

Rumpun Ilmu	: Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal
Bidang Keahlian	: Chemical Sciences
Jenis Riset	: Dasar

LAPORAN AKHIR
SKEMA PENELITIAN DASAR



STABILITAS DAN KELARUTAN KONJUGASI KITOSAN-ASPIRIN

TIM PENELITI :

Ketua : Dian Prasasti, S.Si., M.Sc.

Anggota : 1. Deasy Vanda Pertiwi, S.Farm., M.Sc., Apt
2. Muslih Anwar

Mahasiswa Terlibat : 1. Zulian Nur Pramesti (1900023239)
2. Ananda Majidah Sudiro (1900023205)

FARMASI
FARMASI
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
JANUARI 2023

COVER LETTER
LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN TA. 2022/2023

Ketua Peneliti : Dian Prasasti, S.Si., M.Sc.
Judul Penelitian : Stabilitas dan Kelarutan Konjugasi Kitosan-Aspirin
Hari, Tanggal Review : Senin, 02 Januari 2023

No.	Kriteria (Indikator Penilaian)	Komentar Reviewer	Isi Perbaikan
1.	A. Ringkasan penelitian berisi: (i) latar belakang penelitian, (ii) tujuan penelitian, (iii) tahapan metode penelitian, (iv) luaran yang ditargetkan, (v) uraian TKT penelitian yang ditargetkan serta (vi) hasil penelitian yang diperoleh sesuai dengan tahun pelaksanaan penelitian.	Ringkasan sesuai	alhamdulillah
2.	B. Kata kunci maksimal 5 kata kunci. Gunakan tanda baca titik koma (?) sebagai pemisah, dan ditulis sesuai urutan abjad.	Kata kunci ada 4	betul
3.	C. Hasil pelaksanaan penelitian berisi: (i) kemajuan pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian, (ii) data yang diperoleh, (iii) hasil analisis data yang telah dilakukan, (iv) pembahasan hasil penelitian, serta (v) luaran yang telah didapatkan. Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dan hasil penelitian dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta pembahasan hasil penelitian didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.	Penulisan hasil pembahasan diperbaiki penulisan ejaan asing, huruf besar kecil dan cara penulisan sitasinya.	sudah
4.	D. Status luaran berisi identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui portal penelitian.	Luaran belum dilakukan karena penelitian belum selesai. Sebagian tahap penelitian telah diseminarkan pada 21 September 2022, namun belum dilengkapi dengan bukti keikutsertaan seminarnya	bukti keikutsertaan seminar telah dilampirkan
5.	E. Peran Mitra berupa realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik in-kind maupun in-cash (untuk Penelitian Terapan dan Pengembangan). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra unggah melalui portal penelitian.	Tidak ada mitra	iya

6.	F. Kendala Pelaksanaan Penelitian berisi kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan.	Ketika melakukan sintesis kitosan aspirin, hasil yang didapat dari 1 kali sintesis adalah 0,2 gram, sementara untuk uji kelarutan dan stabilitas dibutuhkan setidaknya 5 gram sampel tiap variasi kitosan-aspirin. Sementara kitosan-aspirin yang divariasi terdapat 6 variasi, sehingga sampai saat ini belum dapat dilakukan uji stabilitas dan kelarutan karena masih memperbanyak sampel. Selain itu, 1 mahasiswa yang membantu jalannya penelitian yaitu Zulian Nur Pramesti sakit dan meninggal dunia pada 1 oktober 2022, sehingga penelitian sempat terhenti beberapa saat	masih tahap uji stabilitas pada bulan 1, masih kurang 5 bulan.
7.	G. Rencana Tahapan Selanjutnya berisi tentang rencana penyelesaian penelitian dan rencana untuk mencapai luaran yang dijanjikan jika belum tercapai.	Setelah selesai tahap sintesis akan dilakukan uji kelarutan dan stabilitas	iya
8.	H. Daftar Pustaka disusun dan ditulis berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi/diacu pada laporan kemajuan saja yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.	Ada 17 referensi, namun belum semuanya tercantum di sitasi	sudah

Penilaian/Review Luaran Penelitian

No.	Komponen	Kriteria	Komentar Reviewer
1.	Identitas Luaran	Lengkap / Tidak lengkap	
2.	Status Luaran	Memenuhi / Tidak	
3.	Bukti Status Luaran	Ada / Tidak	
4.	Bukti Luaran / File	Ada / Tidak	
5.	URL / Link Luaran	Dapat diakses menuju luaran/tidak	

PENELITIAN DANA INTERNAL UAD
TAHUN AKADEMIK 2022/2023

A. DATA PENELITIAN

1. Identitas Penelitian

- a. NIY/NIP : 60160915
- b. Nama Lengkap : Deasy Vanda Pertiwi, S.Farm., M.Sc., Apt
- c. Judul : Stabilitas dan Kelarutan Konjugasi Kitosan-Aspirin
- d. Lokasi Penelitian : Laboratorium Terpadu Universitas Ahmad Dahlan
- e. Lama Penelitian : 7 Bulan
- f. Tanggal Mulai : 02 Juli 2022
- g. Tanggal Rencana Selesai : 31 Januari 2023

2. Skema Penelitian

- a. Skema Penelitian : Internal - Penelitian Dasar
- b. Jenis Riset : Dasar
- c. Tingkat Kesiapterapan Teknologi (TKT) : 2
- d. Tujuan Sosial Ekonomi (TSE) : 20.10-Medical and health sciences
- e. Bidang Kepekaran : Chemical Sciences
- f. Bidang Fokus : Teknologi Informasi dan Komunikasi (TIK) atau Produk Rekayasa Keteknikan
- g. Tema Penelitian : Pengembangan Obat, Kosmetika, dan Pangan dari Bahan Sintetik
- h. Topik Penelitian : Penemuan dan modifikasi obat dan kosmetika sintetik
- i. Renstra Penelitian : Program Studi
- j. Rumpun Ilmu : Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal

B. SUBSTANSI PENELITIAN

Data Mitra

- a. Nama Mitra :
- b. Alamat Mitra :

C. ANGGOTA PENELITIAN

1. Anggota Internal

- Nama Anggota Internal : 1. Deasy Vanda Pertiwi, S.Farm., M.Sc., Apt

2. Anggota Mahasiswa

- Nama Anggota Mahasiswa : 1. Zulian Nur Pramesti (1900023239)
2. Ananda Majidah Sudiro (1900023205)

3. Anggota Eksternal

- Nama Anggota Eksternal : 1. Muslih Anwar

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Ringkasan Penelitian, terdiri dari 250-500 kata, berisi: latar belakang penelitian, tujuan penelitian, tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, uraian TKT penelitian yang ditargetkan serta hasil penelitian yang diperoleh sesuai dengan tahun pelaksanaan penelitian.

RINGKASAN

Saat ini, upaya peningkatan *performance* obat-obat yang sudah ada terus dilakukan guna peningkatan aktivitas maupun mengurangi efek samping yang ditimbulkan. Upaya peningkatan *performance* obat-obat yang sudah ada terus dilakukan guna peningkatan aktivitas maupun mengurangi efek samping yang ditimbulkan. Rekayasa bahan baku memberikan alternatif yang menjanjikan untuk peningkatan aktivitas maupun mengurangi efek samping.

Asam asetil salisilat (Aspirin) merupakan salah satu obat golongan antiinflamasi non steroid yang banyak digunakan di Indonesia. Aspirin merupakan golongan obat antiinflamasi non steroid (AINS) yang memiliki efek analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi. Dalam dekade ini, aspirin berkembang untuk pengobatan stroke dan kardiovaskular melalui aktivitas antiplatelet. Akan tetapi, sebagaimana yang telah diketahui, efek samping dari aspirin yang paling umum adalah gangguan pada saluran pencernaan. Adanya gugus asam karboksilat pada aspirin memberikan efek samping pada pencernaan. Selain itu penghambatan dari COX menyebabkan turunnya prostaglandin yang mengakibatkan turunnya aliran darah mikrovaskuler, menurunkan sekresi mukosa usus, sebaliknya meningkatkan sekresi asam lambung.

Permasalahan efek samping ini, sangat merugikan terutama pada pasien yang menggunakan aspirin dalam jangka panjang seperti *stroke*. Selain itu, dari tinjauan sediaan obat, aspirin memiliki stabilitas yang kurang baik karena mudah terdegradasi oleh pengaruh suhu dan kelembaban. Berbagai upaya telah dilakukan untuk penurunan efek samping dari aspirin, antara lain dengan nano hidroksiapatite ataupun nanopartikel dengan matriks pembawa seperti kitosan. Hanya saja, penelitian yang telah dilakukan memerlukan teknologi dan biaya yang tidak sedikit. Kitosan merupakan hasil deasetilasi kitin hasil isolasi dari cangkang hewan *invertebrate*.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan grafting aspirin terkonjugasi kitosan menggunakan inisiator radikal bebas asam suksinat dan asam askorbat serta dilakukan optimasi perbandingan kitosan aspirin 1:1, 1:2, dan 1: 3. Pada penelitian sebelumnya dilakukan karakterisasi tetapi belum dilakukan uji kelarutan dan stabilitas dari aspirin hasil modifikasi. **Tujuan dari penelitian** ini adalah untuk melakukan uji stabilitas dan kelarutan dari kitosan-aspirin yang telah dikonjugasikan dengan metode grafting dengan menggunakan inisiator radikal bebas asam suksinat dan asam askorbat.

Luaran yang ditargetkan adalah publikasi pada jurnal internasional IJC (Indonesian Journal of Chemistry)

TKT pada awal penelitian adalah TKT tingkat 2 dengan studi literatur konjugasi senyawa dengan gugus fungsi fenol dan asam karboksilat pada asam ferulat dengan kitosan menggunakan metode *grafting* sebagai model. **TKT akhir penelitian** ini adalah dihasilkannya struktur konjugat baru aspirin-kitosan dengan stabilitas terhadap suhu dan kelembaban yang lebih baik dibandingkan aspirin. Diharapkan hasil penelitian ini akan menjadi pijakan bagi pengembangan

bahan baku obat baru dengan sifat fisika kimia yang lebih baik dengan memanfaatkan sumber daya alam kitosan.

Kata kunci maksimal 5 kata kunci. Gunakan tanda baca titik koma (;) sebagai pemisah dan ditulis sesuai urutan abjad

Aspirin; chitosan; grafting; gastrorotektif; antiplatelet

Hasil dan Pembahasan Penelitian, terdiri dari 1000-1500 kata, berisi: (i) kemajuan pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian, (ii) data yang diperoleh, (iii) hasil analisis data yang telah dilakukan, (iv) pembahasan hasil penelitian, serta (v) luaran yang telah didapatkan. Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. **Penyajian data** dan **hasil penelitian** dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya serta didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN

Telah Dilakukan sintesis aspirin-kitosan dengan variasi perbandingan 1:1, 2:1, dan 3:1 dan dengan variasi penggunaan insiator radikal bebas asam suksinat dan asam askorbat. Dari hasil sintesis, sebelum dilakukan uji stabilitas dan uji kelarutan, aspirin-kitosan hasil modifikasi dilakukan analisis dahulu apakah sudah terbentuk konjugat atau belum, melalui analisis dengan FTIR dan Spektrofotometer UV, uji ninhidrin, dan analisis residual aspirin dengan HPLC.

A. Fourier Transform Infrared (FTIR)

Uji menggunakan FTIR digunakan untuk mengetahui secara kualitatif berdasarkan gugus khas dari senyawa yang ditunjukkan dengan bilangan gelombang bahwa kitosan dan asetosal telah terkonjugasi. Prinsip dari FTIR adalah mengenali gugus fungsi dari absorbansi inframerah yang dilakukan pada senyawa¹²

Setiap senyawa memiliki gugus fungsi yang khas yang dapat ditunjukkan dengan bilangan gelombang menggunakan FTIR. Gugus khas dari kitosan yaitu gugus fungsi O-H regang (3350 cm^{-1}), C-H alifatik regang (2900 cm^{-1}), C-H bending vibration (1380 cm^{-1}), N-H regang (3290 cm^{-1}), N-H getaran lentur (1640 cm^{-1}), C-O simetris dan asimetris getaran pada ikatan C-O-C (1025 dan 1062 cm^{-1})¹³. Bilangan gelombang khas yang ada pada asetosal yaitu O-CO- meregang pada $1756,01$, -COO pada $1697,75$, -OH pembengkokan pada $1454,70$ dan pembengkokan -OH pada 916 cm^{-1} ¹¹

Tabel 1. Pergeseran Bilangan Gelombang Kitosan dan Sampel

Kitosan murni	Kitosan-Asetosal			Gugus
	1:1	1:2	1:3	

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
3351,91349	3344,19908	3344,19908	3359,62791	N-H (Amina primer)
-	1743,45788	1743,45788	-	C=O (Ester)
1639,31327	1635,45607	1623,88444	1620,02724	C=O (Amida)
1566,02633	1562,16912	1558,31191	1558,31191	N-H (Amida)

Dilihat dari Tabel III, pada perbandingan 1: 1 menunjukkan hasil pada bilangan gelombang 3344 cm⁻¹ muncul peak yang menunjukkan adanya gugus amina. Jika dibandingkan dengan kitosan, terjadi pergeseran dari bilangan gelombang 3351 cm⁻¹ ke 3344 cm⁻¹. Selain itu, terjadi pergeseran dari bilangan gelombang 1639 cm⁻¹ menjadi 1635 cm⁻¹ dan dari 1566 cm⁻¹ menjadi 1562 cm⁻¹. Hal ini menunjukkan adanya pembentukan gugus amida sejalan dengan penelitian Hu et al¹⁶. Pada bilangan gelombang 1743 cm⁻¹ muncul peak yang menunjukkan bahwa pembentukan ikatan ester antara gugus karboksil asetosal dan gugus hidroksil kitosan terjadi. Hal ini sejalan dengan penelitian Hu et al.¹⁵ yang muncul peak baru pada 1731 cm⁻¹. Dari hasil FTIR pada perbandingan kitosan-asetosal 1:1 menunjukkan bahwa *grafting* kitosan-asetosal terjadi pada gugus NH₂ dan hidroksil pada kitosan dengan gugus karboksil asetosal.

Pada perbandingan 1:2 bilangan gelombang pada bilangan gelombang 3352 cm⁻¹ ada pergeseran ke 3344 cm⁻¹ dan ada penurunan intensitas menunjukkan bahwa gugus amina bebas pada kitosan berkurang. Pada bilangan gelombang 2916 cm⁻¹ muncul peak dimana menurut penelitian¹⁴ bilangan gelombang 2929 cm⁻¹ merupakan gugus -CH yang mengalami peregangan. Selain itu, terjadi pergeseran dari bilangan gelombang 1639 cm⁻¹ menjadi 1623 cm⁻¹ dan dari 1566 cm⁻¹ menjadi 1558 cm⁻¹. Hal ini menunjukkan adanya pembentukan gugus amida sejalan dengan penelitian Hu et al¹⁵. Pada bilangan gelombang 1743 cm⁻¹ muncul peak yang menunjukkan bahwa pembentukan ikatan ester antara gugus karboksil asetosal dan gugus hidroksil kitosan terjadi. Hal ini sejalan dengan penelitian Hu et al¹⁵ yang muncul peak baru pada 1731 cm⁻¹. Dari hasil FTIR pada perbandingan kitosan-asetosal 1:2 menunjukkan bahwa *grafting* kitosan-asetosal terjadi pada gugus NH₂ dan hidroksil pada kitosan dengan gugus karboksil asetosal.

Pada perbandingan 1:3 bilangan gelombang 3351 cm⁻¹ ada pergeseran ke 3360 cm⁻¹ dan ada penurunan intensitas menunjukkan bahwa gugus amina bebas pada kitosan berkurang. Selain itu,

terjadi pergeseran dari bilangan gelombang 1639 cm^{-1} menjadi 1620 cm^{-1} dan dari 1566 cm^{-1} menjadi 1558 cm^{-1} . Hal ini menunjukkan adanya pembentukan gugus amida sejalan dengan penelitian Hu et al. ¹⁵. Pada bilangan gelombang 1731 cm^{-1} tidak muncul peak yang menunjukkan bahwa pembentukan ikatan ester antara gugus karboksil asetosal dan gugus hidroksil kitosan tidak terjadi. Hal ini berkebalikan dengan penelitian Hu et al, 2016 yang muncul peak baru pada 1731 cm^{-1} . Dari hasil FTIR pada perbandingan kitosan-asetosal 1:3 menunjukkan bahwa *grafting* kitosan-asetosal terjadi pada gugus NH_2 pada kitosan dengan gugus karboksil asetosal.

Dari 3 perbandingan yang dilakukan uji kualitatif dengan FTIR untuk melihat gugus dari *grafting* kitosan-asetosal menunjukkan bahwa asetosal telah terkonjugasi dengan kitosan. Hasil *grafting* dilihat dari adanya pergeseran peak yang muncul pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} dan 1566 cm^{-1} dari kitosan yang menunjukkan pembentukan gugus amida. Selain itu, adanya pergeseran dan penurunan intensitas pada bilangan gelombang 3352 cm^{-1} yang menunjukkan gugus amina semakin berkurang.

Dari hasil FTIR juga dilakukan perhitungan derajat deasetilasi. Perhitungan derajat deasetilasi digunakan untuk mengetahui banyaknya gugus amina dan amida pada molekul kitosan. Derajat deasetilasi merupakan nilai hilangnya gugus asetil pada gugus asetamida kitin. Penentuan derajat deasetilasi (DD) menggunakan persamaan (2). Berdasarkan persamaan (2), derajat deasetilasi dapat dihitung dengan mengukur perbedaan jarak antara puncak tertinggi pada bilangan gelombang gugus amida (1020-1650 cm^{-1}) dan amina (3300-3500 cm^{-1}). Semakin tinggi nilai derajat deasetilasi (DD) maka semakin banyak gugus amina ($-\text{NH}_2$) pada molekul kitosan, sehingga kitosan semakin reaktif (Setijawati et al., 2021). Hal ini menunjukkan derajat deasetilasi yang tinggi maka kitosan semakin reaktif sehingga dapat terkonjugasi dengan asetosal semakin banyak. Semakin banyak asetosal yang terkonjugasi dengan kitosan ditunjukkan dengan gugus amina bebas kitosan semakin sedikit dan nilai derajat deasetilasi kecil. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil nilai derajat deasetilasi maka asetosal telah terkonjugasi pada kitosan. Hasil perhitungan derajat deasetilasi dapat dilihat pada Tabel IV.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Derajat Deasetilasi

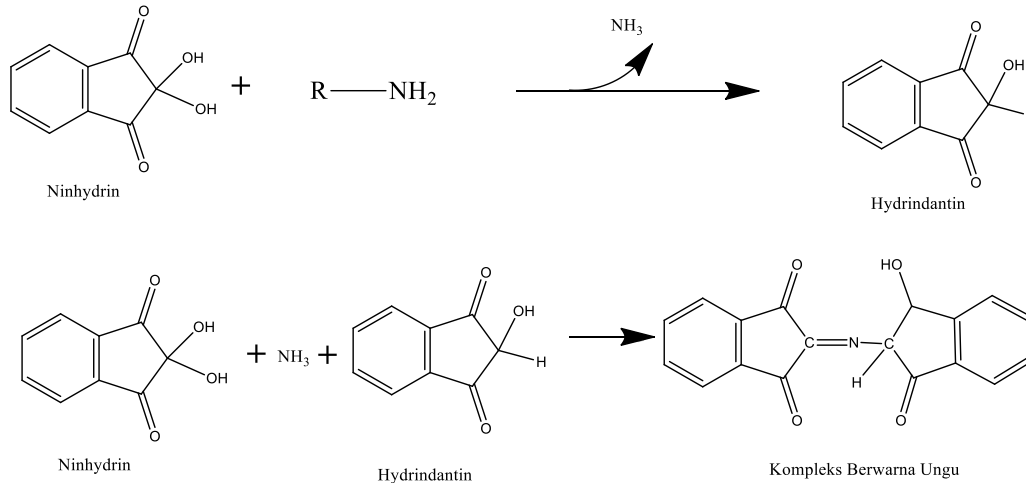
Insiator	Sampel	Derajat deasetilasi (%)
Asam suksinat	Kitosan murni	77,595
	Kitosan asetosal 1:1	70,986
	Kitosan asetosal 1:2	70,557
	Kitosan asetosal 1:3	69,064
Asam askorbat	Kitosan murni	77,595
	Kitosan asetosal 1:1	74,09
	Kitosan asetosal 1:2	71,69
	Kitosan asetosal 1:3	67,81

Hasil derajat deasetilasi menunjukkan bahwa semakin banyak massa asetosal maka derajat deasetilasinya akan semakin kecil. Hal ini menunjukkan bahwa gugus amina bebas pada *grafting* kitosan-asetosal semakin sedikit yang berarti telah terjadi *grafting* antara kitosan-asetosal pada gugus amina membentuk gugus amida.

B. Uji Ninhidrin

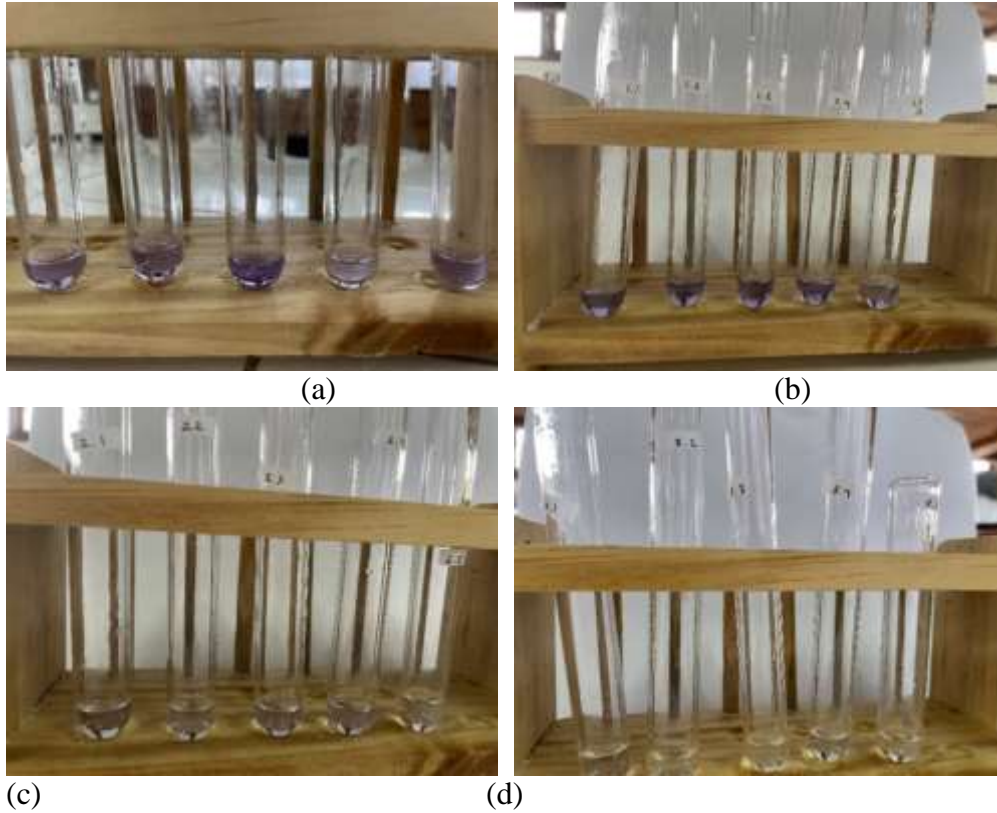
Uji ninhidrin dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Uji ninhidrin kualitatif untuk mengetahui ada tidaknya amina bebas pada kitosan yang tidak terkonjugasi dengan asetosal. Uji ninhidrin secara kuantitatif dilakukan untuk mengetahui kadar amina pada kitosan yang tidak

terkonjugasi dengan asetosal. Berkurangnya kadar amina bebas pada sampel dibandingkan kadar amina bebas pada kitosan menunjukkan bahwa asetosal telah berhasil terkonjugasi pada kitosan. Pada uji ninhidrin digunakan pelarut buffer asetat pH 5.5 dan asam asetat 1% dengan perbandingan 4:1 karena kitosan larut dalam pelarut organik. Setelah penambahan reagen ninhidrin dilakukan pemanasan dengan waterbath untuk membantu reaksi yang terjadi antara reagen ninhidrin dengan gugus NH_2 bebas pada kitosan. Reaksi antara reagen ninhidrin dengan gugus NH_2 bebas dapat dilihat pada Gambar 10.



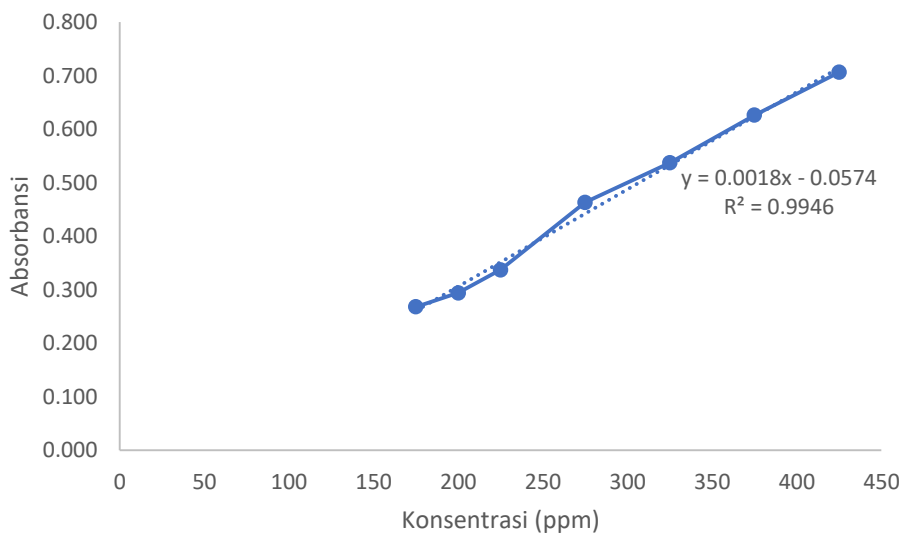
Gambar 1. Reaksi Ninhidrin (Chemdraw)

Pada uji ninhidrin secara kualitatif, hasil uji dilihat berdasarkan kepekatan warna yang timbul setelah reagen ninhidrin ditambahkan dan di waterbath. Hasil uji ninhidrin secara kualitatif dapat dilihat pada Gambar 11. Pada perbandingan kitosan-asetosal 1:1 warna ungu yang timbul paling ungu dibandingkan kitosan-asetosal perbandingan 1:2 dan 1:3. Hal ini menunjukkan bahwa pada kitosan-asetosal 1:1 memiliki banyak NH_2 bebas pada kitosan yang kemudian bereaksi dengan reagen ninhidrin sehingga warna ungu lebih pekat. Pada perbandingan kitosan-asetosal 1:3 warna ungu yang dihasilkan paling pudar yang menunjukkan NH_2 bebas pada kitosan sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak massa asetosal yang dikonjugasikan dengan kitosan maka akan semakin sedikit NH_2 bebas pada kitosan yang berarti asetosal telah berhasil terkonjugasi pada kitosan.



Gambar 2. Uji Ninhidrin secara Kualitatif (a) Kitosan murni replikasi 5 kali, (b) Kitosan : Asetosal 1:1 replikasi 5 kali, (c) Kitosan : Asetosal 1:2 replikasi 5 kali, (d) Kitosan : Asetosal 1:3 replikasi 5 kali

Pada uji ninhidrin secara kuantitatif dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum terlebih dahulu dan diperoleh panjang gelombang maksimum 571 nm. Selain itu, dilakukan pembuatan kurva baku unntuk mencari persamaan regresi linier yang kemudian dapat digunakan untuk menghitung kadar amina bebas pada kitosan dan sampel



Gambar 3. Grafik Kurva Baku

Dari hasil kurva baku didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,0018x - 0,057$ dengan angka korelasi 0,9946. Hasil persamaan regresi linier ini digunakan untuk mencari kadar amina bebas pada kitosan murni dan kadar amina bebas pada sampel. Hasil kadar amina bebas pada kitosan murni dan sampel dapat dilihat pada Tabel V. Hasil kadar amina bebas pada sampel kemudian dibandingkan dengan kadar amina bebas pada kitosan murni dimana jika hasil kadar amina bebas pada kitosan murni lebih besar dibandingkan dengan hasil kadar amina bebas pada sampel menunjukkan bahwa asetosal telah terkonjugasi dengan kitosan pada gugus amina.

Tabel 3. Kadar Amina Bebas Pada Kitosan Murni dan Sampel dengan inisiator asam suksinat

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Kadar (mg/ml)	SD	\bar{X} (mg/ml)	CV (%)
Kitosan murni	1	0,602	1,331	0,0591	1,3810	4,2803
	2	0,619	1,366			
	3	0,659	1,446			
Kitosan asetosal 1: 1	1	0,481	1,087	0,0408	1,0430	3,9136
	2	0,441	1,006			
	3	0,456	1,036			
Kitosan asetosal 1:2	1	0,177	0,473	0,0286	0,5050	5,6710
	2	0,204	0,527			
	3	0,198	0,515			
Kitosan asetosal 1:3	1	0,396	0,252	0,0053	0,2576	2,0385
	2	0,410	0,259			
	3	0,414	0,262			

Tabel 4. Kadar Amina Bebas Pada Kitosan Murni dan Sampel dengan inisiator asam askorbat

Sampel kitosan aspirin	Replikasi	kadar amina bebas (ppm)	rata-rata	CV %
Kitosan murni	Replikasi 1	1446.320	1381.0	4.2803
	Replikasi 2	1365.520		
	Replikasi 3	1331.180		
Perbandingan 1:1	Replikasi 1	1212.00	1182.4	3.9045
	Replikasi 2	1205.94		
	Replikasi 3	1129.18		

Perbandingan 1:2	Replikasi 1	935.26		
	Replikasi 2	971.62	973.0	3.9465
	Replikasi 3	1012.02		
Perbandingan 1:3	Replikasi 1	675		
	Replikasi 2	727	727.9	7.3547
	Replikasi 3	782		

Dari hasil kadar amina bebas pada kitosan murni didapatkan rata rata kadar 1,3810 mg/ml dengan besar CV 4,2803 % yang menunjukkan data replikasi dari kitosan murni memiliki data yang seragam.

Pada hasil pengukuran kadar amina bebas dari sampel dengan perbandingan massa kitosan-asetosal 1:1 didapatkan CV 3,9136 % yang menunjukkan bahwa kadar dari amina bebas sampel tidak beragam. Rata rata kadar amina bebas pada sampel 1,0430 mg/ ml jika dibandingkan dengan kadar amina bebas pada kitosan murni menunjukkan bahwa kadar amina bebas pada perbandingan massa kitosan-asetosal 1:1 lebih sedikit.

Pada hasil pengukuran kadar amina bebas dari sampel dengan perbandingan massa kitosan-asetosal 1:2 didapatkan CV 5,6710 % yang menunjukkan bahwa kadar dari amina bebas sampel tidak beragam. Rata rata kadar amina bebas pada sampel 0,5050 mg/ ml jika dibandingkan dengan kadar amina bebas pada kitosan murni menunjukkan bahwa kadar amina bebas pada perbandingan massa kitosan-asetosal 1:2 lebih sedikit.

Pada hasil pengukuran kadar amina bebas dari sampel dengan perbandingan massa kitosan-asetosal 1:3 didapatkan CV 2,0385 % yang menunjukkan bahwa kadar dari amina bebas sampel tidak beragam. Rata rata kadar amina bebas pada sampel 0,2576 mg/ml jika dibandingkan dengan kadar amina bebas pada kitosan murni menunjukkan bahwa kadar amina bebas pada perbandingan massa kitosan-asetosal 1:3 lebih sedikit.

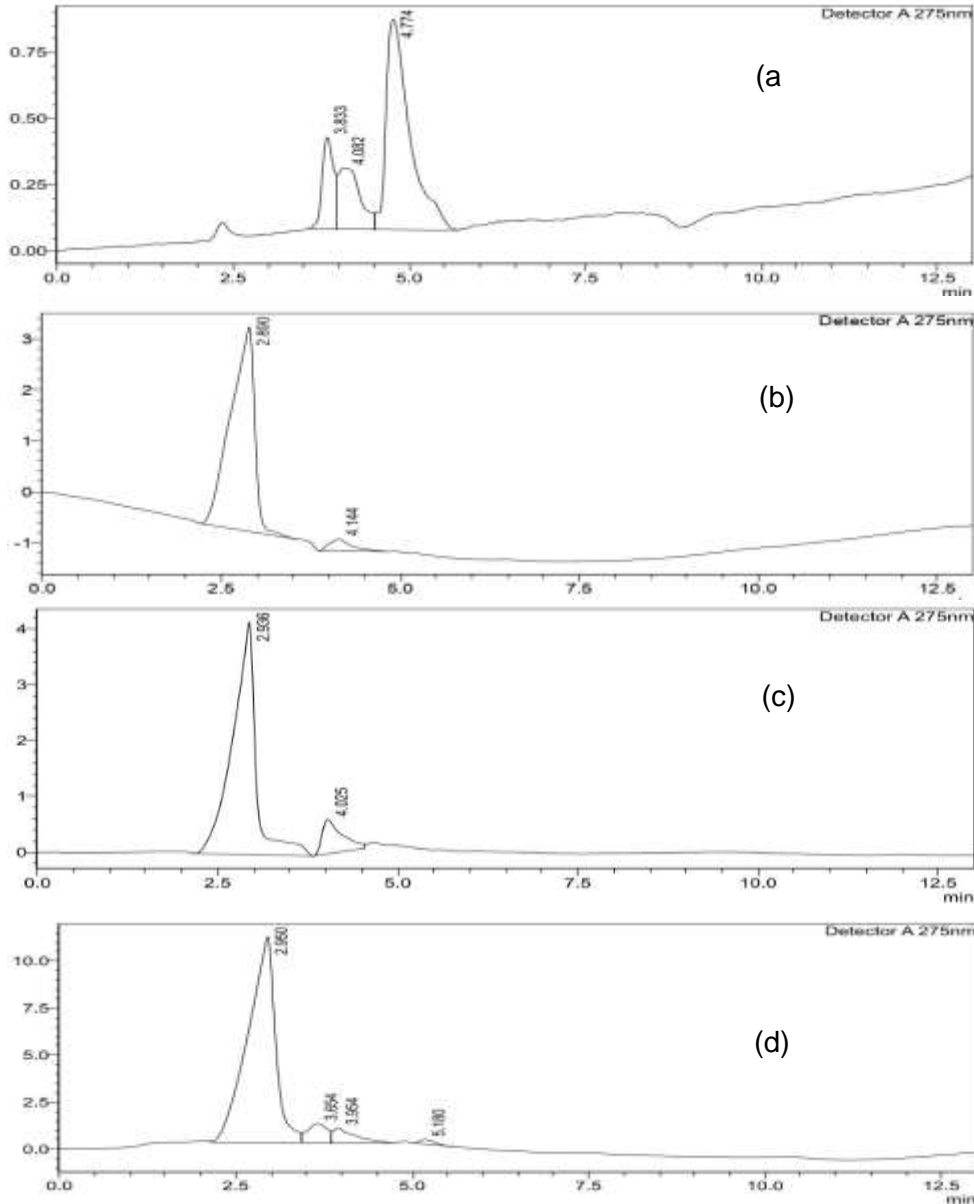
Hasil dari 3 perbandingan kitosan-asetosal jika dilihat dari rata rata kadar amina bebas menunjukkan kadar amina bebas pada ketiga sampel lebih kecil dari kadar amina bebas pada kitosan murni. Hal ini menunjukkan bahwa amina bebas pada kitosan telah terkonjugasi dengan asetosal ditandai dengan berkurangnya kadar amina bebas pada sampel.

C. Uji Residual Asetosal

Uji residual asetosal digunakan untuk melihat kadar asetosal yang tidak terkonjugasi dengan kitosan. Uji ini menggunakan HPLC dimana HPLC memiliki kelebihan lebih sensitif untuk penentuan kadar dengan kadar kecil. Uji residual asetosal dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Uji residual asetosal secara kualitatif dilakukan dengan membandingkan nilai waktu retensi antara asetosal murni dengan sampel. Jika pada sampel ada peak yang memiliki waktu retensi sama atau mendekati waktu retensi asetosal murni maka pada sampel tersebut mengandung asetosal yang kemudian dapat dilakukan uji kuantitatif dengan penentuan kadar asetosal pada sampel. Hasil uji residual asetosal kualitatif dapat dilihat pada Gambar 13.

Dari Gambar 13 hasil uji residual asetosal dapat dilihat pada *peak* asetosal terdapat 3 *peak*, hal ini kemungkinan disebabkan asetosal mengalami degradasi menjadi asam salisilat dan asam asetat. Selain itu, pada *peak* sampel muncul beberapa *peak* yang kemungkinan merupakan residu saat proses konjugasi.

Hasil waktu retensi pada asetosal murni 4,774. Jika dibandingkan dengan kitosan-asetosal 1:1, 1:2, dan 1:3 menunjukkan bahwa waktu retensi untuk asetosal tidak muncul di sampel. Hal ini menunjukkan bahwa semua asetosal terkonjugasi. Hasil waktu retensi ini merupakan uji residual asetosal secara kualitatif. Hasil uji kualitatif ini menunjukkan bahwa asetosal tidak ada dalam sampel residu sehingga untuk uji residual asetosal secara kuantitatif tidak dilakukan.



Gambar 4. Hasil Uji Residual dengan HPLC (a) Asetosal, (b) Kitosan : Asetosal 1:1, (c) Kitosan : Asetosal 1:2, (d) Kitosan : Asetosal 1:3

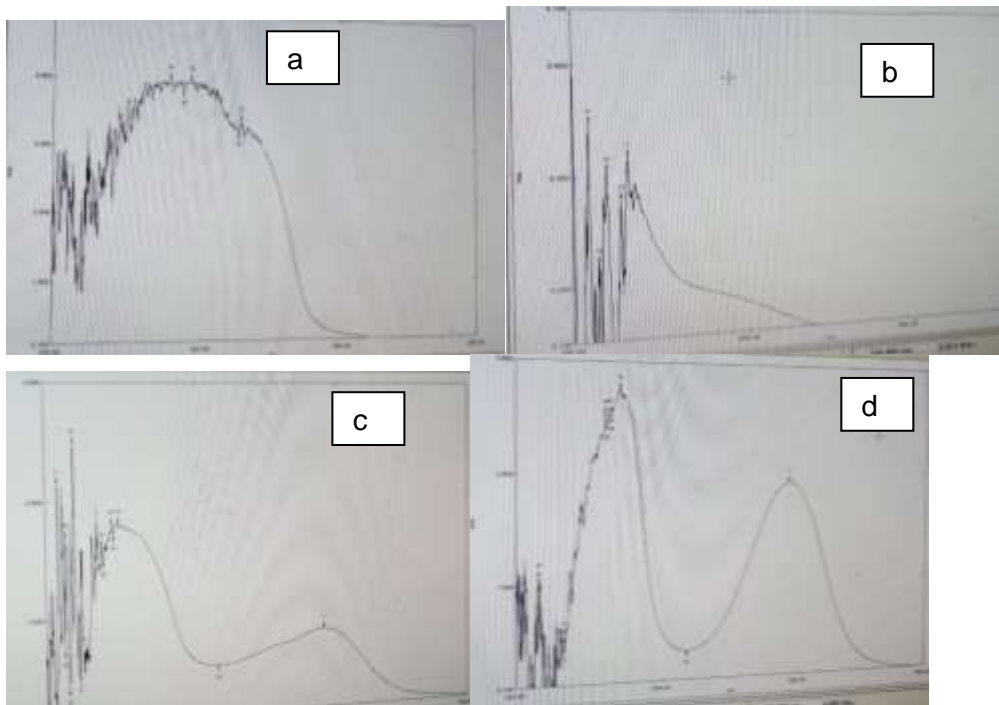
Berdasarkan uji FTIR dan perhitungan derajat deasetilasi menunjukkan bahwa kitosan-asetosal dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 1:3 telah terkonjugasi. Pada perbandingan kitosan : asetosal 1:1 dan 1:2 *grafting* asetosal pada kitosan terjadi pada gugus $-NH_2$ dan gugus hidroksil kitosan ditandai dengan munculnya peak pada 1743 cm^{-1} . Pada perbandingan kitosan : asetosal 1:3 *grafting* asetosal pada kitosan terjadi pada gugus $-NH_2$ dan tidak terjadi pada gugus hidroksil ditandai dengan tidak munculnya peak pada 1743 cm^{-1} .

Berdasarkan uji ninhidrin secara kualitatif dan kuantitatif menunjukkan pada perbandingan kitosan : asetosal dengan massa asetosal semakin banyak maka gugus amina bebas pada kitosan semakin berkurang. Hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna pada uji ninhidrin perbandingan kitosan : asetosal 1:3 semakin pudar warna ungunya. Selain itu, kadar emina bebas bebas pada uji ninhidrin perbandingan kitosan : asetosal 1:3 semakin kecil.

Berdasarkan uji residual asetosal secara kualitatif menunjukkan bahwa waktu retensi asetosal tidak muncul pada hasil HPLC sampel perbandingan kitosan : asetosal 1:1, 1:2, dan 1:3. Berdasarkan uji FTIR, uji ninhidrin, dan uji residual asetosal menunjukkan bahwa *grafting* kitosan : asetosal dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 1:3 telah terjadi dengan semakin banyak massa asetosal maka semakin banyak asetosal yang terkonjugasi pada kitosan.

D. Analisis dengan Spektrofotometer UV

Hasil analisis scan panjang gelombang optimum ditunjukkan pada gambar 14.



Gambar 14. Hasil *scanning* panjang gelombang optimum dengan spektrofotometer uv pada a. aspirin, b. kitosan. c. konjugat aspirin kitosan dengan inisiatar asam suksinat d. konjugat aspirin kitosan dengan inisiatar asam askorbat

Pada gambar 14 terlihat bahwa spectra konjugat kitosan-aspirin telah berbeda dengan kitosan dan aspirin murni yang menandakan bahwa konjugat kitosan-aspirin telah terbantu baik dengan insiator radikal bebas asam suksinat maupun asam askorbat.

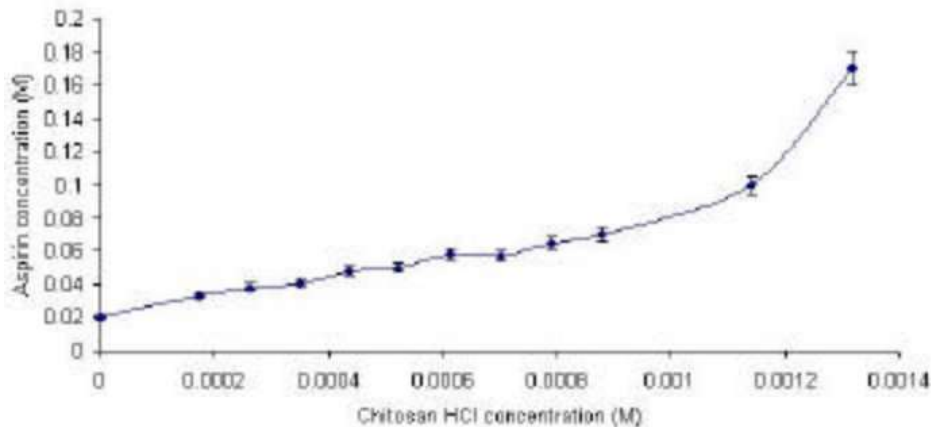
E. Uji Stabilitas

Tabel 5. Hasil Uji Stabilitas Konjugat kitosan-aspirin ¹²

Time (h)	Cumulative drug release(%)											
	5 ± 2°C/60% RH± 5% RH				25 ± 2°C/65% RH± 5% RH				40 ± 2°C/75% RH± 5% RH			
	0	3	6	9	0	3	6	9	0	1	2	3
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	36.14	35.46	36.24	35.91	36.14	35.66	36.19	36.06	36.14	35.46	36.24	35.89
2	45.21	45.39	44.98	45.03	45.19	45.71	45.03	45.03	45.21	45.42	45.01	44.97
4	55.19	55.36	54.72	55.22	55.21	55.36	54.73	55.31	55.19	55.33	54.26	55.37
6	67.65	67.11	66.81	67.24	67.76	67.15	66.81	67.42	67.65	67.14	66.72	67.24
8	76.96	77.01	76.83	77.21	76.96	77.11	76.83	77.31	76.96	69.96	76.79	77.27
10	80.63	79.66	79.38	79.82	80.66	79.66	79.42	79.83	80.63	80.03	79.38	79.51
12	82.31	82.55	81.86	82.49	82.31	82.55	81.91	82.49	82.31	82.61	81.82	82.52
24	86.22	86.91	86.43	86.19	86.32	86.79	86.43	86.29	86.22	86.83	86.61	86.31
36	85.97	85.81	86.03	86.12	86.02	85.91	86.02	86.12	85.97	85.83	86.03	86.22

Tabel 5 merupakan hasil uji stabilitas menurut Luo et al¹², dimana stabilitas konjugat aspirin-kitosan menunjukkan ciri morfologi dan diameter, LC nanopartikel aspirin-kitosan tidak memiliki perubahan yang jelas dan perilaku dissolusi in vitro hampir tetap sama di bawah kondisi $4\pm 1^\circ\text{C}/60\% \text{RH}\pm 5\% \text{RH}$, $25 \pm 2^\circ\text{C}/65\% \text{RH}\pm 5\% \text{RH}$ dan $40 \pm 2^\circ\text{C}/75\% \text{RH}\pm 5\% \text{RH}$ selama 6 atau 3 bulan, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5. Semua data yang disebutkan di atas ditunjukkan bahwa nanopartikel ASA-CS telah terbukti memiliki stabilitas kimia yang tinggi terhadap perubahan lingkungan.

F. Uji Kelarutan



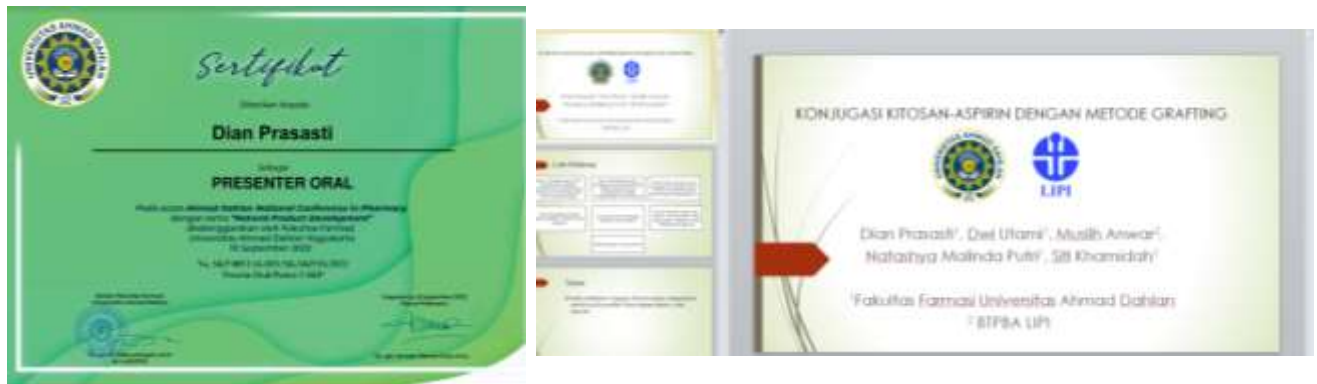
Gambar 15. Hasil Uji Kelarutan konjugat kitosan Aspirin ¹¹

Hasil penelitian ¹¹ menunjukkan bahwa konsentrasi sebesar 0,061 mg/mL pada pH media asam 1,2 kelarutan meningkat secara dramatis dengan peningkatan pH menjadi 6,8 seperti yang ditunjukkan dalam gambar 15. Hal ini disebabkan fakta bahwa aspirin sedikit larut dalam air dan sifatnya kelarutan dalam media berair tergantung pada pH (16). Ketergantungan pH aspirin ini kelarutan adalah salah satu alasan iritasi mukosa lambung dalam asam lambung serta meningkatnya penyerapan di usus bagian atas karena kelarutan meningkat secara nyata yang juga mendominasi peningkatan nilai disosiasi.

luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. **Lampirkan bukti dokumen** ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan **bukti kemajuan** ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan. Jika sudah ada bukti hasil cek plagiarisme untuk karya tulis ilmiah dilampirkan (similaritas 25%)

STATUS LUARAN

Luaran belum dilakukan karena penelitian belum selesai. Sebagian tahap penelitian telah diseminarkan pada 21 September 2022.



Peran Mitra berupa **realisasi kerjasama** dan **kontribusi Mitra** baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan dan Pengembangan). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra **dilaporkan** sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. **Lampirkan** bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra.

PERAN MITRA

.....
.....

Kendala Pelaksanaan Penelitian berisi kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan.

KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN

Ketika melakukan sintesis kitosan aspirin, hasil yang didapat dari 1 kali sintesis adalah 0,2 gram, sementara untuk uji kelarutan dan stabilitas dibutuhkan setidaknya 5 gram sampel tiap variasi kitosan-aspirin. Sementara kitosan-aspirin yang divariasi terdapat 6 variasi, sehingga sampai saat ini belum dapat dilakukan uji stabilitas dan kelarutan karena masih memperbanyak sampel. Sementara uji stabilitas memerlukan waktu minimal 6 bulan.

Selain itu, 1 mahasiswa yang membantu jalannya penelitian yaitu Zulian Nur Pramesti sakit dan meninggal dunia pada 1 oktober 2022, sehingga penelitian sempat terhenti beberapa saat.

Rencana Tahapan Selanjutnya berisi tentang rencana penyelesaian penelitian dan rencana untuk mencapai luaran yang dijanjikan jika belum tercapai.

RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA

Setelah selesai tahap sintesis akan dilakukan uji kelarutan dan stabilitas. Setelah penelitian ini berlangsung akan direncanakan penelitian untuk optimasi beberapa variabel terkait.

Daftar Pustaka disusun dan ditulis **berdasarkan sistem nomor** sesuai dengan urutan pengutipan. **Hanya pustaka yang disitasi/diacu** pada laporan kemajuan saja yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka. **Minimal 15 referensi.**

DAFTAR PUSTAKA

1. Ito, M., Ban, A., Ishihara, M., 2000, Anti-ulcer Effects of Chitin and Chitosan, *Healthy Foods, in Rats*, 82 (3): 218-225
2. X. Guo., Y. Xie., N. Zou., J. Chen., 2007, Effect of chitosan on the quality of gastric ulcer healing: An experimental study, *Chinese Journal of Gastroenterology* 12(3):148-152
3. Marganof. 2002. *Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan.*
4. Sembiring, W.B. 2011. Penggunaan Kitosan Sebagai Pembentuk Gel dan Edible Coating serta Pengaruh Penyimpanan Suhu Ruang Terhadap Mutu dan Daya Awet Empek-Empek. *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor, Bogor.
5. Khan, T. A., Peh, K. K., dan Chang, H. S., 2002, Reporting Degree of Deacetylation Value of Chitosan; the Influence of Analytical Methods, *J Pharm Sci*, 5 (3), 205-212
6. Tao-lee, S., Long Mi, F., Ju Shen., dan Shing Shyu., 2001, Equilibrium and Kinetic Studies of Copper(II) Ion Uptake by Chitosan-Tripolyphosphate Chelating Resin, *J Polymer*, 42 : 1879-1892
7. Sanjaya, I., dan Yuanita, L., 2007. Adsorpsi Pb(II) oleh Kitosan Hasil Isolasi Kitin Cangkang Kepiting Bakau (Scylla), *J Ilmu Dasar*, 8 (1) : 30-36
8. Okuyama, K., Noguchi, K., Kanenari, M., Egawa, T., Osawa, K., & Ogawa, K. 2000. Structural diversity of chitosan and its complexes. *Carbohydrate Polymers*, 41, 237-247
9. Liu, J., Wen, X., Lu, J., Kan, J., Jin, C., 2014. Free radical mediated grafting of chitosan with caffeic and ferulic acids: Structures and antioxidant activity. *International Journal Biological Macromolecules*. 65, 97–106.
10. Nisa, K., Anwar, M., Indirayati, N., Kusumaningrum, W.B., 2021, Physicochemical Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activities of Conjugated Chitosan-Ferulic Acid on Various Radical Initiators System., *International Journal Of Pharmaceutical Research*, Volume 13 (1), 4721 - 4726
11. Bazigha K., Rasool A., Abu-Gharbich, E.F., 2010, Preparation Characterization of Aspirin-Chitosan Complex: An Attempt for its Solubility and Stability Improvement, *Journal of Pharmacy Research*, 3.6.

12. Sjahfirdi, L., Aldi, N., Maheshwari, H., & Astuti, P. (2015). Aplikasi Fourier Transform Infrared (Ftir) Dan Pengamatan Pembengkakan Genital Pada Spesies Primata, Lutung Jawa (*Trachypithecus Auratus*) Untuk Mendeteksi Masa Subur. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 9(2).
13. SETHA, B., RUMATA, F., 2019. Karakteristik Kitosan Dari Kulit Udang Vaname Dengan Menggunakan Suhu Dan Waktu Yang Berbeda Dalam Proses Deasetilasi 22, 10.
14. Luo, S., Man, H., Jia, X., Li, Y., Pan, A., Zhang, X., Song, Y., 2018. Preparation and characterization of acetylsalicylic acid/chitosan nanoparticles and its antithrombotic effects. *Designed Monomers and Polymers*, 21, 172–181.
15. Hu, Q., Wang, T., Zhou, M., Xue, J., Luo, Y., 2016. In Vitro Antioxidant-Activity Evaluation of Gallic-Acid-Grafted Chitosan Conjugate Synthesized by Free-Radical-Induced Grafting Method. *J. Agric. Food Chem.* 64

LAMPIRAN-LAMPIRAN:

- a. Luaran wajib penelitian dan status capaiannya
- b. Luaran tambahan penelitian dan status capaiannya, jika ada
- c. Hasil cek plagiarisme maksimal 25% (jika sudah ada luaran artikel)
- d. *Logbook* (Catatan Harian) (diinput dan diunduh dari portal)
- e. Bukti pembimbingan (khusus skema PDP)
- f. Dokumen realisasi Kerjasama dengan Mitra untuk jenis riset terapan dan riset pengembangan.



SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB BELANJA

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dian Prasasti
Judul Penelitian : Stabilitas dan Kelarutan Konjugasi Kitosan-Aspirin
Nomor Kontrak : PD-116/SP3/LPPM-UAD/VII/2022
Dana penelitian : Rp 10.800.000,00

Dengan ini menyatakan bahwa biaya kegiatan penelitian tersebut di atas digunakan untuk pos-pos pembelajaan sebagai berikut.

No	Uraian Pengeluaran	Jumlah (Rp)
1.	Bahan (ATK, material/bahan penelitian, Dll.)	5.400.000
2.	Pengumpulan Data (Penggandaan angket, FGD, transport responden, dll.)	150.000
3.	Analisis Data (Biaya uji lab., biaya analisis data, dll.)	7.300.000
4.	Pelaporan dan Luaran Penelitian (Penyusunan laporan dan luaran, biaya translate ke bahasa asing, biaya submit, biaya pendaftaran HKI, dll.)	
5.	Lain-lain (HR tim peneliti dan pembantu lapangan)	
	Jumlah Pengeluaran (Rp)	12.850.000
	Sisa Anggaran (Rp)	-2.050.000

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Yogyakarta, 31 Januari 2023

Dian Prasasti