

BAB IV

PROSEDUR KERJA

4.1 Pemeriksa Bahan

Glimepirid (GMP) diperiksa pemerian dan identifikasinya sesuai dengan yang tertera pada monografi bahan di Farmakope Amerika edisi 30 dan dibandingkan dengan sertifikat analisis.

4.2 Pemeriksaan Karakteristik

Glimepirid, dan asam malonat (AM) sebelum dikokristalisasi ditentukan karakteristik fisiknya dengan analisis DSC, FT-IR, Sinar-X.

4.3 Pembuatan Campuran Glimepirid dan Asam Malonat

Campuran biner GMP-AM dibuat dengan menimbang bahan sesuai dengan komposisi pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Komposisi Campuran Glimepirid dan Asam Malonat

Nama Sampel	GMP	AM
GA 2 (1:0)	490,62	0
GA 7 (8:2)	3924,96	208,12
GA 6 (6:4)	2943,72	416,24
GA 3 (5:5)	2453,1	700,3
GA 5 (4:6)	1962,48	624,36
GA 4 (2:8)	981,24	832,48
GA 1 (0:1)	0	104,06

Masing-masing campuran dilakukan karakterisasi dengan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), dan hasilnya dikonstruksikan dalam bentuk diagram fasa sistem biner GMP-AM.

4.4 Skrinng pembentukan kokristalisasi dengan berbagai teknik.

4.4.1 Teknik penggilingan padat kering (*Neat Grinding*)

Glimepirid (1962,48 mg) dan asam malonat (624,36 mg) ditimbang, lalu digiling secara manual dengan mortar dan stamper selama 30 menit (Qiao *et al*, 2011).

4.4.2 Teknik penggilingan dengan penambahan sejumlah kecil pelarut (*Solvent Drop Grinding*)

Glimepirid (1962,48 mg) dan asam malonat (624,36 mg) ditimbang, masukkan kedalam mortar lalu diberikan sejumlah kecil pelarut aseton 10 tetes lalu diaduk setelah 10 menit, tambahkan lagi sejumlah kecil pelarut aseton 10 tetes ad homogen, setelah 10 menit tambahkan lagi pelarut aseton 10 tetes lalu aduk sampai homogen setelah diaduk dengan penambahan sejumlah kecil pelarut selama 30 menit (Qiao *et al*, 2011).

4.4.3 Teknik penguapan pelarut (*Solvent Evaporation*)

Glimepirid (1962,48 mg) dan asam malonat (624,36 mg) ditimbang, lalu dimasukan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan sejumlah pelarut aseton sebanyak 2387 ml, dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit pada suhu tertentu hingga melarut sempurna. Larutan kemudian diuapkan pada suhu kamar atau dalam desikator hingga pelarut habis dan diperoleh Kristal yang sudah mengering (Qiao *et al*, 2011).

4.5 Karakterisasi kokristalisasi

4.5.1 *Differential Scanning Calorimetry (DSC)*

Sampel sebanyak 5-20 mg diletakkan pada *crucible* alumina instrumen DSC analisis termal dilakukan pada rentang temperatur 30-300°C dengan laju pemanasan 10°C per menit.

4.5.2 *Powder X-Ray Diffraction (PXRD)*

Sampel sebanyak 100-200 mg pada *sample holder* diletakkan di ruang sampel difraktometer sinar-X, analisis dilakukan pada rentang sudut difraksi 2θ 5-65° menggunakan radiasi $\text{CuK}\alpha$ ($\text{K}\alpha_1 = 1,54060 \text{ nm}$; $\text{K}\alpha_2 = 1,54439 \text{ nm}$) pada 40kV dan 35mA.

4.5.3 *Fourier Transform-Infra Red (FT-IR)*

Campuran sekitar 1% sampel serbuk dalam kalium bromida (KBr) dibuat dengan mencampur massa dengan KBr membentuk pelet KBr. *Spectrum infra red* diperoleh dengan alat spektrofotometer *infra red* pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

4.6 Karakterisasi kokristalisasi menggunakan kimia komputasi

Membuat gambar struktur GMP dan AM menggunakan software chemdraw®, lalu dilakukan pelekatan menggunakan software arguslab® untuk melihat lokasi binding dan reaksi yang terjadi, dan dilakukan visualisasi 3D menggunakan software Chem3D®.

4.7 Evaluasi kinerja kokristalisasi GMP-AM

4.7.1 Pembuatan dapar fosfat pH 7,4

KH_2PO_4 0,2 M diambil 50 mL, ditambahkan NaOH 0,2 M sebanyak 39,1 mL dan ditambahkan aquadest sampai 200 mL, selanjutnya pH larutan dicek dengan pH meter (DEPKES RI, 1995).

4.7.2 Pembuatan larutan induk GMP

GMP ditimbang 10 mg, dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, ditambahkan pelarut metanol 10 ml, diaduk atau divortex mixer selama 15 menit hingga larut sempurna, dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 7,4 hingga tanda batas.

4.7.3 Penentuan panjang gelombang maksimum GMP

Larutan induk GMP diencerkan secara tepat sehingga diperoleh konsentrasi larutan GMP 14 $\mu\text{g/ml}$, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri UV pada rentang panjang gelombang 200-300 nm. Panjang gelombang maksimum GMP dicatat.

4.7.4 Pembuatan kurva kalibrasi GMP

Kurva kalibrasi GMP dibuat dari satu seri konsentrasi 4,6,8,10,12, dan 14 $\mu\text{g/ml}$ dalam pelarut dapar fosfat pH 7,4. Masing – masing konsentrasi diukur pada panjang gelombang 228 nm.

4.7.5 Uji kelarutan

Sejumlah serbuk GMP murni 5 mg ditimbang, dan GMP-AM ditimbang setara dengan GMP murni 5 mg, kemudian dimasukkan ke dalam vial kaca yang berisi dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 10 ml. sampel diaduk dalam pengaduk orbital

dengan temperatur konstan $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pada kecepatan 50 putaran per menit, pengadukan dilakukan selama 24 jam sampai tercapai kesetimbangan sampel larutan disaring dengan kertas saring Whatman, dan diukur serapannya dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 228 nm (Darusman, 2014).

4.7.6 Uji laju disolusi

Sejumlah serbuk GMP murni 10 mg ditimbang, dan GMP-AM ditimbang setara 10 mg, ditetapkan dengan metode 2 USP (tipe alat dayung), kecepatan pengadukan 50 putaran per menit, medium disolusi larutan dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 900ml dengan temperatur $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. larutan sampel diambil pada interval waktu 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit sebanyak 10 ml, kemudian segera diganti dengan medium disolusi sebanyak 10 ml dengan temperatur yang sama. Larutan sampel disaring menggunakan kertas saring Whatman, kemudian diukur serapannya pada spektrofotometri UV panjang gelombang 228 nm (Darusman, 2014).