

Formulasi dan Karakterisasi Sediaan Mukoadhesif Ekstrak Etanol *Centella asiatica* (L.) urb.

*Tri Suciati, Dinda Prasetya, Irda Fidrianny, Satrialdi

Kelompok Keilmuan Farmasetika, Sekolah Farmasi ITB
Jl. Ganesa 10 Bandung 40132

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan dan mengevaluasi sediaan mikrosfer mukoadhesif dari ekstrak etanol *Centella asiatica* yang diketahui memiliki aktivitas antitukak lambung. Siplisia *C. asiatica* diekstraksi dengan metode refluks menggunakan etanol. Formulasi mikrosfer dilakukan dengan metode gelasi ionotropik menggunakan natrium alginat yang diinkorporasi dengan ekstrak etanol kental serta kitosan dalam larutan kalsium klorida. Variasi dilakukan terhadap konsentrasi natrium alginat, rasio bobot ekstrak dan natrium alginat, konsentrasi kitosan, dan konsentrasi kalsium klorida. Evaluasi meliputi ukuran dan distribusinya, karakteristik permukaan, efisiensi penjeratan, profil kapasitas mengembang, serta uji mukoadhesi *in vitro*. Formula optimum diperoleh dengan komposisi 3% natrium alginat, rasio ekstrak-natrium alginat 1:2, 0,5% kitosan, dan 0,5 M kalsium klorida. Mikrosfer yang dihasilkan memiliki distribusi ukuran terbanyak antara 630-710 μm , efisiensi penjeratan $25,48 \pm 1,88\%$, penambahan bobot pada uji kapasitas mengembang $40,76 \pm 1,51\%$ ($t=15$ menit), dan kekuatan adhesi $78,67 \pm 2,89\%$.

Kata kunci : mukoadhesif, mikrosfer, *Centella asiatica*.

Abstract

The purpose of this study was to develop and evaluate mucoadhesive microsphere of *Centella asiatica* ethanolic extract that has been known to be active for accelerating wound healing of peptic ulcer. Crude drug of *C. asiatica* was extracted by reflux method using ethanol. Formulation of microsphere was prepared by ionotropic gelation method by extruding solution admixture of sodium alginate, the ethanolic extract and chitosan into calcium chloride solution. Formulations were varied including sodium alginate concentrations, chitosan concentrations, the ratio of extract to sodium alginate, and calcium chloride concentrations. Evaluation of microspheres included the particle size and its distribution, surface characterization, encapsulation efficiency, swelling profile test, and *in vitro* mucoadhesive test. The optimum formula obtained by the composition of 3% of sodium alginate, the ratio of extract to sodium alginate by 1:2, 0.5% of chitosan, and 0.5 M of calcium chloride. Microspheres had the highest size distribution in the range of 630-710 μm , encapsulation efficiency of $25.48 \pm 1.88\%$, weight gain on swelling capacity test of $40.76 \pm 1.51\%$ ($t=15$ minutes), and adhesion strength of $78.67 \pm 2.89\%$.

Keywords: mucoadhesive, microspheres, chitosan-alginate, *Centella asiatica*.

Pendahuluan

Centella asiatica (L.) Urb. adalah tanaman yang termasuk ke dalam suku Apiaceae yang tumbuh liar di seluruh Indonesia dan daerah-daerah beriklim tropik, dari dataran rendah hingga ketinggian 2500 m di atas permukaan laut (Ditjen POM, 1977). Senyawa kimia bioaktif yang terkandung dalam *C. asiatica* terutama adalah golongan pentasiklik triterpenoid, meliputi asam asiatic, asiaticosida, asam madecassat, dan madecassosida, serta senyawa golongan flavonoid (Inamdar, *et al.*, 1996; Zainol, *et al.*, 2009). Penelitian menyimpulkan bahwa ekstrak *C. asiatica* memiliki aktivitas penyembuhan tukak lambung terhadap tikus yang diinduksi asam asetat (Cheng, *et al.*) dan efek gastroprotektif terhadap luka mukosa yang diinduksi etanol (Cheng and Koo, 2000; Abdulla, *et al.*, 2010).

Bioadhesi merupakan adhesi suatu makromolekul sintesis atau biologis pada jaringan biologis, dengan substrat dapat berupa sel, tulang, gigi, atau lapisan mukus. Penempelan yang terjadi pada lapisan mukus

disebut dengan mukoadhesi (Smart, 2004). Mikrosfer mukoadhesif adalah mikropartikel dan mikrokapsul berdiameter 1 - 1000 μm dan mengandung polimer mukoadhesif atau disalut pada permukaannya (Mathiowitz, *et al.*, 2001). Sistem ini berpotensi sebagai sistem penghantaran dan pelepasan terkontrol (Vasir, *et al.*, 2003). Melalui peningkatan kontak sediaan ekstrak *C. asiatica* secara lokal pada mukosa lambung serta pengontrolan pelepasannya, diharapkan terjadi peningkatan efektivitas ekstrak *C. asiatica* pada proses penyembuhan tukak lambung.

Natrium alginat memiliki sifat mukoadhesif namun kemampuan mengembang dan kelarutannya kurang baik pada pH rendah. Sedangkan kitosan memiliki kemampuan mengembang yang sangat baik namun kelarutannya tinggi pada pH rendah sehingga tidak dapat mengontrol pelepasan sediaan. Pada penelitian ini, untuk meningkatkan kemampuan mukoadhesif dan kemampuan mengembang serta pelepasan yang terkendali, maka digunakan kombinasi polimer

*Penulis yang dapat dihubungi untuk korespondensi
tri.suciati@fa.itb.ac.id

natrium alginat sebagai polimer inti dan kitosan dengan menggunakan metode gelasi ionotropik. Penelitian yang dilakukan Sahasathian, *et. al.*, menunjukkan bahwa kombinasi alginat sebagai polimer pembentuk inti dan kitosan sebagai polimer penyalut, menghasilkan sediaan mukoadhesif yang memiliki kemampuan mengembang dan mukoadhesi yang sangat baik serta profil pelepasan yang terkendali (Sahasathian, *et al.*, 2010).

Alginat merupakan polisakarida yang diekstraksi dari alga coklat atau diproduksi oleh bakteri, mengandung asam D-manuronat dan asam L-guluronat. Kontak alginat dengan kation divalen (seperti ion kalsium pada larutan kalsium klorida) secara seketika menginduksi polimerisasi ion pada antarmuka alginat melalui ikatan kation dengan unit asam guluronat menghasilkan pautan silang tiga dimensi dengan struktur *eggbox* sehingga terjadi pembentukan mikrokapsul polianionik.

Kitosan merupakan polimer bioadhesif generasi pertama yang diperoleh dari deasetilasi kitin, yaitu suatu polisakarida yang diekstraksi dari eksoskeleton *Crustaceae*. Kitosan adalah polimer linier yang mengandung glukosamin dan unit N-asetil glukosamin yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Kitosan merupakan polimer kationik dan larut air hanya pada pH rendah (Smart, 2004). Kompleks polielektrolit terbentuk ketika dilakukan pencampuran larutan natrium alginat dan kitosan, di mana terjadi pembentukan ikatan akibat interaksi elektrolit yang disebabkan oleh pencampuran larutan makromolekul dengan muatan berlawanan yakni alginat dengan muatan negatif dan kitosan dengan muatan positif. Interaksi elektrolit ini terbentuk di samping terjadinya pembentukan paut silang antara ion kalsium dan unit asam guluronat pada natrium alginat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan mengevaluasi bentuk sediaan mukoadhesif berupa mikrosfer dari ekstrak etanol *C. asiatica*.

Percobaan

Bahan

Simplisia *C. asiatica*, etanol, pembanding asiatikosida, natrium alginat, kitosan, kalsium klorida dihidrat, asetonitril, aquabides, metanol, cairan simulasi lambung (larutan asam klorida pH 1,2), natrium klorida, dan aquades.

Prosedur

Ekstraksi Simplisia C. asiatica

Serbuk simplisia *C. asiatica* diekstraksi dengan metode refluks selama 5 jam pada suhu 80 °C menggunakan

pelarut etanol. Ekstrak dipekatkan dengan *rotavapor* pada suhu 60 °C dan kecepatan 60 ppm hingga diperoleh ekstrak kental.

Penentuan Kadar Asiatikosida dalam Ekstrak C. asiatica

Larutan pembanding asiatikosida dibuat dengan konsentrasi 250 bpj dalam metanol. Sebanyak 50 mg ekstrak etanol *C. asiatica* ditambah 5 mL metanol dan di-*vortex*. Filtrat hasil penyaringan dengan membran 0,45 µm diambil untuk dianalisis. Dilakukan analisis menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT-Hewlett Packard Agilent Series 1100) dengan sistem kromatografi fase balik menggunakan kolom C-18 (Phenomenex), detektor spektrofotometer UV pada panjang gelombang 220 nm, kecepatan alir fase gerak 1,4 mL/menit dan teknik elusi gradien. Sampel diinjeksikan sebanyak 50 µL. Konsentrasi asiatikosida dalam ekstrak dianalisis menggunakan KCKT dengan metode satu titik.

Pembuatan Mikrosfer Ekstrak C. asiatica dengan Metode Gelasi Ionotropik

Ekstrak etanol *C. asiatica* didispersikan secara homogen ke dalam serbuk natrium alginat kemudian ditambah air sehingga terbentuk larutan pekat alginat dengan konsentrasi 1,5; 2; 2,5; 3; dan 4%. Campuran dilewatkan melalui jarum berukuran 30 Gauge ke dalam wadah berisi campuran 50 mL larutan kalsium klorida dengan konsentrasi 0,1; 0,25; dan 0,5 M dan kitosan dengan konsentrasi 0; 0,08; 0,5; dan 1% (b/v) yang sebelumnya dilarutkan dalam 2% asam asetat, kemudian dilakukan pengadukan kecepatan rendah. Gelasi dilakukan selama 30 menit dan gel yang terbentuk dicuci sebanyak tiga kali dengan aquades. Gel dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C selama semalam.

Ukuran Partikel dan Distribusi Ukuran

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel ditentukan dengan melakukan pengayakan partikel mikrosfer menggunakan ayakan dengan ukuran 900,700, 630, 500, 400, dan 315 µm.

Penentuan Efisiensi Penjeratan

Sebanyak 100 mg sampel mikrosfer kering digerus dan ditambah 10 mL metanol. Campuran di-*vortex* selama 5 menit kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 ppm selama 30 menit. Sebanyak 2 mL supernatan diambil dan diuapkan dalam kondisi vakum. Residu yang diperoleh dilarutkan dalam 1,5 mL metanol dan disaring menggunakan membran 0,45 µm untuk dianalisis. Analisis dilakukan dengan metode dan sistem kromatografi yang sama seperti pada penentuan konsentrasi asiatikosida dalam ekstrak etanol *C. asiatica*. Efisiensi penjeratan dihitung dengan

membandingkan antara jumlah asiatikosida yang terjerat dalam mikrosfer dengan jumlah asiatikosida yang terdapat dalam campuran natrium alginat dan ekstrak.

Profil Kapasitas Mengembang Mikrosfer dalam Cairan Simulasi Lambung

Sebanyak sekitar 30 mg mikrosfer ditimbang dan direndam dalam 50 mL cairan simulasi lambung dengan temperatur dijaga pada $37 \pm 0,5$ °C. Setiap interval waktu 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, dan 300 menit, mikrosfer dipisahkan dari cairan simulasi lambung dan permukaannya dikeringkan kemudian ditimbang bobotnya.

Uji Mukoadhesi In vitro dengan Teknik Falling Liquid Film

Metode uji yang dipilih adalah *falling liquid film* yang dikembangkan oleh Rao dan Buri (1989) [11]. Lambung tikus diambil dan dibuka melalui bagian lengkung besarnya. Segmen lambung tikus yang telah dibersihkan dengan sodium klorida 0,9% dipotong sekitar 1,5 cm x 3 cm dan ditempelkan pada pelat baja sebagai penyangga menggunakan lem sianokrilat. Sebanyak 100 buah mikrosfer berukuran 630 - 710 μ m ditabur pada spesimen lambung dan diinkubasi selama 5 menit dalam lingkungan dengan kelembaban relatif 90%. Pelat baja kemudian diletakkan pada pipa kaca pada posisi melereng dengan kemiringan 45°. Cairan simulasi lambung dialirkan pada segmen jaringan dengan kecepatan 22 mL/menit selama 30 menit dan suhu cairan dijaga $37 \pm 0,5$ °C. Jumlah mikrosfer yang lepas dari segmen lambung dihitung untuk penentuan kekuatan adhesi.

Morfologi Permukaan

Pengamatan morfologi permukaan mikrosfer mukoadhesif dilakukan dengan *scanning electron microscope* (SEM) pada beberapa perbesaran.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik ekstrak etanol *C. asiatica* yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1. Kemurnian pembanding asiatikosida yang digunakan adalah diatas 98,5%. Puncak pembanding asiatikosida muncul pada 10,597 menit sementara puncak asiatikosida dalam ekstrak pada 10,941 menit. Kadar asiatikosida dalam ekstrak etanol *C. asiatica* adalah $1,89 \pm 0,01\%$.

Formula dibuat dengan berbagai variasi meliputi konsentrasi natrium alginat, rasio bobot ekstrak terhadap natrium alginat, konsentrasi kitosan, dan konsentrasi kalsium klorida (Tabel 2).

Bentuk mikrosfer kering dengan konsentrasi natrium alginat di bawah 2,5% dan konsentrasi kalsium klorida

0,1 M yang dihasilkan mengerut dan tidak sferis serta saling menempel membentuk gumpalan. Hal ini disebabkan karena konsentrasi natrium alginat dan kalsium klorida yang digunakan terlalu kecil sehingga proses pematuan silang tidak berlangsung sempurna dan tidak dapat mempertahankan bentuknya saat dikeringkan.

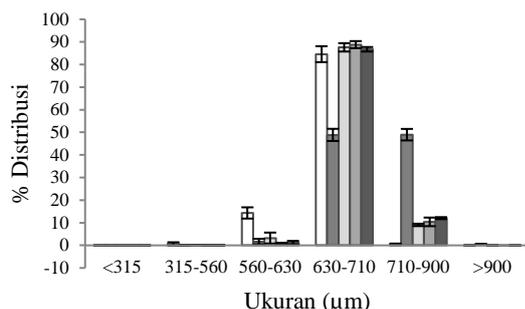
Tabel 1. Karakteristik ekstrak etanol *C. asiatica*

| Parameter | Hasil |
|-------------------------|-------------|
| Kadar abu total | 3,7% (b/b) |
| Kadar sari larut air | 42,9% (b/b) |
| Kadar sari larut etanol | 52,6% (b/b) |
| Kadar air | 7,5% (v/b) |
| Susut pengeringan | 19,9% (b/b) |
| Bobot jenis | 1,2 g/mL |

Bentuk mikrosfer kering dengan konsentrasi natrium alginat 4% sferis dan berekor. Hal ini disebabkan karena besarnya konsentrasi natrium alginat yang digunakan sehingga menyebabkan viskositas yang lebih tinggi. Akibat tingginya viskositas, tekanan yang dibutuhkan untuk melewati campuran alginat dan ekstrak melalui jarum berukuran 30 Gauge lebih besar sehingga mempengaruhi bentuk mikrosfer.

Formula mikrosfer dengan 3% natrium alginat, 1% kitosan, dan 0,25 M kalsium klorida menghasilkan mikrosfer kering yang tidak sferis dan mengerut, akibat besarnya konsentrasi kitosan pada larutan pematut silang yang menyebabkan viskositas meningkat, sehingga difusi kalsium klorida pada globul campuran alginat dan ekstrak kurang baik mengakibatkan pembentukan gel terganggu. Untuk mengatasinya, kecepatan pengadukan harus ditingkatkan, namun akan dihasilkan partikel dengan bentuk oval akibat peningkatan gaya sentrifuga [10]. Selain itu dapat pula dilakukan peningkatan konsentrasi kalsium klorida seperti pada formula 3% natrium alginat, 1% kitosan, dan 0,5 M kalsium klorida.

Mikrosfer yang terbentuk memiliki distribusi ukuran terbanyak antara 630 - 710 μ m. Ukuran mikrosfer yang dihasilkan dipengaruhi oleh diameter jarum yang digunakan. Formula dengan konsentrasi natrium alginat 4% memiliki ukuran yang lebih besar, yaitu $48,96 \pm 2,55\%$ berukuran antara 710 - 900 μ m (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi natrium alginat dari 3% menjadi 4% memberikan perbedaan bermakna terhadap distribusi ukuran partikel ($p < 0,05$), sementara rasio ekstrak dan natrium alginat serta penambahan kitosan tidak memberikan perbedaan bermakna terhadap distribusi ukuran partikel ($p > 0,05$).

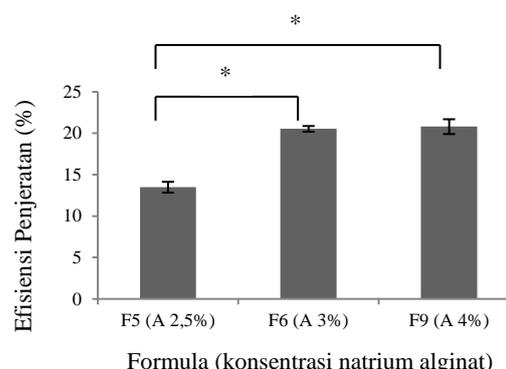


Gambar 1. Grafik distribusi ukuran beberapa formula mikrosfer: □ F6; ■ F9; □ F10; ■ F11; ■ F12; (n=3).

Mikrosfer yang dibentuk dari 2,5% natrium alginat dan 0,1 M kalsium klorida (F4) mempunyai efisiensi penjeratan terendah. Hal ini akibat kurangnya pemautilangan yang terbentuk sehingga memungkinkan berdifusinya ekstrak selama proses gelasi atau saat pencucian gel.

Peningkatan konsentrasi natrium alginat hingga 3% meningkatkan efisiensi penjeratan. Hal ini disebabkan oleh semakin banyaknya residu asam guluronat yang tersedia untuk berikatan dengan ion kalsium membentuk struktur *egg box*. Peningkatan konsentrasi natrium alginat menjadi 4% tidak memberikan perbedaan bermakna terhadap efisiensi penjeratan (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan bahwa untuk meningkatkan efisiensi penjeratan, kenaikan konsentrasi natrium

alginat perlu diimbangi dengan konsentrasi kalsium klorida yang optimum.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi natrium alginat terhadap efisiensi penjeratan, dengan formula E:A 1:2; 0% K; 0,25 M kalsium klorida. *) $p < 0,05$.

Evaluasi efisiensi penjeratan dilakukan untuk menentukan jumlah ekstrak etanol *C. asiatica* yang terjerat dalam mikrosfer. Penentuan kuantitatif efisiensi penjeratan dilakukan melalui penentuan kadar asiaticosida dalam mikrosfer dibandingkan terhadap kadar asiaticosida yang didispersikan dalam larutan alginat.

Tabel 2. Pengaruh perbedaan formula terhadap bentuk dan efisiensi penjeratan mikrosfer

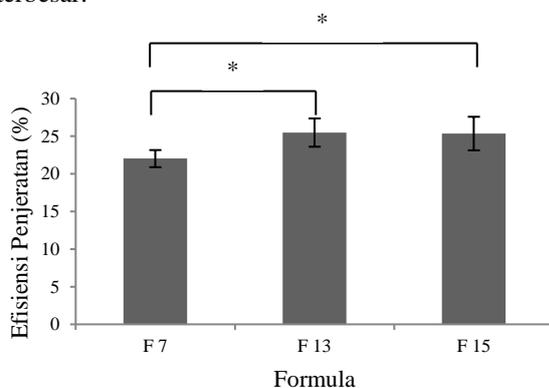
| Formula | E:A (b/b) | A (% b/v) | K (% b/v) | Konsentrasi CaCl ₂ (M) | Bentuk | Efisiensi penjeratan*) (%) |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| F1 | 1:2 | 1,5 | 0,00 | 0,10 | Tidak sferis, mengerut | - |
| F2 | 1:2 | 1,5 | 0,08 | 0,10 | Tidak sferis, mengerut | - |
| F3 | 1:2 | 2,0 | 0,00 | 0,10 | Tidak sferis, mengerut | - |
| F4 | 1:2 | 2,5 | 0,00 | 0,10 | Sferis | 9,65 ± 0,64 |
| F5 | 1:2 | 2,5 | 0,00 | 0,25 | Sferis | 13,48 ± 0,65 |
| F6 | 1:2 | 3,0 | 0,00 | 0,25 | Sferis | 20,53 ± 0,34 |
| F7 | 1:2 | 3,0 | 0,00 | 0,50 | Sferis | 22,02 ± 1,14 |
| F8 | 1:2 | 3,0 | 0,08 | 0,25 | Sferis | 20,55 ± 0,78 |
| F9 | 1:2 | 4,0 | 0,00 | 0,25 | Sferis, berekor | 20,80 ± 0,89 |
| F10 | 1:2 | 3,0 | 0,50 | 0,25 | Sferis | 22,66 ± 0,35 |
| F11 | 3:4 | 3,0 | 0,50 | 0,25 | Sferis | 20,52 ± 0,62 |
| F12 | 1:1 | 3,0 | 0,50 | 0,25 | Sferis, berekor | 21,10 ± 1,23 |
| F13 | 1:2 | 3,0 | 0,50 | 0,50 | Sferis | 25,48 ± 1,88 |
| F14 | 1:2 | 3,0 | 1,00 | 0,25 | Tidak sferis, kempis | - |
| F15 | 1:2 | 3,0 | 1,00 | 0,50 | Sferis | 25,36 ± 2,23 |
| F16 | 1:2 | 4,0 | 0,00 | 0,50 | Sferis, berekor | 21,66 ± 0,47 |

Keterangan: E:A = rasio bobot ekstrak dan alginat = tidak dilakukan
A = konsentrasi natrium alginat *) n=3
K = konsentrasi kitosan

Perbandingan efisiensi penjeratan F10, F11, dan F12 menunjukkan bahwa rasio ekstrak dan natrium alginat menghasilkan perbedaan bermakna terhadap efisiensi penjeratan. Rasio ekstrak-natrium alginat yang paling optimum adalah 1:2 (F10). Peningkatan rasio di atas nilai tersebut menyebabkan penurunan efisiensi penjeratan. Hal ini disebabkan karena tidak mencukupinya kapasitas dalam mikrosfer untuk menjerat ekstrak dalam jumlah yang lebih banyak.

Penambahan kitosan dengan konsentrasi 0,08% pada F8 tidak meningkatkan efisiensi penjeratan apabila dibandingkan dengan F6 (kitosan 0%). Peningkatan konsentrasi kitosan hingga 0,5% pada F10 menghasilkan peningkatan efisiensi penjeratan yang berbeda bermakna dengan F6 dan F8. Peningkatan efisiensi penjeratan terjadi karena pembentukan kompleks polielektrolit menyebabkan gelasi yang lebih kuat [10] sehingga dapat menahan difusi ekstrak selama pembuatan.

Formulasi dengan meningkatkan konsentrasi kalsium klorida menjadi 0,5 M dengan konsentrasi natrium alginat 3%, rasio ekstrak-alginat 1:2, serta kitosan 0; 0,5%; dan 1%. Hasil menunjukkan bahwa formula dengan 0,5% dan 1% kitosan meningkatkan efisiensi penjeratan walaupun nilai keduanya tidak memberikan perbedaan bermakna (Gambar 3). Berdasarkan hasil ini, F13 yang terdiri dari 3% natrium alginat, 0,5% kitosan, dan 0,5 M kalsium klorida merupakan formula paling optimum karena memiliki efisiensi penjeratan terbesar.

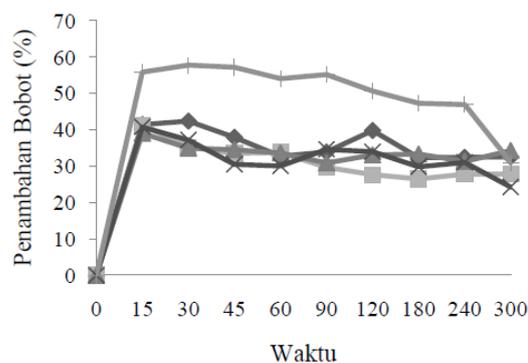


Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi kitosan terhadap efisiensi penjeratan, dengan formula 3% A; E:A 1:2; 0,5 M kalsium klorida. *) $p < 0,05$.

Proses rehidrasi diperlukan untuk proses pelepasan obat atau materi biologis dari mikrosfer kering [12]. Penentuan profil kapasitas mengembang (Gambar 4) menggambarkan proses rehidrasi yang terjadi selama 5 jam pada mikrosfer kering. Pengembangan mikrosfer kering mula-mula terjadi akibat hidrasi gugus hidrofilik dan membentuk ikatan awal dengan air. Jejaring polimer kemudian mengembang dan memaparkan gugus hidrofobik

yang selanjutnya berinteraksi dengan molekul air sehingga dapat menyerap air hingga mencapai tingkat kesetimbangan [13]. Penambahan bobot mikrosfer dengan konsentrasi kitosan 1% lebih besar daripada penambahan bobot mikrosfer tanpa kitosan dengan konsentrasi natrium alginat yang sama. Hal ini dikarenakan dalam kondisi asam, selain terjadi hidrasi gugus hidrofilik pada alginat terjadi pula protonisasi gugus amino pada kitosan yang menyebabkan gaya tolakan sehingga berakibat mengembangnya membran kitosan [14].

Uji mukoadhesi dilakukan untuk menentukan seberapa kuat mikrosfer dapat menempel pada jaringan mukosa. Metode uji yang dipilih adalah *falling liquid film* yang dikembangkan oleh Rao dan Buri (1989) [11] yaitu dengan menempatkan sejumlah tertentu partikel pada lambung atau jejunum tikus dalam lingkungan lembab kemudian dialirkan asam klorida (untuk lambung) atau dapar fosfat (untuk jejunum) sebagai cairan simulasi dengan kecepatan konstan.

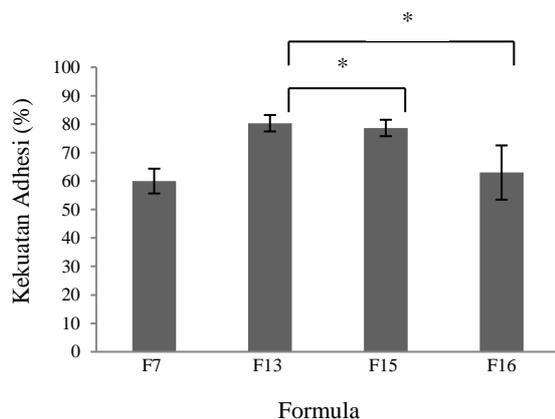


Gambar 4. Profil kapasitas mengembang formula (♦) F6; (■) F8; (X) F13; (+) F15; dan (▲) F16; dalam cairan simulasi lambung ($n=3$).

Uji mukoadhesi dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi natrium alginat dan konsentrasi kitosan terhadap kekuatan mukoadhesi, dengan silika sebagai kontrol negatif. Hasil uji menunjukkan bahwa kekuatan adhesi tidak meningkat secara bermakna dengan peningkatan konsentrasi natrium alginat dari 3% menjadi 4%, namun meningkat dengan peningkatan konsentrasi kitosan hingga 1% (Gambar 5). Kenaikan konsentrasi kitosan dari 0,5 menjadi 1% tidak memberikan perbedaan bermakna terhadap kekuatan adhesi mikrosfer ($p > 0,05$).

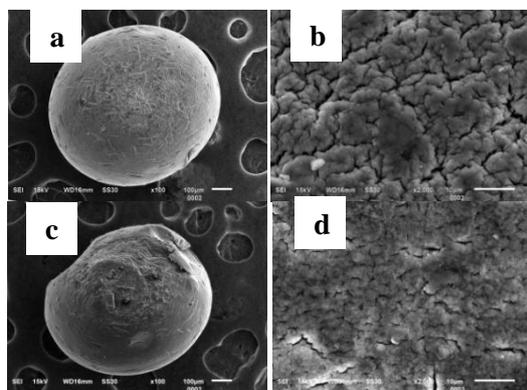
Pada mikrosfer kompleks polielektrolit natrium alginat-kitosan, dapat terjadi interaksi elektrostatik antara muatan positif dari kitosan (pada suasana asam) dengan musin [15]. Musin merupakan komponen glikoprotein pembentuk mukus yang bermuatan negatif karena mengandung residu asam sialat. Hal ini menyebabkan kekuatan mukoadhesi mikrosfer kompleks polielektrolit natrium alginat-

kitosan lebih besar daripada mikrosfer natrium alginat dengan konsentrasi yang sama.



Gambar 5. Grafik kekuatan adhesi berbagai formula mikrosfer. *) $p < 0,05$.

Pengamatan mikrosfer dengan *scanning electron microscope* (SEM) perbesaran 100x pada formula 3% natrium alginat, 0% kitosan, dan 0,5 M kalsium klorida (F7) menghasilkan bentuk yang sferis dan tidak berekor. Pada perbesaran 2000x tampak bahwa terdapat pori pada permukaan mikrosfer. Mikrosfer dengan formula 3% natrium alginat, 0,5% kitosan, dan 0,5 M kalsium klorida (F13) pada perbesaran 100x menunjukkan bentuk yang sferis dengan permukaan yang kurang rata. Pada perbesaran 2000x terlihat adanya pori dengan ukuran lebih kecil dan jumlah lebih sedikit dibanding formula tanpa kitosan (Gambar 6).



Gambar 6. Morfologi permukaan mikrosfer diamati menggunakan SEM. Formula F7 dengan perbesaran (a) 100x, (b) 2000x; dan formula F13 dengan perbesaran (c) 100x, (d) 2000x.

Permukaan yang kurang rata disebabkan oleh adanya kitosan yang bermuatan positif sehingga terjadi kompetisi ikatan dengan ion kalsium yang mengurangi kerapatan ikatan sambung silang alginat-ion kalsium. Selain itu, adanya tonjolan rantai polimer dari kitosan yang muncul pada permukaan sehingga mikrosfer tidak rata. Hal ini

sangat berpengaruh terhadap bentuk permukaan mikrosfer yang dihasilkan.

Kesimpulan

Formula optimum mikrosfer mukoadhesif ekstrak etanol *C. asiatica* diperoleh dengan komposisi 3% natrium alginat, rasio ekstrak-natrium alginat 1:2, 0,5% kitosan, dan 0,5 M kalsium klorida. Mikrosfer yang dihasilkan memiliki distribusi ukuran terbanyak antara 630-710 μm , efisiensi penjeratan $25,48 \pm 1,88\%$, penambahan bobot pada uji kapasitas mengembang $40,76 \pm 1,51\%$ ($t=15$ menit), dan kekuatan adhesi $78,67 \pm 2,89\%$.

Daftar Pustaka

- Abdulla M.A., *et al.*, 2010, Anti-ulcer Activity of *Centella asiatica* Leaf Extract Against Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats, *J Med Plants Res*, 4(13), 1257-1258.
- Andrews, G.P., *et al.*, Mucoadhesive Polymeric Platforms for Controlled Drug Delivery, *Eur J Pharm Biopharm*, 71(3), 505-507
- Cheng, C.L. & M.W.L. Koo, 2000, Effects of *Centella asiatica* on Ethanol Induced Gastric Mucosal Lesions in Rats, *Life Sci*, 67(21), 2652.
- Cheng, C. L., *et al.*, 2003, The Healing Effects of Centella Extract and Asiaticoside on Acetic Acid Induced Gastric Ulcer, *Life Sci*, 74(18), 2246-2247.
- Ditjen POM, 1977, *Materia Medika Indonesia Jilid I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 37.
- Gaudio, P.D., *et al.*, 2005, Mechanisms of Formation and Disintegration of Alginate Beads Obtained by Prilling, *Int J Pharm*, 302(1-2), 6.
- Hoffman, S. Alan, 2001, Hydrogels for Biomedical Application, *Adv Drug Deliver Rev* 54(1), 5-7.
- Inamdar, P.K., *et al.*, 1996, Determination of Biologically Active Constituent in *Centella asiatica*, *J Chromatogr A*, 742(1-2), 128.
- Mathiowitz E., *et al.*, 2001, Bioadhesive Microspheres and Their Use as Drug Delivery and Imaging Systems, *US Patent no 6*, 197, 346 B1, 12.
- Rao, R.K.V. & P. Buri, 1989, A novel *in situ* Method to Test Polymers and Coated Microparticles for Bioadhesion, *Int J Pharm*, 52(3), 265-270.
- Sahasathian, T., *et al.*, 2010, Mucoadhesive and Floating Chitosan-coated Alginate Beads for the

Controlled Gastric Release of Amoxicillin, *Arch Pharm Res*, 33(6), No 6, 892.

Smart, J.D., 2004, *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, DOI: 10.1081/E-EBBE 120007260, 62-65.

Vasir J.K., *et al.*, 2003, Bioadhesive Microspheres as a Controlled Drug Delivery System, *Int J Pharm*, 255(1-2), 13-14, 19, 28.

Zainol, M.M.K., *et al.*, 2009, Effect of Different Drying Methods on the Degradation of Selected Flavonoids in *Centella asiatica*, *International Food Research Journal*, 16, 3-5.