

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI SUBMIKRO PARTIKEL
POLY(LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID) PEMBAWA
ROKSITROMISIN DENGAN *STABILIZER POLY(VINYL ALCOHOL)***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh :

ANDREW

08121006075

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2016

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah : PREPARASI DAN KARAKTERISASI SUBMIKRO
PARTIKEL *POLY(LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID)*
PEMBAWA ROKSITROMISIN DENGAN
STABILIZER POLY(VINYL ALCOHOL)

Nama Mahasiswa : ANDREW
NIM : 08121006075
Program Studi : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sriwijaya pada tanggal 13 Juni 2016 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 21 Juni 2016

Pembimbing :

1. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. (.....)
NIP. 197103101998021002
2. Najma Annuria Fithri, S.Farm., M.Sc., Apt. (.....)
NIP. 198803252015042002

Pembahas :

1. Laida Neti Mulyani, M.Si. (.....)
NIP. 198504262015042002
2. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt. (.....)
NIPUS. 198711272015107201
3. Indah Solihah, M.Sc., Apt. (.....)
NIPUS. 198803082015107201

Mengetahui

Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PREPARASI DAN KARAKTERISASI SUBMIKRO
PARTIKEL *POLY(LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID)*
PEMBAWA ROKSITROMISIN DENGAN
STABILIZER POLY(VINYL ALCOHOL)

Nama Mahasiswa : ANDREW
NIM : 08121006075
Program Studi : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sriwijaya pada tanggal 21 Juli 2016 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 22 Juli 2016

Ketua :

1. Herlina, M.Kes., Apt.

NIP. 197107031998022001

(.....)

Anggota :

1. Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.

NIP. 197103101998021002

(.....)

2. Fitrya, M.Kes., Apt.

NIP. 197212101999032001

(.....)

3. Shaum Shiyan, M.Sc., Apt.

NIP. 198605282012121005

(.....)

4. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt.

NIPUS. 198711272015107201

(.....)

Mengetahui

Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Andrew

NIM : 08121006075

Fakultas/Program Studi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 23 Juli 2016

Penulis,



Andrew

NIM. 08121006075

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Andrew
NIM : 08121006075
Fakultas/Program Studi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif” (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel *Poly(Lactic-Co-Glycolic Acid)* Pembawa Roksitromisin dengan *Stabilizer Poly(Vinyl Alcohol)*” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, 23 Juli 2016
Penulis,



Andrew
NIM. 08121006075

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

Shalom Aleichem

Dalam nama Tuhan Yesus Kristus

Dengan segala kebaikan-Nya

Saya persembahkan skripsi ini untuk

Tuhan Yesus,

Keluarga tercinta,

Dan teman-teman seperjuangan di Farmasi

Motto:

“Apa pun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia.” Kolose 3:23

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yesus atas segala kasih karunia dan berkat-Nya yang selalu cukup untuk setiap kita. Berkat pertolongan, hikmat, dan izin-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel *Poly(Lactic-Co-Glycolic Acid)* Pembawa Roksitromisin dengan *Stabilizer Poly(Vinyl Alcohol)*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di program studi Farmasi pada Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. Selain itu, skripsi ini ditulis untuk memberikan informasi mengenai pengembangan sediaan roksitromisin konvensional menjadi sediaan submikro partikel.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Papa dan Mama tercinta yang selalu berdoa, memberikan semangat, perhatian, kasih sayang, dan yang terpenting selalu ada di setiap musim hidupku. Adik-adikku Victor dan Auryn Nathania Novem yang memberikan dukungan agar selalu semangat mengerjakan penelitian sampai selesai.
2. Rektor Universitas Sriwijaya dan Dekan Fakultas MIPA serta Ketua Program Studi Farmasi atas sarana dan prasarana yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
3. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. dan Ibu Najma Annuria Fithri, S.Farm., M.Sc., Apt. sebagai pembimbing pertama dan kedua yang telah memberikan ilmu, waktu, semangat, motivasi, dan kepercayaan kepada saya dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Ibu Fitriya, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah banyak memberikan arahan, wawasan, motivasi, dan perhatian dari awal perkuliahan sampai saya berhasil menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Laida Nety Mulyani, M.Si., Ibu Rennie Puspa Novita, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt., dan Ibu Indah Solihah, M.Sc. sebagai dosen

pembahas yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini.

6. Seluruh dosen Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan pengetahuan, wawasan dan bantuan dalam studi penulis baik di dalam maupun di luar lingkungan kampus selama ini.
7. Seluruh staf dan analis laboratorium Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah banyak memberikan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan lancar.
8. Seluruh sahabat-sahabatku Farmasi 2012 dan secara khusus kepada *Sharing Foundation Team*: Jeffry, Try, Lita, Monica, Anis, dan Fanny yang telah memberikan cinta, semangat, waktu, motivasi, dan bantuan selama penelitian.
9. Teman-teman Universitas Islam Indonesia, Fahmi, Beni, dan Fajar, yang telah memberikan sukacita, waktu, tenaga, cerita, serta bantuan selama penelitian di Yogyakarta.

Penulis sangat bersyukur dan berterima kasih atas segala kebaikan, bantuan, doa, dan motivasi yang diberikan dari semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga Tuhan Yesus selalu menyertai dan membalas setiap kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan banyak manfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Inderalaya, 23 Juli 2016
Penulis,



Andrew
NIM. 08121006075

Preparation and Characterization of Submicro Particles Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Loading Roxithromycin Using Stabilizer Poly(Vinyl Alcohol)

**Andrew
08121006075**

ABSTRACT

According to Biopharmaceutics Classification System (BCS), roxithromycin is classified in class II which means it has low solubility in water but high permeability towards biological membrane. Low solubility will affect drug's bioavailability hence, preparation and characterization of submicro roxithromycin has been done to improve the solubility in order improve the bioavailability in systemic circulation. Preparation has been done with single emulsion solvent evaporation method using Poly (Lactic-co-Glycolic Acid) (PLGA) as polymer and Poly(Vinyl Alcohol) (PVA) as stabilizer. PVA's concentration was varied in 3 formulas (1,6; 2,0; and 2,4 %). Determination of encapsulation efficiency percentage (% EE) for formula 2 was $95,697 \pm 0,093$ % whereas the value for formula 1 and 3 were $94,831 \pm 0,165$ and $95,507 \pm 0,137$ %. Characterization of diameter, polydispersity index (PDI), and zeta potential using Particle Size Analyzer (PSA) for formula 2 were $288,2 \pm 27,4$ nm, 0,081, and -1,3 mV, while the result of formula 3 were $253,3 \pm 11,8$ nm, 0,047, and -0,5 mV. Morphology particle analysis of formula 2 has been done using Transmission Electron Microscope (TEM) which showed spheric and rod shaped particle. Stability test of its physical properties using variation of pH for 14 days showed formula 2 was more stable in pH 6, but not in pH 7. Dissolution test which has been done for submicro PLGA-roxithromycin and roxithromycin conventional capsule obtained the result of Dissolution Efficiency (DE) $82,939 \pm 2,298$ % and $3,466 \pm 0,101$ %. Respectively rate and mechanism of release PLGA-roxithromycin followed zero order and Higuchi model. The DE value showed that submicro dosage form could improve roxithromycin solubility which resulted towards higher bioavailability compared to conventional dosage form.

Key words: Roxithromycin, PLGA, PVA, Submicro Particle, Dissolution

**Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel *Poly (Lactic-Co-Gycolic Acid)*
Pembawa Roksitromisin dengan *Stabilizer Poly(Vinyl Alcohol)***

**Andrew
08121006075**

ABSTRAK

Roksitromisin tergolong dalam *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas II yang menunjukkan bahwa kelarutannya rendah dalam air tetapi memiliki permeabilitas yang tinggi. Kelarutan yang rendah akan mempengaruhi bioavailabilitas suatu obat maka dilakukan preparasi dan karakterisasi terhadap roksitromisin menjadi ukuran submikro untuk meningkatkan kelarutannya sehingga dapat memperbaiki bioavailabilitasnya pada sirkulasi sistemik. Preparasi dilakukan dengan metode *single emulsion solvent evaporation* yang menggunakan polimer *Poly (Lactic-co-Glycolic Acid)* (PLGA) dan *stabilizer Poly(Vinyl Alcohol)* (PVA). Variasi konsentrasi PVA dilakukan terhadap ketiga formula antara lain 1,6 % untuk formula 1, 2 % untuk formula 2, dan 2,4 % untuk formula 3. Penentuan persen efisiensi enkapsulasi (% EE) diperoleh hasil untuk ketiga formula antara lain $94,831 \pm 0,165$ % (formula 1), $95,697 \pm 0,093$ % (formula 2), dan $95,507 \pm 0,137$ % (formula 3). Formula 2 dan 3 dilakukan karakterisasi terhadap sifat fisika menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) sehingga diperoleh hasil untuk formula 2 yaitu diameter partikel $288,2 \pm 27,4$ nm, distribusi ukuran (PDI) 0,018, dan zeta potensial -1,3 mV sedangkan untuk formula 3 yaitu diameter partikel $253,3 \pm 11,8$ nm, distribusi ukuran 0,047, dan zeta potensial -0,5 mV. Analisis morfologi partikel dengan *Transmission Electron Microscope* (TEM) terhadap formula 2 diperoleh bentuk partikel bulat dan batang. Pengujian stabilitas sifat fisika terhadap variasi pH selama 14 hari menunjukkan bahwa formula 2 lebih stabil pada pH 6,0 namun tidak stabil pada pH 7,0. Analisis disolusi yang dilakukan terhadap submikro partikel PLGA-roksitromisin dan tablet konvensional roksitromisin menghasilkan nilai *Dissolution Efficiency* (DE) masing-masing sebesar $82,939 \pm 2,298$ % dan $3,466 \pm 0,101$ %. Laju dan mekanisme pelepasan submikro PLGA-roksitromisin mengikuti orde 0 dan model Higuchi. Nilai DE tersebut menunjukkan bahwa sediaan submikro dapat meningkatkan kelarutan obat sehingga bioavailabilitasnya dalam tubuh akan lebih besar jika dibandingkan dengan sediaan konvensional.

Kata kunci: Roksitromisin, PLGA, PVA, Submikro Partikel, Disolusi

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
<i>ABSTRACT</i>	ix
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Roksitromisin.....	6
2.1.1 Sifat Fisikokimia.....	7
2.1.2 Farmakokinetik	8
2.1.3 Farmakodinamik	9
2.1.4 Dosis dan Penggunaan	9
2.1.5 Indikasi dan Kontraindikasi	10
2.1.6 Mekanisme Kerja.....	10
2.1.7 Toksisitas dan Efek Samping.....	11
2.1.8 BCS Roksitromisin	11
2.2 Teknologi Partikel.....	12
2.3 Metode Pembuatan Submikro Partikel	13
2.4 Bahan Pembuat Submikro Partikel	16
2.4.1 <i>Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)</i> (PLGA)	16
2.4.2 <i>Poly(Vinyl Alcohol)</i> (PVA).....	19
2.5 Karakterisasi Partikel	21
2.5.1 Morfologi Partikel.....	21
2.5.2 Diameter dan Distribusi Partikel.....	23
2.5.3 Zeta Potensial.....	24
2.6 Persen Efisiensi Enkapsulasi.....	25
2.7 Alat Uji Disolusi	26
2.7.1 Analisis Laju Uji Disolusi.....	27

BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	31
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	31
3.2 Alat dan Bahan.....	31
3.2.1 Alat.....	31
3.2.2 Bahan.....	31
3.3 Preparasi Bahan.....	32
3.3.1 Preparasi Larutan Induk Roksitromisin.....	32
3.3.2 Preparasi <i>Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)</i> (PLGA).....	32
3.3.3 Preparasi <i>Poly(Vinyl Alcohol)</i> (PVA).....	33
3.4 Formulasi.....	33
3.5 Preparasi Partikel Roksitromisin.....	33
3.6 Purifikasi Partikel dan Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi.....	34
3.7 Evaluasi dan Karakterisasi Partikel.....	35
3.7.1 Penentuan Diameter, Distribusi Ukuran, dan Zeta Potensial Partikel.....	35
3.7.2 Penentuan Morfologi Partikel.....	36
3.8 Pengujian Stabilitas.....	36
3.8.1 Prosedur Pembuatan Dapar Fosfat pH 5,6; 6,0; dan 7,0.....	36
3.8.2 Uji Stabilitas.....	37
3.9 Pengujian Disolusi.....	37
3.9.1 Prosedur Pembuatan Dapar Fosfat pH 6,8.....	37
3.9.2 Uji Disolusi.....	38
3.10 Analisis Data.....	38
3.10.1 Penafsiran Data Hasil Uji Persen Efisiensi Enkapsulasi.....	38
3.10.2 Penafsiran Data Hasil TEM dan PSA.....	38
3.10.3 Penafsiran Hasil Disolusi dan Kinetika Pelepasan Obat.....	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40
4.1 Preparasi Bahan.....	40
4.2 Preparasi Submikro Partikel PLGA-Roksitromisin.....	42
4.3 Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi (% EE).....	44
4.4 Karakterisasi Submikro Partikel PLGA-Roksitromisin.....	48
4.4.1 Penentuan Diameter, Distribusi Ukuran, dan Zeta Potensial Partikel.....	48
4.4.2 Penentuan Morfologi Partikel.....	51
4.5 Uji Stabilitas Submikro Partikel PLGA-Roksitromisin.....	53
4.6 Pengujian Disolusi.....	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN.....	69

DAFTAR SINGKATAN

ADI	: <i>Acceptable Daily Intake</i>
API	: <i>Aqua Pro Injection</i>
ASI	: <i>Air Susu Ibu</i>
AUC	: <i>Area Under Curve</i>
BCS	: <i>Biopharmaceutics Classification System</i>
DE	: <i>Dissolution Efficiency</i>
DLS	: <i>Dynamic Light Scattering</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EE	: <i>Efisiensi enkapsulasi</i>
LD	: <i>Letal Dose</i>
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
O/W	: <i>Oil/Water</i>
PEG	: <i>Polietilen glikol</i>
PGA	: <i>Poly(Glycolic Acid)</i>
pH	: <i>Potential Hydrogen</i>
pKa	: <i>Professionally Known As</i>
PLA	: <i>Poly(Lactic Acid)</i>
PLGA	: <i>Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)</i>
PSA	: <i>Particle Size Analyzer</i>
PVA	: <i>Poly(Vinyl Alcohol)</i>
PVADH	: <i>Polyvinyl alcohol dehydrogenase</i>
R	: <i>Regresi</i>
RSD	: <i>Relative Standard Deviation</i>
SD	: <i>Standard Deviation</i>
SEM	: <i>Scanning Electron Microscopy</i>
Sig	: <i>Signifikansi</i>
TEM	: <i>Transmission Electron Microscopy</i>
Tg	: <i>Transition glass</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-Visible</i>
W/O/W	: <i>Water/Oil/Water</i>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Interpretasi Mekanisme Pelepasan Obat	30
Tabel 2. Formulasi Partikel PLGA-Roksitromisin.....	33
Tabel 3. Penurunan Stabilitas Diameter, PDI, dan Zeta Potensial Submikro Partikel PLGA-Roksitromisin Terhadap Variasi pH selama 14 Hari	55
Tabel 4. Laju dan Mekanisme Pelepasan Submikro PLGA-Roksitromisin dan Roksitromisin Murni	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Senyawa Antibiotik Roksitromisin	7
Gambar 2. Struktur Senyawa PLGA	17
Gambar 3. Reaksi Hidrolisis Senyawa PLGA	18
Gambar 4. Struktur Senyawa PVA	19
Gambar 5. Reaksi Hidrolisis Senyawa PVA.....	20
Gambar 6. Prinsip Kerja TEM	22
Gambar 7. Prinsip Kerja DLS	24
Gambar 8. Prinsip Kerja Spektrofotometer UV-Vis	26
Gambar 9. Hasil Uji Morfologi Partikel PLGA-Roksitromisin Formula 2 Menggunakan TEM(a) dan <i>ImageJ</i> [®] (b)	52
Gambar 10. Grafik Rata-Rata Persen Pelepasan Submikro dan Konvensional Roksitromisin Terhadap Waktu	57
Gambar 11. Mekanisme Pelepasan Obat Roksitromisin Murni Mengikuti Model Higuchi	59
Gambar 12. Mekanisme Pelepasan Obat Submikro Partikel Mengikuti Model Higuchi	60

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Umum	69
Lampiran 2. <i>Certificate of Analysis</i> Roksitromisin.....	70
Lampiran 3. Submikro Partikel PLGA-Roksitromisin.....	71
Lampiran 4. Proses Emulsifikasi dan Homogenisasi Partikel	72
Lampiran 5. Viva-Spin 300 kDa	73
Lampiran 6. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Roksitromisin.....	74
Lampiran 7. Kurva Kalibrasi Persen EE Roksitromisin	75
Lampiran 8. Persen EE.....	76
Lampiran 9. Sertifikat Distribusi Ukuran Partikel dan Zeta Potensial.....	77
Lampiran 10. Sertifikat Ukuran dan PDI Formula 2 PLGA-Roksitromisin	78
Lampiran 11. Sertifikat Ukuran dan PDI Formula 3 PLGA-Roksitromisin	79
Lampiran 12. Pengukuran PSA.....	80
Lampiran 13. Hasil Olah Gambar Morfologi Partikel Menggunakan <i>Image J</i> [®] ...	82
Lampiran 14. Hasil TEM	83
Lampiran 15. Uji Stabilitas Sediaan Submikro Roksitromisin Pada pH 5,6; 6,0; dan 7,0	84
Lampiran 16. Kurva Kalibrasi Disolusi Roksitromisin.....	86
Lampiran 17. Perhitungan Hasil Uji Disolusi Roksitromisin	87
Lampiran 18. Hasil Olah Data SPSS.....	98
Lampiran 19. Hasil Evaluasi dan Karakterisasi Submikro Partikel PLGA- Roksitromisin.....	110

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Roksitromisin merupakan obat yang memegang peranan penting dalam menanggulangi berbagai penyakit yang diakibatkan infeksi bakteri. Obat roksitromisin termasuk salah satu antibiotik golongan makrolida semisintetik yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi pada saluran pernapasan seperti pneumonia. Data dari Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 menunjukkan bahwa pneumonia adalah penyebab kematian kedua pada balita setelah diare. Pada tahun 2007 diperkirakan terdapat 1,8 juta kematian akibat pneumonia atau sekitar 20 % dari total 9 juta kematian pada anak.

Terapi pneumonia dapat menggunakan obat roksitromisin dengan dosis dewasa 300 mg. Dosis terapi yang besar dapat meningkatkan efek samping terhadap tubuh seperti gangguan saluran pencernaan (diare, mual, muntah, dan dispepsia). Sifat fisikokimia dari roksitromisin antara lain berat molekul yang besar (837 Da) dan kelarutan yang rendah dalam air (0,187 mg/mL) dengan *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas II (Kumar *et al.*, 2014).

Antibiotik roksitromisin memiliki kelarutan yang rendah sehingga dapat berpengaruh pada bioavailabilitasnya (Agoes, 2012). Prinsip nanopartikel dalam bidang farmasi dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan roksitromisin sehingga dapat memperbaiki bioavailabilitasnya pada sirkulasi sistemik. Nanopartikel juga mempunyai sistem penghantaran obat yang langsung dipengaruhi oleh ukuran partikel serta dapat memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih kecil dan efisien (Hu *and* Li, 2011).

Ukuran partikel yang sangat kecil dalam skala nanometer dapat menembus membran inti sel dan menyebabkan kerusakan genetik yang tidak diinginkan atau mutasi (Rawat *et al.*, 2006). Satuan ukuran submikro sekitar 200 – 500 nm menjadi pilihan dalam pembuatan partikel obat karena dapat diterima baik oleh tubuh manusia (Reis *et al.*, 2006). Preparasi submikro partikel dapat dilakukan dengan cara mengenkapsulasi senyawa obat dalam suatu sistem pembawa (Rachmawati *et al.*, 2007).

Pada preparasi submikro partikel dengan *metode emulsion solvent evaporation* ada dua hal yang harus diperhatikan antara lain polimer dan *stabilizer*. Polimer yang akan digunakan adalah *poly(lactic-co-glycolic acid)* (PLGA) karena memiliki sifat non polar sesuai dengan syarat polimer pada *metode emulsion solvent evaporation*. Xie and Smith (2010) melaporkan telah dapat menghasilkan sistem teknologi submikro partikel berbasis *poly(lactic-co-glycolic acid)* (PLGA) dengan distribusi ukuran partikel yang homogen. Senyawa PLGA telah dilaporkan dapat dimanfaatkan sebagai penghantaran DNA dengan metode evaporasi difusi. Teknologi submikro partikel gabungan antara PLGA dan poli etilen glikol (PEG) juga telah terbukti mempunyai peran dalam membentuk sistem penghantaran obat dengan pelepasan terkontrol (Vij *et al.*, 2010). PLGA telah digunakan pada preparasi PLGA-*capecitabine* dengan metode *solvent evaporation* dengan hasil efisiensi enkapsulasi sebesar 88,4 % (Sun *et al.*, 2015).

Polyvinyl alcohol (PVA) adalah suatu resin yang dibuat dari penggabungan molekul-molekul (polimerisasi) yang diperoleh dari hidrolisis polimer vinil ester dengan menggunakan material awal polivinil asetat (Kroschwitz, 1998). PVA telah digunakan pada penelitian Kemala *et al.* (2010)

sebagai emulsifier pada sediaan mikrosfer *poly(lactic acid)* dan *poly(ϵ -caprolactone)* dihasilkan efisiensi enkapsulasi sebesar 86,59 %. Gugus hidrofob (vinil) dan hidrofil (OH) yang dimiliki oleh PVA dapat menjaga kestabilan antara fase minyak dan air pada suatu emulsi. Nilai persen efisiensi enkapsulasi yang mendekati 100 % menunjukkan partikel terenkapsulasi dengan baik dan semakin stabil dikarenakan PVA mempunyai rantai karbon (gugus hidrofob) yang panjang sehingga dapat membentuk rintangan sterik yang besar di sekeliling *droplet* emulsi. Penambahan PVA pada partikel berukuran besar tidak mempengaruhi penambahan diameter partikel yang terbentuk. Kombinasi PLGA dan PVA digunakan pada preparasi submikro partikel PLGA-roksitromisin dikarenakan PLGA dan PVA memiliki ikatan yang kuat dan sesuai dengan metode *emulsion solvent evaporation* yang membutuhkan gugus polar dan nonpolar pada proses preparasinya (Lee *et al.*, 1999).

Pemilihan polimer dan *stabilizer* sangat berpengaruh pada karakteristik dari suatu partikel yang akan dihasilkan, terutama ukuran partikel untuk digunakan dalam bidang farmasi. Variasi ukuran partikel ditentukan oleh keberadaan *stabilizer* sehingga pada penelitian preparasi partikel PLGA-roksitromisin akan dicobakan penggunaan PVA dalam berbagai konsentrasi. Karakterisasi yang akan dilakukan terhadap partikel yang terbentuk antara lain morfologi, diameter, distribusi ukuran, zeta potensial partikel, persen efisiensi enkapsulasi (EE), dan kecepatan disolusi obat.

Morfologi partikel dikarakterisasi untuk mengetahui bentuk partikel yang terbentuk. Karakterisasi diameter dan distribusi ukuran dilakukan untuk mengetahui partikel yang terbentuk berada dalam rentang 200 – 500 nm.

Kestabilan submikro partikel dapat diketahui dengan parameter zeta potensial dan hasil uji stabilitasnya. Nilai persen EE digunakan untuk mengetahui jumlah zat aktif yang terjerap oleh polimer sedangkan kecepatan disolusi digunakan untuk mengetahui peningkatan laju disolusi submikro partikel PLGA-roksitromisin.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka didapat beberapa rumusan masalah antara lain:

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi PVA terhadap persen EE dari submikro partikel PLGA-roksitromisin?
2. Bagaimana pengaruh kedua konsentrasi PVA dengan nilai persen EE yang tertinggi terhadap diameter, distribusi ukuran dan zeta potensial dari submikro partikel PLGA-roksitromisin?
3. Bagaimana pengaruh penambahan PVA sebagai *stabilizer* yang optimal dari berbagai konsentrasi terhadap morfologi submikro partikel PLGA-roksitromisin?
4. Bagaimana stabilitas diameter, distribusi ukuran, dan zeta potensial dari formula optimal submikro partikel PLGA-roksitromisin terhadap variasi pH selama 14 hari?
5. Bagaimana laju disolusi dan mekanisme pelepasan obat yang dihasilkan dari formula optimal submikro partikel PLGA-roksitromisin?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan memiliki beberapa tujuan, yakni:

1. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi PVA terhadap persen EE dari submikro partikel PLGA-roksitromisin.

2. Mengetahui pengaruh dua konsentrasi PVA dengan nilai persen EE yang tertinggi terhadap diameter, distribusi ukuran dan zeta potensial dari submikro partikel PLGA-roksitromisin.
3. Mengetahui pengaruh penambahan PVA sebagai *stabilizer* yang optimal dari berbagai konsentrasi terhadap morfologi submikro partikel PLGA-roksitromisin.
4. Mengetahui stabilitas diameter, distribusi ukuran, dan zeta potensial dari formula optimal submikro partikel PLGA-roksitromisin terhadap variasi pH selama 14 hari.
5. Mengetahui laju disolusi dan mekanisme pelepasan obat yang dihasilkan dari formula optimal submikro partikel PLGA-roksitromisin.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Memperluas pemahaman mengenai pengaruh konsentrasi PVA terhadap diameter, distribusi ukuran, dan zeta potensial, serta nilai efisiensi enkapsulasi yang dihasilkan dari submikro partikel PLGA-roksitromisin.
2. Memperbanyak informasi mengenai penggunaan konsentrasi PVA yang optimal sebagai *stabilizer* terhadap morfologi submikro partikel PLGA-roksitromisin.
3. Menambah kajian ilmiah mengenai peningkatan laju disolusi obat yang dihasilkan dari PLGA-roksitromisin yang berbentuk submikro partikel dibandingkan dengan serbuk roksitromisin murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2012, *Sediaan Farmasi Padat*, Edisi 6, ITB, Bandung, Indonesia.
- Baokar, S., Jagtap, S., Sonavane, S., Pawar, V. & Patil, R.N. 2013, In vitro new dissolution method for the evaluation of roxithromycin using pH 6.0 phosphate buffer and determination of its content by validated UV spectrophotometric method, *Research J. Pharma*, **5(5)**:278-282.
- Berial, M.A. 2016, 'Preparasi dan karakterisasi submikro partikel poly (lactic co-glycolic acid) pembawa deksametason dengan stabilizer polyvinyl alcohol', *Skripsi*, S.Farm, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.
- Berne, B.J. & Pecora, R. 2000, *Dynamic light scattering: With application to chemistry, biology and physic*, Dover Publications, New York, USA.
- Bhirawa, W.T. 2007, Proses pengolahan data dari model persamaan regresi dengan menggunakan statistical product and service solution (SPSS), *J Scie*, **7**:71-83.
- Cavalier, M., Benoit, J.P. & Thies, C. 1986, The formation and characterization of hydrocortisone-loaded poly((+/-)-lactide) microspheres, *J Pharm Pharmacol*, **38**:249-253.
- Costa, P. & Lobo, J.S. 2001, Modeling and comparison of dissolution profiles, *Eur J Pharm Sci*, **13**:123-133.
- Dasgupta, S., Auth, T. & Gompper, G. 2014, Shape and orientation matter for the cellular uptake of nanospherical particles, *Nano Lett*, **14**:687-693.
- De, S. & Robinson, D.H. 2004, Particle size and temperature effect on the physical stability of PLGA nanospheres and microspheres containing bipyridine, *AAPS Pharm Sci Tech*, **5(4)**:1-7.
- DrugBank. 2014, Identification roxithromycin DB00778, diakses pada tanggal 2 Oktober 2015, <<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00778>>.
- Food and Drug Administration. 1997, *Guidance for industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms*, Rockville, USA.
- Fudholi, A. 1986, *Kursus Penyegaran, Fabrika, Kontrol, Stabilitas dan Disolusi*, Panitia Lustrum VIII dan Reuni Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta, Indonesia.
- Fusako, K. & Hu, X. 2009, Biochemistry of microbial polyvinylalcohol degradation. *Appl Microbiol Biotechnol*, **84**:227.

- Gaskell, E.E., Hobbs, G., Rostron, C. & Hutcheon, G.A. 2008, Encapsulation and release of α -chymotrypsin from poly(glycerol adipate-co- ω -pentadecalactone) microparticles, *J Microencapsul*, **25(3)**:187-195.
- Gaur, A., Mindha A. & Bhatiya A.L. 2008, Significance of nanotechnology in medical sciences, *AJP*, **1**:80-85.
- Gavini, E., Chetoni, P. & Cossu, M. 2004, PLGA microspheres for the ocular delivery of a peptide drug, vancomycin using emulsification / spray-drying as the preparation method: In vitro / in vivo studies, *Eur J Pharm Biopharm*, **57**:207–212.
- Gentile, P., Chiono, V., Carmagnola, I. & Hatton, P.V. 2014, An overview of poly (lactico-glycolic)acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering, *Int J Mol Sci*, **15**:3640-3659.
- Ghasemi, A. & Zahediasl, S. 2012, Normality test for statistical analysis: a guide for non-statisticians, *Int J Endocrinol Metab*, **10(2)**:486-489.
- Harmita. 2004, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Int J Pharm*, **1(3)**:117-135.
- Hu, M. & Li, X. 2011, *Oral bioavailability: Basic principles, advanced concept, and application*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA.
- Hixson, A.W. & Crowell, J.H. 1931, Dependence of reaction velocity upon surface and agitation, *Ind Eng Chem*, **23**:923–931.
- Ikatan Apoteker Indonesia. 2010, *ISO Indonesia*, PT. ISFI Penerbitan, Jakarta, Indonesia.
- Kemala, T., Budianto, E. & Soegiyono, B. 2010, Preparation and characterization of microspheres based on blend of poly(lactid acid) and poly (ϵ -caprolactone) with poly(vinyl alcohol) as emulsifier, *Arb J Chem*, **5**:103-108.
- Kirst, H.A. & Sides, G.D. 1989, New directions for macrolide antibiotics: Structural modifications and in vitro activity, *Antimicrob Agents CH*, **33**:1413-1418.
- Kroschwitz, J.I. 1998, *Concise encyclopedia of polymer science and engineering*. John Willey & Sons Inc, New York, USA.
- Kumar, A.A., Murthy, T.E., Gopala, K. & Rani, A.P. 2014, A concise review on oral pH independent controlled drug delivery system, *WJPPS*, **3**:315.
- Lee, S.C., Oh, J.T., Jang, M.H. & Chung, S.I. 1999, Quantitative analysis of polyvinyl alcohol on the surface of poly(d,l-lactide-co-glycolide) microparticles prepared by solvent evaporation method: Effect of particle size and PVA concentration, *Control Release*, **59(2)**:123-132.

- Marchaban. 2004, Evaluasi pelepasan obat dari supositoria basis lemak: Perbedaan antara metode disolusi intrinsik dan non-intrinsik, *Majalah Farmasi Indonesia*, **15(4)**:163-168.
- Mardiyanto. 2013, 'Investigation of nanoparticulate formulation intended for caffeine delivery into hair follicle', *Disertasi*, Dr.rer.nat., Department of Pharmacy, Faculty of Science, Saarland University, Saarbruecken, Germany.
- Mardiyati, E., Muttaqien, S.E., Setyawati, D.R., Rosidah, I. & Sriningsih. 2012, Preparasi dan aplikasi nanopartikel kitosan sebagai sistem penghantaran insulin secara oral, *Prosiding InSINAS*, **71**:25-30.
- Muhaimin. 2013, 'Study of microparticle preparation by the solvent evaporation method using focused beam reflectance measurement (FBRM)', *Disertasi*, Dr.rer.Nat., Farmasi, Pharmazie der Freien Universitat, Berlin.
- Mura, S., Hillaireau, H., Nicolas, J., Droumaguet, B.L., Gueutin, C., Zanna, S., *et al.* 2011, Influence of surface charge on the potential toxicity of PLGA nanoparticles towards calu-3 cells, *Int J Nano*, **6**:2591-2605.
- Murakami, H., Kawashima, Y., Niwa, T., Hino, T., Takeuchi, H. & Kobayashi, M. 1997, Influence of the degrees of hydrolyzation and polymerization of poly(vinylalcohol) on the preparation and properties of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle, *Int J Pharm*, **149**:43-49.
- Niekerk, E.V. 2011, 'Roxithromycin: a solubility and stability study' *Tesis*, M.Sc., Pharmacy, Faculty of Health Science, North-West University, Afirka Selatan.
- Nimesh, S. & Chandra, R. 2011, *Theory, Techniques and Applications of Nanotechnology in Gene Silencing*, River Publisher, Aalborg, Denmark.
- Ortega, M.J.S., Csaba, N., Alonso, M.J., Vinuesa, J.L.O. & Gonzalez, D.B. 2007, Stability and physicochemical characteristics of PLGA, PLGA:poloxamer and PLGA:poloxamine blend nanoparticles a comparative study, *J Colloids And Surfaces*, **296**:132-140.
- Pal, S.L., Jana, U., Manna, P.K., Mohanta, G.P. & Manavalan, R. 2011, Nanoparticle: An overview of preparation and characterization, *J of Applied Pharmaceutical Science*, **6**:228-234.
- Panyam, J., Sahoo, S.K., Prabha, S., Bargar, T. & Labhassetvar, V. 2003, Fluorescence and electron microscopy probes for cellular and tissue uptake of poly (D, L-lactide-co-glycolide) nanoparticles, *Int J Pharm*, **262**:1-11.
- Parashar, T., Soniya, Singh, V., Singh, G., Tyagi, S., Patel, C., *et al.* 2013, Novel oral sustained release technology, *Int J Res Dev Pharm Life Sci*, **2(2)**:262-269.

- Park, T.G. 1995, Degradation of poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres: Effect of copolymer composition, *Biomaterials* **16**:1123–1130.
- Pubchem Chemistry Database. 2016, *Ethyl Acetate*, diakses pada tanggal 2 Mei 2016, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethyl_acetate>.
- Quintanar, G.D., Allémann, E. & Fessi, H. 1998, Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers, *Drug Dev Ind Pharm*, **24**(12):1113-1128.
- Rabinovich, G.L., Couvreur, P., Lambert, G., Goldstein, D., Benita, S. & Dubernet, C. 2004, Extensive surface studies help to analyse zeta potential data: The case of cationic emulsions, *Chem Phys Lipid*, **131**:1– 13.
- Rachmawati, H., Reker-Smit, C., Hooge, M.N.L., Loenen-Weemaes, A.M.V., Poelstra, K. & Beljaars, L. 2007, Chemical Modification of Interleukin-10 with Mannose 6-Phosphate Groups Yields a Liver-Selective Cytokine, *DMD*, **35**:814-821.
- Rajeshwari, A., Prathna, T.C., Balajee, J., Chandrasekaran, N., Mandal, A.B. & Mukherjee, A. 2013, Computational approach for particle size measurement of silver nanoparticle from electron microscopic image, *IJPPS*, **5**:619-623.
- Rawat, M., Singh, D., Saraf, S. & Saraf, S. 2006, Nanocarriers: Promising vehicle for bioactive drugs, *Biol Pharm Bul*, **29**(9):1790-1798.
- Reis, C.P., Neufeld, R.J., Riberio, A.J. & Veiga, F. 2006, Nanoencapsulation methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles, *Nanomed Nanotechnol, Biol Med*, **2**:8-21.
- Riset Kesehatan Dasar. 2007, *Pedoman Pewawancara Petugas Pengumpul Data*, Badan Litbangkes, Jakarta, Indonesia.
- Robinson, R.A. & Stokes, R.H. 1968, Preparation of pH buffer solutions, *J. Lambert and T.A. Muir*, **3**:5.
- Sari, D.K. & Lestari, R.S.D. 2015, Pengaruh waktu dan kecepatan pengadukan terhadap emulsi minyak biji matahari (*helianthus annuus L.*) dan air, *JIP*, **5**(3):155-159.
- Schellenkens, R.C.A., Baltink J.H., Woesthuis, E.M., Stellaard F., Kosterink J.G. W., Woerdenbag, H.J., *et al.* 2012, Film coated tablets (ColoPulse technology) for targeted delivery in the lower intestinal tract: Influence of the core composition on release characteristics, *Pharm Dev Technol*, **17**(1):40-47.
- Schliecker, G., Schmidt, C., Fuchs, S., Wombacher, R., & Kissel, T. 2003, Hydrolytic degradation of poly(lactide-co-glycolide) films: Effect of oligomers on degradation rate and crystallinity, *Int J Pharm*, **266**:39–49.

- Shargel, L., Pong, S.W. & Yu, A.B.C. 2004, *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*, 5th edition, McGraw-Hill Companies, New York, USA.
- Sharma, S., Khinchi, M.P., Agrawal, D., Sharma, N. & Gupta, M.K. 2013, A review on dissolution apparatus, *AJPRD*, **1(3)**:34-40.
- Shi, D. 2004, *Biomedical devices and their application*, 1st edition, Springer-Verlag, New York, USA.
- Siepmann, J. & Peppas, N.A. 2001, Modeling of drug release from delivery system based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), *Adv Drug Deliv Reiv*, **48**:139-157.
- Sigma-Aldrich. 2015, *Catalog product*, diakses pada tanggal 2 Desember 2015, <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/pz0007?lang=en®ion=ID>>.
- Skoog, D.A. & West, D.M. 1971, *Principles of Instrumental Analysis*, Holt, Rinehart and Winston, Inc., New York, USA.
- Sun, S.B., Liu, P., Shao, F.M. & Miao, Q.L. 2015. Formulation and evaluation of PLGA nanoparticles loaded capecitabine for prostate cancer, *Int J Clin Exp Med*, **8(10)**:19670-19681.
- Sweetman, S.C. 2009, *Martindale 36 The Complete Drug Reference*, The Pharmaceutical Press, London, England.
- Syarif, A., Ascobat, P., Estuningtyas, A., Setiabudy, R., Setiawati, A., Muchtar, A., dkk. 2009, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5, Balai Penerbit FKUI, Jakarta, Indonesia.
- Tjay, T.H. & Rahardja, K. 2007, *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*, Edisi 6, Elex Media Komputindo, Jakarta, Indonesia.
- Usaquen, C.X., Martínez, R.H., Aya, B. & Gonzalez, M. 2006, Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from red-grape (*vitis vinifera*) residues, *IUFoST*, **38**:1315–1324.
- Long, A.G. 2012, *United States Pharmacopoeia and The National Formulary*, The United States Pharmacopoeial Convention, USA.
- Vandervoort, J. & Ludwig, A. 2002, Biodegradable stabilizers in the preparation of PLGA nano particles: a factorial design study, *Int J Pharm*, **238**:77-92.
- Vij, N., Min, T., Marasigan, R., Belcher, C. N., Mazur, S., Ding, H., *et al.* 2010, Development of PEGylated PLGA nanoparticle for controlled and sustained drug delivery in cystic fibrosis, *J Nanobiotech.*, **8**:22.
- Xie, H. & Smith, J.W. 2010, Fabrication of PLGA nanoparticles with a fluidic nanoprecipitation system, *J Nanobiotech*, **8**:18.

- Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J. & Mao, L. 2008, Characterization and stability evaluation of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions, *Food Res Intl*, **41**:61-68.
- Yuliza, F. 2016, 'Preparasi dan karakterisasi submikro partikel poly (lactic co-glycolic acid) dan kitosan pembawa deksametason dengan stabilizer polyvinyl alcohol', *Skripsi*, S.Farm, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Zulfikar. 2008, *Kimia Kesehatan*, Edisi 3, Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta, Indonesia.