

PEMBUATAN NANOSFER BERBASIS BIODEGRADABEL POLILAKTAT (PLA) DENGAN METODE ULTRASONIK

N. Ariyandi¹, Sudaryanto², M. Kurniati¹, Mujamilah² dan Ari H.²

¹Departemen Fisika, FMIPA - IPB
Kampus Darmaga, Bogor

²Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir (PTBIN) - BATAN
Kawasan Puspiptek, Serpong 15314, Tangerang

ABSTRAK

PEMBUATAN NANOSFER BERBASIS BIODEGRADABEL POLILAKTAT (PLA) DENGAN METODA ULTRASONIK. Telah dilakukan studi tentang pembuatan nanosfer berbasis biodegradabel polilaktat dengan metode ultrasonik. Pembuatan dilakukan melalui proses emulsi evaporasi. Pada metode ini emulsi dibuat dengan menggunakan metode ultrasonik. Parameter yang divariasikan adalah lamanya waktu sonikasi dengan selang waktu 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit, 10 menit dan 15 menit. Karakterisasi dilakukan menggunakan Difraktometer Sinar-X untuk mengetahui perubahan struktur yang terjadi, SEM (*Scanning Electron Microscope*) untuk mengetahui ukuran dan morfologi dari sampel yang dihasilkan serta DSC (*Differential Scanning Calorimeter*) untuk mengetahui kinetika reaksi pada sampel. Karakterisasi SEM menunjukkan proses emulsi berjalan efektif pada selang waktu sonikasi 8 menit yang menghasilkan partikel PLA dengan ukuran terkecil yaitu sebesar 482 nm dan distribusi ukuran yang terhomogen. Hasil analisis pola difraksi sinar-X menunjukkan terjadinya perubahan struktur sampel dari keadaan awal kristalin menjadi semakin amorf dengan meningkatnya waktu sonikasi yang akan meningkatkan tingkat degradasi nanosfer. Analisis ini juga didukung oleh analisis pada kurva DSC.

Kata kunci : Nanosfer, PLA, sonikasi, emulsifikasi

ABSTRACT

SYNTHESIS OF BIODEGRADABLE NANOSPHERE BASE ON POLYLACTIDE ACID (PLA) USING ULTRASONIC METHOD. Synthesis study of Polylactide base biodegradable nanosphere has been done. Nanosphere was synthesized via emulsion evaporation process. Emulsion process was done using ultrasonic irradiation. Sonication times were varied for 2, 4, 6, 8, 10 and 15 minute. XRD technique was used to study the change of crystal structure while the size and morphology of the sphere were determined using SEM. DSC curve was analyzed to study reaction kinetics within the sample. SEM results indicated that emulsion process is effective on 8 minute time giving nanosphere of 482 nm with homogeneous size distribution. Crystal Structure of polylactide became amorphous, which degree were increasing with increasing sonication time. Decrease of DSC peak intensity for longer sonication time sample support this amorphous change.

Key word : Nanosphere, PLA, sonication, emulsification

PENDAHULUAN

Di dalam dunia kedokteran, pengiriman obat merupakan hal yang menjadi kebutuhan primer dalam usaha menyembuhkan pasien yang sakit. Dalam upaya pengiriman ini, beberapa hal perlu diperhatikan yaitu obat harus dapat mencapai target dan terserap oleh tubuh secara efektif. Selanjutnya efek samping dalam proses pengiriman harus dapat diminimalisir [1].

Salah satu upaya untuk memenuhi persyaratan ini adalah penggabungan obat dengan bahan organik sebagai sistem pengiriman obat (*drug delivery system, DDS*). Ukuran dan jenis DDS ini dapat disesuaikan dengan jenis dan target penempatan obat sehingga efektifitas dan efisiensi pengiriman obat dapat ditingkatkan. Dalam beberapa dekade terakhir ini, banyak

upaya dilakukan untuk mengembangkan nanopartikel biodegradabel sebagai sistem DDS.

Nanopartikel adalah partikel padat yang dapat membentuk koloid, terdiri dari makromolekul berukuran antara 10 nm sampai 1000 nm. Keunggulan pemakaian nanopartikel ini ada dua hal yaitu nanopartikel karena ukurannya yang kecil dapat menembus kapiler yang sempit dan berinteraksi langsung dengan cell yang memungkinkan akumulasi obat secara efektif pada target yang dituju. Kedua, pemakaian bahan biodegradabel untuk pembuatan nanopartikel memungkinkan pelepasan obat secara bertahap, dalam jangka waktu yang dapat dikendalikan. Obat yang hendak dikirim bisa dilarutkan, dikungkung oleh lapisan polimer biodegradabel ataupun

dicangkokkan pada permukaan nanopartikel. Bergantung pada jenis bahan serta metode yang digunakan, nanopartikel dalam bentuk nanosfer ataupun nanokapsul dapat diperoleh dengan sifat dan karakteristik pelepasan obat yang berbeda. Bahan pelapis yang digunakan juga harus bersifat biokompatibel ketika dimasukkan ke dalam tubuh. Contoh bahan yang sering dipakai adalah golongan poliester seperti polilaktat (PLA), poliglikolat (PGA), dan kopolimernya [3].

Untuk mencapai ukuran yang kecil, disamping berbagai parameter bahan (komposisi, viskositas dan jenis bahan), maka hal yang perlu diperhatikan adalah metode/proses pembuatannya. Berbagai macam proses pembuatan mikrosfer/nanosfer yang biasa digunakan meliputi proses emulsi-evaporasi, proses emulsi-difusi, proses inversi fasa, dan presipitasi interfasial [4]. Proses pembentukan emulsi secara prinsip melibatkan pencampuran dua fasa, fasa minyak ke dalam fasa air (*o/w emulsion*) atau fasa air dalam fasa minyak (*w/o emulsion*) tergantung bahan yang akan diemulsikan. Pada metode emulsi evaporasi konvensional, proses pembentukan emulsi/pencampuran dilakukan menggunakan pengaduk (*mixer*) dengan kecepatan tinggi (≈ 15.000 rpm). Namun demikian, partikel yang dihasilkan masih berukuran lebih dari 1 mm [5].

Pada pembuatan partikel dengan proses emulsi evaporasi menggunakan metode ultrasonik, ukuran partikel akan bergantung pada ukuran gelembung (kavitasi akustik) [6]. Besar kecilnya gelembung kavitasi yang terbentuk dipengaruhi oleh lamanya waktu sonikasi, keadaan material yang akan dikenai gelombang tersebut, dan besarnya amplitudo yang digunakan. Namun, secara umum, dengan tingginya frekuensi gelombang sonikasi yang digunakan dapat diharapkan ukuran partikel yang terbentuk akan lebih kecil dibandingkan metoda konvensional.

Pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan partikel PLA dimana fasa minyak diperoleh dengan melarutkan PLA pada kloroform, sedangkan fasa air berupa larutan PVA yang akan berfungsi sebagai penstabil emulsi. Waktu sonikasi divariasikan dengan keadaan material dan amplitudo sonikasi konstan. Hal ini dimaksudkan agar dapat dipelajari sejauh mana pengaruh lama pemberian gelombang ultrasonik terhadap fasa, ukuran serta morfologi dari partikel PLA yang terbentuk. Fasa dianalisa menggunakan metoda difraksi sinar-X dan DSC sedangkan ukuran dan morfologi partikel diperoleh dari pengamatan menggunakan SEM.

METODE PERCOBAAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *PolyLactide* (PLA, berat molekul 39.000) dalam bentuk pelet dari Wako (Jepang), *Chloroform* dengan standar pro analisis dari Merck dan *Polyvinil Alcohol* (PVA, berat molekul 72.000) dari Merck serta air demineral sebagai pelarut PVA.

Kegiatan diawali dengan penyiapan larutan PLA 10% berat dengan menambahkan 10 gram PLA pada cairan kloroform sehingga diperoleh larutan seberat 100 mL sebagai fasa minyak. Larutan ini dikocok perlahan dan didiamkan 1 hari agar PLA larut sempurna. Untuk membuat larutan PVA 5% berat, sebanyak 5 gram PVA dilarutkan sedikit demi sedikit kedalam 90 mL akuades yang dipanaskan pada suhu 60°C hingga larut sempurna. Larutan ini kemudian ditambah air hingga volumenya 100 mL.

Selanjutnya pembentukan emulsi dilakukan dengan proses sonikasi pada campuran 10 mL larutan PLA dengan 10 mL larutan PVA. Proses sonikasi dilakukan dengan selang waktu sonikasi bervariasi 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit, 10 menit dan 15 menit. Sedangkan amplitudo ditetapkan pada posisi 40 %.

Untuk proses evaporasi kloroform dan pencucian PVA, larutan emulsi dituangkan kedalam 300 ml air dan diaduk dengan kecepatan 4000 rpm selama 1 jam dan selanjutnya diendapkan selama 24 jam. Endapan dicuci sekali lagi dengan proses yang sama dan hasil endapan selanjutnya diuapkan pada gelas arloji untuk proses pengeringan dalam udara selama 1 hari dan dikarakterisasi lebih lanjut.

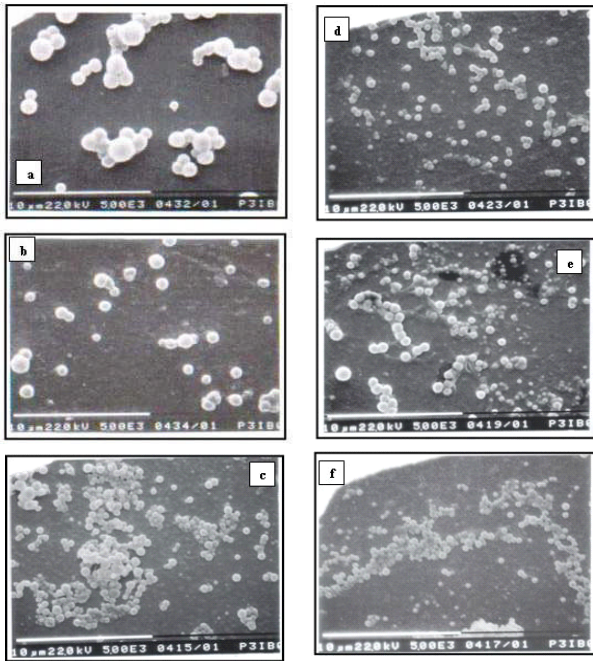
Karakterisasi ukuran dan morfologi partikel PLA yang terbentuk dilakukan dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran maksimal 5.000 kali. Penentuan ukuran butir dilakukan dengan merata-ratakan ukuran partikel yang ditarik pada satu garis lurus yang paling mewakili kondisi sampel. Untuk karakterisasi fasa, dilakukan dengan menganalisis pola difraksi sinar x hasil pengukuran dengan Difraktometer Sinar-X Phillips. Kurva perubahan entalpi relatif hasil pengukuran dengan DSC7 Perkin Elmer dianalisis untuk menjelaskan perubahan kinetika reaksi yang terjadi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Bentuk dan Ukuran Nanosfer PLA dengan SEM

Hasil karakterisasi dengan SEM terhadap nanosfer yang dibuat dengan menggunakan metode sonikasi ditunjukkan pada Gambar 1. Dari hasil karakterisasi tersebut di dapat gambar berupa gelembung dengan morfologi hampir sama. Morfologi yang terlihat berupa bulatan seperti bola (*sphere*). Perbesaran yang dilakukan pada gambar SEM sebesar 5.000 kali.

Dari pengukuran diameter partikel berdasarkan foto SEM didapatkan data seperti pada Tabel 1 dan grafik yang ditunjukkan pada Gambar 2. Pada tabel digambarkan selain waktu sonikasi dan diameter nanosfer, juga standar deviasinya. Standar deviasi tersebut menggambarkan keadaan sampel yang diambil sebagai rata-rata. Semakin kecil standar deviasi menggambarkan semakin seragamnya sampel. Gambar 2

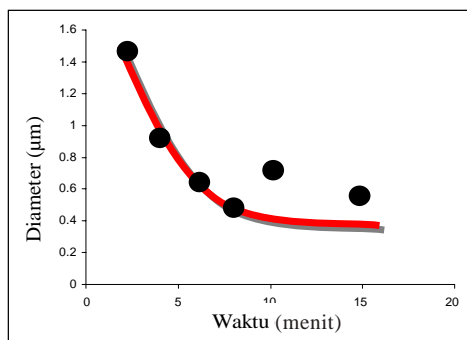


Gambar 1. Hasil SEM PLA nanosfer, a). 2 menit; b). 4 menit; c). 6 menit; d). 8 menit; e). 10 menit dan f). 15 menit.

menggambarkan grafik waktu sonikasi terhadap diameter partikel. Dengan komponen grafik adalah absis berupa lamanya waktu sonikasi sedangkan ordinat menggambarkan ukuran diameter rata-rata partikel pada setiap sampel. Dari gambar tersebut jika ditarik garis yang menghubungkan titik-titik tersebut didapatkan garis eksponensial. Hal tersebut menggambarkan ukuran yang semakin kecil secara eksponensial seiring dengan waktu sonikasi. Ukuran terkecil terjadi pada waktu sonikasi

Tabel 1. Waktu sonikasi terhadap diameter.

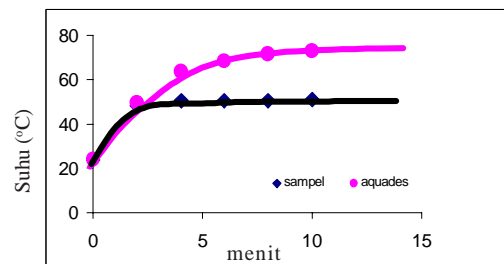
No	Waktu (s)	Diameter (μm)	Standar Deviasi
1	2	1.469	0.274
2	4	0.908	0.160
3	6	0.632	0.093
4	8	0.482	0.059
5	10	0.720	0.122
6	15	0.535	0.084



Gambar 2. Grafik ukuran nanosfer PLA sebagai fungsi waktu sonikasi

8 menit yaitu 0,482 μm dan untuk waktu selanjutnya ukuran partikel yang terbentuk akan terjadi saturasi. Harga standar deviasi terkecil juga dimiliki untuk sampel pada selang waktu 8 menit, menunjukkan tingkat homogenitas distribusi ukuran partikel optimal pada sampel ini.

Pada proses sonikasi juga diukur perubahan suhu emulsi yang terjadi seperti yang ditampilkan pada Gambar 3. Dari pengukuran didapat data bahwa suhu emulsi mula-mula akan meningkat dengan makin lamanya sonikasi, namun kemudian pada selang 5 menit menuju suhu yang konstan (saturasi) yang sejalan dengan perubahan ukuran partikel.

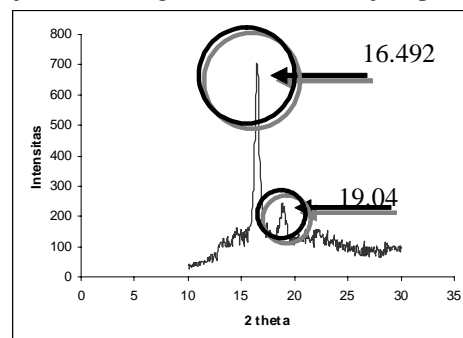


Gambar 3. Grafik suhu emulsi terhadap waktu sonikasi.

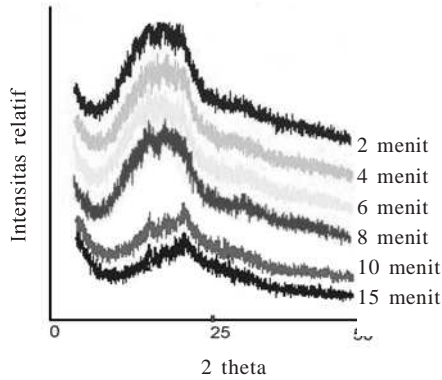
Proses yang sama bila dilakukan pada aquades menunjukkan tingkat kenaikan suhu dan saturasi yang lebih tajam. Hal ini menunjukkan bahwa pada awal proses energi sonikasi yang ada masih cukup tinggi untuk menghasilkan gelembung/partikel yang lebih kecil. Namun kemudian energi tersebut tak mampu lagi memperkecil ukuran. Berdasar kondisi ini serta kondisi perubahan suhu pada aquades, kemungkinan untuk memperkecil ukuran lebih lanjut dapat dilakukan dengan menaikkan energi sonikasi dengan meningkatkan amplitudonya atau dengan mengencerkan / menurunkan viskositas bahan.

Analisis Struktur Nanosfer PLA

Pola difraksi sinar X dari partikel PLA pada berbagai selang waktu sonikasi ditunjukkan pada Gambar 5. Pola ini bila dibandingkan dengan pola PLA murni pada Gambar 4 yang tidak mengalami sonikasi, menunjukkan terjadinya perubahan dari fasa kristalin menuju amorf. Tingkat amorf makin tajam pada selang



Gambar 4. Pola XRD PLA murni.



Gambar 5. Pola XRD PLA hasil sonikasi sebagai fungsi waktu sonikasi

waktu proses antara 8 menit sampai dengan 10 menit. Hal ini bila dikaitkan dengan data-data SEM diatas, sekali lagi menunjukkan kondisi perubahan optimal pada selang waktu 8 menit ini.

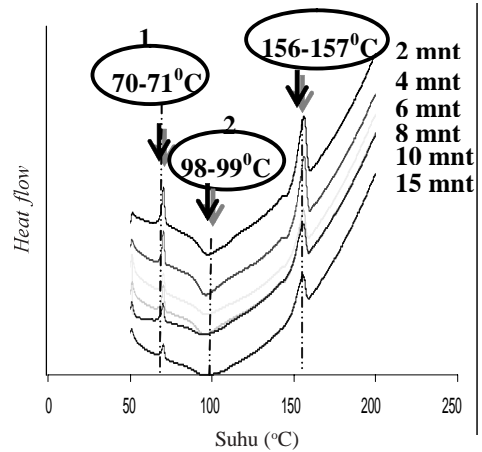
Secara umum, perubahan struktur yang terjadi dianalisa dikarenakan pemberian gelombang ultrasonik menghasilkan suhu yang besar. Seperti diketahui dari acuan, dalam proses sonikasi ini, pecahnya gelembung kavitasasi pada saat telah mencapai ukuran jenuh akan menghasilkan suhu yang sangat tinggi yang mencapai 5.000 °C. Kenaikan suhu ini bersifat setempat dan diikuti dengan pendinginan yang sangat cepat. Akibat peningkatan suhu yang tajam, atom-atom pada sampel bergerak dengan cepat dan secara acak.

Pendinginan cepat yang mengiringinya menyebabkan atom yang bergerak tidak mempunyai waktu yang cukup untuk menata ulang kembali pada susunan semula [7] dan menyebabkan terjadinya struktur amorf. Dengan makin lamanya selang waktu sonikasi, struktur amorf ini makin meningkat yang dapat dilihat dari semakin landainya kurva yang terbentuk dari selang waktu antara 8 menit dan 10 menit.

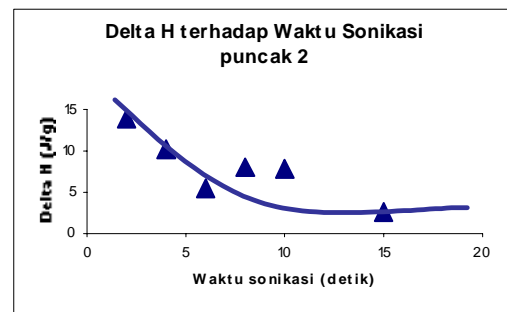
Perubahan sifat yang lebih amorf pada sampel jika disonikasi lebih lama berdampak pada sifat biodegradabel. semakin amorf puncak yang dihasilkan semakin mudah sampel tersebut diuraikan atau terdegradasi. Sifat tersebut sangat mendukung dalam aplikasi PLA dalam bidang kedokteran terutama sebagai DDS (*Drug Delivery System*).

Analisis Struktur Nanosphere PLA dengan DSC

Analisis perubahan struktur selanjutnya dilakukan pada kurva DSC. Pada Gambar 6 diperlihatkan kurva DSC dengan waktu sonikasi yang berbeda. Secara umum keadaan ke-6 sampel menghasilkan pola termogram yang hampir sama. Terjadi puncak endotermik pada suhu 70 °C sampai dengan 71 °C lalu diikuti dengan puncak kristalisasi pada suhu 98 °C sampai dengan 99 °C dan pada akhirnya mencapai titik leleh pada suhu 156 °C sampai dengan 157 °C.



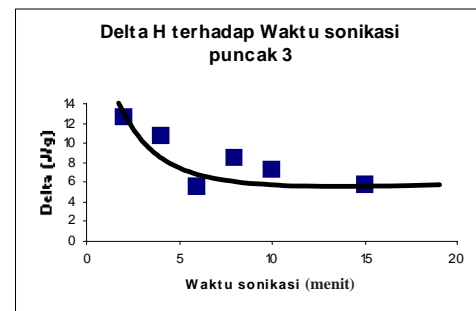
Gambar 6. Kurva DSC PLA hasil sonikasi pada berbagai waktu sonikasi



Gambar 7. Penurunan entalpi pada puncak kristalisasi PLA.

Pengamatan lebih lanjut pada perubahan entalpi relatif puncak-puncak pada kurva diatas, menunjukkan pola perubahan yang sejalan dengan pola perubahan pada data-data SEM maupun XRD. Pola penurunan entalpi untuk puncak kristalisasi diperlihatkan pada Gambar 7. Terlihat bahwa perubahan entalpi relatif mula-mula menurun dengan tajam seiring kenaikan waktu sonikasi dan mulai melandai pada selang waktu 8 menit. Perubahan ini menunjukkan makin rendahnya tingkat kristalisasi pada bahan, seperti yang diperoleh dari data XRD.

Demikian pula perubahan entalpi puncak pelelehan yang sama pada Gambar 8 menunjukkan makin mudahnya bahan meleleh atau dengan kata lain struktur yang ada menjadi kurang kuat atau mudah terdegradasi.



Gambar 8. Penurunan entalpi pada puncak pelelehan PLA.

KESIMPULAN

Dari kegiatan studi ini, diperoleh bahwa metode sonikasi pada pembuatan partikel dengan proses emulsi dapat menghasilkan partikel dengan ukuran yang lebih kecil dari metode pengadukan biasa. Ukuran partikel akan mengecil dengan meningkatnya waktu sonikasi namun akan mencapai kondisi jenuh pada selang waktu tertentu. Pada penelitian ini, untuk bahan *PLA* dengan konsentrasi larutan 0,1 M, ukuran partikel terkecil dan dengan distribusi ukuran terbaik diperoleh untuk selang waktu 8 menit yaitu sebesar (482 ± 59) nm sehingga dapat digolongkan sebagai bahan nanosfer. Optimalisasi perubahan pada selang waktu ini juga terlihat pada perubahan struktur hasil analisis pola *XRD* serta analisis kinetika reaksi pada kurva *DSC*. Struktur berubah menjadi makin amorf dengan tingkat degradasi yang makin tinggi dengan makin lamanya waktu sonikasi.

Data yang diperoleh pada penelitian ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan pada penyiapan partikel *PLA* dengan ukuran dan tingkat degradasi yang sesuai dengan tuntutan pemanfaatan.

DAFTARACUAN

- [1]. ANONIM <http://www.feycon.com/Expertise/expertise> [21 Maret 2006]
- [2]. RAJEV A.J., *The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable Poly(Lactide-co-glicolide) (PLGA) devices*, Elsevier Science Biomaterials, **21** (23) (2000) 2475-2490
- [3]. ANONIM, *Macro Pore Resorbable Technology: An Overview, Scientific Data Series in Resorbable Fixation*
- [4]. FLORENCE DELIE and M.J. BLANCO-PRIETO, Polymeric Particulates to Improve Oral Bioavailability of Peptide Drugs, *Molecules*, **10** (2005) 65-80
- [5]. LIM CHANG MOU, *Synthesis and Characterization of Poly (Lactid Acid) Micro/Nanospheres for Potential Drug Delivery*, (2000)
- [6]. POH CHENG TIEN ROBBIN, HENG XIYAN and LIO TIING SHEN, *Cavitation and Sonochemistry at* [http : //sps.nus. edu.sg/~pohcheng/21711205.pdf](http://sps.nus.edu.sg/~pohcheng/21711205.pdf)
- [7]. B.D., CULLITY, *Introduction to X-ray Diffraction*, Prentice Hall, London, (1998)