

BAB IV

PROSEDUR KERJA

4.1. Pemeriksaan Bahan

Pemeriksaan dilakukan untuk mengidentifikasi bahan baku glimepirid yang meliputi pemerian, kelarutan, titik lebur sesuai dengan yang tertera pada monografi *United State Pharmacope* (USP) edisi 30. Hasil pemeriksaan kemudian dibandingkan dengan sertifikat analisis.

4.2. Karakterisasi

4.2.1. Fisik

GMP sebelum diberikan perlakuan ditentukan karakteristik fisiknya yaitu analisis kristalografi dengan PXRD, analisis termal dengan DSC dan pengamatan morfologi dengan SEM.

4.2.2. Fungsional

GMP sebelum diberikan perlakuan ditentukan karakterisasi fungsionalnya dengan pengamatan pada kecepatan alir dengan FT dan penentuan indeks kompresibilitasnya dengan BD.

4.3. Skrining Transformasi Polimorfik dengan Berbagai Teknik

4.3.1. Penggerusan padat kering atau *Neat Grinding* (NG)

Ditimbang GMP sebanyak 50 g kemudian digerus secara manual menggunakan mortar dan alu selama 30 menit (Jones et al., 2006)

4.3.2. Penggerusan dengan penambahan tetesan pelarut atau *Solvent Drop Grinding* (SDG)

Ditimbang GMP sebanyak 50 g kemudian digerus secara manual menggunakan mortar dan alu selama 10 menit dengan ditetesi sejumlah kecil aseton (Vishweshwar et al., 2009).

4.3.3. Penguapan pelarut atau *Solvent Evaporation* (SE)

Ditimbang GMP sebanyak 100 mg kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan 100 ml aseton, diaduk dengan *magnetic stirrer* pada 40°C selama 30 menit hingga melarut sempurna. Larutan kemudian diuapkan pada suhu kamar hingga pelarut habis dan diperoleh kristal yang sudah mengering. (Hickey et al., 2007).

4.4. Karakterisasi Polimorfik GMP

4.4.1. Fisik

a. Pengamatan morfologi (*Scanning Electron Microscope*)

Sedikit sampel diletakkan di atas *sample holder* dan dilapisi *gold-palladium* dengan *auto fine coater*. Sampel yang telah terlapisi *gold-palladium* kemudian diletakkan pada *specimen chamber* instrumen SEM dan diamati pada komputer untuk difoto pada pembesaran yang sesuai.

b. Uji difraksi sinar-X (*Powder X-Ray Diffraction*)

Sebanyak 100-200 mg sampel pada *sample holder* diletakkan di ruang sampel difraktometer sinar-X. Kondisi pengukuran dilakukan pada rentang sudut

difraksi 2θ 5-65° menggunakan radiasi $\text{CuK}\alpha$ ($\text{K}\alpha_1 = 1,54060 \text{ nm}$, $\text{K}\alpha_2 = 1,54439 \text{ nm}$) dengan voltase dan arus generator 40kV dan 35mA.

c. Uji termal (*Differential Scanning Calorimetry*)

Sebanyak 5-20 mg sampel diletakan pada *crucible* alumina instrumen DSC. Analisis termal dilakukan pada rentang suhu 30-300°C dengan laju pemanasan 10°C per menit.

4.4.2. Fungsional

a. Kecepatan alir

Timbang sampel sebanyak 50 g, masukan ke dalam corong. Sampel dibiarkan mengalir bebas dari lubang corong dan ditampung pada suatu bidang datar hingga timbunan tersebut membentuk kerucut dan dicatat waktunya. Kemudian diukur tinggi dan diameter timbunan lalu dihitung sudut istirahat (α) menggunakan persamaan 1.

b. Indeks kompresibilitas

Penentuan kompresibilitas diawali dengan penentuan bobot jenis meliputi bobot jenis ruahan dan bobot jenis mampat. Bobot jenis ruahan ditentukan dengan cara mengukur volume 50 g sampel yang dituangkan ke dalam gelas ukur 250 mL tanpa ketukan kemudian dicatat volumenya. Sedangkan bobot jenis mampat diukur dengan cara yang sama dengan bobot jenis ruahan disertai dengan ketukan sebanyak 10 dan 500 kali. Kompresibilitas sampel ditentukan dari hasil pengukuran bobot jenis ruahan dan bobot jenis mampat menggunakan persamaan 2.

4.5. Evaluasi Kinerja Polimorf GMP

4.5.1. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4

Dibuat dengan cara mencampurkan 50 mL KH_2PO_4 0,2 M dan 39,1 mL NaOH 0,2 N, lalu diencerkan dengan air bebas CO_2 hingga 200 mL (DepKes RI, 1979:755).

4.5.2. Pembuatan larutan induk GMP

Ditimbang GMP secara seksama sebanyak 10 mg, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan 10 mL metanol, diaduk dengan *vortex mxer* selama 15 menit sampai terlarut sempurna. Kemudian ditambahkan larutan dapar fosfat pH 7,4 hingga tanda batas (Darusman, 2014).

4.5.3. Penentuan panjang gelombang maksimum GMP

Diencerkan larutan induk GMP secara tepat dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sehingga diperoleh konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-sinar tampak pada rentang panjang gelombang 200-300 nm. Panjang gelombang maksimum GMP dicatat (Darusman, 2014).

4.5.4. Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat satu seri pengenceran GMP dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 $\mu\text{g/mL}$ dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4. Ukur serapannya pada panjang gelombang 229 nm menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak. Kemudian buat kurva kalibrasi antara konsentrasi GMP dengan serapan dan ditentukan persamaan garis regresinya (Darusman, 2014 dan Harahap, dkk., 2006).

4.5.5. Uji kelarutan

Pengujian dilakukan terhadap GMP tanpa perlakuan dan polimorf GMP hasil perlakuan. Ditimbang sampel sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam vial 10 mL. Masing-masing dilarutkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sampai terbentuk larutan jenuh. Vial ditempatkan dalam *orbital shaker* dengan kecepatan 50 rpm dan dikondisikan pada suhu tubuh ($37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Pengadukan dilakukan selama 24 jam hingga mencapai kesetimbangan. Sampel larutan kemudian disaring dengan kertas saring, kemudian ditentukan kadar GMP tanpa perlakuan ataupun polimorf GMP menggunakan metode spektrofotometer UV-sinar tampak pada panjang gelombang 229 nm (Darusman, 2014 dan Harahap, dkk., 2006).

4.5.6. Uji disolusi

Pengujian dilakukan terhadap GMP tanpa perlakuan dan polimorf GMP hasil perlakuan. Sebagai medium disolusi digunakan larutan dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 900 mL dan dimasukkan kedalam bejana disolusi kemudian dikondisikan pada temperatur $37^{\circ}\text{C}\pm 0,5$. Serbuk ditimbang seksama sebanyak 10 mg ditetapkan dengan metode II USP (tipe alat dayung) dan dimasukkan ke dalam bejana disolusi, kemudian diputar dengan kecepatan 50 rpm. Sampel diambil 10 mL pada interval waktu 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit. Setiap pengambilan sampel diganti dengan larutan medium disolusi sebanyak 10 mL dengan temperatur yang sama. Larutan sampel kemudian disaring dengan kertas saring. Kemudian ditentukan kadar GMP tanpa perlakuan maupun polimorf GMP

menggunakan metode spektrofotometer UV-sinar tampak pada panjang gelombang 229 nm (Darusman, 2014 dan Harahap, dkk., 2006).

