8; dan 100 mL untuk medium kandungan sekum tikus 2%. Uji pelepasan hesperidin secara *in vitro* dilakukan pada suhu $37 \pm 0,5$ °C dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Waktu pelepasan obat pada medium dapar pH 5,0 diamati selama 4 jam, dapar pH 6,8 selama 5 jam, dan medium kandungan sekum tikus 2% selama 5 jam. Pengambilan sampel sebanyak 3 mL dilakukan pada menit ke 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, dan 300, di mana jumlah cairan yang terambil segera diganti oleh sejumlah cairan dari larutan medium yang sama pada interval waktu tertentu. Sampel kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 283,4 nm. Hasil uji pelepasan obat dimasukkan ke dalam orde nol, satu, dan Higuchi untuk melihat kinetika pelepasan obat, serta persamaan Korsmeyer-Peppas untuk melihat mekanisme pelepasan obat. Persamaan Korsmeyer-Peppas ditunjukkan pada persamaan (3)¹⁹.

$$\text{Log \%R} = \log K + n \log t \dots\dots\dots(3)$$

Keterangan :

R : jumlah obat yang dilepaskan dalam setiap t

K : konstanta laju pelepasan

n : pangkat waktu (menunjukkan mekanisme pelepasan obat)

3.7 Uji Kekuatan Mukoadhesif

Kekuatan mukoadhesif dari hidrogel diukur berdasarkan konsep

kesetimbangan fisika. Alat yang digunakan terdiri dari neraca lengan sama di mana ditempatkan beker besar berisi larutan dapar pH 7,4 pada bawah piringan kiri neraca. Mukosa kolon sapi yang masih segar digunakan sebagai membran dan diikat pada beban menggunakan benang. Beban tersebut kemudian diletakkan dalam beker besar berisi larutan dapar pH 7,4 hingga cairan mencapai bagian permukaan atas mukosa. Hidrogel dilekatkan pada bagian bawah piringan kiri neraca dan kemudian piringan diturunkan perlahan hingga terjadi kontak antara mukosa kolon sapi dengan hidrogel. Sebuah wadah plastik ditempatkan di piringan kanan neraca dan ditambahkan air menggunakan buret dengan kecepatan tetesan 100 tetes/menit. Penambahan air dihentikan ketika hidrogel lepas dari mukosa kolon sapi. Berat air yang diperlukan untuk melepaskan hidrogel dari mukosa kolon sapi dihitung sebagai kekuatan mukoadhesif dalam gram, dan dengan persamaan (4) dan (5) dapat diketahui kekuatan mukoadhesif hidrogel²⁰.

$$\text{Daya Adhesi(N)} = \frac{\text{Kekuatan Mukoadhesif (g)}}{1000} \times 9,81 \dots\dots(4)$$

$$K \text{ Mukoadhesif (N/cm}^2\text{)} = \frac{\text{Daya Adhesi (N)}}{A \text{ (cm}^2\text{)}} \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan: K=Kekuatan, A=Luas Permukaan

3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Design Expert 7.0.0 trial* untuk memprediksi formula optimum. Analisis kemudian dilanjutkan dengan menggunakan

program SPSS 20 *trial* untuk melihat kenormalan dan homogenitas data, serta signifikansi antara nilai teoritis dan observasi.

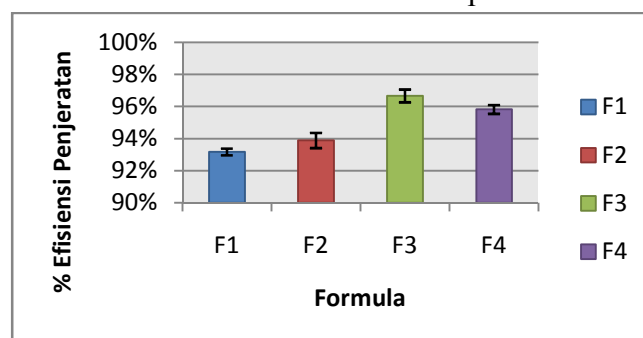
4. Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan panjang gelombang maksimum 283,4 nm untuk hesperidin. Data panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk membuat kurva baku dalam berbagai medium dan konsentrasi sehingga diperoleh persamaan yang akan digunakan untuk menghitung jumlah obat yang

dilepaskan setiap satuan waktu tertentu dalam uji pelepasan obat.

4.1 Uji Efisiensi Penjeratan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi pektin berdampak pada peningkatan EP, di mana formula 3 dan 4 diketahui memiliki EP tertinggi sedangkan formula 1 memiliki EP terendah. Perbandingan keempatnya terlihat seperti yang ditampilkan pada gambar 2. Hal ini dikarenakan pektin memiliki kemampuan pembentukan gel yang cepat dan viskositas yang tinggi sehingga mengakibatkan matriks hidrogel yang terbentuk lebih kuat dan menghasilkan penjeratan yang optimum^{21,22,23,24}.



Gambar 2. Hasil Pengujian Efisiensi Penjeratan dalam NaOH 0,2 M

4.2 Uji Daya Pengembangan

Uji daya pengembangan bertujuan untuk mengetahui waktu pengembangan yang berkaitan dengan kemampuan hidrogel untuk meregulasi pelepasan obat dari dalam matriks polimernya. Pengujian yang dilakukan memperlihatkan karakter pengembangan hidrogel dalam medium dapar pH 5,0, 6,8, dan 7,4, di mana lama

pengembangan berkorelasi positif dengan kemampuan pengembangan hidrogel, semakin lama waktu pengembangan akan meningkatkan persen pengembangan.

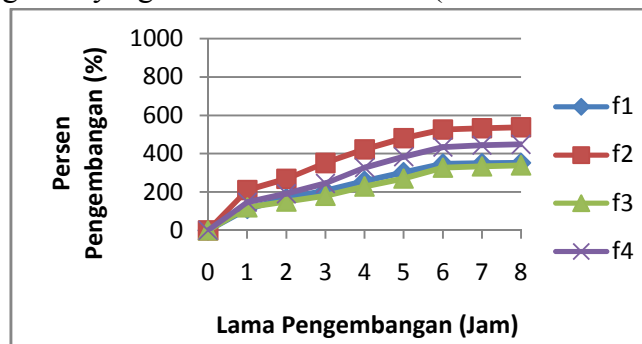
4.2.1 Uji Daya Pengembangan dalam Dapar Asetat pH 5,0

Hasil pengujian menunjukkan bahwa dalam pH 5,0 hidrogel mengembang secara perlahan apabila dibandingkan dalam pH 6,8, dan 7,4

(Gambar 3), dari grafik tersebut dapat pula dilihat bahwa persen pengembangan terbesar dalam pH 5,0 dimiliki oleh formula 2, kemudian disusul oleh formula 4, di mana konsentrasi kitosan yang digunakan dalam kedua formula (formula 2 dan formula 4) adalah konsentrasi kitosan level tinggi (2%).

Hal tersebut menunjukkan bahwa pada pH 5,0 konsentrasi kitosan berpengaruh pada persen pengembangan yang dihasilkan.

Kitosan dengan pKa yang berkisar antara 6,3-6,5 mudah larut pada pH rendah, di mana pada pH tersebut umumnya akan terjadi protonasi gugus amin primer (NH_3^+) pada kitosan, sedangkan pektin tak terionkan, sehingga terjadinya gaya tolak-menolak di dalam rangka kitosan yang menyebabkan pengembangan terjadi secara signifikan pada formula dengan konsentrasi kitosan yang tinggi (formula 2 dan 4)²⁵.

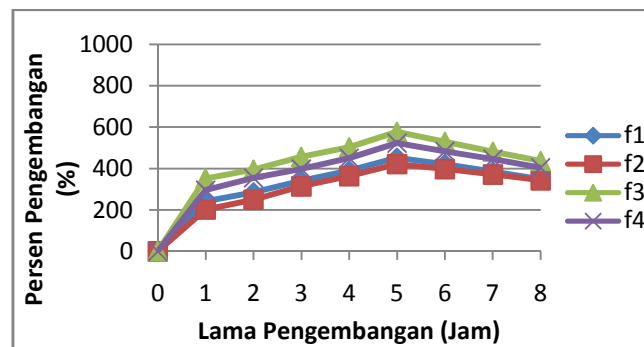


Gambar 3. Hasil Uji Pengembangan dalam Dapar Asetat pH 5,0

4.2.2 Uji Daya Pengembangan dalam Dapar Fosfat pH 6,8

Grafik persen pengembangan hidrogel pada pH 6,8 menunjukkan peningkatan persen pengembangan yang lebih besar daripada persen pengembangan pada pH 5,0 untuk setiap formula, dengan persen pengembangan tertinggi dihasilkan oleh formula 3, dan terendah oleh formula 2 (Gambar 4). Pektin yang bersifat asam lemah (pKa 3-4) dengan gugus karboksilat ($-\text{COO}^-$) cenderung terionisasi pada pH yang lebih tinggi. Peristiwa ini menyebabkan adanya gaya tolak-menolak antara gugus karboksilat

pada pektin sehingga memperbesar daya pengembangan hidrogel¹⁰. Persen pengembangan terbesar dicapai dalam medium pH 6,8 setelah 5 jam pengembangan; pada jam ke-6, persen pengembangan mulai berkurang dan berkurang seterusnya hingga jam ke-8. Grafik juga menunjukkan peningkatan persen pengembangan yang lebih besar pada formula dengan konsentrasi pektin yang lebih tinggi, di mana persen pengembangan tertinggi dihasilkan oleh formula 3 dan formula 4, dan terendah oleh formula 2.

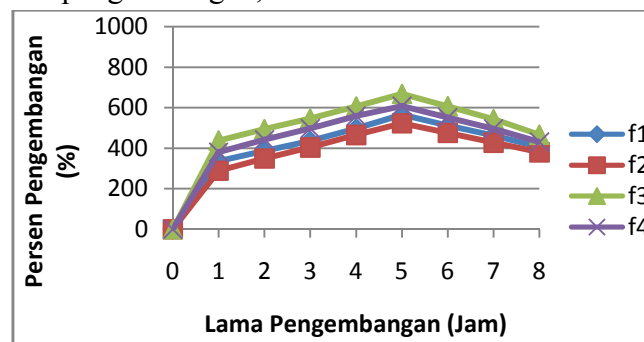


Gambar 4. Hasil Uji Pengembangan dalam Dapar Fosfat pH 6,8

4.2.3 Uji Daya Pengembangan dalam Dapar Fosfat pH 7,4

Persen pengembangan yang lebih besar daripada persen pengembangan pada pH 5,0 dan 6,8 dihasilkan pada medium pH 7,4, di mana terjadi peningkatan persen pengembangan seiring dengan lamanya waktu pengembangan, nilai

maksimum dicapai pada jam ke-5, kemudian berkurang dan seterusnya hingga jam ke-8 (Gambar 5). Grafik tersebut menunjukkan hasil persen pengembangan tertinggi diperoleh dari formula dengan konsentrasi pektin yang tinggi, yaitu formula 3 dan 4, dan terendah dari formula 2.



Gambar 5. Hasil Uji Pengembangan dalam Dapar Fosfat pH 7,4

Persen pengembangan hidrogel yang berkurang (setelah memasuki jam ke-6) dalam medium pH 6,8 dan 7,4 berkaitan dengan adanya erosi pada matriks hidrogel. Erosi ini terjadi karena pengembangan yang besar dari matriks hidrogel membuat jaringan matriks menjadi lebih longgar, dan semakin lama pori-pori pun terbentuk di permukaan matriks menyebabkan

semakin banyak cairan yang masuk ke dalam hidrogel. Ketika pengembangan maksimum, terdapat kemungkinan obat keluar sementara matriks tererosi perlahan. Oleh karena itu, pada jam ke-6, 7, dan ke-8 persen pengembangan dalam medium pH 6,8 dan 7,4 terus berkurang^{10,26}.

4.3 Uji Pelepasan Obat secara *In Vitro*

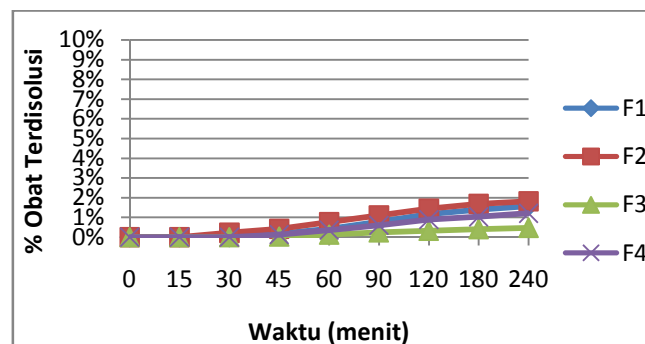
Pengujian pelepasan obat dilakukan dalam tiga kondisi, yaitu pH 5,0 yang menggambarkan kondisi lambung setelah makan, pH 6,8 yang menggambarkan kondisi usus setelah makan, dan dalam medium kandungan sekum yang dianggap menggambarkan kondisi kolon.

4.3.1 Pelepasan Obat pada pH 5,0

Pengujian dalam medium pH 5,0 menunjukkan terjadinya pelepasan obat kurang dari 2% pada tiap formula dalam waktu 4

jam pengujian, bahkan dalam waktu 1 jam pertama hanya diperoleh $\leq 1\%$ pelepasan obat untuk tiap formula. Pelepasan paling tinggi terjadi pada formula 2 dengan pelepasan mencapai 1,814% selama 4 jam pengujian.

Pelepasan obat yang rendah pada pH rendah ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya yaitu bahwa kombinasi pektin-kitosan dapat mengurangi pelepasan obat dalam kondisi asam^{9,10,12}. Grafik pelepasan obat pada pH 5,0 ditunjukkan pada gambar 6.



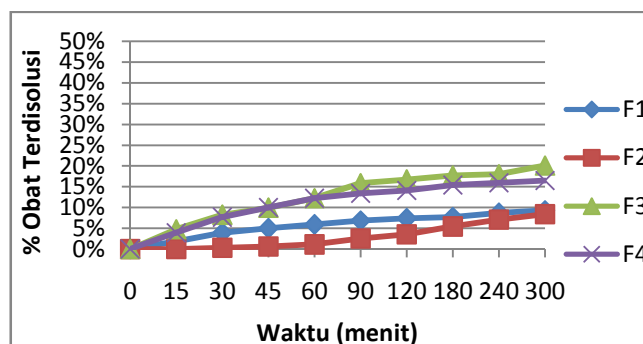
Gambar 6. Grafik Pelepasan Obat pada pH 5,0

4.3.2 Pelepasan Obat pada pH 6,8

Pengujian dalam medium pH 6,8 memperlihatkan laju pelepasan yang berbeda. Pelepasan paling tinggi terjadi pada formula 3 dengan pelepasan mencapai 20,11%, sedangkan yang terendah adalah formula 1, yakni 8,37% selama 5 jam pengujian.

Persen pelepasan obat yang cukup besar dalam medium pH 6,8

ini dapat terjadi karena selain mengalami pengembangan, setelah 6 jam hidrogel juga mengalami erosi^{10,26}, sebagaimana ditunjukkan oleh hasil pengujian sebelumnya yaitu persen pengembangan yang berkurang setelah memasuki jam ke-6. Grafik pelepasan obat pada pH 6,8 ditunjukkan pada gambar 7.

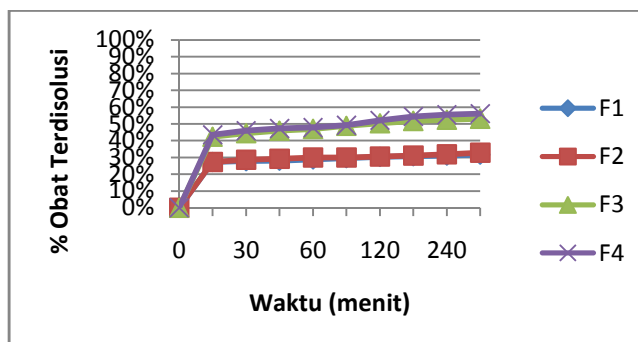


Gambar 7. Grafik Pelepasan Obat pada pH 6,8

4.3.3 Pelepasan Obat pada Medium Kandungan Sekum Tikus 2%

Pengujian pada medium kandungan sekum tikus 2% menunjukkan peningkatan laju pelepasan obat jika dibandingkan dengan kedua medium lainnya, di mana persen pelepasan obat

berkisar antara 27-56% dalam 5 jam pengujian. Berdasarkan grafik pada gambar 8, diketahui persen pelepasan obat terbesar dihasilkan oleh formula 3 dan 4 yaitu sebesar 53% dan 56% setelah 5 jam pengujian. Formula 3 dan 4 merupakan formula dengan konsentrasi pektin terbesar.



Gambar 8. Grafik Pelepasan Obat pada Medium Kandungan Sekum Tikus 2%

Peningkatan persen pelepasan obat dalam medium kandungan sekum tikus ini jika dibandingkan dengan kedua medium lainnya sesuai dengan studi yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya^{27,28}. Studi menunjukkan bahwa enzim pektinolitik atau pektinase dalam medium kandungan sekum tikus mendegradasi pektin pada matriks

hidrogel dan memecahkan rantai polimernya, menyebabkan terbentuknya lebih banyak pori-pori pada permukaan matriks dan menjadikan matriks hidrogel lebih permeabel untuk keluarnya hesperidin^{10,20}. Hasil pengujian terhadap pelepasan obat selanjutnya dipergunakan untuk mengamati profil kinetika pelepasan obat

terhadap waktu pada medium pH 5,0, pH 6,8, dan medium kandungan sekum tikus 2%. Hasil

perhitungan parameter pelepasan obat tersebut dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Parameter Pelepasan Hesperidin dari Hidrogel ($n_a=3$, $X_r \pm SD$)

pH 5						
Formula	Orde Nol		Orde Satu		Higuchi	
	k(menit ⁻¹)	r ²	k(menit ⁻¹)	r ²	k(menit ⁻¹)	r ²
F1	0,007±0,00	0,885±0,00	0,010±0,00	0,700±0,09	0,161±0,01	0,940±0,01
F2	0,008±0,00	0,881±0,03	0,009±0,00	0,709±0,06	0,167±0,02	0,949±0,02
F3	0,002±0,00	0,895±0,03	0,012±0,00	0,634±0,12	0,048±0,02	0,945±0,01
F4	0,005±0,00	0,890±0,01	0,011±0,00	0,653±0,10	0,121±0,00	0,944±0,01
pH 6,8						
Formula	Orde Nol		Orde Satu		Higuchi	
	k(menit ⁻¹)	r ²	k(menit ⁻¹)	r ²	k(menit ⁻¹)	r ²
F1	0,021±0,00	0,768±0,06	0,004±0,00	0,583±0,04	0,494±0,05	0,876±0,03
F2	0,031±0,00	0,982±0,01	0,011±0,00	0,813±0,06	0,711±0,10	0,984±0,01
F3	0,046±0,00	0,771±0,02	0,004±0,00	0,637±0,02	1,064±0,04	0,889±0,01
F4	0,035±0,00	0,700±0,04	0,035±0,00	0,700±0,04	0,837±0,07	0,836±0,03
Medium Kandungan Sekum Tikus 2%						
Formula	Orde Nol		Orde Satu		Higuchi	
	k(menit ⁻¹)	r ²	k(menit ⁻¹)	r ²	k(menit ⁻¹)	r ²
F1	0,015±0,00	0,892±0,01	0,001±0,00	0,881±0,01	0,337±0,04	0,961±0,00
F2	0,016±0,00	0,892±0,01	0,001±0,00	0,877±0,00	0,358±0,03	0,944±0,02
F3	0,035±0,00	0,847±0,00	0,001±0,00	0,828±0,00	0,789±0,00	0,946±0,00
F4	0,043±0,00	0,910±0,01	0,001±0,00	0,894±0,01	0,959±0,04	0,974±0,00

Keterangan : n_a =jumlah data, X_r = rata-rata, SD=standar deviasi, konstanta kecepatan pelepasan obat, r^2 = koefisien determinasi

Hasil perhitungan memperlihatkan bahwa pelepasan hesperidin dari dalam matriks hidrogel dalam medium pH 5,0, pH 6,8 dan medium kandungan sekum tikus 2 % dikendalikan oleh kinetika pelepasan Higuchi. Hal ini dapat dilihat berdasarkan nilai r^2 pada tabel 2 yang menunjukkan bahwa formula 1 hingga 4 melepaskan obat berdasarkan kinetika Higuchi pada masing-masing medium. Kinetika Higuchi menggambarkan pelepasan obat yang dipengaruhi oleh difusi obat melalui pori-pori matriks²⁹. Mekanisme pelepasan obat ditunjukkan pada tabel 4.

Nilai eksponen pelepasan obat (n) pada persamaan Korsmeyer-Peppas menggambarkan mekanisme pelepasan obat yang dialami oleh sediaan pada medium pengujian. Hidrogel hesperidin dengan kombinasi polimer pektin-kitosan memberikan nilai n pada kisaran 1,30–1,60 pada medium pH 5,0, nilai tersebut masuk pada kategori $n>1$ (*transport super case 2*), dan memperlihatkan bahwa mekanisme pelepasan obat pada sediaan dikendalikan oleh kemampuan relaksasi ataupun pengembangan matriks. Sebaliknya, hidrogel hesperidin dengan kombinasi polimer pektin-kitosan memberikan

nilai n pada kisaran 0,43–1,43 pada medium pH 6,8, yang menggambarkan bahwa mekanisme pelepasan obat pada sediaan merupakan mekanisme gabungan dari difusi *fick* dan *transport super case 2*. Dengan demikian, pelepasan obat terjadi melalui difusi medium disolusi ke dalam matriks hidrogel, dan dipengaruhi pula oleh pengembangan matriks. Nilai n pada kisaran 0,052–0,087 dijumpai pada medium sekum, yang

menggambarkan bahwa mekanisme pelepasan obat pada sediaan dikendalikan oleh difusi *fick*; di mana ketika medium disolusi berpenetrasi ke dalam matriks hidrogel, jaringan tiga dimensi hidrogel mengalami relaksasi, dan selanjutnya hidrogel akan mengembang sehingga medium yang masuk ke dalam matriks dapat membawa obat keluar melalui pori-pori matriks hidrogel secara difusi^{29,30}.

Tabel 4. Profil Pelepasan Obat Terdisolusi Berdasarkan Persamaan Korsmeyer-Peppas ($n_a=3$, $X_r \pm SD$)

pH 5,0			
Formula	$k(\text{menit}^{-1})$	r^2	N
F1	$1,306 \pm 0,23$	$0,866 \pm 0,07$	$1,306 \pm 0,23$
F2	$1,030 \pm 0,17$	$0,910 \pm 0,04$	$1,031 \pm 0,17$
F3	$1,606 \pm 0,71$	$0,801 \pm 0,09$	$1,606 \pm 0,71$
F4	$1,516 \pm 0,71$	$0,824 \pm 0,09$	$1,516 \pm 0,70$
pH 6,8			
Formula	$k(\text{menit}^{-1})$	r^2	N
F1	$0,483 \pm 0,02$	$0,870 \pm 0,03$	$1,191 \pm 0,59$
F2	$1,439 \pm 0,24$	$0,970 \pm 0,02$	$1,439 \pm 0,24$
F3	$0,454 \pm 0,02$	$0,921 \pm 0,01$	$0,454 \pm 0,02$
F4	$0,435 \pm 0,05$	$0,857 \pm 0,01$	$0,435 \pm 0,05$
Medium kandungan sekum tikus 2%			
Formula	$k(\text{menit}^{-1})$	r^2	N
F1	$0,053 \pm 0,00$	$0,964 \pm 0,00$	$0,052 \pm 0,00$
F2	$0,055 \pm 0,00$	$0,954 \pm 0,02$	$0,054 \pm 0,00$
F3	$0,078 \pm 0,00$	$0,988 \pm 0,00$	$0,077 \pm 0,00$
F4	$0,089 \pm 0,00$	$0,976 \pm 0,00$	$0,087 \pm 0,00$

Keterangan : n_a = jumlah data, X_r = rata-rata, SD = standar deviasi, k = konstanta kecepatan pelepasan obat, r^2 = koefisien determinasi, n = eksponen pelepasan obat

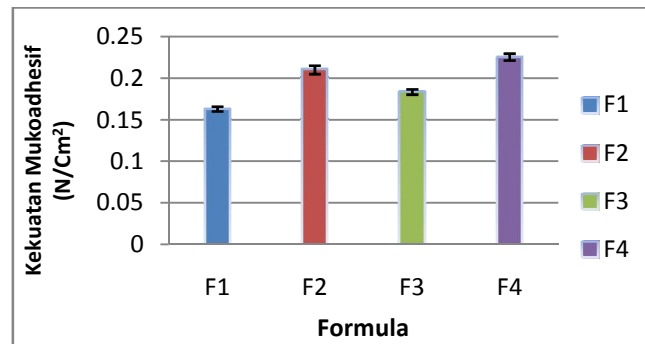
4.4 Uji Kekuatan Mukoadhesif

Uji kekuatan mukoadhesif bertujuan untuk mengetahui kemampuan hidrogel dalam menempel pada mukosa kolon setelah terjadi proses pengembangan. Hasil pengujian (Gambar 9) menunjukkan bahwa peningkatan rasio konsentrasi kitosan mengakibatkan peningkatan kekuatan mukoadhesif dari hidrogel,

di mana formula 2 dan 4 dengan konsentrasi kitosan level tinggi (2%) memiliki kekuatan mukoadhesif terbesar. Penelitian sebelumnya yang mengkaji efek kitosan pada mukosa kolon tikus memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi kitosan akan meningkatkan kecenderungan kitosan untuk melekat pada jaringan mukosa³¹. Kemampuan

pelekatan ini dapat terjadi akibat adanya gaya elektrostatis antara kitosan yang bersifat kationik dengan glikoprotein mukus yang

bersifat anionik (asam sialat) serta permukaan sel yang bermuatan negatif³².



Gambar 9. Hasil Pengujian Kekuatan Mukoadhesif

4.5. Hasil Analisis Data

Data-data hasil pengujian respon diolah dengan menggunakan program *Design Expert 7.0.0 Trial*. Program ini akan memprediksi kombinasi terbaik dari komponen-komponen yang dioptimasi yaitu pektin dan kitosan. Formula optimum yang disarankan oleh desain adalah pektin 5% : kitosan 1%. Berdasarkan hasil uji menggunakan *independent sample t-test*, menunjukkan bahwa nilai aktual dan nilai prediksi dari setiap parameter uji yang dihasilkan oleh formula optimum tidak berbeda signifikan dikarenakan $p\text{-value} > 0,05$. Hal ini mengindikasikan bahwa persamaan yang disarankan oleh program dengan metode desain faktorial dapat memprediksi nilai-nilai yang akan dihasilkan oleh setiap

respon pada formula optimum hidrogel.

5. Kesimpulan

Kombinasi polimer pektin-kitosan dalam matriks hidrogel mukoadhesif dapat mengontrol pelepasan hesperidin secara *in vitro*. Formula optimum hidrogel hesperidin diperoleh dengan perbandingan konsentrasi pektin dan kitosan masing-masing sebesar 5% (pektin) dan 1% (kitosan). Hasil pengujian menunjukkan bahwa formula optimum hidrogel hesperidin memiliki nilai respon yang tidak berbeda bermakna antara hasil observasi dan nilai prediksi.

6. Saran

Perlu dilakukan uji stabilitas terhadap hidrogel yang diformulasikan menggunakan kombinasi polimer pektin-kitosan untuk mengetahui stabilitas hidrogel

dalam jangka waktu panjang. Selain itu perlu juga dilakukan pengujian dengan menggunakan polimer lain yang digunakan dalam *colon drug delivery system* (CDDS), misalnya dekstran dan guar gum, sehingga dapat dibandingkan dengan pektin dan kitosan dalam mengontrol pelepasan obat secara *in vitro*.

Daftar Pustaka

1. Garg A, Garg S, Zaneveld LJD, Singla AK. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res.* 2001; **15**(8):655-69.
2. Galati EM, Monforte MT, Kirjavainen S, Foretieri AM, Tripodo MM. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid (part 1): anti-inflammatory and analgesic activity. *Farmaco.* 1994; **40**(11):709-12.
3. Loguercio C, D'Argenio G, Delle CM. Direct evidence of oxidative damage in acute and chronic phases of experimental colitis in rats. *Digest Dis Sci.* 1996; **41**(6):1204-11.
4. Tanaka T, Makita H, Kawabata K, Mori H, Kakumoto M, Satoh K, Hara A, Sumida T, Tanaka T, Ogawa H. Chemoprevention of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin. *Carcinogenesis.* 1997; **18**(5):957-65.
5. Godeberge P. Daflon-500 mg: international assessment of therapeutic interest for haemorrhoids. *Drugs Today.* 1995; **31**(suppl E):57-62.
6. Sansone F, Rossi A, Gaudio PD, Simone FD, Aquino RP, Lauro MR. Hesperidin gastroresistant microparticles by spray-drying: preparation, characterization, and dissolution profiles. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2009; **10**(2):391-401.
7. Sadeghi M. Pectin-based biodegradable hydrogels with potential biomedical applications as drug delivery systems. *J Biomater Nanobiotechnol.* 2011; **2**(1):36-40.
8. Liu LS, Fishman ML, Hicks KB, Kende M, Ruthel G. Pectin/zein beads for potential colon specific drug delivery: synthesis and *in vitro* evaluation. *Drug Deliv.* 2006; **13**(6):417-23.
9. Liu LS, Fishman ML, Kost J, Hicks KB. Pectin-based systems for colon specific drug delivery via oral route. *Biomaterials.* 2003; **24**(19):3333-43.
10. Das S, Ka-Yun Ng, dan Paul CH. Formulation and optimization of zinc-pectinate beads for the controlled delivery of resveratrol. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2010; **11**(2):729-42.
11. Munjeri O, Fell JT, Collet JH. Hydrogel beads based on amidated pectins for colon-specific drug delivery: the role of chitosan in modifying drug release. *J Control Release.* 1997; **46**(3): 273-8.
12. Bigguci F, Luppi B, Monaco L, Cerchiara T, Zecchi V. Pectin-based microspheres for colon-specific delivery of vancomycin. *J Pharm Pharmacol.* 2009; **61**(1):41-6.
13. Febrianisa, N. Preparasi dan karakterisasi beads zink-pektinat kitosan mengandung pentoksifilin. *Skripsi.* Depok: FMIPA UI. 2012. Hal 1-87.
14. Mazzaferro LS, Breccia JD. Quantification of hesperidin in citrus-based foods using a fungal diglycosidase. *Food Chem.* 2012; **134**(4):2338-44.
15. Hyunh-Ba K. Handbook of stability testing in pharmaceutical development: Regulation,

- methodologies, and best practice. Newark: Springer; 2008. 167p.
16. Sanjay KJ. Design and development of hydrogel beads for targeted drug delivery to colon. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2007; **8**(3):E2-9
 17. Ayuningtyas F. Pembuatan dan karakterisasi beads hidrogel dari berbagai polimer sebagai media tanam. *Skripsi.* Depok: FMIPA UI. 2012. Hal. 1-34.
 18. Shoushtari AM, Zargarani M. Preparation and characterization of high efficiency ion-exchange crosslinked acrylic fibers. *J Appl Polym Sci.* 2006; **101**(4): 2202-09.
 19. Vikramaditya R, Vijayavani CS, Rao VUM. Formulation and evaluation of gabapentin mucoadhesive gastroretentive tablets. *Int J Pharm Anal Res.* 2013; **2**(4):151-62.
 20. Das S, Chaudury A, Ng K. Preparation and evaluation of zinc-pectin-chitosan composite particles for drug delivery to the colon: Role of chitosan in modifying *in vitro* and *in vivo* drug release. *Int J pharm.* 2011; **406** (1-2): 11-20.
 21. Ramasamy T, Ruttala HB, Shanmugam S, Umadevi SK. Eudragit-coated aceclofenac-loaded pectin microspheres in chronopharmacological treatment of arthritis. *Drug Deliv.* 2013; **20**(2):65-77.
 22. Dhakar VK, Chaurasia B, Kar A. Development and evaluation of floating pulsatile multiparculate drug delivery system using aceclofenac as a model drug. *Int J Pharm Life Sci.* 2012; **3**(6):1787-96.
 23. Ramteke KH, Nath L. Formulation, evaluation and optimization of pectin-bora rice beads for colon targeted drug delivery system. *Adv Pharm Bull.* 2014; **4**(2):167-77.
 24. Asha PS, Asheeba ST, Sathiskumar D. A study on microencapsulation of tamoxifen-a breast cancer drug in citrus pectin. *Int J Bio Pharm Res.* 2015; **6**(1): 19-25.
 25. Chang KLB, Lin J. Swelling behaviour and the release of protein from chitosan-pectin composite particles. *Carbohydr Polym.* 2000; **43**(1):163-9.
 26. Sriamornsak P, Thirawong N, Weerapol Y, Nunthanid J, Sungthongjeen S. Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behaviour. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; **67**(1):211-9
 27. Rubinstein A, Radai R, Ezra M, Pathak S, Rokem JS. In vitro evaluation of calcium pectinate: a potential colon-specific drug delivery carrier. *Pharm Res.* 1993; **10**(1):258-63.
 28. Salyers AA, Vercellotti JR, West, SEH, Wilkins TD. Fermentation of mucin and plant polysaccharides by strains of bacteroides from the human colon. *App Environ Microbiol.* 1977; **33**(1):319-22.
 29. Costa P, Lobo JMS. Modeling and comparison of dissolution profiles, Review Article. *Eur J Pharm Sci.* 2001; **13**(1): 123-33.
 30. Dash S, Murthy PN, Nath L, Chowdury P. Kinetic modelling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm.* 2010; **67**(3):217-23
 31. Chen S, Cao Y, Ferguson LR, Shu Q, Garg S. Evaluation of mucoadhesive coatings of chitosan and thiolated chitosan for the colonic delivery of microencapsulated probiotic bacteria. *J Microencapsule.* 2013; **30**(2):103-15.
 32. Irene B, Christine V. Mucoadhesion mechanism of chitosan and thiolated chitosan-poly (isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles. *Biomaterials.* 2007; **28**(1): 2233-43