

## Stabilitas Asiatikosida dalam Proses Pembuatan Film Penutup Luka Kitosan yang Mengandung Asiatikosida

Yuni Anggraeni

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
UIN Syarif Hidayatullah Jakarta  
Email: yuni\_anggraeni@yahoo.com

### Abstrak

Stabilitas obat terhadap proses pembuatan sediaan sangat perlu diperhatikan karena akan menentukan kualitas sediaan obat yang dihasilkan baik efek terapeutik maupun keamanan sediaan obat tersebut. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mempelajari stabilitas asiatikosida selama proses pembuatan film penutup luka kitosan yang mengandung asiatikosida. Sampel uji disiapkan dengan mendispersikan asiatikosida dalam aquadest 35 ml (SA1) dan 55 ml (SA2), serta dalam bahan pembentuk film BPF1 35 ml dan BPF2 55 ml. Suspensi asiatikosida dikeringkan menggunakan oven pada temperatur 60°C selama 26.5 jam untuk SA1 dan BPF1 dan 47 jam untuk SA2 dan BPF2. Asiatikosida dalam sampel ditentukan kadarnya dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan metode elusi gradient. Hasilnya menunjukkan kadar asiatikosida dalam SA1, SA2, BPF1, dan BPF2 berturut-turut 94.59%, 96.42%, 92.24%, dan 97.62%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa asiatikosida stabil selama proses pembuatan film penutup luka kitosan.

**Kata kunci :** Asiatikosida, kitosan, penutupluka, proses pembuatan, stabilitas

### Abstract

Drug stability during preparation process is very noteworthy because it will determine the quality of drug product produced both therapeutic effect and safety of the drug. Therefore, this research was conducted to study the stability of asiaticoside during preparation process of chitosan wound dressing containing asiaticoside. The samples were prepared by dispersing asiaticoside in 35 ml (SA1) and 55 ml (SA2) of distilled water and 35 ml (BPF1) and 55 ml (BPF2) liquid film-forming. Asiaticoside suspensions were drying using oven on temperature 60°C for 26.5 hours for SA1 and BPF1 and 47 hours for SA2 and BPF2. Asiaticoside content in the samples were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) using elution gradient method. The result showed that asiaticoside content in SA1, SA2, BPF1, and BPF2 were respectively 94.59%, 96.42%, 92.24%, and 97.62%. The conclusion was that asiaticoside was stable during preparation process of chitosan wound dressing containing asiaticoside.

**Keywords:** Asiaticoside, chitosan, preparation process, stability, wound dressing

## 1. PENDAHULUAN

Pengobatan berbasis bahan alam sudah dilakukan sejak zaman dulu. Semakin berkembangnya penelitian obat bahan alam, kini banyak ditemukan isolat-isolat bahan alam yang bertanggung jawab terhadap efek farmakologi yang dimiliki oleh suatu tanaman. Salah satu isolat yang sudah ditemukan dan diteliti aktivitas farmakologinya adalah asiatikosida yang berasal dari tanaman pegagan atau *Centella asiatica* (L). urban. Asiatikosida telah diteliti, baik secara topical maupun oral dapat

meningkatkan laju penyembuhan luka secara signifikan melalui peningkatan sintesis kolagen dan kekuatan tarik jaringan luka, mempercepat epitelisasi, dan meningkatkan angiogenesis. Asiatikosida cukup efektif digunakan sebagai obat untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Shukla *et al.* 1999).

Dengan semakin berkembangnya teknologi penghantaran obat, kini obat-obat yang berasal dari alam pun banyak diberikan dalam berbagai bentuk sediaan. Sebagai obat luka, asiatikosida dapat diformulasi menjadi berbagai bentuk sediaan. Untuk sediaan topical,

asiatikosida dapat diformulasi menjadi sediaan jel, serat, aerosol, atau film penutup luka.

Saat ini, asiatikosida sedang diupayakan untuk diformulasi menjadi sediaan film penutup luka dengan basis kitosan. Film penutup luka ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mengobati luka terbuka tanpa menimbulkan rasa sakit akibat penggantian penutup luka tersebut karena kitosan yang digunakan sebagai basis film bersifat biodegradable dengan hasil urai gulaamin yang aman untuk tubuh (Lim dan Halim 2010).

Setiap tahapan dalam proses pembuatan suatu sediaan obat dapat berpotensi mempengaruhi stabilitas obat yang dibawanya. Stabilitas obat menjadi perhatian yang sangat penting untuk menjamin mutu sediaan. Segala proses yang terlibat dalam pembuatan sediaan tidak boleh mengganggu stabilitas obat sehingga aktivitas dan keamanan obat tidak berubah baik sebelum maupun sesudah formulasi.

Oleh karenanya, dalam penelitian ini peneliti bermaksud untuk mengkaji stabilitas asiatikosida selama proses pembuatan film penutup luka kitosan yang mengandung asiatikosida. Dengan demikian diharapkan film penutup luka yang mengandung asiatikosida yang dihasilkan masih memiliki khasiat dan keamanan yang baik.

## 2. METODE PENELITIAN

### Bahan

Kitosan (Biotech Surindo; berat molekul sedang, derajat deasetilasi > 85%), natrium tripolifosfat (Wako), asiatikosida (Xi'an Guanyo Bio-tech).

### Penyiapan Sampel Asiatikosida

Pembuatan sampel disesuaikan dengan kondisi dan formula dalam pembuatan film kitosan yang sudah dilakukan.

### Suspensi Asiatikosida dalam Aquadest

Asiatikosida ditimbang sebanyak 75 mg dan disuspensikan ke dalam 35 ml dan 55 ml aquadest yang selanjutnya berturut-turut disebut SA1 dan SA2. SA1 dan SA2 dituangkan ke dalam wadah plastik berukuran sekitar 7 x 5 cm.

### Suspensi Asiatikosida dalam Bahan Pembentuk Film

BPF1: kitosan sebanyak 2 g ditimbang dan disuspensikan dengan 100 ml aquadest dengan menggunakan pengaduk magnetik pada

kecepatan sedang, selanjutnya larutan asam laktat 2% sebanyak 100 ml ditambahkan ke dalam suspensi kitosan sambil terus diaduk hingga kitosan larut. Larutan kitosan yang diperoleh disaring menggunakan kain dengan bantuan vakum untuk menghilangkan partikel pengotor. Larutan kitosan sebanyak 25 ml dinetralkan dengan natrium hidroksida 0.1 N hingga pH 5 kemudian ditambahkan gliserin:sorbitol 70% (1:1) sebanyak 187.5 µl sambil terus diaduk. Selanjutnya asiatikosida sebanyak 75 mg disuspensikan hingga homogen. Gelembung yang terbentuk dihilangkan dengan penyedokan. Sampel yang diperoleh dituang ke dalam wadah plastik berukuran sekitar 7 x 5 cm (Yuni 2012).

BPF2: BPF2 dibuat dengan cara yang sama dengan BPF1. Bedanya pada BPF2, larutan kitosan ditambahkan larutan Sodium Tripolifosfat (STPP) 0.1% melalui buret sebanyak 30 ml sambil diaduk dengan pengaduk magnetik dengan kecepatan sedang sebelum dinetralkan dengan natrium hidroksida 0.1 N (Anggraeni 2012).

### Pengeringan Sampel

Sampel yang sudah dibuat (SA1, SA2, BPF1, dan BPF2) dikeringkan dalam oven bertemperatur 60°C. SA1 dan BPF 1 dioven selama 26.5 jam sedangkan SA2 dan BPF 2 dioven selama 47 jam. Lama pengeringan disesuaikan dengan kondisi pembuatan film kitosan yang sudah dilakukan (Anggraeni 2012).

### Pembuatan Dapar Asetat pH 5 yang Mengandung Metanol 10%

Asam asetat 20% dibuat dengan cara melarutkan 20 ml asam asetat glasial dalam 100 ml aquadest. Asam asetat 20% diambil 10 ml dan ditambahkan aquadest hingga 250 ml. Kemudian ditambahkan dengan NaOH 2 N hingga pH 5. Setelah itu, ditambahkan 50 ml metanol dan ditambah aquadest hingga 500 ml. Selanjutnya, larutan ini disebut DAM (daparasetat metanol) (Anggraeni 2012).

### Penetapan Kadar Asiatikosida SA1 dan SA2

Sampel SA1 dan SA2 yang sudah dikeringkan dilarutkan dalam 25 ml DAM. Wadah sampel dibilas dengan 50 ml DAM. Kemudian larutan sampel dimasukkan ke dalam vial ukuran 250 ml dan diaduk dengan pengaduk

magnetik selama 1 jam. Selanjutnya, larutan SA1 dan SA2 ditambah dengan 25 ml metanol dan diaduk kembali dengan pengaduk magnetik selama 1 jam. Sampel diambil dengan spuit, kemudian disaring dengan membran filter ukuran 0.22 µm dan disuntikan ke dalam KCKT dengan sistem yang sudah dioptimasi sebelumnya. Kemudian dilihat luas area kromatogram dari asiatikosidanya dan dibandingkan dengan kontrol (Anggraeni 2012).

**BPF 1 dan BPF 2**

Sampel BPF1 dan BPF2 yang sudah dikeringkan berbentuk film dan dimasukkan ke dalam wadah homogenizer. Wadah bekas sampel BPF1 dan BPF2 dibilas dengan DAM sebanyak 25 ml. Hasil bilasan digabungkan dengan sampel dalam wadah homogenizer. Sampel tersebut dihancurkan dengan homogenizer selama 12 menit dengan kecepatan 11.000 rpm. Sampel yang sudah hancur dimasukkan ke dalam vial ukuran 250 ml dan sisa sampel dalam wadah homogenizer dibilas dengan 50 ml DAM. Sampel diaduk dengan pengaduk magnetik dengan kecepatan rendah selama 1 jam. Selanjutnya, ditambah dengan 25 ml metanol dan diaduk kembali dengan pengaduk magnetik selama 1 jam. Sampel diambil dengan spuit, kemudian disaring dengan membran filter ukuran 0.22 µm dan disuntikan ke dalam KCKT dengan sistem yang sudah dioptimasi sebelumnya. Kemudian dilihat luas area kromatogram dari asiatikosidanya dan dibandingkan dengan kontrol (Yuni 2012).

**Kontrol**

Kontrol dibuat dengan cara melarutkan 75 mg asiatikosida ke dalam 75 ml DAM. Kemudian larutan asiatikosida dimasukkan ke dalam vial ukuran 250 ml dan diaduk dengan pengaduk magnetik selama 1 jam. Selanjutnya, larutan tersebut ditambah dengan 25 ml metanol dan diaduk kembali dengan pengaduk magnetik selama 1 jam. Sampel diambil dengan spuit, kemudian disaring dengan membran filter ukuran 0.22 µm dan disuntikan ke dalam KCKT dengan sistem yang sudah dioptimasi sebelumnya. Kemudian dilihat luas area kromatogram dari asiatikosidanya.

**Analisis Kadar Asiatikosida**

**Tabel 1.** Gradient Fase Gerak KCKT

| Menit ke- | Air (%) | Asetonitril (%) |
|-----------|---------|-----------------|
| 0         | 80      | 20              |
| 15        | 65      | 35              |
| 30        | 35      | 65              |
| 35        | 20      | 80              |
| 40        | 20      | 80              |
| 45        | 80      | 20              |
| 55        | 80      | 20              |

Penetapan kadar asiatikosida dilakukan dengan metode KCKT elusi gradient menggunakan *Ultimate 3000 UHPLC Dionex*, kolom *Acclaim® 120 C18* ukuran 4.6 x 250 mm dengan ukuran partikel 5 µm dari Dionex. Detektor yang digunakan adalah detektor UV pada panjang gelombang 206 nm (Rafamantanana *et al.* 2009). Laju alir yang digunakan 1 ml/menit, temperature kolom 27°C. Fase gerak yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Kadar asiatikosida dalam sampel ditentukan dengan membandingkan nilai AUC (*area under curve*) kromatogram asiatikosida sampel dengan control dan dihitung dengan persamaan :

$$Q_s = \frac{AUC_s}{AUC_p} \times Q_p \quad (1)$$

Di mana Q<sub>s</sub> kadar obat sampel, Q<sub>p</sub> kadar obat pembanding, AUC<sub>s</sub> AUC sampel dan AUC<sub>p</sub> AUC pembanding.

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Tabel 2.** Kadar Asiatikosida dalam Sampel

| Sampel  | Kadar Asiatikosida |                    |
|---------|--------------------|--------------------|
|         | mg                 | % terhadap kontrol |
| Kontrol | 75,00              | 100,00             |
| SA1     | 70,94              | 94,59              |
| SA2     | 72,32              | 96,42              |
| BPF1    | 69,18              | 92,24              |
| BPF2    | 73,21              | 97,62              |

BPF1 mewakili sampel film kitosan dan BPF2 mewakili sampel film sambung silang kitosan-tripolifosfat. Kadar asiatikosida di dalam BPF1 dan BPF2 setelah pengeringan akan menunjukkan seberapa stabil asiatikosida

terhadap pemanasan dalam proses pembuatan film masing-masing. Lain halnya dengan BPF1 dan BPF2, kadar asiatikosida dalam SA1 dan SA2 turut ditentukan untuk mengkonfirmasi apakah komponen bahan pembentuk film juga mempengaruhi stabilitas asiatikosida atau tidak.

Hasil penetapan kadar dalam sampel menunjukkan bahwa kadar asiatikosida dalam sampel SA1, SA2, BPF1, dan BPF2 berturut-turut 94.59%, 96.42%, 92.24%, dan 97.62% dibandingkan dengan kontrol. SA2 yang dipanaskan lebih lama daripada SA1 mengandung asiatikosida dengan kadar yang lebih besar daripada SA1. Begitupun juga pada sampel BPF. Hal ini menunjukkan bahwa asiatikosida stabil terhadap pemanasan karena dengan bertambah lamanya waktu pemanasan tidak menyebabkan penurunan kadar asiatikosida. Adapun penurunan kadar dibandingkan kontrol salah satunya bisa disebabkan oleh perolehan kembali asiatikosida dalam sampel yang tidak mencapai 100% dibandingkan dengan kadar awal. Lingkungan bahan pembentuk film pun tidak menyebabkan degradasi asiatikosida yang dibawanya. Hal ini terbukti dari kadar asiatikosida dalam sampel BPF hampir sama dengan kadar asiatikosida dalam sampel SA yang hanya mendapatkan lingkungan air.

#### 4. SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa asiatikosida stabil selama

proses pembuatan film penutup luka kitosan yang mengandung asiatikosida.

#### Ucapan Terima kasih

Terimakasih kepada Pusat Penelitian dan Penerbitan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah mendanai penelitian ini.

#### Daftar Pustaka

- Shukla A. 1999. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *Journal of Ethnopharmacology*. 65(1): 1-11.
- Lim CK, Halim AS. 2010. Biomedical-grade chitosan in wound management and its biocompatibility in vitro. *Biopolymers*. 19-33.
- Anggraeni, Y. 2012. Preparasi dan karakterisasi film sambungsilang kitosan-tripolifosfat yang mengandung asiatikosida sebagai pembalut bioaktif untuk luka. [Tesis]. Depok (ID). Universitas Indonesia.
- Rafamantanana MH. 2009. An improved HPLC-UV method for the simultaneous quantification of triterpenic glycosides and aglycones in leaves of *Centella asiatica* (L.) Urb (APIACEAE). *Journal of Chromatography B*. 877:2396-2402.