



## **Peningkatan Kelarutan Andrografolid dalam Fraksi Etil Asetat Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Melalui Mikroenkapsulasi dengan Metode Semprot Kering**

### **(Solubility Enhancement of Andrographolide on Ethyl Acetate Fraction Sambiloto Herbs (*Andrographis paniculata* Nees) by Microencapsulation Using Spray Drying Methode)**

IDAH ROSIDAH<sup>1,2\*</sup>, WAHONO SUMARYONO<sup>1,3</sup>, SILVIA SURINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Jakarta.

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok.

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jakarta Selatan, 12640.

Diterima 4 April 2013, Disetujui 8 Maret 2014

**Abstrak:** Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai aktivitas sebagai antikanker dengan komponen bioaktif utama andrografolid. Andrografolid merupakan sesyawa diterpen lakton yang sukar larut dalam air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan kelarutan andrografolid pada fraksi etil asetat herba sambiloto melalui mikroenkapsulasi dengan metode semprot kering. Mikroenkapsulasi fraksi etil asetat herba sambiloto dibuat menggunakan polimer PVP K30 dan HPMC sebagai bahan penyalut dengan perbedaan rasio fraksi etil asetat herba sambiloto dan polimer 1:5; 1:7,5 dan 1:10. Mikrosfer yang mengandung fraksi etil asetat herba sambiloto kemudian dievaluasi terhadap kelarutan dan uji disolusi secara *in vitro* pada medium air suling, fosfat pH 6,8 dan klorida pH 1,2. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi fraksi etil asetat herba sambiloto dengan metode semprot kering dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi andrografolid dibandingkan dengan fraksi etil asetat herba sambiloto dan andrografolid standard. Dibandingkan dengan kelarutan andrografolid dari fraksi etil asetat herba sambiloto, peningkatan kelarutan andrografolid dalam mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dalam medium air suling; fosfat pH 6,8 dan klorida pH 1,2 berturut adalah 23,42-39,34; 19,92-34,83 dan 24,56-38,25 kali. Selain itu, dibandingkan dengan kelarutan andrografolid standard, peningkatan kelarutan andrografolid dalam mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dalam medium air suling, fosfat pH 6,8 dan klorida pH 1,2 berturut-turut adalah 16,99-28,53; 19,76-34,54 dan 17,26-26,87 kali.

**Kata kunci:** Andrografolid, PVP K30, HPMC, semprot kering, laju disolusi.

**Abstract:** Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) is one of a medicinal plants containing andrographolide as its primary bioactive component, which is able to inhibit breast cancer cell proliferation. Andrographolide is a diterpene lactone that is sparingly soluble in water. The aim of this study is to improve the solubility of andrographolide in *A. paniculata* herbs ethyl acetate fraction by microencapsulation method prepared using spray drying. The ethyl acetate fraction of *A. paniculata* herbs was microencapsulated using PVP K30 and HPMC as the coating polymer in different ratios of ethyl acetate fraction and polymer (1:5; 1:7,5 and 1:10). Microspheres containing ethyl acetate fraction of *A. paniculata* herbs were evaluated their saturation solubility and *in vitro* dissolution in aquadest, pH 6.8 phosphate and pH 1.2 chloride medium. The result showed that the microencapsulation could increase the saturation solubility and dissolution rate of andrographolide as compared to the ethyl acetate fraction

\* Penulis korespondensi, Hp. 081315524949  
e-mail: idah.rosidahmahdi@gmail.com



and andrographolide standard. Compared to the solubility of andrographolide from *A. paniculata* ethyl acetate fraction, the solubility of andrographolide on ethyl acetate fraction microspheres in aquadest, pH 6.8 phosphate and pH 1.2 chloride medium were increased approximately 23.42-39.34, 19.92-34.83 and 24.56-38.25 folds respectively. Moreover, compared to the solubility of andrographolide standard, the solubility of andrographolide on ethyl acetate fraction microspheres in aquadest, pH 6.8 phosphate and pH 1.2 chloride medium were increased approximately 16.99-28.53, 19.76-34.54 and 17.26-26.87 folds respectively.

**Keywords:** Andrographolide, PVP K30, HPMC, spray drying, dissolution rate.

## PENDAHULUAN

SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) atau yang dikenal *king of bitter*, famili Acanthaceae, merupakan salah satu tanaman obat yang telah banyak digunakan untuk pengobatan tradisional di Indonesia, Malaysia, Thailand, India, Skandinavia, Jepang dan China. Secara empiris, tanaman ini digunakan untuk mengobati flu, demam, sakit tengorokan, infeksi saluran pernapasan, malaria, disentri, diare, dan berbagai penyakit infeksi lainnya<sup>(1,2)</sup>. Menurut beberapa hasil penelitian, sambiloto memiliki aktivitas terhadap kultur sel kanker seperti kanker serviks, payudara, leukemia, kolon, paru-paru, melanoma, ovarium, prostat dan ginjal<sup>(3,4)</sup>.

Penelitian terhadap ekstrak dan fraksi-fraksi herba sambiloto yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi besar untuk digunakan sebagai bahan baku obat. Fraksi etil asetat herba sambiloto memiliki aktivitas terhadap kultur sel kanker payudara dibanding dengan ekstrak total, fraksi etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat herba sambiloto dengan kandungan andrografolid 32,13% terhadap sel kanker payudara menunjukkan bahwa fraksi tersebut memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 14,32 bpj untuk sel MCF7 dan 17,66 bpj untuk sel T47D<sup>(5,6)</sup>.

Komponen utama dalam herba sambiloto adalah andrografolid (Gambar 1). Andrografolid merupakan senyawa diterpen lakton, berupa kristal berwarna putih, mempunyai rasa yang sangat pahit, rumus molekul  $C_{20}H_{30}O_5$  dan berat molekul 350,46. Andrografolid sukar larut dalam air. Kelarutannya

dalam air pada suhu 25 °C sebesar 60 mg/L<sup>(7,8)</sup>. Oleh karena itu, laju disolusi andrografolid dalam saluran cerna merupakan tahap penentu (*rate limiting step*) dalam absorpsi sistemik obat. Salah satu upaya untuk meningkatkan kelarutan andrografolid yakni dengan memadukan sistem matrik dan memperkecil ukuran partikel menggunakan bahan polimer bersifat hidrofilik yang di dalamnya terdapat bahan obat yang terdispersi secara homogen. Sistem ini dapat melalui mikroenkapsulasi dengan metode semprot kering.

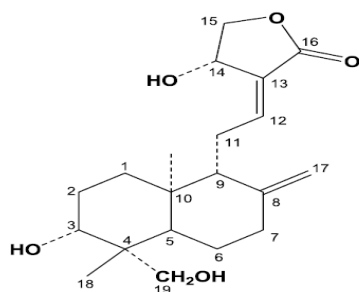
Mikroenkapsulasi bahan obat yang tidak larut dalam air ke dalam bahan pembawa polimer yang mudah larut akan memungkinkan terbentuknya suatu model lapisan mikrodifusi, dimana partikel obat dalam keadaan halus akan terdispersi dalam pembawa yang mudah larut. Semprot kering merupakan suatu metode mikroenkapsulasi yang umum digunakan di industri obat dan makanan. Mikroenkapsulasi dengan metode semprot kering memberikan hasil berupa partikel berukuran kecil dan homogen yang memungkinkan bagian-bagian obat dibagikan secara luas pada medium pelarut. Semakin luas permukaan obat akan terjadi interaksi yang lebih besar dengan pelarut dengan demikian dapat meningkatkan kelarutan dan potensi penyerapan obat<sup>(9,10,11)</sup>.

Penelitian tentang mikroenkapsulasi fraksi etil asetat herba sambiloto yang dibuat dengan metode semprot kering menggunakan polimer PVP K30 dan HPMC telah berhasil dilakukan<sup>(12)</sup>. Selanjutnya untuk mengetahui keberhasilan mikrosfer yang dibuat perlu dilakukan karakterisasi terhadap kelarutan jenuh dan uji disolusi secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan kelarutan dan laju disolusi andrografolid pada fraksi etil asetat herba sambiloto melalui mikroenkapsulasi dengan metode semprot kering menggunakan polimer PVP K30 dan HPMC.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Fraksi etil asetat herba sambiloto dengan kadar andrografolid 32,12% (Pusat Teknologi Farmasi dan Medika BPPT, Indonesia), andrografolid standard (Sigma-Aldrich Inc, Jerman), polivinilpirrolidon



Gambar 1. Struktur molekul andrografolid<sup>(6)</sup>.

K30 (PVP, kollidon K30) (BASF, Jerman), hidroksipropilmetilselulosa 3 mPa.s (HPMC, pharmacoat®) (ShinEtsu, Jepang), metanol untuk KCKT (J.B. Baker, USA), kalium klorida *p.a.* (Merck, Jerman), kalium dihidrogenfosfat *p.a.* (Merck, Jerman), natrium hidroksida *p.a.* (Merck, Jerman), asam klorida 37% (Merck, Jerman).

**Alat.** Neraca analitik (Radwag, Polandia), viskometer (Brookfield Synchroelectric, USA), mikropipet (Biorad, USA), *spray dryer* (Lab-plant, North Yorkshire England), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Knauer, Jerman), kolom KCKT Eurospher 100-5C18 150 mm x 4,6 mm (Knauer, Jerman), membran filter *milipore* 0,45µm (MILLEX®HA, Irlandia), *magnetic stirrer with heating* (Yellowline MAG HS 7, Inggris), *shaker incubator* (Innova 43 incubator shaker, USA), *vortex* (Heidolph, Jerman).

**METODE. Pembuatan Mikrosfer Fraksi Etil Asetat Herba Sambiloto.** Mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dibuat dengan metode semprot kering. Pembuatan mikrosfer dilakukan dengan cara sejumlah polimer PVP K30 atau HPMC (Tabel 1) dilarutkan ke dalam air suling dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu kamar. Fraksi etil asetat herba sambiloto dilarutkan dalam etanol 96%, kemudian larutan fraksi etil asetat didispersikan ke dalam larutan polimer sambil diaduk hingga homogen. Sambil tetap dalam kondisi pengadukan, campuran dispersi tersebut selanjutnya dialirkan melalui *nozzle* (0,5 mm) ke dalam semprot kering (*spray dryer*, Lab-plant, North Yorkshire England). Kondisi proses yang digunakan untuk formula mikrosfer yang menggunakan polimer PVP K30 yaitu suhu masuk 140 °C, suhu keluar 80 °C, kecepatan pompa 5 mL/menit, kecepatan *deblocker* medium, dan kipas penyedot 2,25 meter/detik. Kondisi proses yang digunakan untuk polimer HPMC yaitu suhu masuk 190 °C, suhu keluar 90 °C, kecepatan pompa 15 mL/menit, kecepatan *deblocker* medium dan kipas penyedot 4,5 meter/detik. Mikrosfer yang dihasilkan kemudian dikumpulkan dari tempat

pengumpul dan selanjutnya dilakukan evaluasi dan karakterisasi<sup>(12)</sup>.

**Penentuan Viskositas.** Penentuan viskositas masing-masing formula (Tabel 1) dilakukan dengan menggunakan alat viskometer (Brookfield Synchroelectric, USA). Formula mikrosfer dibuat dalam 400 mL kemudian dimasukkan ke dalam gelas *beaker*. *Spindle* yang sesuai diturunkan hingga batas *spindle* tercelup ke dalam gel dan diputar pada kecepatan 5, 10, 20, 50 dan 100 *rpm*. Nilai viskositas yang ditunjukkan oleh jarum kemudian dikalikan dengan faktor yang dilihat pada tabel yang terdapat pada brosur alat<sup>(13)</sup>.

**Pembuatan Kurva Spektrum Absorpsi Andrografolid.** Penentuan panjang gelombang maksimum andrografolid dilakukan pada medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2. Larutan andrografolid dibuat dengan konsentrasi 100 bpj pada masing-masing medium dengan cara ditimbang secara seksama lebih kurang 1,0 mg andrografolid standard kemudian ditambahkan dengan 200 µL metanol dan dilarutkan dalam masing-masing medium hingga 10 mL. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya dengan KCKT pada panjang gelombang 190-400 nm, kondisi fase gerak metanol-air (70:30), kecepatan alir 1 mL/menit, detektor PDA dan menggunakan kolom Eurospher 100-5C18 150 x 4,6 mm.

**Pembuatan Kurva Kalibrasi Andrografolid.** Kurva kalibrasi andrografolid dibuat dalam tiga medium yaitu air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2. Ditimbang secara seksama lebih kurang 1,0 mg andrografolid standard kemudian dilarutkan dalam masing-masing medium hingga 100 mL, didapat larutan induk konsentrasi 100 bpj. Dari larutan induk kemudian dibuat berbagai konsentrasi. Kurva kalibrasi andrografolid dalam medium air suling dibuat konsentrasi 10; 20; 30; 40; 50 dan 100 bpj. Pembuatan kurva kalibrasi andrografolid dalam medium dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 dibuat konsentrasi 10; 20; 30; 40 dan 50 bpj. Larutan tersebut disuntikkan ke dalam KCKT menggunakan fase gerak, kecepatan alir dan jenis kolom yang sama pada pembuatan kurva spektrum. Detektor yang digunakan UV dengan menggunakan panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari kurva serapan masing-masing larutan. Luas puncak yang diperoleh kemudian digunakan untuk membuat kurva kalibrasi dengan memplotkan luas pucak dengan konsentrasi.

**Penentuan Kelarutan Andrografolid.** Uji kelarutan andrografolid dilakukan terhadap andrografolid standard, fraksi etil asetat herba sambiloto dan mikrosfer fraksi etil asetat herba

**Tabel 1. Formula mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto.**

Bahan	Jumlah					
	A	B	C	D	E	F
PVP K30 (g)	5	7,5	10	-	-	-
HPMC (g)	-	-	-	5	7,5	10
Fraksi etil asetat herba sambiloto (g)	1	1	1	1	1	1
Etanol 96 % (mL)	25	25	25	25	25	25
Air suling (mL)	75	75	75	75	75	75

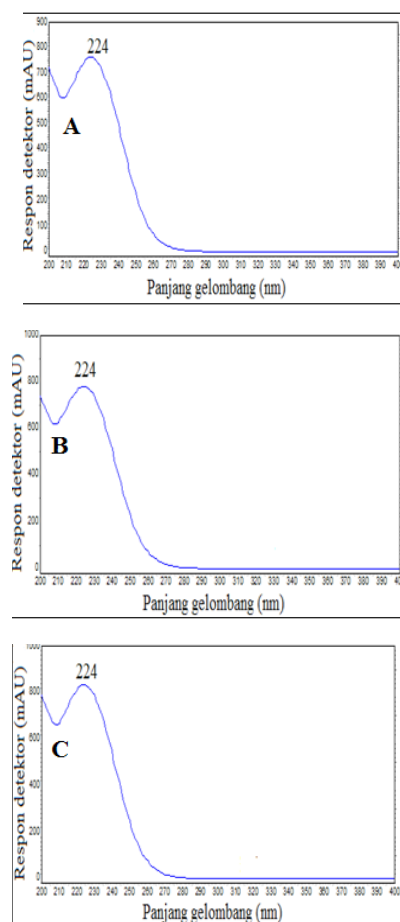
sambiloto. Pengujian dilakukan dalam tiga medium yaitu air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2. Masing-masing sampel uji yang setara lebih kurang 2,5 mg andrografolid ditimbang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berukuran 50 mL, kemudian ditambahkan medium sebanyak 10 mL. Erlenmeyer kemudian dimasukkan dalam *shaker incubator* pada suhu  $37 \pm 0,5$  °C selama 12 jam dengan kecepatan 100 rpm. Selanjutnya larutan disaring dengan membran filter 0,45 µm. Konsentrasi andrografolid dalam masing-masing sampel kemudian dianalisis dengan KCKT.

**Penentuan Uji Disolusi secara *in Vitro*.** Uji disolusi andrografolid secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan alat *magnetic stirrer with heating* yang dimodifikasi. Sejumlah sampel yang setara dengan 2,5 mg andrografolid dimasukkan ke dalam kantong yang terbuat dari kertas saring. Kertas saring kemudian digantung dengan menggunakan kenur dalam gelas *beaker* 100 mL yang telah berisi 50 mL medium. Pengujian dilakukan dalam medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 pada suhu  $37 \pm 0,5$  °C di bawah pengadukan yang kontinu dengan kecepatan 100 rpm. Pengambilan cuplikan dilakukan pada tempat yang sama pada menit ke-5, 10, 15, 30, 60 dan 120. Tiap 1 mL sampel kemudian di analisis menggunakan KCKT.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Penentuan Viskositas.** Hasil pengukuran viskositas masing-masing formula (Tabel 1) diperoleh formula A 10-20 cps; formula B 10-23 cps; formula C 10-29,5 cps; formula D 17,5-36,5 cps; formula E 30-56,5 cps dan formula F 50-76 cps. Viskositas formula mikrosfer menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi polimer yang digunakan maka viskositasnya semakin meningkat.

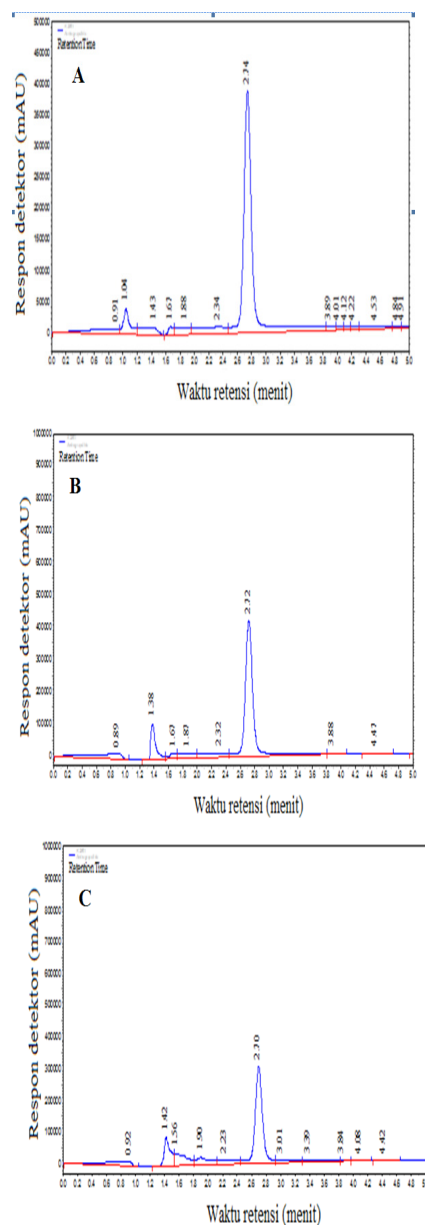
**Spektrum Absorbansi Andrografolid.** Penentuan panjang gelombang maksimum andrografolid dibuat dalam bentuk larutan andrografolid dengan konsentrasi 100 µg/mL pada air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 dengan metode KCKT. Hasil analisis menunjukkan diperoleh panjang gelombang maksimum yang sama pada ketiga medium yaitu 224 nm pada waktu retensi kurang lebih 2,7 menit (Gambar 2). Andrografolid merupakan senyawa diterpen lakton yang mempunyai gugus kromofor berupa ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus fungsional yang menyebabkan terjadinya serapan di daerah ultraviolet (190–400 nm). Panjang gelombang maksimum andrografolid menurut literatur adalah 223 nm<sup>(14,15)</sup>, sedangkan panjang gelombang maksimum dari hasil percobaan adalah 224 nm, selisih 1 nm. Hal ini sesuai



Gambar 2. Kurva serapan andrografolid pada konsentrasi 100 bpj dalam berbagai medium. (A) air suling, (B) dapar fosfat pH 6,8 dan (C) dapar klorida pH 1,2.

dengan persyaratan di Farmakope Indonesia 1995 yaitu suatu pernyataan dalam satuan penetapan kadar pengujian mengenai panjang gelombang serapan maksimum mengandung implikasi bahwa maksimum tersebut tepat pada atau dalam batas 2 nm dari panjang gelombang yang ditentukan<sup>(16)</sup>.

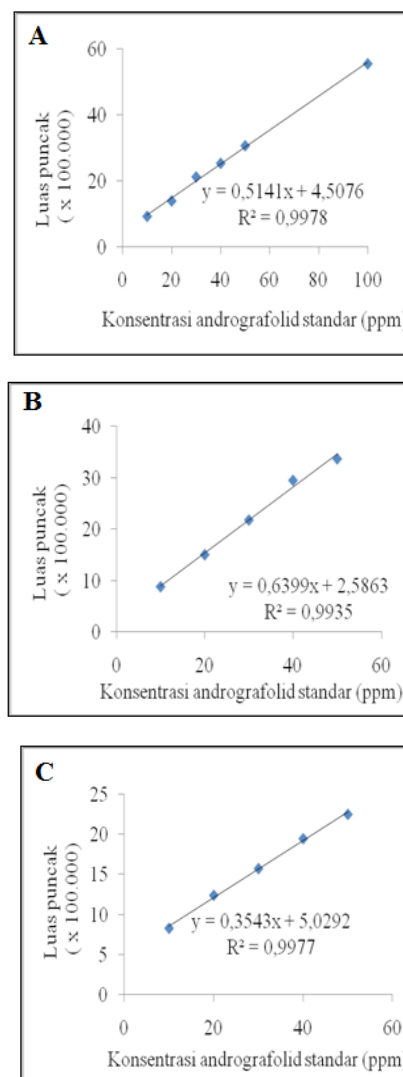
**Kurva Kalibrasi.** Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dalam tiga medium yaitu air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 dengan metode KCKT pada panjang gelombang 224 nm. Profil KCKT pada masing-masing medium dapat dilihat pada Gambar 3. Kurva kalibrasi dalam medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 dilakukan untuk menentukan konsentrasi andrografolid pada uji kelarutan dan uji disolusi obat secara *in vitro*. Pada Gambar 4, hasil pengukuran kurva kalibrasi dengan KCKT diperoleh nilai koefisien korelasi (r) untuk medium air suling; fosfat pH 6,8 dan klorida pH 1,2 masing-masing sebesar 0,9978; 0,9935 dan 0,9977. Berdasarkan hasil tersebut, diperoleh persamaan garis linier dengan nilai (r) mendekati angka 1 sehingga persamaan ini dapat digunakan untuk penentuan konsentrasi andrografolid dalam fraksi etil asetat dan



**Gambar 3.** Kromatogram andrografolid konsentrasi 50 bpi pada  $\lambda$  224 nm dalam berbagai medium. (A) air suling, (B) dapar fosfat pH 6,8 dan (C) dapar klorida pH 1,2.

mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto.

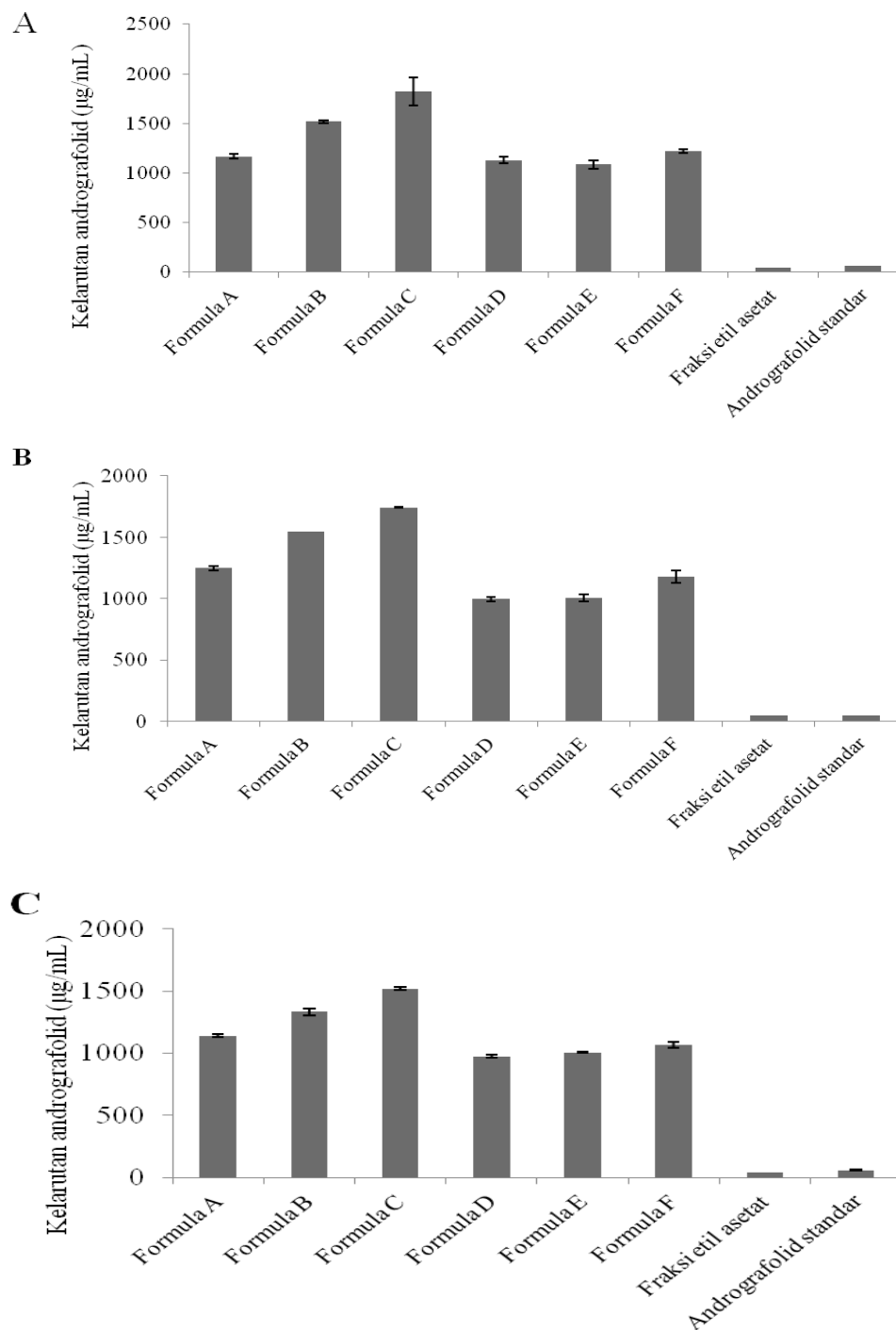
**Kelarutan Andrografolid.** Uji kelarutan dimaksudkan untuk mengetahui kelarutan andrografolid dalam fraksi etil asetat dan formula mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dibandingkan dengan andrografolid standard pada medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2. Pada uji kelarutan, sampel ditimbang setara dengan lebih kurang 2,5 mg andrografolid. Hal ini dimaksudkan untuk memberi keseragaman kandungan di dalam masing-masing sampel uji yaitu fraksi etil asetat dan formula mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto. Berdasarkan hasil uji kelarutan, semua formula memberikan tingkat kelarutan lebih tinggi pada ketiga medium dan berbeda signifikan dengan fraksi etil



**Gambar 4.** Kurva kalibrasi andrografolid pada  $\lambda$  224 nm dalam berbagai medium. (A) air suling, (B) dapar fosfat pH 6,8 dan (C) dapar klorida pH 1,2.

asetat herba sambiloto dan andrografolid standard ( $P < 0,05$ ). Formula yang menggunakan polimer PVP K30 (formula A, B dan C) menunjukkan tingkat kelarutan yang lebih tinggi dibanding dengan formula yang menggunakan polimer HPMC (formula D, E dan F) pada ketiga medium seperti yang terlihat pada Gambar 5.

Pada formula yang menggunakan PVP K30 menunjukkan bahwa kelarutan andrografolid meningkat dengan meningkatnya jumlah konsentrasi polimer. Hal ini dapat dilihat pada formula C yang menggunakan polimer PVP K30 dengan rasio fraksi etil asetat-PVP K30 (1:10) memiliki kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan formula B (1:7,5) dan A (1:5). Begitu juga formula B mempunyai kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula A. Formula B dan C masing-masing tidak berbeda signifikan ( $P > 0,05$ ) pada ketiga medium tetapi formula A berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini sejalan dengan penelitian



**Gambar 5.** Hubungan antara formula dengan kelarutan andrografolid (µg/mL). (A) medium air suling, (B) dapar fosfat pH 6,8 dan (C) dapar klorida pH 1,2.

Torrado yang menggunakan polimer PVP K30 untuk meningkatkan kelarutan albendazol<sup>(17)</sup>. Penelitian tersebut memberikan hasil bahwa peningkatan konsentrasi polimer PVP K30 dalam dispersi padat dapat meningkatkan kelarutan obat.

Sama halnya dengan polimer PVP K30, kelarutan andrografolid pada formula yang menggunakan polimer HPMC meningkat dengan meningkatnya jumlah konsentrasi polimer. Formula F yang mengandung fraksi etil asetat-HPMC (1:10) memiliki

kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula E (1:7,5) dan D (1:5). Formula E memiliki kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula D pada medium fosfat dan klorida tetapi kelarutannya lebih rendah pada medium air suling. Namun kelarutan andrografolid pada formula D, E, dan F masing-masing berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) pada ketiga medium.

Tabel 2 menunjukkan hasil uji kelarutan andrografolid pada semua formula berbeda signifikan

Tabel 2. Kelarutan andrografolid dalam medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 pada suhu 37°C.

Sampel	Medium air suling						Dapar fosfat pH 6,8			Dapar klorida pH 1,2		
	Kadar andrografolid (µg/mL)	Tingkat kelarutan andrografolid terhadap- Andrografolid standard		Kadar andrografolid (µg/mL)	Tingkat kelarutan andrografolid terhadap- Andrografolid standard		Kadar andrografolid (µg/mL)	Tingkat kelarutan andrografolid terhadap- Andrografolid standard		Fraksi etil asetat	Tingkat kelarutan andrografolid terhadap- Andrografolid standard	
		Fraksi etil asetat	Andrografolid standard		Fraksi etil asetat	Andrografolid standard		Fraksi etil asetat	Andrografolid standard			
Formula A	1.166,91	25,19x	18,27x	1.247,29	24,93x	24,72x	1.140,50	28,72x	20,18x			
Formula B	1.518,27	32,78x	23,78x	1.545,44	30,89x	30,63x	1.333,14	33,57x	23,58x			
Formula C	1.821,95	39,34x	28,53x	1.742,67	34,83x	34,54x	1.518,98	38,25x	26,87x			
Formula D	1.129,17	24,38x	17,68x	996,72	19,92x	19,76x	975,64	24,56x	17,26x			
Formula E	1.084,90	23,42x	16,99x	1.005,37	20,10x	19,93x	1.007,44	25,37x	17,82x			
Formula F	1.222,15	26,39x	19,14x	1.176,12	23,51x	23,31x	1.064,66	26,81x	18,83x			
Fraksi etil asetat	46,32	1,00x	0,73x	50,03	1,00x	0,99x	39,72	1,00x	0,70x			
Andrografolid standard	63,86	1,38x	1,00x	50,45	1,01x	1,00x	56,53	1,42x	1,00x			

Tabel 3. Laju disolusi andrografolid dalam medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2 pada suhu 37°C.

Sampel	Medium air suling						Medium dapar fosfat pH 6,8			Medium dapar klorida pH 1,2		
	Laju disolusi (bpj/menit)	Tingkat laju disolusi terhadap- Andrografolid standard		Laju disolusi (bpj/menit)	Tingkat laju disolusi terhadap- Andrografolid standard		Laju disolusi (bpj/menit)	Tingkat laju disolusi terhadap- Andrografolid standard		Fraksi etil asetat	Tingkat laju disolusi terhadap- Andrografolid standard	
		Fraksi etil asetat	Andrografolid standard		Fraksi etil asetat	Andrografolid standard		Fraksi etil asetat	Andrografolid standard			
Formula A	14,87	5,53x	4,71x	7,22	16,04x	5,19x	11,12	85,54x	10,39x			
Formula B	12,90	4,80x	4,08x	8,10	18,00x	5,83x	12,01	92,38x	11,22x			
Formula C	13,31	4,95x	4,21x	6,07	13,49x	4,37x	9,44	72,62x	8,82x			
Formula D	11,30	4,20x	3,58x	4,17	9,27x	3,00x	6,42	49,38x	6,00x			
Formula E	11,06	4,11x	3,50x	3,88	8,62x	2,79x	7,88	60,62x	7,36x			
Formula F	6,89	2,56x	2,18x	3,64	8,09x	2,62x	5,28	40,62x	4,93x			
Fraksi etil asetat	2,69	1x	0,85x	0,45	1x	0,32x	0,13	1x	0,12x			
Andrografolid standard	3,16	1,17x	1x	1,39	3,09x	1x	1,07	8,23x	1x			

dalam ketiga medium ( $P < 0,05$ ). Secara keseluruhan formula yang memberikan jumlah kelarutan tertinggi pada ketiga medium adalah formula C (menggunakan polimer PVP K30) yang berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan fraksi etil asetat, andrografolid standard dan formula-formula lainnya. Kelarutan andrografolid pada formula C dalam medium air suling, fosfat pH 6,8 dan klorida pH 1,2 masing-masing meningkat sebesar 39,34; 34,83; dan 38,25 kali bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat herba sambiloto, tetapi bila dibandingkan dengan andrografolid standard masing-masing meningkat sebesar 28,53; 34,54; dan 26,87 kalinya.

Formula F yang menggunakan polimer HPMC memiliki kelarutan yang tinggi dibandingkan dengan formula yang menggunakan polimer HPMC lainnya (formula D dan E). Pada medium air suling formula F tidak berbeda signifikan dengan formula A dan D ( $P > 0,05$ ). Formula F tidak berbeda signifikan dengan formula A dalam medium fosfat dan formula E dalam medium klorida ( $P > 0,05$ ). Kelarutan andrografolid pada formula F dalam medium air suling, fosfat pH 6,8 dan klorida pH 1,2 masing-masing meningkat sebesar 26,39; 23,15; 26,81 kali jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan meningkat 19,41; 23,31; dan 18,83 kali jika dibandingkan dengan andrografolid standard.

Tabel 2 juga memperlihatkan bahwa tingkat kelarutan andrografolid pada semua formula berbeda-beda bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard pada ketiga medium yang digunakan. Hal ini dikarenakan kelarutan andrografolid pada fraksi etil asetat dan andrografolid standard juga berbeda. Fraksi etil asetat memiliki kelarutan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan andrografolid standard. Fraksi etil asetat sebagai bahan obat merupakan bahan yang belum murni sehingga kelarutan andrografolid mungkin dipengaruhi oleh adanya senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam fraksi etil asetat.

Secara keseluruhan, semua formula menunjukkan tingkat kelarutan yang tinggi dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard pada ketiga medium. Formula yang menggunakan polimer PVP K30 memiliki kelarutan yang lebih tinggi dibanding dengan HPMC. Hal ini mungkin disebabkan adanya pengaruh polimer yang bersifat hidrofilik sehingga dapat memperbaiki pembasahan partikel andrografolid dengan berbagai medium membentuk ikatan hidrogen antara molekul andrografolid dan polimer<sup>(10,16)</sup>. Andrografolid mampu membentuk ikatan hidrogen baik sebagai donor dan akseptor pada interaksi hidrofobik. Ikatan hidrogen yang dimiliki andrografolid terdiri dari tiga ikatan hidrogen donor

(atom H pada gugus hidroksi yang terikat di C-3, C-19 dan C-14) dan lima ikatan hidrogen akseptor (atom O pada gugus hidroksi yang terikat di C-3, C-19, C-14, karbonil, dan lakton)<sup>(19)</sup>. Mekanisme terbentuknya ikatan hidrogen antara andrografolid dengan polimer PVP K30 mungkin terjadi antara ikatan atom C=O dan C=N dari PVP K30 dengan atom H dari gugus hidroksi (C-3, C-19 dan C-14) dari andrografolid. Sedangkan ikatan hidrogen antara andrografolid dengan HPMC mungkin terjadi antara ikatan atom OH dari HPMC dengan atom O dari gugus hidroksi (C-3, C-19, C-14, karbonil dan lakton) dari andrografolid<sup>(19,20)</sup>.

Kemungkinan lain yang menyebabkan meningkatnya kelarutan jenuh andrografolid pada formula yaitu adanya pengaruh dari sifat kelarutan andrografolid. Andrografolid bersifat basa konjugasi (memiliki nilai pKa 12,32) yang lebih terionisasi pada suasana asam, sehingga kelarutannya lebih baik dalam suasana asam dari pada suasana basa<sup>(21,22)</sup>. Hal ini sesuai dengan hasil uji kelarutan andrografolid pada andrografolid standard, yakni kelarutan andrografolid lebih tinggi dalam medium asam (pH 1,2) dibandingkan dengan medium basa (pH 6,8).

Namun, kelarutan andrografolid dalam medium air suling menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan medium asam dan basa. Hal ini mungkin disebabkan andrografolid dapat terionisasi dan membentuk ikatan hidrogen antar molekul andrografolid yang lebih kuat sehingga kelarutan di dalam medium air suling lebih tinggi dibandingkan dengan medium klorida pH 1,2 dan fosfat pH 6,8.

**Uji Disolusi secara *in Vitro*.** Uji disolusi andrografolid secara *in vitro* dimaksudkan untuk mengetahui laju disolusi andrografolid dari formula mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto pada medium air suling, dapar fosfat pH 6,8 dan dapar klorida pH 1,2. Uji disolusi dilakukan dalam tiga medium bertujuan untuk mengetahui gambaran laju disolusi andrografolid dalam air suling, kondisi saluran cerna usus dan lambung. Berdasarkan hasil uji disolusi, semua formula pada ketiga medium menunjukkan laju disolusi yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard. Formula A, B, C, D, E dan fraksi etil asetat masing-masing memiliki laju disolusi berbeda signifikan pada ketiga medium ( $P < 0,05$ ). Namun, formula F dan andrografolid standard masing-masing memiliki laju disolusi tidak berbeda signifikan pada ketiga medium ( $P > 0,05$ ).

Pada medium air suling, formula yang menggunakan polimer PVP K30 dan HPMC menunjukkan laju disolusi yang lebih tinggi dan berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard. Formula A, B, C, D, E dan F masing-masing memiliki laju disolusi sebesar

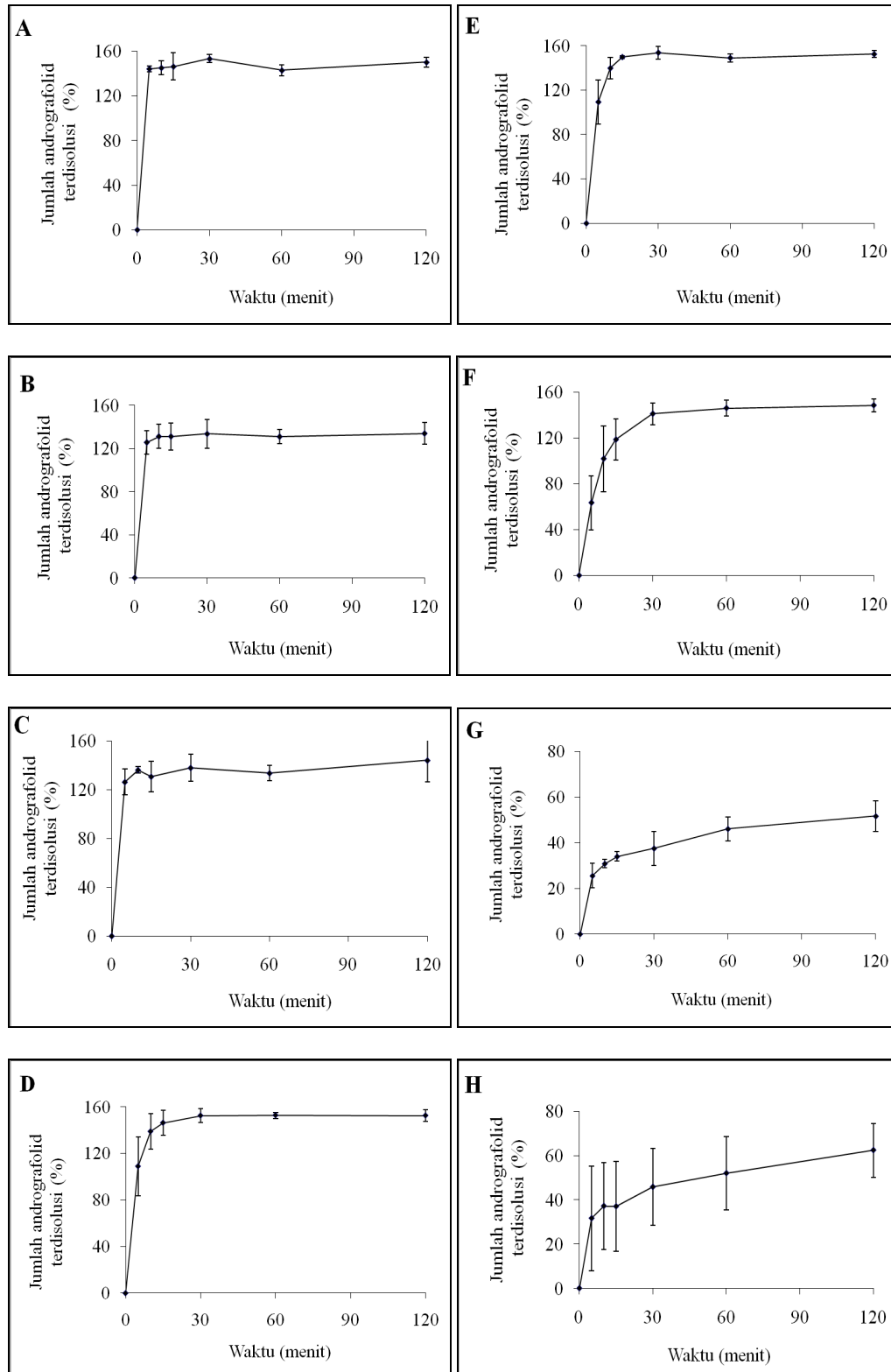




14,87; 12,90; 13,31; 11,30; 11,06 dan 6,89 bpj/menit sedangkan fraksi etil asetat dan andrografolid standard masing-masing memiliki laju disolusi sebesar 2,69 dan 3,16 bpj/menit (Tabel 3).

Profil disolusi andrografolid secara *in vitro* dalam

medium air suling ditampilkan juga dalam bentuk jumlah dan persentase kumulatif andrografolid yang terdisolusi terhadap waktu (Gambar 6). Profil disolusi menunjukkan bahwa formula A, B, C, D, dan E memiliki jumlah andrografolid terdisolusi lebih



Gambar 6. Profil disolusi andrografolid dari mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dalam medium air suling pada suhu 37 °C selama 2 jam. (A) formula A, (B) formula B, (C) formula C, (D) formula D, (E) formula E, (F) formula F, (G) fraksi etil asetat, dan (H) andrografolid standard.



dari 100% pada menit kelima yakni masing-masing sebesar 144,22; 125,64; 126,20, 108,85 dan 109,28 % tetapi formula F memiliki jumlah andrografolid terdisolusi sebesar 63,40%. Dengan demikian, laju disolusi tertinggi sudah dapat dicapai dengan jumlah konsentrasi polimer terendah yakni formula A dengan rasio fraksi etil asetat-PVP K30 (1:5). Sementara formula yang menggunakan polimer HPMC laju tertinggi dapat dicapai dengan menggunakan formula D (1:5) atau formula E (1:10) yang keduanya tidak berbeda signifikan ( $P>0,05$ ). Dari hasil menunjukkan bahwa laju disolusi andrografolid dalam medium air suling meningkat dengan menurunnya jumlah konsentrasi polimer yang digunakan. Hal ini mungkin dikarenakan semakin kecil jumlah konsentrasi polimer memberikan viskositas yang lebih rendah, sehingga andrografolid mudah terdisolusi dan memberikan kecepatan laju yang lebih tinggi. Hasil ini sejalan dengan penelitian Alanazi *et al*, 2007 yakni jumlah albendazol terdisolusi meningkat dengan menurunnya jumlah konsentrasi polimer HPMC. Laju disolusi andrografolid pada formula A, B, C, D, E dan F dalam medium air suling masing-masing meningkat sebesar 5,53; 4,80; 4,95; 4,20; 4,11; dan 2,56 kali jika dibandingkan fraksi etil asetat (2,69 bpj/menit) dan meningkat sebesar 4,71; 4,08; 4,21; 3,58; 3,50; dan 2,18 kali jika dibandingkan andrografolid standard (3,16 bpj/menit).

Semua formula pada medium dapar fosfat menunjukkan laju disolusi lebih tinggi dan berbeda signifikan ( $P<0,05$ ) dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard. Formula A, B, dan C yang menggunakan polimer PVP K30 memiliki laju disolusi masing-masing sebesar 7,22; 8,10 dan 6,07 bpj/menit. Formula A tidak berbeda signifikan dengan formula B dan C ( $P<0,05$ ) tetapi formula B berbeda signifikan dengan formula C ( $P>0,05$ ). Sementara itu formula D, E dan F yang menggunakan polimer HPMC memiliki laju disolusi masing-masing sebesar 4,17; 3,88 dan 3,64 bpj/menit dan ketiganya tidak berbeda signifikan ( $P>0,05$ ). Dengan demikian laju disolusi yang tinggi pada medium dapar fosfat dapat dicapai dengan menggunakan konsentrasi polimer yang rendah yakni formula A (1:5) atau B (1:7,5) menggunakan polimer PVP K30 dan formula D (1:5) menggunakan polimer HPMC.

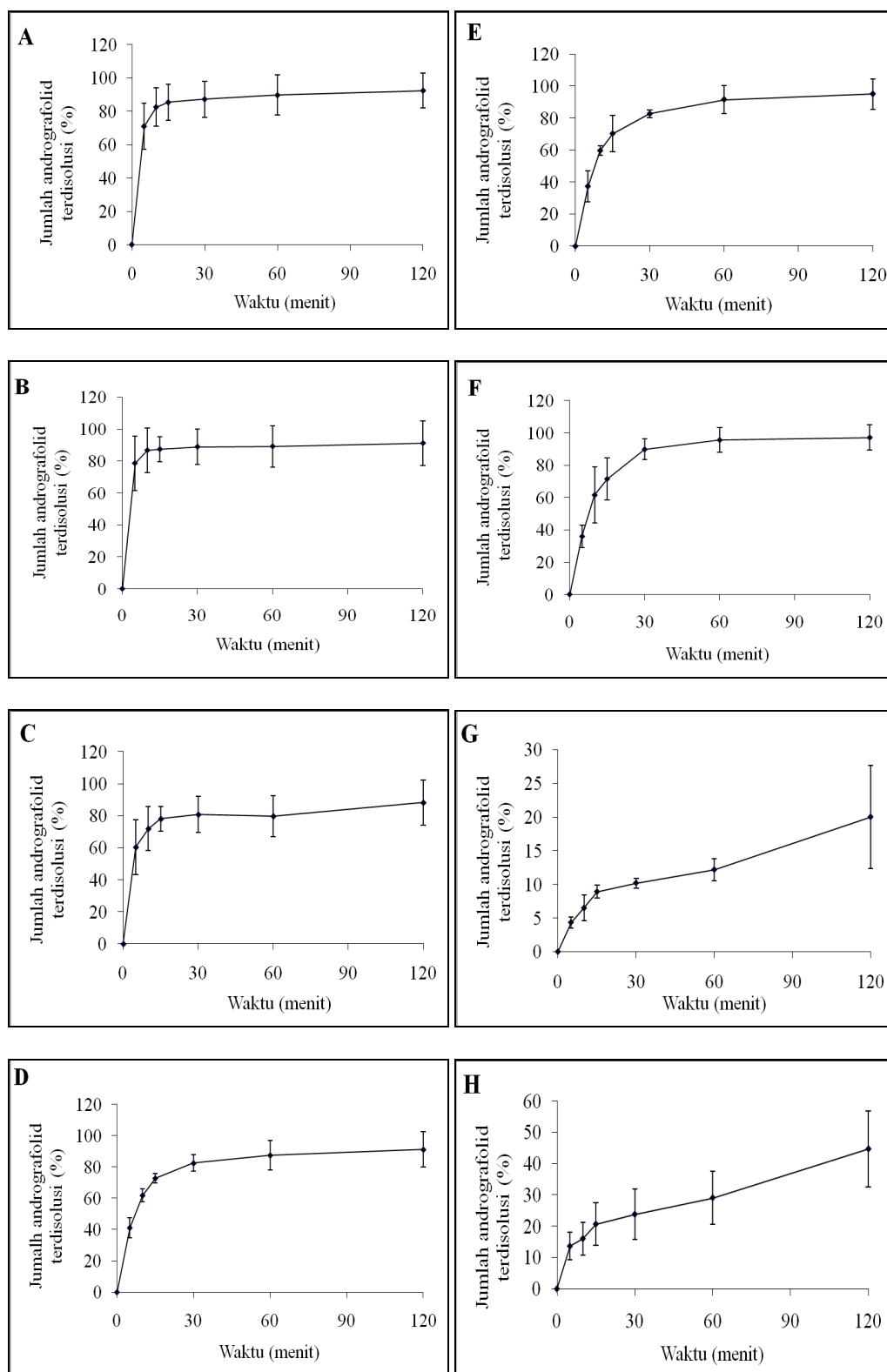
Profil disolusi andrografolid dalam medium fosfat diperoleh dengan menghitung jumlah andrografolid yang terdisolusi pada waktu tertentu dibandingkan jumlah andrografolid yang terdisolusi secara teoritis. Profil disolusi andrografolid dalam medium fosfat diperoleh dengan menghitung jumlah andrografolid yang terdisolusi pada waktu tertentu dibandingkan jumlah andrografolid yang terdisolusi secara teoritis.

Profil disolusi andrografolid dalam medium fosfat menunjukkan bahwa formula A, B, C, D, E, F, fraksi etil asetat dan andrografolid standard memiliki jumlah andrografolid terdisolusi masing-masing sebesar 70,96; 78,68; 60,35; 41,34; 37,37; 36,08; 4,34 dan 13,59 % yang dicapai pada menit kelima (Gambar 7). Hal ini menunjukkan bahwa semua formula yang menggunakan polimer PVP K30 dan HPMC dapat meningkatkan jumlah disolusi andrografolid dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard.

Laju disolusi formula A, B, C, D, E dan F dalam medium dapar fosfat masing-masing meningkat sebesar 16,04; 18,00; 13,49; 9,27; 8,62 dan 8,09 kali jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat herba sambiloto (0,45 bpj/menit) dan meningkat sebesar 5,19; 5,83; 4,37; 3,00; 2,79 dan 2,62 kali jika dibandingkan dengan andrografolid standard (1,39 bpj/menit).

Pada medium dapar klorida, formula A, B, C, D, E, F, fraksi etil asetat dan andrografolid standard masing-masing memiliki laju disolusi sebesar 11,12; 12,01; 9,44; 6,42; 7,88; 5,28; 0,13 dan 1,07 bpj/menit. Laju disolusi formula A, B dan C yang menggunakan polimer PVP K30 tidak berbeda signifikan ( $P>0,05$ ) pada medium dapar klorida. Begitu juga formula D, E dan F yang menggunakan polimer HPMC tidak berbeda signifikan ( $P>0,05$ ). Sementara itu, fraksi etil asetat dan andrografolid standard berbeda signifikan ( $P>0,05$ ) dengan semua formula (formula A, B, C, D, E dan F). Dengan demikian, penambahan konsentrasi polimer PVP K30 atau HPMC pada masing-masing formula A atau D tidak menunjukkan perbedaan laju disolusi yang signifikan. Laju disolusi tertinggi sudah dapat dicapai dengan rasio fraksi etil asetat-polimer (1:5).

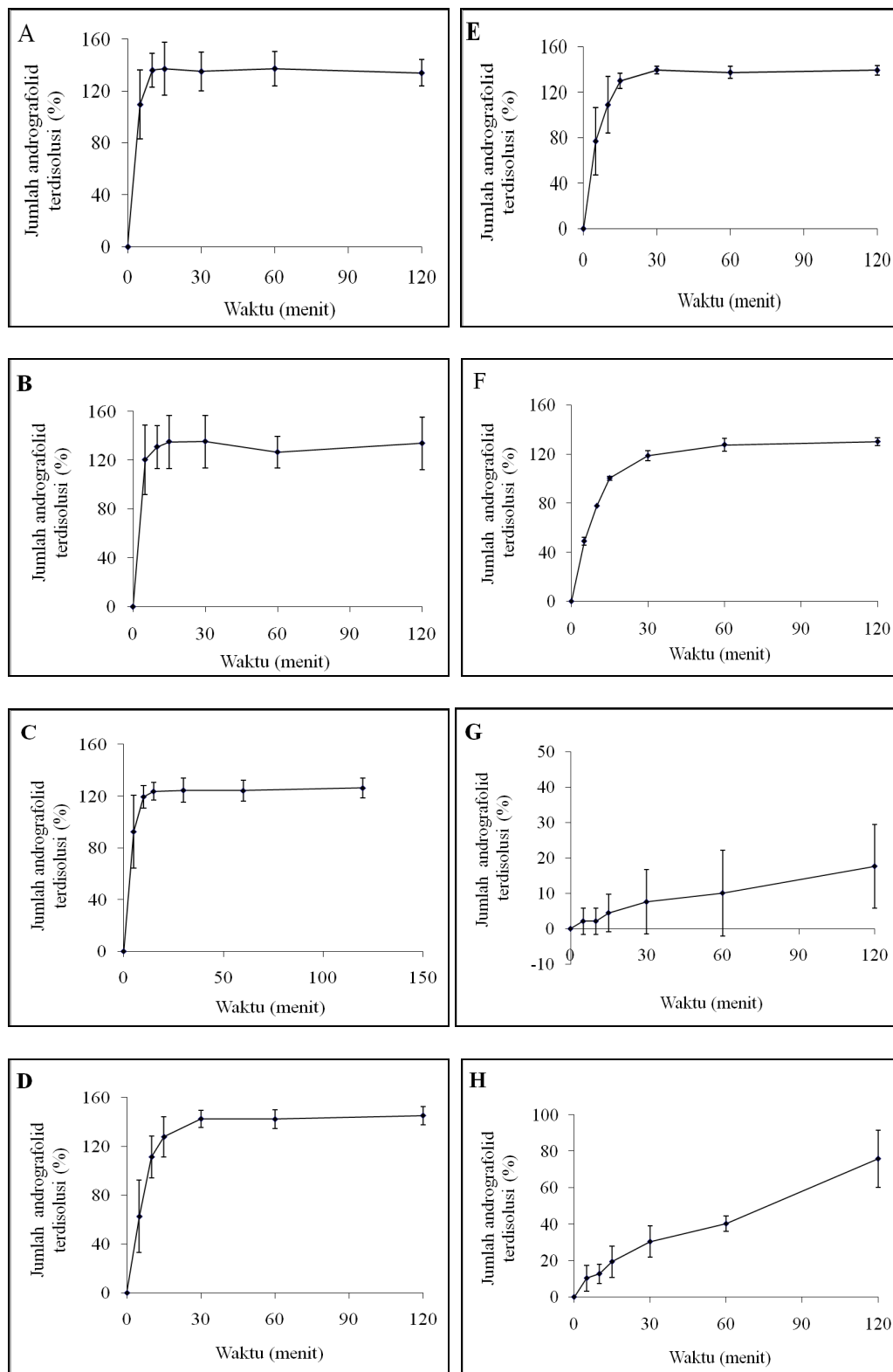
Profil disolusi andrografolid dalam medium dapar klorida ditampilkan pada Gambar 8. Formula A, B, C, D, E, F dan andrografolid standard memiliki jumlah andrografolid terdisolusi masing-masing sebesar 109,55; 120,24; 92,52; 62,58; 76,90; 49,01 dan 10,33% dicapai pada menit kelima. Sementara itu, fraksi etil asetat memiliki jumlah andrografolid terdisolusi sebesar 7,58% pada menit ke-30. Hal ini menunjukkan secara jelas bahwa semua formula dapat meningkatkan kelarutan andrografolid dibanding dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard. Formula A, B, C, D, E dan F dalam medium dapar klorida masing-masing meningkat laju disolusinya sebesar 85,54; 92,38; 72,62; 49,38; 60,62 dan 40,62 kali jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat (0,13 bpj/menit) dan meningkat sebesar 10,39; 11,22; 8,82; 6,00; 7,36 dan 4,93 kali jika dibandingkan dengan andrografolid standard (1,07 bpj/menit) seperti yang terlihat pada Tabel 3.



Gambar 7. Profil disolusi andrografolid dari mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dalam dapar fosfat pH 6,8 pada suhu 37 °C selama 2 jam. (A) formula A, (B) formula B, (C) formula C, (D) formula D, (E) formula E, (F) formula F, (G) fraksi etil asetat dan (H) andrografolid standard.

Secara keseluruhan, semua formula memiliki laju disolusi andrografolid yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan andrografolid standard pada ketiga medium. Semua formula pada medium air suling dan dapar klorida

memiliki kecepatan laju disolusi yang tinggi jika dibandingkan dengan medium dapar fosfat. Namun, jika dilihat dari medium yang sama, formula yang menggunakan polimer PVP K30 memiliki laju disolusi yang lebih tinggi dibanding dengan HPMC. Hal ini



**Gambar 8.** Profil disolusi andrografolid dari mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto dalam dapar klorida pada suhu 37 °C selama 2 jam. (A) formula A, (B) formula B, (C) formula C, (D) formula D, (E) formula E, (F) formula F, (G) fraksi etil asetat dan (H) andrografolid standard.

mungkin dikarenakan laju disolusi andrografolid dipengaruhi oleh kondisi pH medium yang digunakan. Hal yang sama dengan hasil uji kelarutan jenuh andrografolid pada andrografolid standard, kelarutan

andrografolid dalam medium air suling dan dapar klorida lebih tinggi jika dibandingkan dalam medium dapar fosfat. Selain itu, kemungkinan lain yang dapat meningkatkan laju disolusi yaitu adanya pengaruh

jenis polimer yang digunakan. PVP K30 dan HPMC merupakan polimer yang bersifat hidrofilik sehingga dapat memperbaiki pembasahan partikel andrografolid dengan membentuk ikatan hidrogen antara molekul andrografolid dengan polimer.

### SIMPULAN

Mikroenkapsulasi fraksi etil asetat herba sambiloto yang dibuat dari polimer PVP K30 dan HPMC dengan metode semprot kering dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi andrografolid dibandingkan dengan fraksi etil asetat herba sambiloto dan andrografolid standard. Mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto yang dibuat dari polimer PVP K30 memberikan hasil kelarutan dan laju disolusi lebih tinggi dibanding dengan HPMC.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Pusat Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi BPPT dan Kementrian Riset dan Teknologi (KNRT) yang telah menyediakan tempat dan fasilitas serta dukungan bahan-bahan untuk penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Wijayakusuma H. Atasi kanker dengan tanaman obat. Jakarta: Puspa Swara; 2008. 55-6.
2. Mishra KS, Neelam SS, Sangwan RS. *Andrographis paniculata* (Kalmegh): A review. *Pharmacognosy Reviews*. 2007. 1(2): 283-98.
3. Syarifah SMM, Ilham AM, Asiah O, Nurhanan OAM, Norhayati I, Shaira HL, *et al*. Proteomic assesment of bioactive constituent from selected Malaysian plant species with anti-breast cancer and anti-ovarian cancer potentials. *Selangor Darul Ehsan: Highlights of Forest Reseach Institute Malaysian (FRIM) Projects*; 2007. 158-62.
4. Jada SR, Subur GS, Matthews C, Hamzah AS, Lajis NH, Saad MS, *et al*. Semi synthesis and *in vitro* anticancer activities of andrographolide analogues. *Phytochemistry*. 2007. 68 (6): 904-12.
5. Rosidah I, Surini S, Sumaryono W. Aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kultur sel kanker payudara galur MCF7 dan T47D. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2011. 7 (6): 316-20.
6. Rosidah I, Surini S, Sumaryono W. Standardisasi fraksi etil asetat herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2012. 8 (1). 41-45.
7. Kumar RA, Sridevi K, Kumar NJ, Nanduri S, Rajagapol S. Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004. 92: 291-5.
8. Prapanza I, Marianto LA. Khasiat dan manfaat sambiloto. Jakarta: Argomedia Pusaka; 2003. 1-10.
9. Alanazi FK, El-Badry M, Ahmed MO, Alsarra IA. Improvement of albendazole dissolution by preparing microparticle using spray-drying technique. *Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm)*. 2007. 75: 63-79.
10. Leuner C, Jennifer D. Review Article. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000. 50: 47-60.
11. Chaudhary A, Nagaich U, Gulati N, Sharma VK, Khosa RL. Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2012. 2(1): 32-67
12. Rosidah I, Sumaryono W, Surini S. Preparasi mikrosfer fraksi etil asetat herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dengan metode semprot kering. 2012. 10 (2). 132-7.
13. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Buku Petunjuk Praktikum Farmasi Fisik. Depok: Universitas Indonesia. 2009.
14. Qiang ZZ. Reaction and computation studies of andrographolide analogues with glutathion and biological nucleophilic [dissertation]. Hongkong: City University of Hongkong; 2007. 16-17.
15. Ping LW. Preparation and characterization of spray dried inclusion complex between andrographolide and cyclodextrin [dissertation]. Hongkong: City University of Hongkong. 2009.13-14.
16. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta; 1995. 1065-6.
17. Torrado S, Torrado S, Torrado JJ, Cardoniga R. Preparation dissolution and characteritition of albendazole solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996. 140: 247-50.
18. Ruan LP, Yu BY, Fu GM, Zhu D. Improving the solubility of ampelopsin by solid dispersions and inclusion complex. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2005. 38: 457-64.
19. Levita L, Nawawi A, Muthalib A, Ibrahim S. Andrographolide: A review of its anti-inflammatory activity via inhibition of nf-kappab activation from computation chemistery aspects. *International Journal of Pharmacology*. 2010. 6(5): 569-76.
20. Shinde SS, Patil SS, Mevekari FI, Satpute AS. Research article. An approach for solubility enhancement: solid dispersion. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*. 2010. 1: 299-308.
21. Chemical dictionary online. 2010. Andrographolide. [http://www.chemicaldictionary.org/dic/A/Andrographolide\\_1270.html](http://www.chemicaldictionary.org/dic/A/Andrographolide_1270.html). diakses 06 Desember, 2010.
22. Ritschel WA, Kearns GL. Handbook of basic pharmacokinetics-including clinical aplication. New York: American Pharmaceutical Association; 1999. 47-52.