

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

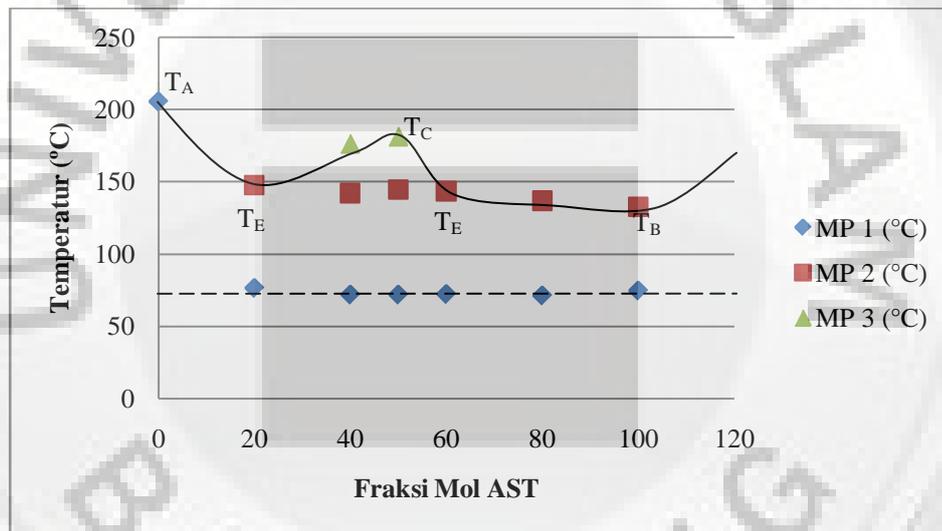
5.1. Pemeriksaan Bahan Baku GMP

Pada tahap awal penelitian dilakukan pemeriksaan bahan baku GMP. Hasil pemeriksaan sesuai dengan persyaratan pada monografi yang tertera pada Farmakope Amerika edisi 30. Hasil pemeriksaan bahan dan sertifikat hasil analisis dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

5.2. Pembuatan Diagram Fasa Sistem Biner GMP-AST

Pembuatan campuran fisik GMP-AST dengan berbagai komposisi perbandingan bertujuan untuk melihat pengaruh adanya AST terhadap laju pelarutan GMP dan untuk mengidentifikasi awal pembentukan interaksi yang mungkin terjadi antara GMP dan AST, apakah eutektik atau senyawa molekular (kokristal), yaitu dengan membuat diagram fasa sistem biner antara kedua komponen dengan cara memplot titik lebur (puncak endotermik) yang diperoleh dari hasil analisis termal menggunakan DSC terhadap campuran fisik GMP-AST (Gambar V.1) pada berbagai komposisi yang dinyatakan sebagai fraksi molar (Tabel V.1). AST dipilih sebagai koformer karena bersifat inert, tidak toksik dan memiliki empat donor dan tujuh akseptor ikatan hidrogen yang membuka peluang terbentuknya senyawa molekular (kokristal) bila berinteraksi dengan GMP.

Tabel V.1. Data Rekapitulasi Puncak Endotermik Campuran Biner GMP-AST dengan Analisis menggunakan DSC



Gambar V.1 Diagram Fasa Sistem Biner Campuran Fisik GMP dan AST; T_A = Titik Lebur GMP, T_B = Titik Lebur AST, T_C = Titik Kokristal, T_E = Titik Eutektik

Dari hasil analisis diagram fasa terlihat bahwa interaksi yang terjadi antara GMP dan AST menunjukkan fenomena pembentukan senyawa molekular (kokristal) pada perbandingan 1:1 dengan suhu lebur 181,5°C. Jika kedua komponen membentuk senyawa molekular, maka akan terdapat suhu lebur campuran yang terbentuk diantara dua titik eutektik. Hal ini sesuai dengan diagram fasa sistem biner campuran fisika GMP-AST (Gambar V.1). T_A dan T_B

merupakan suhu lebur komponen murni (100%) GMP dan AST. Jika suhu lebur ini diplot terhadap komposisi campuran komponen akan diperoleh lintasan T_A - T_E - T_C - T_E - T_B yang disebut kurva likuidus. Diatas kurva likuidus, GMP maupun AST berada dalam fasa cair dan dua komponen senyawa larut satu sama lain. Titik lebur paling tinggi, T_C dari kurva likuidus merupakan titik terbentuknya senyawa molekular (kokristal). Sedangkan titik lebur paling rendah, T_E dari kurva likuidus didefinisikan sebagai titik eutektik (Carstensen, 2001). Pada titik T_c ini komponen A dan B melebur secara bersamaan pada suhu yang sama dan tertinggi serta fase cair berada dalam kesetimbangan dengan fase padat. Garis horizontal, dibawah kurva likuidus disebut dengan garis padatan. Dibawah garis ini komponen A dan B secara sempurna berada dalam fase padat dan tidak larut satu sama lain.

5.3. Skringing Bahan Pelarut

Skringing bahan pelarut bertujuan untuk memilih pelarut yang dapat melarutkan GMP dan AST secara sempurna dan berperan sebagai media yang memfasilitasi dispersi molekular antara dua komponen yang berinteraksi (Qiao, 2011:7), yang selanjutnya digunakan pada saat pelaksanaan pembentukan kokristal GMP-AST (1:1) dengan teknik SDG dan SE. Pelarut yang digunakan dalam teknik SDG dan SE berpotensi meningkatkan peluang antara satu molekul dengan molekul lainnya untuk saling berikatan atau berinteraksi. Pelarut yang dapat melarutkan kedua komponen secara sempurna adalah aseton. Dimana baik GMP maupun AST larut sempurna dalam aseton.

5.4. Skrining Pembentukan Kokristal GMP-AST (1 : 1) dengan Berbagai Teknik

Pembentukan fasa kokristal antara dua atau lebih padatan senyawa obat telah dilaporkan dengan berbagai teknik, diantaranya dengan kokristalisasi dari penguapan pelarut (*solvent evaporation*), penggilingan padat atau kering (*neat/dry grinding*), penggilingan padat dengan penambahan sejumlah kecil pelarut (*solvent drop grinding*), pemanasan, dispersi dalam pelarut air (*slurry*), sublimasi dan rekristalisasi dari leburan (Trask & Jones, 2005 dan Vishweshwar dkk., 2009).

Skrining pembentukan kokristal dilakukan untuk mengetahui variasi performa kokristal yang diperoleh dari teknik yang berbeda. Pembentukan kokristal GMP-AST bertujuan untuk meningkatkan kelarutan GMP. Teknik pembentukan kokristal yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik NG, SDG dan SE dengan menggunakan perbandingan 1:1. Pada teknik SDG dan SE digunakan aseton sebagai pelarut, dimana baik GMP maupun AST dapat larut sempurna dalam pelarut tersebut. Selain itu, aseton juga mudah menguap pada suhu kamar. Penambahan aseton berfungsi untuk mempercepat pembentukan kokristal.

Pada teknik SE, GMP-AST perbandingan 1:1 dilarutkan dalam aseton hingga keduanya terlarut sempurna secara molekular, sehingga pada saat terjadi rekristalisasi kedua komponen berinteraksi secara molekular.

Teknik NG bertujuan untuk melihat bagaimana pengaruh energi mekanik berupa penggilingan dan tekanan tertentu. Sedangkan, teknik SDG dilakukan untuk melihat pengaruh dari adanya energi mekanis dan pelarut. Pada teknik

SDG, ditambahkan sejumlah kecil pelarut (dalam bentuk tetesan) yang dapat meningkatkan laju pembentukan kokristalisasi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam teknik SDG sangat penting, yaitu pelarut harus mampu melarutkan setidaknya sebagian kecil dari komponen pembentuknya. Pelarut bertindak sebagai katalis yang dapat mempercepat pembentukan kokristalisasi. Pada teknik NG dan SDG energi mekanik seperti penggilingan mampu meningkatkan derajat kebebasan molekul sehingga dapat membuka konformasinya untuk saling berinteraksi, selain itu proses penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel.

5.5. Karakterisasi Sifat Fisikokimia dan Kristalografi

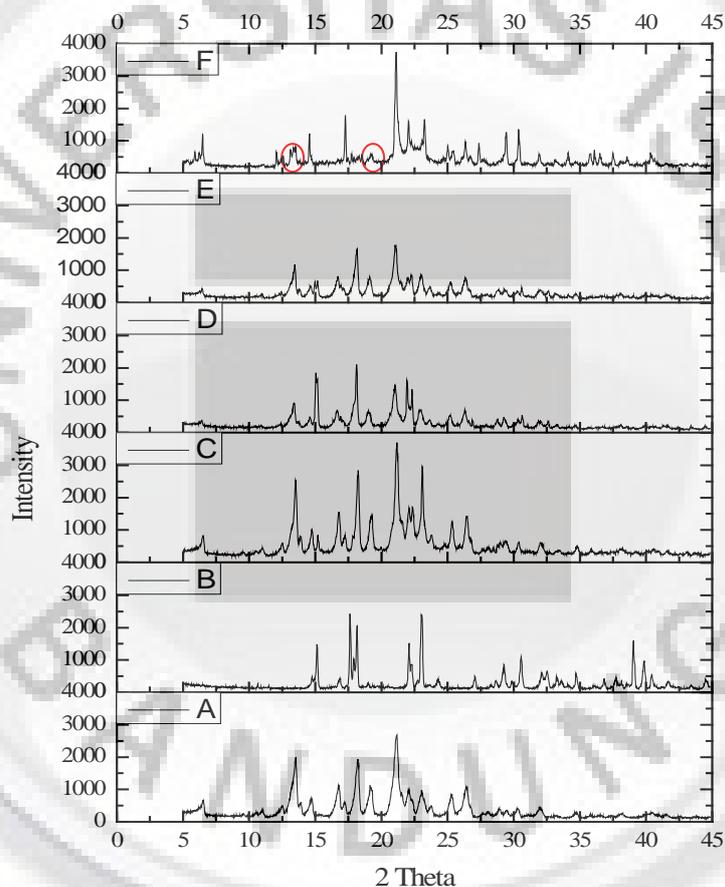
Untuk memverifikasi dan memastikan jenis interaksi padatan yang terjadi antara GMP dan AST pada perbandingan 1:1, maka dilakukan analisis termal menggunakan DSC, analisis difraksi menggunakan PXRD dan analisis gugus fungsi menggunakan FT-IR. Termogram DSC, difraktogram sinar-X dan spektrum FT-IR partikel padatan hasil interaksi kedua komponen dengan perlakuan NG, SDG dan SE dibandingkan dengan komponen tunggal dan campuran fisik kedua komponen tanpa perlakuan (Gambar V.2, V.3 dan V.4).

5.5.1. Difraksi Sinar X (PXRD)

Difraksi sinar-X merupakan metode yang handal untuk karakterisasi interaksi padatan antara dua komponen padat (*solid state interaction*), apakah terbentuk fase kristalin baru atau tidak (Trask dan Jones, 2005). Jika terbentuk fase kristalin baru dari hasil interaksi antar kedua komponen maka akan teramati

secara nyata dari difraktogram sinar-X yang berbeda dari campuran fisika kedua komponen.

Pada gambar V.2 menunjukkan difraktogram sinar-X padatan GMP-AST (1:1) hasil interaksi kedua komponen dengan perlakuan NG, SDG dan SE dibandingkan dengan komponen tunggal serta campuran fisiknya tanpa perlakuan.



Gambar V.2 Difraktogram sinar X serbuk : A) GMP, B) AST, C) Campuran fisika GMP-AST (1:1), D) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan NG, E) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SDG, F) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SE.

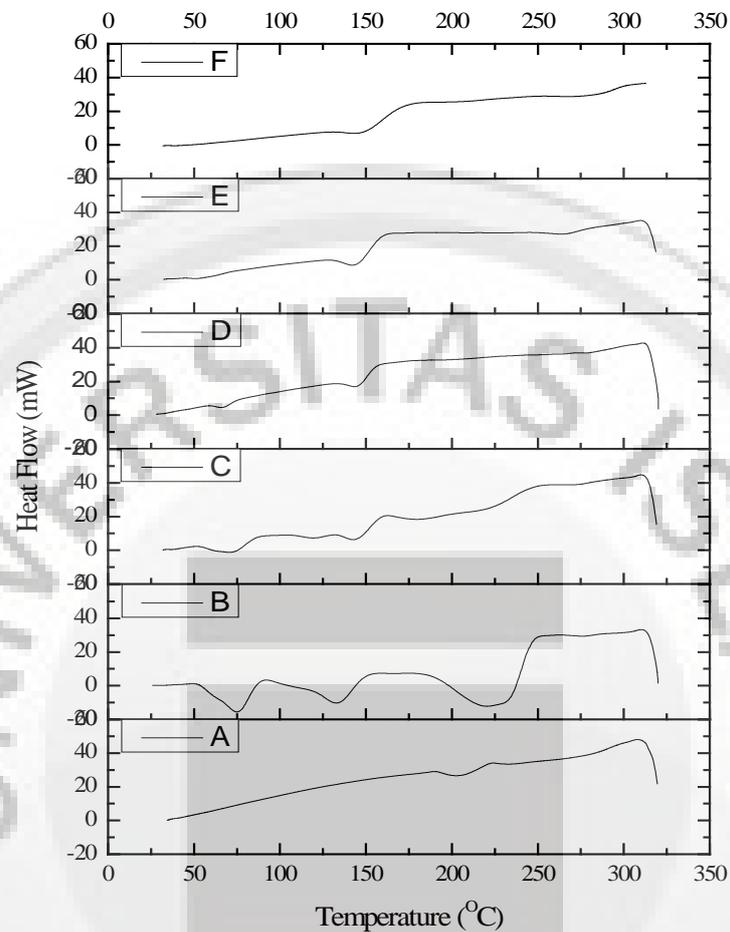
Berdasarkan difraktogram sinar X serbuk terlihat pola difraksi berbeda pada sampel hasil perlakuan SE. Dimana difraktogram sampel hasil perlakuan SE

memperlihatkan adanya puncak baru pada 2 theta di 13,455° dan 18,200°. Hal ini diduga terbentuknya senyawa molekular antara GMP-AST, yang ditunjukkan oleh perbedaan pola difraksi dengan campuran fisik kedua komponen. Sedangkan, pada difraktogram sinar X serbuk pada sampel hasil perlakuan NG dan SDG tidak menunjukkan perbedaan atau perubahan pola difraksi yang signifikan jika dibandingkan dengan difraktogram campuran fisik GMP-AST (1:1). Namun, hanya mengalami penurunan intensitas puncak saja. Penurunan intensitas ini disebabkan karena pada sampel hasil perlakuan NG dan SDG terjadi pengecilan ukuran partikel dengan kecepatan tinggi.

5.5.2. Analisis Termal (DSC)

DSC merupakan instrumen analitik yang bermanfaat dalam karakterisasi interaksi padatan (*solid state interaction*) antara dua atau lebih material obat. Analisis termal menggunakan DSC digunakan untuk mengevaluasi perubahan-perubahan sifat termodinamik yang terjadi pada saat materi diberikan energi panas berupa rekristalisasi, peleburan, desolvasi dan transformasi fase padat yang ditunjukkan oleh puncak endotermik atau eksotermik pada termogram DSC.

Pada gambar V.3 menunjukkan termogram DSC GMP-AST (1:1) hasil interaksi kedua komponen dengan perlakuan NG, SDG dan SE yang dibandingkan dengan komponen tunggal serta campuran fisiknya.



Gambar V.3 Termogram DSC : A) GMP, B) AST, C) Campuran fisika GMP-AST (1:1), D) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan NG, E) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SDG, F) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SE.

Pada gambar V.3 termogram DSC GMP murni menunjukkan puncak endotermik pada suhu 205,8 °C dan untuk AST murni menunjukkan puncak endotermik pada suhu 132,9 °C, yang merupakan peristiwa leburan padatan masing-masing komponen (Gambar V.3 A dan B).

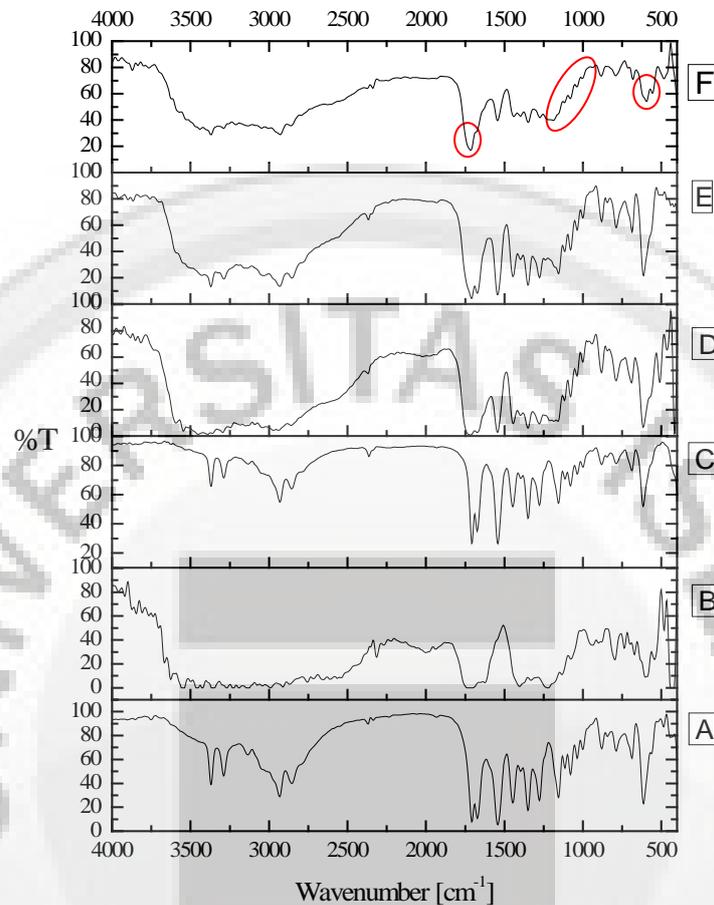
Dari termogram DSC tersebut mengindikasikan penurunan titik lebur hasil kokristalisasi yang diduga terbentuknya senyawa molekular antara GMP dan AST

pada perbandingan 1:1 dari hasil perlakuan NG, SDG dan SE masing-masing pada suhu 145,3 °C, 144,3 °C dan 148,7 °C (Gambar V.3 D, E dan F).

Senyawa molekular ditunjukkan dengan penurunan titik lebur yang berada diantara atau lebih rendah dibandingkan dengan titik lebur zat aktif dan koformer (Qiao *et al*, 2011). Hal ini mengindikasikan bahwa kedua komponen padat mengalami transformasi secara sempurna menjadi fase kristalin baru antara GMP-AST, yang disebut dengan fase kokristal atau senyawa molekular.

5.5.3. Analisis Gugus Fungsi (FT-IR)

Analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FT-IR digunakan untuk mengkarakterisasi terjadinya kompleks antara dua senyawa dalam keadaan padat yang dihubungkan melalui ikatan hidrogen (Bugay, 2011). Selain itu, metode spektrofotometri infra merah dilakukan untuk melihat adanya interaksi dalam kokristal yang terbentuk. Dengan analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FT-IR, adanya pembentukan kokristal dapat dideteksi yaitu dengan terbentuknya ikatan hidrogen antara GMP dan AST. Spektrum FT-IR pada gambar V.4 menunjukkan bahwa spektrum inframerah campuran fisika berbeda dengan spektrum inframerah padatan GMP-AST (1:1) hasil perlakuan NG, SDG dan SE.



Gambar V.4 Spektrum FT-IR : A) GMP, B) AST, C) Campuran fisika GMP-AST (1:1), D) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan NG, E) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SDG, F) Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SE.

Berdasarkan spektrum FT-IR dari sampel hasil perlakuan SE terjadi perubahan bentuk puncak jika dibandingkan dengan campuran fisika GMP-AST (1:1), yaitu pada daerah sekitar 1700 cm^{-1} dan di sekitar 600 cm^{-1} . Pada spektrum FT-IR dari hasil perlakuan SE tersebut terjadi pelebaran puncak. Terlihat pelebaran puncak yang signifikan dari spektrum FT-IR hasil perlakuan SE pada 1200 cm^{-1} . Pelebaran pita atau puncak ini diduga karena terbentuk ikatan hidrogen pada struktur GMP-AST (1:1). Sedangkan, pada spektrum FT-IR dari hasil

perlakuan NG dan SDG, tidak terlihat adanya puncak baru yang muncul dan tidak adanya perbedaan yang signifikan dengan campuran fisik kedua komponen. Adanya ikatan hidrogen menyebabkan puncak melebar dan terjadi pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih panjang.

5.6. Evaluasi Kinerja Kokristalisasi

5.6.1. Uji Kelarutan dan Disolusi GMP-AST (1 : 1)

Uji kelarutan dan laju disolusi dilakukan dalam media dapar fosfat pH 7,4 untuk memberikan kondisi yang tetap pada saat dilakukannya pengujian kelarutan dan laju disolusi. Pada pH lebih dari 7 kelarutan dan laju disolusi GMP cenderung lebih tinggi dibandingkan kelarutannya dalam air (Darusman, 2014).

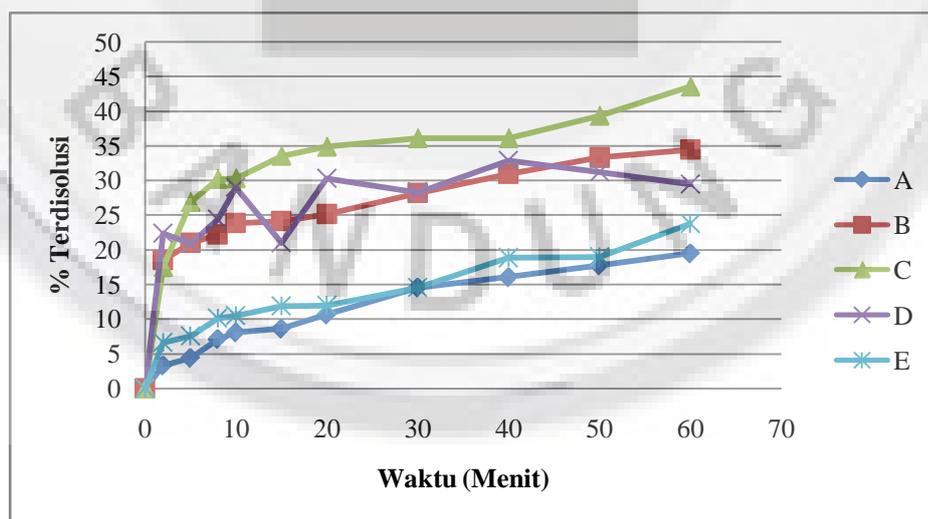
Pada uji kelarutan dan disolusi GMP-AST (1:1) dilakukan penetapan kadar GMP terlarut menggunakan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 228 nm, dimana AST tidak memberikan serapan pada metode ini.

Tabel V.2. Hasil uji kelarutan GMP-AST (1:1)



Pengujian kelarutan dilakukan terhadap GMP murni, campuran fisik GMP-AST (1:1) dan kokristal GMP-AST (1:1) hasil perlakuan NG, SDG dan SE untuk mengetahui pengaruh kokristalisasi terhadap kelarutan dibandingkan dengan GMP murni dan campuran fisiknya. Dengan terbentuknya senyawa

molekular (kokristal) dapat menyebabkan pembentukan ikatan hidrogen sehingga kelarutan akan meningkat. Dari hasil pengujian menunjukkan kelarutan GMP-AST (1:1) dari semua perlakuan lebih tinggi dibandingkan campuran fisika dan GMP murni. Sampel perlakuan SE memiliki kelarutan paling tinggi dibandingkan dengan sampel perlakuan NG, SDG, GMP murni dan campuran fisik GMP-AST (1:1), karena pada perlakuan SE kedua komponen padatan dilarutkan dengan sempurna secara molekular sehingga pada saat rekristalisasi GMP-AST (1:1) berinteraksi secara molekular. Sedangkan, pada perlakuan NG dan SDG mekanisme yang terjadi adalah amorfisasi. Dimana jika kedua komponen berada dalam kondisi amorf maka kelarutannya akan lebih tinggi dari GMP murni dan campuran fisik GMP-AST (1:1). Pada perlakuan SDG ditambahkan tetesan pelarut yang berfungsi untuk meyatukan kedua komponen, yakni GMP dan AST.



Gambar V.5 Profil laju disolusi : A. GMP, B. Campuran fisik GMP-AST (1:1), C. Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan NG, D. Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SDG, E. Kokristalisasi GMP-AST (1:1) dari perlakuan SE.

Peningkatan kelarutan dan laju disolusi GMP dengan kokristalisasi menggunakan AST terjadinya karena interaksi senyawa molekular antara GMP-AST dengan mekanisme pengurangan ukuran partikel akibat perlakuan penggilingan atau *grinding* (NG dan SDG) sehingga menjadi lebih amorf. Namun, dari profil laju disolusi pada GMP-AST (1:1) sampel perlakuan SE menunjukkan profil disolusi yang paling rendah dari pada perlakuan NG dan SDG. Hal ini disebabkan karena ukuran partikel yang besar dan tidak dilakukannya proses pengayakan terlebih dahulu. Ukuran partikel sangat mempengaruhi laju disolusi, dimana semakin kecil ukuran partikel atau semakin besar luas permukaan kontak, maka laju disolusi akan semakin besar.