

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pemeriksaan bahan baku Glimepirid (GMP)

Pada tahap awal yang dilakukan pada penelitian yaitu pemeriksaan bahan 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 tabel 1 bisa dilihat dilampiran 2.

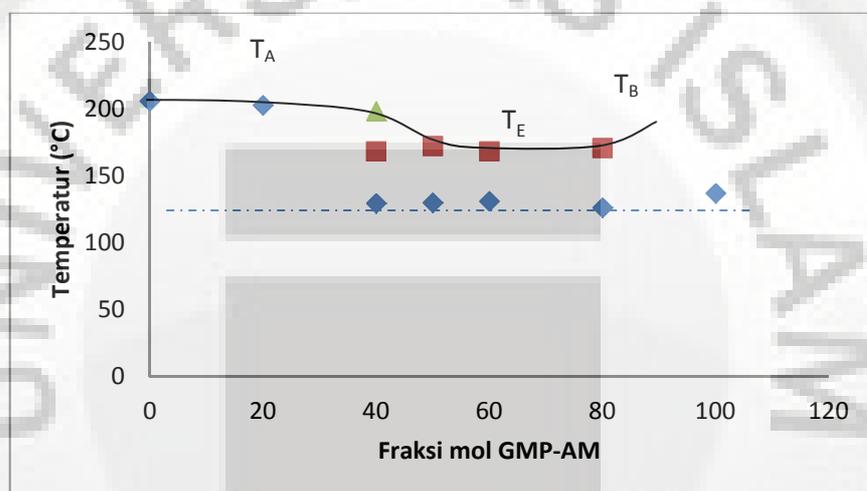
5.2 Pembuatan diagram fasa sistem biner Glimepirid-Asam Malonat (GMP-AM)

Pembuatan diagram fasa sistem biner GMP-AM dilakukan untuk mengidentifikasi awal pembentukan interaksi yang mungkin terjadi antara GMP dan AM, apakah fasa eutetik atau fasa kokristal (senyawa molekular), yaitu dengan cara mengkonstruksi diagram fasa sistem biner antara kedua komponen dengan cara memplot titik lebur (puncak endotermik) yang diperoleh dari analisis termal DSC (Gambar 5.1) pada berbagai komposisi yang dinyatakan sebagai fraksi molar.

Tabel data rekapitulasi puncak endotermik campuran biner GMP dan AM dengan metode termal DSC bisa dilihat di tabel 5.1.

Tabel 5.1 Data rekap puncak endotermik campuran biner GMP dan AM dengan metode termal DSC

Sampel	Fraksi mol (%)		endotermik 1 (°C)	endotermik 2 (°C)	endotermik 3 (°C)
	GMP	AM			
GA 2	100	0	205,8		
GA 7	80	20	202,7		
GA 6	60	40	129,4	168,2	198,1
GA3	50	50	129,8	172,2	
GA5	40	60	130,9	168,2	
GA4	20	80	126,1	170,7	
GA1	0	100	136,9		



Gambar 5.1 Diagram fase sistem biner campuran fisika GMP dan AM ; T_A = titik lebur GMP, T_B = titik lebur AM, T_E = titik eutektikum

Hasil dari analisis diagram fase terlihat bahwa sistem biner GMP dan AM menunjukkan fenomena pembentukan eutektik sederhana pada perbandingan fraksi molar 4 : 6 dengan suhu eutektik 168,2°C. Hasil dari difraktogram campuran fisik biner (gambar 5.3) menunjukkan kombinasi puncak khas dari GMP dan AM dan tidak ditemukan adanya puncak baru. Campuran eutektik merupakan campuran dua atau lebih senyawa yang melebur secara serentak pada suhu yang sama dan terendah. T_A dan T_B merupakan suhu lebur komponen murni (100%) GMP dan AM. Jika suhu lebur diplot terhadap komposisi campuran GMP-AM akan

diperoleh lintasan T_A - T_E - T_B yang disebut kurva likuidus. GMP dan AM dalam kurva likuidus berada dalam fasa cair dan dua komponen senyawa larut satu sama lain, titik lebur paling rendah atau T_E pada kurva didefinisikan sebagai titik eutetik (Sundani, 2012). Pada titik eutetik komponen A dan B melebur serentak pada suhu sama dan fase cair berada dalam kesetimbangan dengan fase padat A dan B. Garis horizontal dibawah T_E 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 Skrining pembentukan kokristalisasi dengan berbagai teknik

Pembentukan fasa kokristal antara dua atau lebih senyawa obat dilakukan dengan beberapa teknik untuk melihat teknik mana yang baik dalam pembentukan fasa kokristal dan teknik mana yang meningkatkan kelarutan GMP, beberapa teknik yang digunakan adalah teknik penggilingan kering (*Neat Grinding*), teknik penggilingan dengan penambahan sejumlah kecil pelarut (*Solvent Drop Grinding*), dan teknik penguapan pelarut (*Solvent Evaporation*).

Pada pembentukan kokristalisasi GMP-AM ditimbang dengan perbandingan 4:6 (2586,84 mg) kemudian dilakukan perlakuan penggilingan kering (*Neat Grinding*), penggilingan dengan penambahan sejumlah kecil pelarut (*Solvent Drop Grinding*), dan penguapan pelarut (*Solvent Evaporation*).

5.3.1 Teknik penggilingan kering (*Neat Grinding*)

Teknik NG ini dilakukan menggunakan mortar dan stamper, untuk menentukan lamanya waktu penggilingan yang optimal dilakukan penggilingan selama 30 menit, dilakukannya teknik NG ini untuk memperkecil ukuran partikel

bahan baku GMP dan koformer AM, dilakukannya penggilingan selama 30 menit diharapkan akan banyak ikatan hidrogen dan van der waals yang terbentuk karena terjadinya pemisahan antara komponen (Aulton, 2001).

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

Untuk menentukan lamanya waktu penggerusan yang optimal maka dilakukan penggerusan GMP dan AM sambil ditetesi aseton sebanyak 30 tetes dengan waktu yang berbeda-beda yaitu 1-10, 10-20, dan 20-30 menit, setelah selesai digerus campuran GMP-AM 4:6 (2586,84 mg) dikeringkan pada desikator selama 24 jam, agar sampel cepat kering dan terjaga dari kontaminasi lingkungan. Dilakukannya penggilingan untuk memperkecil ukuran partikel bahan baku GMP dan AM, dilakukannya penggilingan selama 30 menit diharapkan akan banyak ikatan hidrogen dan van der waals yang terbentuk karena terjadinya pemisahan antara komponen (Aulton, 2001). Ditambahkannya sejumlah kecil pelarut aseton berperan sebagai katalis untuk memungkinkan pembentukan kokristal yang tidak bisa didapatkan dengan cara penggilingan (Zhang, 2010).

5.3.3 Teknik penguapan pelarut (*Solvent Evaporation*)

Pada teknik SE campuran GMP-AM 4:6 (2586,84 mg) dimasukkan kedalam *beaker glass* lalu ditambahkan pelarut aseton sebanyak 2587 ml, ditambahkannya pelarut aseton berperan sebagai katalis untuk memungkinkan pembentukan kokristal, lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai melarut sempurna, setelah itu didiamkan dalam desikator supaya cepat mengering

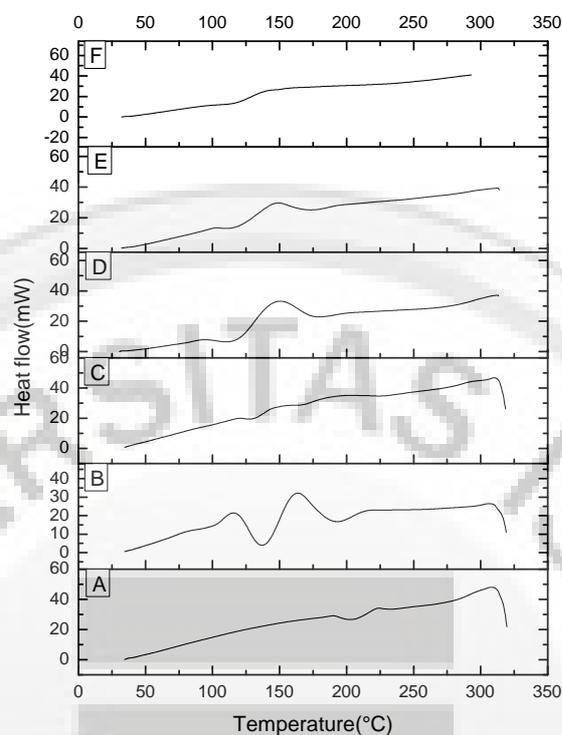
dan menjaga dari kontaminasi lingkungan, setelah pelarutnya habis atau menguap dan yang diperoleh hasil kristal yang mengering.

5.4 Karakterisasi kokristalisasi

Karakterisasi kokristal dilakukan untuk memverifikasi interaksi antara GMP dan AM (4:6) dengan analisis DSC, FTIR, XRD, hasil interaksi GMP-AM 4:6 dengan perlakuan NG, SDG, SE nanti akan dibandingkan dengan komponen tunggal dan campuran fisik GMP-AM.

5.4.1 Analisis *Differential scanning calorimetry*(DSC)

Analisis termal *DSC* merupakan instrument analitik yang sangat bermanfaat dalam karakterisasi interaksi dalam keadaan padat (*solid state interaction*) antara dua atau lebih material obat (Erizal dkk., 2011). Analisis ini 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.



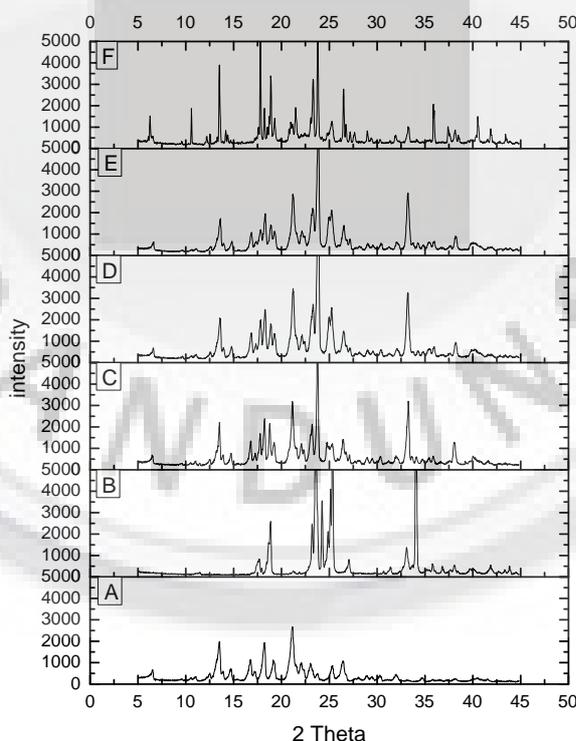
Gambar 5.2 Termogram DSC serbuk : A.GMP, B.AM, C.campuran fisika GMP-AM 4:6, D.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan NG, E.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SDG, F.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SE

Termogram DSC dari GMP dan hasil kokristalisasinya dapat dilihat pada gambar 5.2. Pada termogram GMP menunjukkan puncak endotermik pada $205,8^{\circ}\text{C}$ yang merupakan titik leleh dari GMP. Pada termogram AM menunjukkan puncak endotermik pada $136,9^{\circ}\text{C}$ ini merupakan titik leleh dari AM, dari termogram DSC ini menunjukkan penurunan titik lebur sistem biner hasil kokristalisasi yang diduga terbentuknya campuran eutetik antara GMP dan AM pada $168,2^{\circ}\text{C}$, termogram DSC dengan perlakuan NG, SDG, SE menunjukkan penurunan titik lebur dimana pada termogram dengan perlakuan NG menunjukkan puncak endotermik pada $110,2^{\circ}\text{C}$. Termogram dengan perlakuan SDG menunjukkan puncak endotermik pada $110,5^{\circ}\text{C}$, termogram dengan

perlakuan SE menunjukkan puncak endotermik pada 110,7°C. bisa dilihat hasil dari perlakuan menunjukkan puncak endotermik yang lebih rendah dibandingkan dengan GMP murni.

5.4.2 Analisis Powder X-ray diffraction (PXRD)

Analisis PXRD dilakukan untuk mengetahui apakah terbentuk fase kristalin baru atau tidak, jika terjadi fase kristalin baru dari hasil interaksi antara kedua komponen maka akan teramati secara nyata dari difraktogram sinar-X serbuk yang berbeda dari campuran fisika kedua komponen. Difraksi sinar-X serbuk merupakan metode yang handal untuk karakterisasi interaksi padatan antara dua komponen padat (*solid state interaction*).

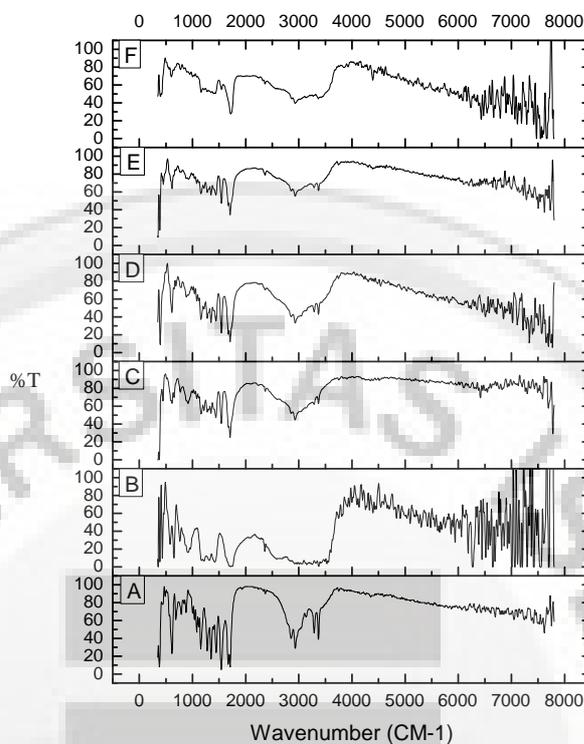


Gambar 5.3 Difraktogram sinar-X serbuk (PXRD) : A.GMP, B.AM, C.campuran fisika GMP-AM 4:6, D.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan NG, E.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SDG, F.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SE

Pada gambar 5.3 menunjukkan difraktogram sinar-X (PXRD) padatan GMP hasil karakterisasi menunjukkan puncak-puncak interferensi pola difraksi sinar-X serbuk pada 2 theta 7; 13,5; 17,5; 21; 23; 26, dan pada padatan AM menunjukkan puncak-puncak interferensi pola difraksi sinar-X serbuk pada 2 theta 17,5; 19; 23; 23,5; 24; 25; 27; 33; 34. Padatan GMP-AM (4:6) hasil interaksi GMP-AM dengan perlakuan NG, SDG, SE dibandingkan dengan komponen tunggal dan juga campuran fisik. Dari profil difraktogram sinar-X campuran fisik 4:6 menunjukkan puncak interferensi pola difraksi sinar-X pada 2 theta 7; 13,5; 17,5; 19; 21; 23; 23,5; 24; 25; 26; 27; 33; 34 dan tidak ditemukannya puncak baru, pola difraksi GMP-AM dengan perlakuan NG, SDG, SE mirip dengan campuran fisik, tetapi intensitasnya berbeda, hal ini disebabkan oleh pergeseran kisi kristal yang berbeda dan cacat pada kristalin, sehingga bidang-bidang kisi yang terpapar oleh sinar-X akan mengalami perubahan dan menghasilkan variasi intensitas puncak interferensi atau disebabkan oleh ukuran kristalin yang berbeda.

5.4.3 Analisis *Fourier transform-infra red (FTIR)*

Analisis spektrofotometer FT-IR dilakukan untuk mengkarakterisasi terjadinya kompleks antara dua senyawa dalam keadaan padat yang dihubungkan melalui ikatan hidrogen (Bugay, 2001). Pengujian dengan FT-IR dilakukan untuk mengidentifikasi adanya interaksi kimia antara GMP murni dan GMP-AM dari perlakuan NG, SDG, SE, pengujian dilakukan dengan membandingkan spektrum campuran fisik dengan GMP-AM dari perlakuan NG, SDG, SE. Spektrum FT-IR menunjukkan transmisi (%T) terhadap bilangan gelombang ($1/\text{cm}$), dapat dilihat pada gambar 5.4.

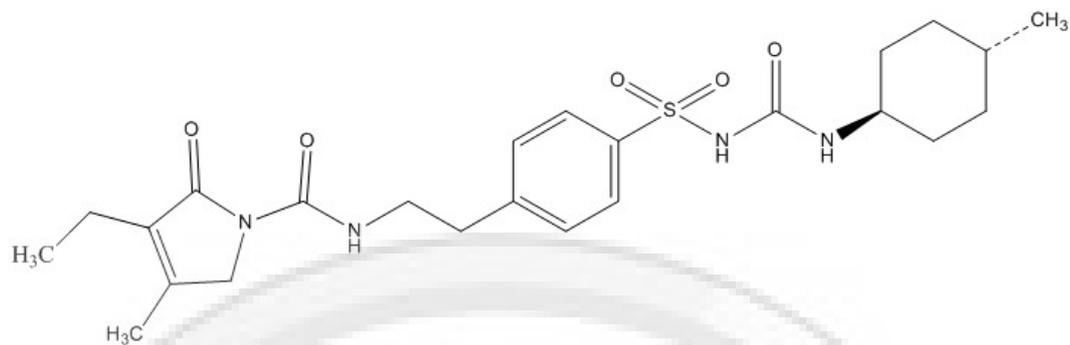


Gambar 5.4 Spektrum FT-IR dengan pellet KBr: A.GMP, B.AM, C.campuran fisika GMP-AM 4:6, D.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan NG, E.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SDG, F.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SE

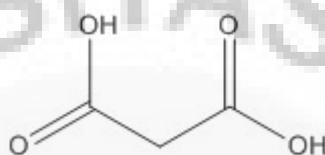
Spektrum FT-IR dapat dilihat pada gambar 5.4 menunjukkan bahwa spektrum inframerah campuran fisika sama atau serupa dengan spektrum inframerah padatan hasil perlakuan GMP-AM 4:6, disini dapat ditegaskan bahwa tidak terjadi interaksi kimiawi pada saat proses perlakuan GMP-AM.

5.5 Karakterisasi kokristalisasi menggunakan kimia komputasi

Pertama kali yang dilakukan adalah menggambar terlebih dahulu struktur GMP dan AM menggunakan software chemdraw®, hasil struktur GMP dan AM bisa dilihat pada gambar 5.5 dan gambar 5.6

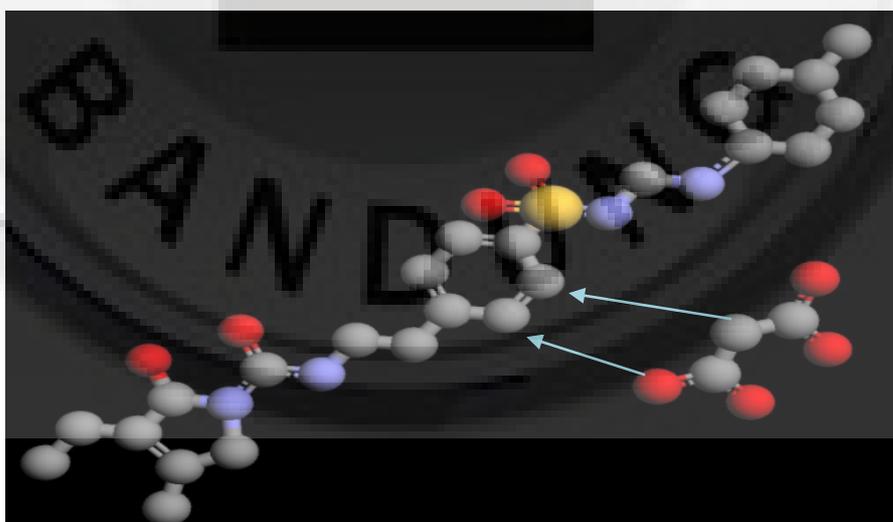


Gambar 5.5 Struktur GMP menggunakan software chemdraw®



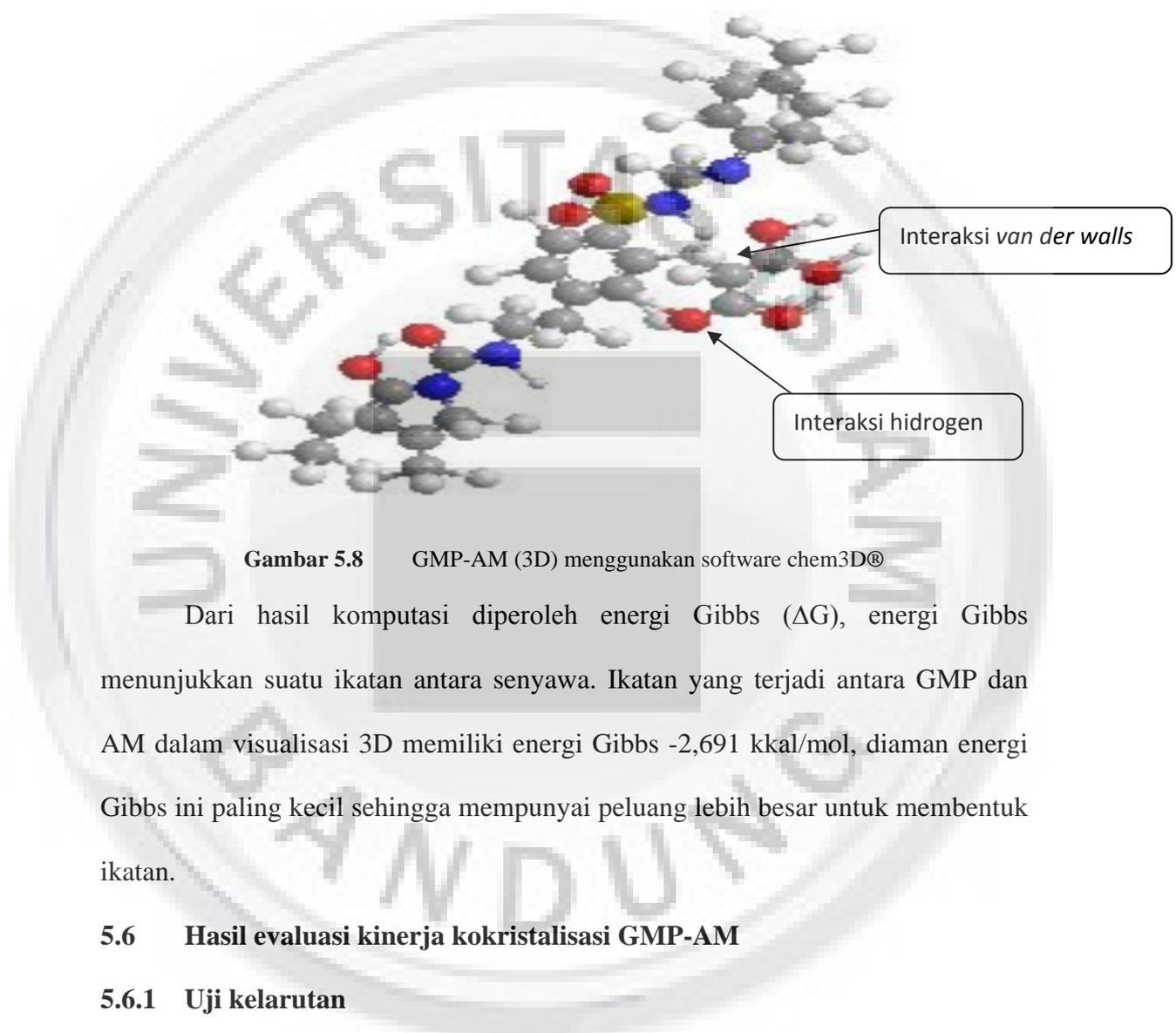
Gambar 5.6 Struktur AM menggunakan software chemdraw®

Selanjutnya dilakukan penggabungan antara GMP dan AM menggunakan software arguslab®, software arguslab® bisa dilihat pada gambar 5.7 lokasi ikatan dan reaksi yang terjadi antara GMP dan AM, hasil dari arguslab® bisa dilihat pada gambar 5.7



Gambar 5.7 GMP-AM (2D) menggunakan software arguslab®

Selanjutnya dilakukan visualisasi 3D menggunakan software chem3D®, hasil visualisasi bisa dilihat pada gambar 5.8 membentuk ikatan *van der walls* dan ikatan hidrogen.



Gambar 5.8 GMP-AM (3D) menggunakan software chem3D®

Dari hasil komputasi diperoleh energi Gibbs (ΔG), energi Gibbs menunjukkan suatu ikatan antara senyawa. Ikatan yang terjadi antara GMP dan AM dalam visualisasi 3D memiliki energi Gibbs -2,691 kkal/mol, diaman energi Gibbs ini paling kecil sehingga mempunyai peluang lebih besar untuk membentuk ikatan.

5.6 Hasil evaluasi kinerja kokristalisasi GMP-AM

5.6.1 Uji kelarutan

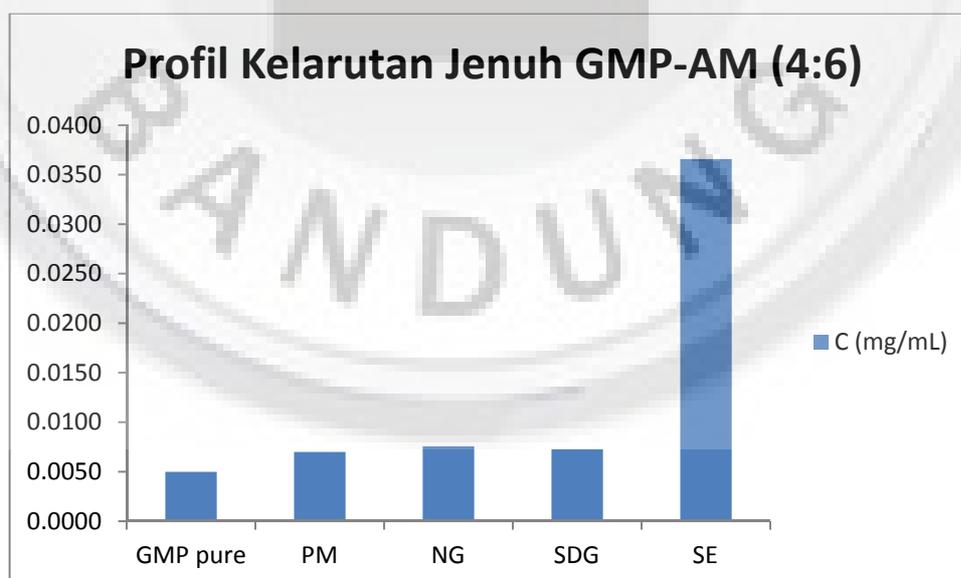
Dalam uji kelarutan ini GMP ditimbang 5 mg, PM dan perlakuan NG,SDG,SE ditimbang setara dengan 5 mg GMP (26,363 mg) dari perbandingan 4:6, dimasukkan kedalam vial 10 ml dan ditambahkan media dapar fosfat pH 7,4 untuk melihat interaksi murni pengaruh AM pada GMP serta menetapkan

parameter pengukuran, setelah ditambahkan dapar fosfat pH 7,4 selanjutnya dilakukan penggojokan menggunakan *orbital shaker* selama 24 jam pada suhu $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pada kecepatan 50 rpm selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring *whatman*, hasil penyaringan kemudian diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui kadarnya (Darusman, 2014).

Hasil uji kelarutan GMP dan GMP-AM dengan berbagai teknik dapat dilihat pada tabel 5.2 dan gambar 5.9

Tabel 5.2 Hasil profil uji kelarutan GMP-AM

Sampel	Kelarutan (mg/mL)
GMP pure	0,0050
PM	0,0070
NG	0,0076
SDG	0,0073
SE	0,0366

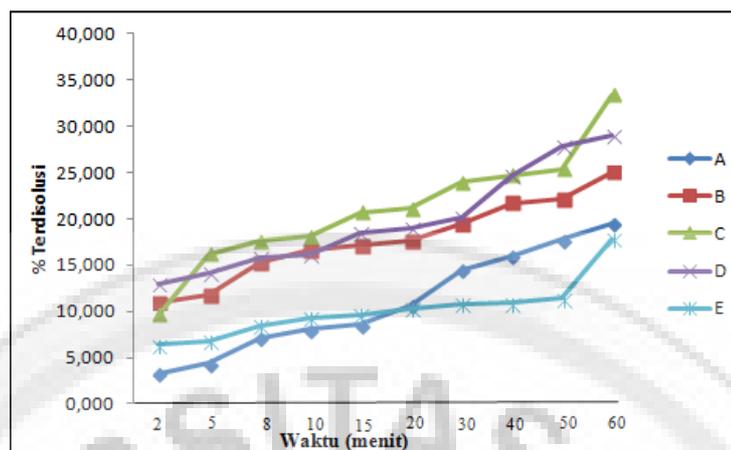


Gambar 5.9 Hasil profil uji kelarutan GMP-AM

Pada tabel 5.3 dan gambar 5.9 hasil uji kelarutan antara GMP dan GMP-AM dengan berbagai teknik menunjukkan bahwa kelarutan GMP-AM dengan perlakuan SE meningkat sebesar 73,2% atau 7x nya (0,0366 mg/mL) jika dibandingkan dengan GMP murni (0,0050 mg/mL). Maka perlakuan yang mempunyai peluang besar untuk meningkatkan kelarutan GMP adalah perlakuan SE. Peningkatan kelarutan GMP ini kemungkinan disebabkan efek solubilisasi dari AM yang mudah larut dalam air karena GMP terdispersi kedalamnya (Zaini *et al*, 2011).

5.6.2 Uji disolusi

Pada penelitian ini dilakukan pengujian disolusi terhadap GMP murni, PM, dan perlakuan (NG, SDG, SE), dilakukannya uji disolusi ini untuk mengetahui berapa banyak serbuk kokristal GMP-AM yang terlarut pada waktu tertentu dalam medium cair yang diketahui volume dan suhu yang relatif konstan. Dalam uji disolusi ini GMP ditimbang 10 mg, PM dan perlakuan NG,SDG,SE ditimbang setara dengan 10 mg GMP (52,726 mg) dari perbandingan 4:6. Uji disolusi dilakukan dalam medium 900ml dapar fosfat pH 7,4; lalu dilakukan pengadukan dengan alat disolusi tipe II dengan kecepatan 50 rpm pada suhu $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, interval pengambilan sampel dilakukan pada 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit dengan pengambilan sampel sebanyak 10 ml dan disertai penambahan medium dengan volume yang sama sehingga volume medium disolusi tetap.



Gambar 5.10 Hasil profil uji disolusi serbuk : A.GMP, B..campuran fisika GMP-AM 4:6, C.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan NG, D.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SDG, E.kokristalisasi GMP-AM (4:6) dari perlakuan SE

Berdasarkan hasil uji disolusi pada tabel 2 (bisa dilihat di lampiran 2) dan gambar 5.10 jumlah GMP murni yang terdisolusi pada waktu 60 menit adalah 19,465%, sedangkan jumlah perlakuan GMP dengan tambahan koformer AM hasil disolusi dengan teknik NG adalah 33,391%, pada teknik SDG adalah 28,931%, pada teknik SE adalah 17,822%. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan laju disolusi perlakuan GMP dengan teknik NG lebih tinggi dibandingkan dengan yang lainnya, dikarenakan adanya mekanisme pengecilan ukuran partikel akibat perlakuan penggilingan sehingga menjadi lebih amorf, tetapi hasil dari uji disolusi dengan perlakuan SE menunjukkan profil disolusi yang paling rendah dikarenakan ukuran partikel yang besar dan tidak dilakukan proses pengayakan terlebih dahulu, dimana ukuran partikel ini mempengaruhi laju disolusi, jika ukuran partikel semakin kecil atau luas permukaan kontak menjadi lebih besar maka laju disolusi akan semakin cepat.