

DISERTASI

**SISTEM PENGHANTARAN PARTIKULAT
MENGUNAKAN MATRIKS KITOSAN DENGAN
MODEL BAHAN ALAM DITERPEN LAKTON SAMBILOTO**



RETNO SARI

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

DISERTASI

**SISTEM PENGHANTARAN PARTIKULAT
MENGUNAKAN MATRIKS KITOSAN DENGAN
MODEL BAHAN ALAM DITERPEN LAKTON SAMBILOTO**



RETNO SARI

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini, saya peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi,
Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : Retno Sari

N I M : 09107901

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Disertasi yang saya tulis dengan
judul :

SISTEM PENGHANTARAN PARTIKULAT
MENGUNAKAN MATRIKS KITOSAN DENGAN
MODEL BAHAN ALAM DITERPEN LAKTON SAMBILOTO

adalah benar-benar merupakan konsep pemikiran dan hasil karya ilmiah saya sendiri.
Apabila di kemudian hari diketahui isi Naskah Disertasi ini merupakan hasil plagiat, maka
saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan. Demikian
surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 12 Mei 2015

Yang membuat pernyataan,

Retno Sari

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini, saya peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi,
Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : Retno Sari

N I M : 09107901

Menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui

Naskah Disertasi yang saya tulis dengan judul :

**SISTEM PENGHANTARAN PARTIKULAT
MENGUNAKAN MATRIKS KITOSAN DENGAN
MODEL BAHAN ALAM DITERPEN LAKTON SAMBILOTO**

Untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet portal Garuda atau media lain yaitu Digital Library Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 12 Mei 2015

Yang membuat pernyataan,

Retno Sari

**SISTEM PENGHANTARAN PARTIKULAT
MENGUNAKAN MATRIKS KITOSAN DENGAN
MODEL BAHAN ALAM DITERPEN LAKTON SAMBILOTO**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Doktor Ilmu Farmasi
pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
dan telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Disertasi Terbuka
pada hari Selasa
Tanggal 12 Mei 2015**



Oleh :

**RETNO SARI
NIM 09107901**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL: 30 April 2015

Oleh
Promotor

Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA, Apt
NIP. 195110061977092001

Ko promotor

Dra. Esti Hendradi, MSi., Apt., PhD.
NIP. 195711141987032001

Mengetahui
Ketua Program Studi Doktor Ilmu Farmasi

Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS.
NIP. 195210021980021001

**Disertasi ini telah diuji pada Ujian Disertasi Tertutup
Tanggal 14 April 2015**

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua** : Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS.
Anggota : 1. Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA, Apt.
2. Dra. Esti Hendradi, Apt., MSi., PhD
3. Prof. Dr. Yeyet Cahyati Sumirtapura, Apt.
4. Prof. Dr. Muhammad Zainuddin, Apt.
5. Dr. Achmad Radjaram, Apt.
6. Dr. Aty Widyawaruyanti, Apt., MS.
7. Junaidi Khotib, SSi., Apt., M.Kes., PhD.

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Nomor : 90/UN3.1.5/2015
Tanggal : 2 April 2015.**

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala nikmat karunia serta kasih sayangNya yang telah dilimpahkan kepada saya karena hanya dengan ridho dan kehendakNya semata maka saya dapat menyelesaikan disertasi saya dalam rangka pendidikan jenjang doktor Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi – Universitas Airlangga

Penelitian serta penulisan disertasi ini dapat terselesaikan berkat bantuan, dukungan, pengorbanan dan kebaikan hati dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA, Apt. selaku promotor yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dan perhatian serta senantiasa memberikan semangat kepada saya dalam menyelesaikan program doktor. Beliau selalu berbagi pengalaman dalam pengembangan diri agar dapat menjadi pribadi yang tangguh, tekun dalam bekerja dan selalu berani menerima tantangan.

Dra. Esti Hendradi, Apt., MSi, PhD. sebagai kopromotor I dan juga Ketua Departemen Farmasetika yang senantiasa dengan sabar memberikan bimbingan dan dorongan semangat agar saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Beliau selalu meluangkan waktu untuk membantu disaat saya membutuhkan ketika mengalami kesulitan dalam menyelesaikan penelitian disertasi ini.

Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Fasich, Apt. yang telah memberikan kesempatan dan ijin belajar sehingga saya dapat diterima dan mengikuti pendidikan program doktor di Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Farmasi, Dr. Umi Athiyah, Apt., MS yang telah mendukung, memberikan kesempatan dan semua fasilitas yang dapat saya pergunakan untuk menyelesaikan Program Doktor.

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Prof. Dr. Siswandono, Apt. yang selalu dengan sabar dan telaten memberikan motivasi dan semangat kepada saya agar segera menyelesaikan pendidikan doktor.

Seluruh Tim Penguji Prof. Dr. Yeyet Cahyati Sumirtapura, Apt., Prof. Dr. Muhammad Zainuddin, Apt., Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS., Dr. Achmad Radjaram, Apt., Dr. Aty Widyawaruyanti, Apt., MS. dan Junaidi Khotib, SSi., Apt., M.Kes., PhD. atas diskusi, saran dan masukan yang sangat berharga selama penelitian dan penulisan naskah disertasi ini.

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Prof. Djoko Agus Purwanto, Apt., MSi., atas dukungan dan kesempatan sehingga penelitian disertasi ini dapat terlaksana dengan baik.

Para pengajar dari Program Doktor Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga: Prof. Dr. Astika, Apt., Prof. Dr. Muhammad Zainuddin, Apt., Prof. Dr. Siswandono, Apt., Dr. Umi Athiyah, Apt., MS., Prof. Dr. Sukardiman, Apt., MS., Dra. Esti Hendardi, Apt., MSi., PhD., dan Junaidi Khotib, SSi., Apt., M.Kes., PhD. dan dari Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung : Dr. Sasanti Tarini Darijanto, Dr. Heni Rachmawati, MSi., Dr. Tri Suciati, MSi., atas wawasan keilmuan yang sangat berharga.

Seluruh staf Departemen Farmasetika Drs. Bambang Widjaja, Apt.,MSi., Drs. Sugiyartono, Apt., MS., Dr. Dewi Isadiartuti, Apt., MSi., M. Agus Syamsur Rijal, Apt., MSi., Dr. Dwi Setyawan, Apt., MSi., Helmy Yusuf, Apt., PhD., Dr. rer. Nat. M. Ardhani Dwi Lestari.,Apt., Andang Miatmoko, Apt., MSc., Dini Retnowati, S.Farm.,Apt.,

Abhimata Paramanandana, S.Farm., Apt., Dra. Tutiek Purwanti, Apt., MSi., Dewi Melani H., Apt., PhD., Dra. Noorma Rosita, Apt., MSi., Dra. Tristiana Erawati, Apt., MSi atas bantuan, kerjasama dan dukungan yang luar biasa selama saya menempuh pendidikan program Doktor. Juga kepada Sdr. Harmono, Sdr. Supriyono, Sdri. Dyah Nawangwulan dan Sdri. Ari Ardhi Asih, Sdr. Dwilaksono yang selalu siap membantu kapanpun saya membutuhkan selama ini.

Rekan-rekan dari Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga : Dr. Aty Widyawaruyanti, Apt., MS. Lydia Tumewu, Apt., M.Farm, Hikatul Ilmy, MSi.; dari Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga : Dr. Widjiati, MSi., dari Unit Layanan Pengujian, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga: Dr. Riesta Primaharinastiti, Apt., MSi., Dra. Toetik Aryani, Apt.,MSi., Ellsy Novita, S.Farm., Apt; dari Laboratorium Fisika Sentral, Universitas Negeri Malang, Nur Zulaicha, SSi. atas waktu, diskusi dan bantuannya selama penyelesaian penelitian.

Kedua orang tua, Bapak dan Ibu yang sangat saya cintai dan hormati Bapak R. Widodo dan Ibu Harini atas bimbingan, kasih sayang, keteladanan serta doa yang tak pernah putus bagi saya dan keluarga.

Saudara-saudaraku tersayang Dra. Titik Karyati, Ratna Herawati, Dr. Sitawati, Dra. Indriati, Ak., CA., Dra. Niken Utari dan Agustina, SE. beserta suami dan anak-anak yang selalu mendukung dan menyemangati saya. Terimakasih yang besar atas semua cinta, doa dan dukungan yang diberikan kepada saya dan keluarga selama ini.

Suami tercinta Rochadi Kardiyanto yang selalu setia, mengerti dan mendukung serta menemani saya dalam saat-saat sulit selama saya menempuh pendidikan. Nabila Kharisma, putri tercinta yang menjadi penyemangat, pendukung serta penghibur saya selama saya mengikuti dan menyelesaikan studi doktor.

Teman-teman Program Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga angkatan 2010 Dra. Noorma Rosita, Apt., MSi., Dra. Tristiana Erawati, Apt.,MSi., Dra. Yulistiani, Apt., MSi., Drs. A. Toto Poernomo, Apt., MSi. serta teman-teman program doktor angkatan 2011, 2012 yang selalu saling menyemangati dan menguatkan selama saya menempuh pendidikan doktor.

Para guru dan pendidik saya, teman-teman dosen di Fakultas Farmasi – Universitas Airlangga, untuk Dra. Asri Darmawati, Apt., MSi., Catur Dian Setiawan, S.Farm., Apt. terima kasih atas waktu dan diskusinya yang sangat berharga, Alumni Fakultas Farmasi Universitas Airlangga (ALFAS), para mahasiswa bimbingan skripsi grup mikro/nanopartikel kitosan-alginat, terutama Very Adisetyawan, S.Farm., Apt., para sahabat serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam segala hal hingga terselesaikannya program doktor ini.

Terima kasih atas segala perhatian dan dukungan Bapak/Ibu kepada saya selama ini. Semoga Allah memberikan balasan yang berlipat atas budi baik Bapak/Ibu sekalian.

Akhir kata, semoga hasil penelitian disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan khususnya ilmu farmasi dan bagi masyarakat.

Surabaya, 12 Mei 2015

RINGKASAN

SISTEM PENGHANTARAN PARTIKULAT MENGUNAKAN MATRIKS KITOSAN DENGAN MODEL BAHAN ALAM DITERPEN LAKTON SAMBILOTO

Retno Sari

Sistem partikulat kitosan digunakan sebagai pembawa untuk peningkatan disolusi obat sukar larut sehingga akan meningkatkan bioavailabilitas dan efektivitas dari obat. Kitosan merupakan polisakarida polikationik, kopolimer dari glukosamin dan N-asetilglukosamin, bersifat biodegradabel, biokompatibel, nontoksik. Kitosan memiliki gugus amina primer (-NH₂) pada struktur penunjang utama menyebabkan permukaannya bermuatan positif sehingga sistem partikulat mikro/nanopartikel dapat mudah dibuat dengan metode gelasi ionik melalui reaksi sambung silang antara kitosan dengan bahan polianionik yang biokompatibel seperti tripolifosfat. Sistem partikulat mikro/nanopartikel kitosan yang dibuat dengan metode gelasi ionik-sambung silang dipengaruhi oleh jenis polimer, komposisi bahan pembentuk partikel dan kondisi pembuatan. Komposisi polimer dan penyambung silang terkait dengan jumlah gugus -NH₃⁺ terprotonasi dari kitosan yang dapat berikatan dengan gugus -P₃O₁₀⁵⁻ dari tripolifosfat Difraktogram sinar X. Intensitas ikatan antara NH₃⁺ dan -P₃O₁₀⁵⁻ akan mempengaruhi karakter fisikokimia antara lain interaksi baik fisika maupun kimia, densitas matriks, struktur morfologi, ukuran partikel dan kemampuan penjerapan bahan obat yang selanjutnya berpengaruh terhadap pelepasan, bioavailabilitas dan efektivitas bahan obat yang terjebak dalam sistem partikulat tersebut (Sinha, 2004, Kumar, 2012).

Penelitian sistem partikulat fraksi diterpen lakton sambiloto (FDTL) – kitosan yang dibuat dengan metode gelasi ionik-pengeringan semprot dengan penyambung silang tripolifosfat (TPP) dilakukan untuk mengetahui perubahan ikatan, termodinamika, solid state dan bentuk /morfologi serta kemampuan penjebakan sistem partikel kitosan dengan adanya perbedaan pada bahan pembentuk partikel yaitu jumlah penyambung silang (TPP), jumlah bahan obat (FDTL) dan konsentrasi kitosan. Karakterisasi partikel yang dilakukan meliputi evaluasi spektroskopi infra merah, evaluasi termal, evaluasi difraksi sinar X, morfologi dan ukuran serta efisiensi penjebakan. Selanjutnya dilakukan uji pelepasan in vitro, uji aktivitas antimalaria in vivo, dan uji histopatologi terhadap sel hepar dan sel limpa mencit terinfeksi Plasmodium berghei.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan jumlah TPP sebagai bahan penyambung silang pada pembentukan sistem partikulat kitosan menyebabkan perubahan pola vibrasi spektra infra merah. Pada perbandingan kitosan-TPP mulai dari 10:3 terdapat pita serapan baru pada 1640 cm⁻¹ – 1650 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya ikatan antara ion -NH₃⁺ dari kitosan dengan -P₃O₁₀⁵⁻ dari tripolifosfat. Dengan semakin meningkatnya jumlah TPP, intensitas pita serapan pada 1640 – 1650 cm⁻¹ semakin meningkat. Hal tersebut menunjukkan adanya peningkatan derajat sambung silang dan interaksi intermolekular dan intramolekular kitosan seiring dengan meningkatnya ketersediaan ion -P₃O₁₀⁵⁻ yang mampu membentuk dinding matriks rapat dan densitas tinggi sehingga menghasilkan partikel berbentuk sferis dengan struktur permukaan partikel halus. Hasil uji korelasi Pearson (p=0.01) pada membuktikan bahwa terdapat hubungan yang tinggi antara jumlah TPP dan morfologi (struktur permukaan dan sferisitas) dari partikel kitosan. Dari hasil evaluasi diketahui bahwa perbandingan

kitosan-TPP=10:8 (F8) menghasilkan partikel kitosan kosong dengan karakteristik fisik yang baik dalam hal interaksi antara kitosan dan TPP, sferisitas dan struktur permukaan partikel optimal.

Termogram DTA sistem partikulat kitosan dengan perbandingan kitosan-FDTL 10:3 (D1), 10:4 (D2) dan 10:5 (D3) menunjukkan bahwa terjadi tidak ada lagi puncak endotermik FDTL pada jarak lebur $219,9^{\circ}\text{C}$ dan puncak endotermik sistem partikulat melebar dengan jarak lebur lebih rendah. Difraktogram sinar X sistem partikulat FDTL-kitosan (D1-D3) menunjukkan puncak kristalin FDTL sudah tidak tampak lagi. Hasil Evaluasi DTA dan difraksi sinar X membuktikan bahwa FDTL telah terjebak dalam sistem partikulat kitosan dan terjadi perubahan struktur kristalinitas FDTL disebabkan hambatan rekristalisasi FDTL dengan adanya polimer kitosan tersambung silang. Dari hasil perhitungan efisiensi penjejakan diketahui bahwa peningkatan jumlah FDTL menyebabkan peningkatan efisiensi penjejakan. Uji Anava satu arah yang dilanjutkan dengan uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara D1 dengan D3, akan tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antara D1 dengan D2, dan D2 dengan D3.

Peningkatan jumlah polimer akan meningkatkan viskositas polimer yang dapat meningkatkan kemampuan penjejakan obat dalam sistem partikulat (Sinha, 2004). Akan tetapi dari hasil perhitungan efisiensi penjejakan diketahui bahwa peningkatan jumlah kitosan dimana konsentrasi kitosan dari 0,1% menjadi 0,15% tidak meningkatkan kemampuan penjejakan sistem partikulat. Hal ini disebabkan pada perbandingan kitosan – TPP = 10:8 telah terbentuk struktur partikel dengan kerapatan atau densitas optimal yang mampu menjerap partikel obat/bahan dalam jumlah tertentu. Dari hasil evaluasi sistem partikulat FDTL-kitosan yang dibuat dengan perbedaan jumlah FDTL dan jumlah kitosan diketahui bahwa sistem partikulat dengan perbandingan kitosan-TPP-FDTL=100:80:40 merupakan mempunyai kemampuan penjejakan optimal sebesar 33.82%.

Hasil uji pelepasan *in vitro* membuktikan bahwa pembentukan sistem partikulat kitosan dari FDTL dapat meningkatkan disolusi dari FDTL. Jumlah FDTL terlarut dari sistem partikulat FDTL-kitosan pada waktu 30 menit meningkat dua kali dibandingkan substansi FDTL. Efisiensi Disolusi pada menit ke 360 (ED_{360}) sistem partikulat FDTL-kitosan dan FDTL masing-masing adalah 78.82% dan 51.41% . Berdasarkan hasil uji t dua sampel bebas, diketahui bahwa t hitung $8.567 > t$ tabel = 2.776 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara ED_{360} sistem partikulat FDTL-kitosan dengan substansi FDTL.

Uji aktivitas antimalaria yang dilakukan dengan menggunakan mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* menunjukkan bahwa sistem partikulat FDTL-kitosan memberikan peningkatan hambatan pertumbuhan parasitemia dibandingkan bahan FDTL. Hasil uji histopatologi dari organ hepar dan limpa hewan coba menunjukkan bahwa derajat kerusakan sel hati dan sel limpa mencit coba pada pemberian sistem partikulat FDTL-kitosan mempunyai skor lebih rendah dibandingkan bahan FDTL dan kontrol. Dari hasil uji Anava satu arah ($\alpha=0.05$) yang dilanjutkan dengan uji LSD diketahui bahwa derajat kerusakan hati dari mencit coba dari kelompok perlakuan FDTL-kitosan dan kelompok FDTL berbeda bermakna dengan kelompok kontrol, akan tetapi kelompok FDTL-kitosan tidak berbeda bermakna dengan kelompok FDTL. Sedangkan uji Anava satu arah ($\alpha=0.05$) terhadap derajat kerusakan limpa dari kelompok perlakuan FDTL-kitosan, FDTL dan kontrol menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok. Selanjutnya dari uji LSD diketahui bahwa derajat kerusakan limpa antar masing-masing kelompok perlakuan berbeda bermakna.

Hasil tersebut diatas disebabkan karena penjebakan FDTL ke dalam sistem partikulat kitosan tersambung silang serta pengeringan yang cepat pada proses pengeringan semprot mengakibatkan hambatan pertumbuhan kristal sehingga terjadi penurunan derajat kristalinitas dan pengecilan ukuran kristal FDTL. Hal tersebut memudahkan kontak pelarut dengan molekul FDTL dan meningkatkan luas permukaan partikel yang kontak dengan pelarut sehingga mempercepat disolusi FDTL. Peningkatan jumlah FDTL terlarut selanjutnya meningkatkan aktivitas antimalaria FDTL dan menurunkan degenerasi sel hepar dan limpa dari mencit terinfeksi Plasmodium berghei.

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk pengembangan sistem partikulat kitosan dan sistem partikulat polimer lain dari bahan alam atau bahan obat sintetis yang bersifat sukar larut.



SUMMARY

PARTICULATE DELIVERY SYSTEM OF CHITOSAN WITH DITERPENE LACTONE FRACTION AS NATURAL PRODUCT MODEL

Retno Sari

Chitosan particulate system is used as a carrier for the poorly soluble drug in order to enhance its dissolution, hence its bioavailability and efficacy can be improved. Chitosan is a polycationic polysaccharide, copolymers of glucosamine and N-acetylglucosamine, which is biodegradable, biocompatible, and nontoxic. Chitosan has a primary amine group ($-\text{NH}_2$) on its main backbone structure that causes chitosan to have positive charged on its surface. Therefore, the particulate system of micro or nanoparticles of chitosan can be easily prepared by ionic gelation method through cross-linking reaction between chitosan and a polyanionic biocompatible substance like tripolyphosphate (TPP). Micro/nanoparticles particulate systems of chitosan prepared by ionic gelation – cross-linking are affected by few factors such as the type of polymer, the composition of drug-polymer, and preparation condition or preparation methods. Composition of both polymer and cross-linker are correlated with the amount of protonated $-\text{NH}_3^+$ from the chitosan that can be bound to the $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ group of the cross-linker, in this case is TPP. The electrostatic interaction between the NH_3^+ and $-\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ will affect the physico-chemical characteristics of the particulate system obtained such as physical and chemical interactions, matrix density, morphology, particle size and drug entrapment which could further affect the drug release, bioavailability and effectiveness of the drug (Sinha, 2004, Kumar, 2012).

This research was focused on the formation of particulate system of diterpene lactone fraction of sambiloto (FDTL)- chitosan prepared by ionic gelation – spray drying method. The following factors: interaction, thermodynamics, solid state, the shape or morphology and entrapment ability of chitosan particulate systems due to the particle forming material difference of polymer-crosslinker ratio, drug amount and polymer concentration, were investigated in this study. Evaluations of the particles characteristics were conducted with infrared spectroscopy, thermal analysis and X-ray powder diffraction. Particles morphology, particle size and drug entrapment efficiency were also evaluated. The drug release and in vivo test of antimalarial activity as well as histopathological test were conducted to determine the effectivity of particulate systems.

The results showed that increasing the amount of tripolyphosphate (TPP) on the formation of particulate systems led to the change of vibrations pattern of the infrared spectra of chitosan. A new absorption band at $1640 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ was observed at chitosan-TPP ratio 1:3 . This indicated the bond between $-\text{NH}_3^+$ ions of chitosan and $-\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ of tripolyphosphate. As the amount of tripolyphosphate increased, the absorption band at $1640 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ became more intensive. This evidenced an increasing in the cross-linking degree as well as inter and intra-molecular interactions of chitosan as the availability of ion $-\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ enhanced. This resulted in the density strengthening of cross-linked chitosan structure, thereby, generated spherical particles with a smooth surface structure. Pearson correlation test results ($p = 0.01$) showed that there was a high correlation between the amount of TPP and the morphology (surface structure and sphericity) of chitosan particles. Based on these results, it was known that chitosan-TPP

at ratio 10:8 (F8) produced chitosan particulate system with good physical characteristics in terms of interaction between chitosan and TPP, sphericity, and particle structure.

Furthermore, DTA thermogram of FDTL-chitosan particulate system showed that the endothermic peak of FDTL at 219.9°C disappeared and the endothermic peak of particulate systems FDTL-chitosan was broader. The melting range of particulate system of chitosan-FDTL at ratio 10: 3 (D1), 10: 2 (D2) and 10: 5 (D3) were lower than the FDTL substance. The x-ray diffractogram of FDTL-chitosan particulate systems (D1-D3) showed the disappearance of crystalline peaks of FDTL. Additionally, DTA thermogram and X-ray diffractogram confirmed that the FDTL has been entrapped in the system and FDTL crystallinity changed due to the barriers on recrystallization of cross-linked chitosan. Entrapment efficiency of particulate system was higher as FDTL amount increased. One-way ANOVA test followed by LSD test showed that there were significant difference between D1 to D3, but no significant differences observed between D1 to D2 and D2 to D3.

Increasing the number of polymers will increase the viscosity of the polymer hence increase the ability of entrapping drug in the particulate systems (Sinha, 2004). Nevertheless, the results showed that increasing concentration of chitosan from 0.1% to 0.15% did not improve drug entrapment ability of the particulate system. This is due to the structure of particles of chitosan – TPP formed at ratio 10: 8. At this ratio, particle structure has an optimal density that is able to entrap particles of drug or substance in a certain amount. From the evaluation of the particulate system FDTL-chitosan made with various FDTL and chitosan amounts, it was known that the particulate systems with a ratio of chitosan-TPP-FDTL = 100: 80: 40 had the optimal entrapping efficiency of 33.82%.

Following to the evaluation of physico-chemical characteristics, the in vitro release tests were conducted. Results demonstrated that FDTL-chitosan particulates could improve the dissolution of FDTL. The FDTL that dissolved from chitosan particulate systems after 30 minutes was two times higher than the FDTL substance alone. Dissolution efficiency at 360 minutes (ED_{360}) of FDTL-chitosan particulate systems and FDTL were 78.82% and 51.41%, respectively. Statistical analysis using two independent samples t-test revealed that there was a significant difference between ED_{360} of particulate system FDTL-chitosan and ED_{360} of FDTL substance.

Antimalarial activity test was conducted using mice infected with *Plasmodium berghei*. The results showed that FDTL-chitosan particulate systems enhanced parasitaemia growth inhibition compared to FDTL substance. The results of independent two samples t test ($t = 1,574$ $t < t$ table = 2,776) indicated that there was no significant difference in parasitaemia growth inhibition between chitosan particulate system-FDTL and FDTL substance. Results of histopathology test indicated that the degree of liver and spleen cells damage of mice infected with *Plasmodium berghei* was diminished in the treatment groups of FDTL-chitosan particulate system and FDTL substance compared to the control group. From the results of one-way ANOVA test ($\alpha = 0.05$) followed by LSD test, it was known that the degree of liver damage of *Plasmodium berghei* infected mice of FDTL-chitosan treatment group and FDTL treatment group were significantly different with the control group, but the FDTL-chitosan group did not differ significantly with FDTL group. In contrast, the one-way ANOVA test ($\alpha = 0.05$) followed by LSD test on the degree of spleen cells damage showed that the degree of damage between each treatment group was significantly different.

The entrapment of FDTL into particulate system of cross-linked chitosan continued with fast solidification of the particles during spray drying process caused inhibition of crystal growth that resulted in a decrease in the degree of crystallinity and

crystal size reduction of FDTL. This facilitated contact between FDTL and solvent as well as increased the surface area of the particles that were in contact with the solvent thus increasing the amount of FDTL dissolved. Furthermore, increasing the FDTL dissolved improved FDTL antimalarial activity and decreased the degeneration of the liver and spleen cells of *Plasmodium berghei* infected mice.

The results obtained in this study can be used as a guidance to develop particulate system of chitosan and for developing other particulate system of polymers for poorly soluble plant compounds and synthetic drugs.

