

FORMULASI NANOPARTIKEL KITOSAN-PGV-0 DENGAN METODE IONIK GELASI

Aniq M. Rahiemna, Mutia Megafitriah, Pradipta Ramadhani, Anny A. Mustikawaty,
Ronny Martien

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Pentagamavunon-0 (PGV-0) merupakan salah satu senyawa sintetik turunan kurkumin. Aktivitas antiinflamasi dan antikanker PGV-0 terbukti lebih besar dibanding kurkumin. Namun, PGV-0 tidak larut dalam air sehingga mempengaruhi bioavailabilitasnya. Oleh karena itu, PGV-0 dimodifikasi menjadi nanopartikel yang menjadi salah satu teknologi peningkatan bioavailabilitas.

Nanopartikel kitosan-PGV-0 dapat dibuat dengan metode ionik gelasi menggunakan natrium tripolifosfat (TPP). Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan nanopartikel kitosan-PGV-0, mengetahui profil pelepasan obat secara in vitro dan mengetahui pengaruh konsentrasi kitosan terhadap distribusi ukuran partikel dan entrapment efficiency nanopartikel kitosan-PGV-0. Kitosan dilarutkan dalam larutan asetat pada pH 4,0 dengan berbagai variasi konsentrasi (0,02%; 0,06%; 0,10%) sedangkan PGV-0 dilarutkan dalam aseton. Konsentrasi natrium tripolifosfat yang digunakan yaitu 6 % dalam akuades. Karakterisasi nanopartikel kitosan-PGV-0 dilakukan dengan pengukuran entrapment efficiency, pelepasan obat, distribusi ukuran partikel dan karakterisasi spektra inframerah.

Dari penelitian ini, formulasi nanopartikel menghasilkan kompleks nanopartikel kitosan-PGV-0 dengan ukuran 151,2 nm hingga 289,0 nm. Entrapment efficiency yang diperoleh yaitu : 90,24 %± 1,79 (kitosan 0,02%); 90,41 %± 0,98 (kitosan 0,06%); dan 85,09% ± 1,19 (kitosan 0,10%). Profil pelepasan nanopartikel kitosan-PGV-0 secara in vitro menunjukkan pelepasan obat secara cepat diikuti pelepasan secara perlahan. Profil ini menyerupai profil pelepasan obat terkontrol (sustained release). Dapat disimpulkan bahwa formulasi ini dapat menghasilkan nanopartikel, memiliki entrapment efficiency tinggi dan dapat digunakan sebagai pertimbangan bentuk sediaan obat terkontrol (sustained release).

Kata kunci: Nanopartikel, Pentagamavunon-0, kitosan, metode ionik gelasi

PENDAHULUAN

Saat ini telah banyak kemajuan-kemajuan yang dicapai bidang farmasi, terutama perkembangan obat-obat yang ditemukan oleh ahli farmasi. Salah satunya adalah pentagamavunon-0 (PGV-0). PGV-0 merupakan senyawa sintetik analog kurkumin dan memiliki aktivitas farmakologis sebagai anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri (1) dan antikanker (2). PGV-0 juga telah terbukti memiliki daya antioksidan lebih baik dari kurkumin (3).

PGV-0 bersifat sangat sukar larut dalam air (4) sehingga bioavailabilitasnya kecil akibatnya keefektifan sebagai anti inflamasi

maupun penyakit lain menjadi terbatas. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu upaya untuk mengatasi masalah tersebut. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan formulasi nanopartikel PGV-0. Partikel dalam ukuran nanopartikel dapat terdispersi bahkan terlarut dalam medium air.

Saat ini, nanopartikel polimer dari polimer biodegradabel dan biokompatibel sedang banyak diteliti sebagai pembawa dalam sistem penghantaran obat (5) dan peningkat kelarutan obat dalam air (6). Polimer nanopartikel diharapkan teradsorpsi dalam bentuk utuh dalam saluran pencernaan setelah pemberian

oral. Nanopartikel hidrofilik umumnya dapat tinggal di dalam darah lebih lama. Sistem tersebut tidak hanya bisa mengontrol kecepatan admistrasi obat dengan memperpanjang durasi efek terapi tetapi juga mengantarkan obat ke tempat spesifik yang dituju (5).

Kitosan telah dipelajari penggunaannya sebagai pembawa nanopartikel untuk penghantaran obat karena sifatnya sebagai polimer yang *biodegradable*, nontoksik, dan mucoadesif. Beberapa teknik digunakan untuk menyiapkan nanopartikel kitosan, antara lain metode kimia *cross-linking*, metode emulsifikasi difusi pelarut, dan *ionotropic gelation*. Di antara teknik tersebut, metode *ionotropic gelation* paling disukai karena prosesnya yang mudah dan tidak adanya penggunaan pelarut toksik. Pada metode *ionotropic gelation*, kompleks nanopartikel terbentuk antara gugus amina kitosan dan ion tripolifosfat (TPP) yang bermuatan negatif. Tripolifosfat adalah anion non toksik dan multivalen. Oleh karena itu dapat membentuk ikatan baik inter maupun intramolekular antara gugus amin kitosan yang bermuatan positif dan ion negatif dari tripolifosfat (6).

Sejauh ini belum ada penelitian mengenai formulasi nanopartikel PGV-0. Pada penelitian ini, formulasi nanopartikel kitosan-PGV-0 dilakukan dengan metode ionik gelasi. Hasil penelitian diharapkan dapat menghasilkan nanopartikel PGV-0, sehingga mampu meningkatkan bioavailabilitasnya melewati membran biologis, yang nantinya akan meningkatkan bioavailabilitas dari PGV-0 sehingga mampu meningkatkan potensi PGV-0 sebagai obat antikanker, antiinflamasi dan antioksidan.

TUJUAN

- a) Untuk mengetahui apakah formulasi kitosan-PGV-0 dengan menggunakan metode ionik gelasi dapat menghasilkan partikel berukuran nanometer .
- b) Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan kitosan terhadap ukuran dan *entrapment efficiency* dari nanopartikel.

- c) Untuk mengetahui profil pelepasan PGV-0 dari nanopartikel kitosan-PGV-0.

METODE PENELITIAN

a. Formulasi Nanopartikel

Sebanyak 50 ml larutan PGV-0 konsentrasi 0,3% dipindahkan ke dalam gelas beker. Kemudian ditambahkan 50 ml larutan kitosan konsentrasi tertentu sambil distirer dengan kecepatan 1250 rpm. Setelah 10 menit, ditambahkan 500 µl larutan TPP 6 % dengan kondisi masih distirer hingga 10 menit sejak penambahan larutan TPP. Dilakukan replikasi 2 kali untuk masing-masing formula. Kemudian dilakukan evaporasi untuk menghilangkan pelarut aseton (suhu 50°C, tekanan 70 tor/mmHg , selama 1 jam). Setelah itu, dilakukan liofilisasi menggunakan *freezedriyer* dan didapatkan serbuk.

b. Karakterisasi nanopartikel PGV-0-kitosan-TPP dengan spektroskopi infra merah

Serbuk nanopartikel dibuat pellet dengan KBr yang dikempa pada ruang dengan kelembaban rendah. Pellet ini kemudian dianalisis menggunakan spektroskop FT-IR Perkin Elmer-Spectrum 100. Spektra yang diperoleh dibandingkan dengan spektra PGV-0, kitosan dan TPP.

c. Pengukuran distribusi ukuran nanopartikel

Sebanyak 10 mg serbuk dilarutkan dalam 10 ml akuades dan dilakukan vortex selama 30 detik. Kemudian, 3 ml larutan diukur menggunakan *Particle Size Analyzer DELSA™* (BPPT Serpong, Tangerang).

d. Analisis *Entrapment Efficiency*

Ditimbang sebanyak lebih kurang 10 mg serbuk hasil *freezedrying* dan dilarutkan dalam 5 ml akuades. Kemudian ditambahkan 5 ml etil asetat. Pemisahan dilakukan dengan penggojokan dua kali bolak balik secara perlahan. PGV-0 bebas akan terlarut dalam etil asetat. Kemudian fase etil asetat dibaca serapannya dengan spektrofotometer UV-visibel pada panjang gelombang hasil *scanning* yaitu 396 nm. Dari hasil serapan, didapat

berat PGV-0 bebas dengan perhitungan menggunakan persamaan kurva baku PGV-0 dalam etil asetat. Nilai dari *Entrapment Efficiency* (EE) diperoleh dari perhitungan sebagai berikut

$$\text{Entrapment efficiency} = \frac{\text{berat PGV0 awal} - \text{berat PGV0 bebas}}{\text{berat PGV0 awal}} \times 100\%$$

e. Penentuan pelepasan obat secara *in vitro*

Sebanyak 30 mg serbuk hasil *freeze-drying* ditimbang. Kemudian, partikel didispersikan ke dalam gelas beker yang telah diisi dengan 540 ml medium dapar yang mengandung 0,1 M dapar fosfat fosfat pH 6,8 dan 0,5% Tween 80. Penggunaan Tween 80 digunakan sebagai *solubility enhancer* dari PGV-0 bebas yang terlepas dari kompleks nanopartikel. Sebelum sampel didispersikan dengan kecepatan padel 100 rpm, medium dapar telah dikondisikan dalam waterbath dengan suhunya sebesar 37°C. Pengambilan sampel ini dilakukan pada menit ke-1, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 sebanyak 5 ml.

Setiap pengambilan, volume dalam wadah dikembalikan seperti semula dengan larutan medium dengan suhu yang sama. Kemudian dilakukan sentrifugasi pada sampel yang telah diambil. Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 4500 rpm 10 menit. Kemudian diambil 3 ml supernatan dan dibaca serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang hasil *scanning* yaitu 412 nm. Dari hasil serapan didapat berat PGV-0 yang terlarut ke dalam medium pelepasan dengan perhitungan menggunakan persamaan kurva baku PGV-0 dalam medium mengandung 0,1 M dapar fosfat pH 6,8 dan 0,5% Tween 80. Kemudian dibuat kurva pelepasan obat mg terlarut vs waktu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Karakterisasi nanopartikel PGV-0-kitosan-TPP dengan spektroskopi infra merah

Spektra inframerah PGV-0, kitosan, TPP, dan nanopartikel PGV-0-kitosan-TPP dapat dilihat pada lampiran 5. Terdapat tiga *peak* khas pada kitosan, yaitu 3393,1 cm^{-1} dari $\nu(\text{OH})$, 1081,7 cm^{-1} dari $\nu(\text{C-O-C})$ dan 1655,4 cm^{-1} dari $\nu(\text{N-H})$. Sedangkan $\nu(\text{OH})$ PGV-0 terletak pada 3499,7 cm^{-1} .

Pada nanopartikel kitosan-PGV-0-TPP, $\nu(\text{OH})$ dari PGV-0 mengalami pergeseran vibrasi menjadi 3437,2 cm^{-1} sedangkan $\nu(\text{OH})$ dari kitosan berada pada 3307,4 cm^{-1} . *Peak* 1655,4 cm^{-1} dari vibrasi tekuk $-\text{NH}_2$ bergeser menjadi 1564,1 cm^{-1} , kemudian muncul *peak* tajam pada 1639,1 cm^{-1} . Sehingga dapat diperkirakan bahwa gugus fosfat dari TPP berikatan dengan gugus amonium dari kitosan pada nanopartikel yang terbentuk dan terjadi interaksi elektrostatik antara gugus hidroksil dari PGV-0 dengan gugus amina dari kitosan.

b. Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap ukuran partikel dan *entrapment efficiency*

Untuk mengetahui efek rasio kitosan dan TPP terhadap ukuran partikel, digunakan tiga variasi konsentrasi kitosan. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 1.

Pada konsentrasi kitosan 0,02% (rasio kitosan:TPP 1:3), ukuran nanopartikel yang dihasilkan memiliki ukuran partikel rata-rata paling kecil yaitu $151,2 \pm 39,5$ nm. Hal ini terjadi karena gugus amino dari kitosan bereaksi optimum dengan gugus fosfat dari TPP pada rasio ini.

Pada rasio 1:1 (pada konsentrasi kitosan 0,06%), ukuran partikel rata-rata yang dihasilkan lebih besar yaitu $278,8 \pm 78,2$ nm. Pada rasio 1: 0,6 (konsentrasi kitosan 0,10%), ukuran partikel rata-rata yang dihasilkan ukuran partikel $289,0 \pm 83,5$ nm. Pada rasio ini, TPP menjadi reaktan pembatas, sehingga molekul kitosan yang tidak bereaksi/ berikatan dengan TPP akan mengendap dan menempel lebih banyak pada permukaan nanopartikel. Hal tersebut

mengakibatkan ukuran partikel yang lebih besar karena kitosan yang teradsorpsi lebih banyak pada permukaan nanopartikel. Dari hasil pengukuran nanopartikel tersebut, nampak bahwa semakin besar konsentrasi kitosan, semakin besar pula ukuran partikel dari nanopartikel yang terbentuk.

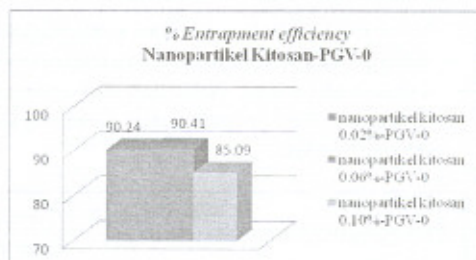
Pada pengukuran ukuran nanopartikel yang dilakukan, nilai *polydispersity index* (P.I) formula nanopartikel dengan kitosan 0,02%, 0,06% dan 0,10% berturut-turut sebesar 0,751; 0,611 dan 0,395. Menurut Jansson (2010), semakin kecil nilai *polydispersity index* maka polidispersitas yang terjadi dalam sampel semakin kecil. Nanopartikel kitosan memiliki nilai *polydispersity index* yang bervariasi dari 0,027 hingga 0,6. Pada penelitian ini didapat nilai *polydispersity index* 0,395-0,751. Dapat dikatakan bahwa kompleks nanopartikel yang diperoleh dari formulasi yang dilakukan cukup seragam kecuali pada nanopartikel PGV-0-kitosan 0,02%-TPP.

Entrapment efficiency menggambarkan keberhasilan enkapsulasi/*entrapment* kitosan terhadap obat (PGV-0) dalam pembentukan nanopartikel. Suatu *entrapment* dikendalikan dengan dua mekanisme, yaitu : interaksi antara muatan positif gugus asam amino dari kitosan dan muatan negatif dari PGV-0 serta *entrapment* selama proses gelasi dengan gugus fosfat dari TPP.

Tabel 1. Data ukuran partikel

Nanopartikel Kitosan-PGV-0	Rata-rata Ukuran Partikel (nm)	Polydispersity Index (PI)
Kitosan 0,02%	151,2 ± 39,5	0,751
Kitosan 0,06%	278,8 ± 78,2	0,611
Kitosan 0,10%	289,0 ± 83,5	0,395

Nilai *entrapment efficiency* optimal pada konsentrasi kitosan 0,06% yaitu sebesar 90,41 ± 0,98 %. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi kitosan tersebut, Kitosan dan TPP dapat mengenkapsulasi PGV-0 lebih banyak dibanding pada kedua konsentrasi lainnya. Pada konsentrasi 0,10%



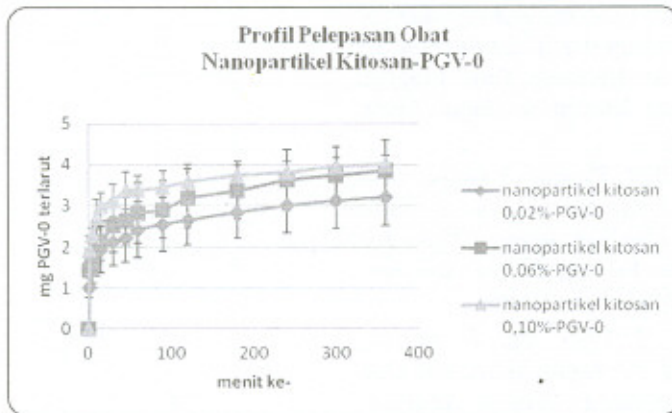
Gambar 3. Profil % Entrapment Efficiency

kitosan, *entrapment efficiency* yang didapatkan lebih kecil dibanding dengan konsentrasi kitosan yang lebih rendah. Peningkatan konsentrasi kitosan pada formulasi nanopartikel PGV-0-kitosan-TPP memberikan peningkatan pada konsentrasi 0,06% dan penurunan *entrapment efficiency* pada konsentrasi kitosan 0,10% dibanding pada konsentrasi kitosan 0,02%. Penelitian Vandenberg *et al.* (2001) (7) menyatakan bahwa viskositas medium yang tinggi (konsentrasi kitosan tinggi) dapat menghambat enkapsulasi obat pada studi *microsphere* kitosan.

c. Profil pelepasan PGV-0 secara *in vitro*

Profil pelepasan PGV-0 dari nanopartikel kitosan-TPP ditunjukkan pada gambar 4. Dari profil tersebut dapat dilihat bahwa PGV-0 dilepaskan secara cepat hingga menit ke-30 dan pada menit berikutnya dilepas secara perlahan. Profil pelepasan obat ini menyerupai profil *sustained release*.

Zhao *et al.* (2001)(8) melaporkan mengenai *microspheres* bahwa pelepasan obat diperantarai oleh dua mekanisme yang berbeda yaitu difusi molekul obat dan degradasi matriks polimer. Pelepasan yang cepat berhubungan dengan molekul obat tersebut tersebar dekat dengan permukaan *microspheres*, sehingga difusi terjadi lebih mudah pada waktu awal inkubasi dalam medium pelepasan.



Gambar 4. Profil Pelepasan Obat Nanopartikel Kitosan-PGV-0

Proses pelepasan yang cepat menggambarkan bahwa medium pelepasan dapat penetrasi ke dalam partikel karena sifat hidrofilik kitosan dan melarutkan PGV-0 yang terenkapsulasi. Kemudian, nanopartikel dengan luas permukaan spesifik relatif besar dapat mengadsorpsi PGV-0, sehingga pelepasan awal yang cepat juga dapat disebabkan oleh adanya sebagian PGV-0 yang menempel/adsorpsi pada permukaan partikel kemudian dengan mudah didesorpsi oleh medium pelepasan karena berada di permukaan.

Bila suatu partikel obat dikurangi sampai menjadi partikel yang lebih kecil dalam jumlah besar, maka luas permukaan total meningkat. Untuk zat obat yang sukar larut atau larut perlahan, hal ini umumnya akan mengakibatkan peningkatan dalam laju disolusi/pelepasan obat (9). Pada penelitian ini, nanopartikel dengan formula kitosan 0,10% memiliki ukuran partikel yang lebih besar, akan tetapi pelepasan obatnya lebih besar dibanding nanopartikel dengan formula kitosan lebih rendah yang memiliki ukuran partikel yang lebih kecil. Hal ini dapat dijelaskan bahwa terkadang dalam hubungan antara ukuran partikel terhadap disolusi dapat terbalik karena sifat-sifat permukaan dari obat tersebut. Dalam hal ini, muatan permukaan dan atau hasil-hasil penggumpalan dalam bentuk nanopartikel dari obat tersebut memberikan suatu luas

permukaan efektif yang lebih rendah terhadap pelarut karena pembasahan yang tidak sempurna atau penggumpalan (9).

KESIMPULAN

1. Formulasi kitosan-PGV-0 dengan menggunakan metode ionik gelasi dapat menghasilkan partikel berukuran nanometer.
2. Variasi konsentrasi larutan kitosan berpengaruh terhadap *entrapment efficiency* dari nanopartikel. Peningkatan konsentrasi kitosan pada formulasi nanopartikel PGV-0-kitosan-TPP memberikan peningkatan pada konsentrasi 0,06% dan penurunan *entrapment efficiency* pada konsentrasi kitosan 0,10% dibanding pada konsentrasi kitosan 0,02%.
3. Profil pelepasan PGV-0 menyerupai pelepasan obat terkontrol (*sustained release*). Pelepasan obat terjadi secara cepat dan diikuti dengan pelepasan kontinyu secara perlahan.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Sardjiman. 2000. *Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Antioxidative, Antiinflammatory, Antibacterial Activities and Qualitative Structure-Activity Relationship*. Disertasi. Gadjah Mada University. Yogyakarta.

- (2) Da'i M. 2003. *Uji Aktivitas Antiproliferatif Pentagamavunon-0 terhadap Sel Raji, Sel Hela, dan Sel Myeloma*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- (3) Da'i M. 1998. *Pengaruh Gugus Beta Diketon Terhadap Daya Reduksi Kurkumin Dan Turunannya Pada Ion Ferri*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- (4) Kurniawati I. 1999. *Metode Analisis Kuantitatif Pentagamavunon-0 Dan Heksagamavunon Secara Spektrofotometri UV-Vis*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- (5) Tiyaboonchai W. 2003. Chitosan Nanoparticles : A Promising System for Drug Delivery. *Naresuan University Journal*. 11(3): 51-66.
- (6) Vyas A, Shailendra S, and Swamlata S. 2010. Encapsulation of Cyclodextrin Complexed Simvastatin in Chitosan Nanocarriers: A Novel Technique for Oral Delivery. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 66: 251-259.
- (7) Vandenberg GW, Drolet C, Scott SL, and Noue JD. 2001. Factors Affecting Protein Release from Alginate-Chitosan Coacervate Microcapsules During Production and Gastric/Intestinal Simulation. *J. Control. Release.* 77: 297-307.
- (8) Zhao SB, Deng XM, and Li XH. 2001. Investigation On A Novel Core-Coated Microspheres Protein Delivery System. *J. Control. Release.* 75: 27-36.
- (9) Ansel HC. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi Keempat. Jakarta: UI Press.