

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **5.1. Pemeriksaan Bahan**

Pada penelitian ini dilakukan eksplorasi berbagai kristal hasil polimorfis bahan baku GMP. Penelitian diawali dengan pemeriksaan sertifikat bahan baku GMP dengan monografi yang terdapat dalam USP edisi 30. Hasil pemeriksaan terdapat dalam Lampiran 1 dan Lampiran 2.

Kemudian dilakukan karakterisasi fisik dengan SEM, PXRD dan DSXC serta karakterisasi fungsional dengan FT dan BD.

#### **5.2. Skrining Transformasi Polimorfik dengan Berbagai Teknik**

Perubahan polimorfisme dapat dipengaruhi oleh suhu dengan tekanan. Beberapa metode yang digunakan adalah NG, SDG dan SE.

Pada metode NG, sampel yang telah ditimbang digerus secara manual dengan mortar dan alu selama 30 menit. Prinsip dari metode ini memberikan tekanan untuk merubah struktur internal bahan baku sehingga terjadi perubahan polimorfis. Penggerusan juga penting dalam pembuatan sediaan obat terutama untuk mengecilkan ukuran partikel (Colombo, dkk, 2009).

Pada metode SDG, sampel yang telah ditimbang digerus secara manual dengan mortar dan alu selama 30 menit dan ditambahkan sejumlah kecil aseton dengan cara diteteskan setiap 10 menit. Prinsip dari metode ini memberikan tekanan serta pelarut yang berfungsi untuk membantu proses amorfisasi.

Pada metode SE, terlebih dahulu dilakukan orientasi pelarut dengan cara melarutkan sejumlah kecil sampel dalam 1 mL pelarut dan dihomogenkan. Pemilihan pelarut didasarkan dari data kelarutan sampel yang baik menurut literatur. Skrining pelarut menggunakan pada metanol, aseton dan etanol. Hasil orientasi menunjukkan kelarutan yang cukup baik pada aseton. Hal ini disebabkan pada aseton, kelarutan GMP lebih baik (1:30-100) dibandingkan pada metanol dan etanol (1:100-1000). Kemudian GMP dilarutkan dalam aseton dan diuapkan pada suhu kamar. Prinsip dari metode ini adalah membangun ulang struktur internal GMP.

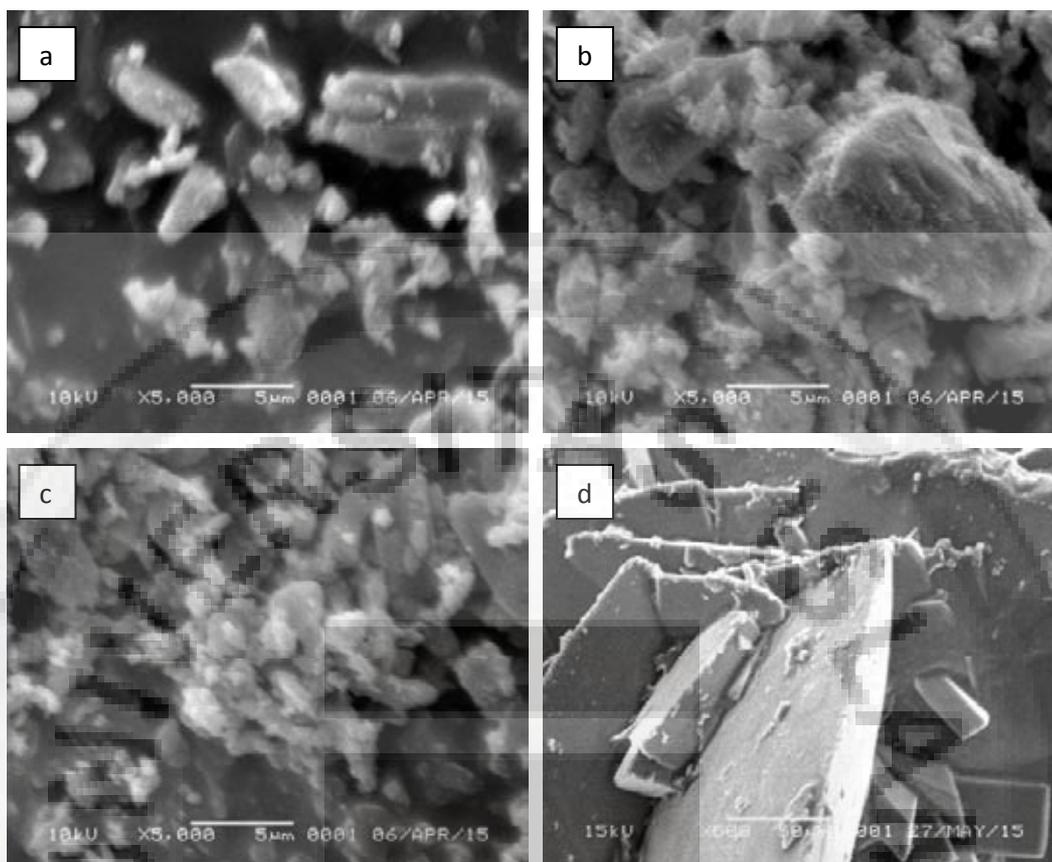
### 5.3. Karakterisasi Polimorfik GMP

#### 5.3.1 Fisik

##### a. Pengamatan morfologi (*Scanning Electron Microscope*)

Pada penelitian ini pengamatan mikroskopik dengan menggunakan SEM yang bertujuan untuk melihat morfologi dan ukuran partikel kristal bahan baku GMP dan kristal-kristal hasil perlakuan NG, SDG dan SE.

Pada Gambar V.2 dalam pengamatan mikroskopik dengan SEM terlihat bahan baku obat GMP memiliki habit (morfologi) kristal bulat (sferis), bergumpal (aglomerat) pada pembesaran 5000x. Kristal hasil perlakuan NG tidak mengalami perubahan bentuk, namun memiliki ukuran kristal yang lebih besar dibandingkan dengan kristal GMP dan SDG pada pembesaran yang sama. Sedangkan kristal hasil perlakuan SE pada pembesaran 500x bila dikonversikan dengan pembesaran 5000x, memiliki ukuran yang sama namun berbentuk bongkahan.



**Gambar V.2** Mikrofoto SEM serbuk: (a) GMP sebelum perlakuan, (b) GMP dari perlakuan NG, (c) GMP dari perlakuan SDG dan (d) GMP dari perlakuan SE

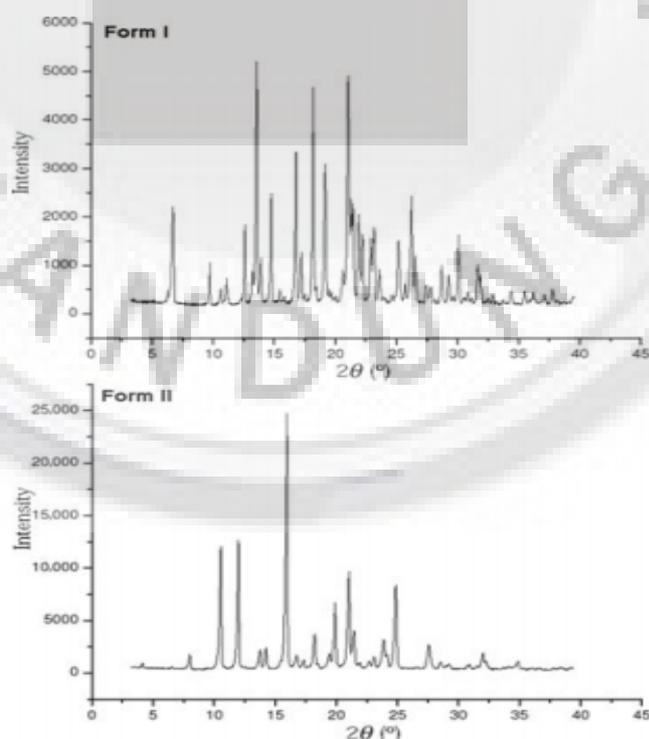
Dilihat dari hasil pengamatan tersebut dapat terlihat proses pemberian tekanan (gerusan) dan kristalisasi dapat menyebabkan terjadinya perubahan habit kristal dari suatu senyawa. Hal ini juga memungkinkan terjadinya perubahan sistem kristal atau disebut polimorfisme. Untuk mengetahuinya dilakukan pengamatan kristal dengan menggunakan PXRD dan analisa termal dengan DSC

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

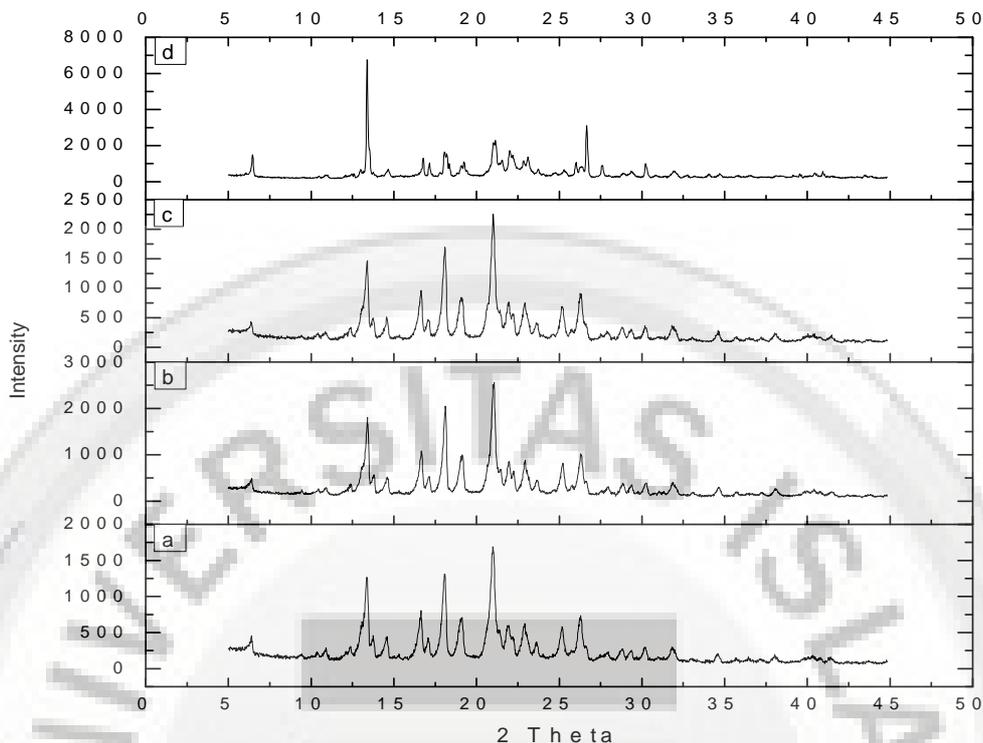
PXRD yang digunakan pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan bentuk atau sistem kristal akibat pemberian tekanan dan

pengaruh pelarut secara kristalografi (Yanuar, 2010). GMP memiliki dua bentuk polimorf, yaitu bentuk I dan II. Gambar V.3 menunjukkan pola difraksi yang berbeda antara bentuk I dan II, dimana berdasarkan literatur tersebut bila dibandingkan dengan pola difraksi GMP (Gambar IV.3) maka GMP yang digunakan pada penelitian ini adalah bentuk I yang memiliki kelarutan yang lebih rendah dari bentuk II (Bonfilio, 2011).

Pada Gambar V.4 dapat dilihat difraktogram dari empat sampel memiliki pola difraksi yang relatif sama. Pola difraksi dari keempat kristal memperlihatkan tiga puncak terkuat pada 2 Theta yaitu GMP ( $18.06^\circ$ ,  $20.98^\circ$ ,  $21.02^\circ$ ), NG ( $18.12^\circ$ ,  $20.98^\circ$ ,  $21.06^\circ$ ), SDG ( $18.08^\circ$ ,  $20.98^\circ$ ,  $21.02^\circ$ ) dan pada SE ( $18.06^\circ$ ,  $19.24^\circ$ ,  $21.14^\circ$ ), sehingga tidak terjadi perubahan sistem kristal atau polimorfisme. Adapun penurunan intensitas puncak pada SE disebut proses amorfisasi.



**Gambar V.3** Difraktogram PXRD serbuk GMP bentuk I dan II (Bonfilio, 2011)



**Gambar V.4** Difraktogram PXRD serbuk: (a) GMP sebelum perlakuan, (b) GMP dari perlakuan NG, (c) GMP dari perlakuan SDG dan (d) GMP dari perlakuan SE

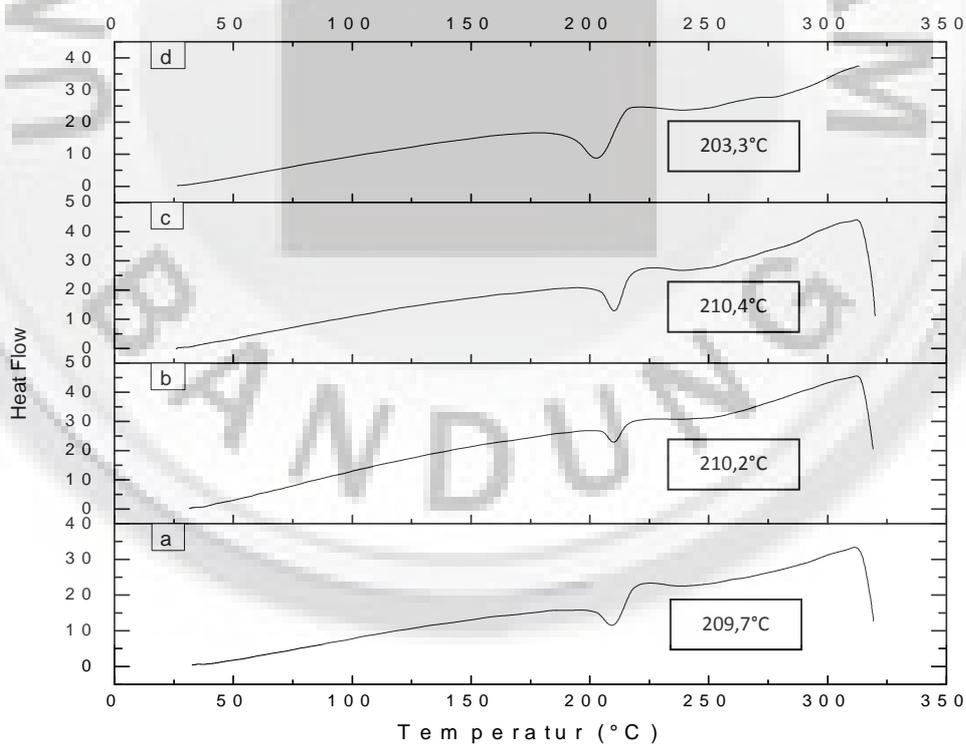
### c. Uji termal (*Differential Scanning Calorimetry*)

Karakterisasi selanjutnya adalah analisis termal dengan menggunakan DSC. Alat ini dapat melihat perubahan entalpi dan suhu lebur dari suatu kristal. Analisis mulai dilakukan pada suhu 30-300°C dengan laju pemanasan 10°C per menit.

Hasil pengamatan (Gambar V.5) termogram bahan baku GMP menunjukkan transisi endoterm dengan adanya peristiwa pelelehan pada puncak 209,7°C dan mendekati suhu literatur yaitu 207°C. Sedangkan pada kristal perlakuan NG dan SDG terjadi peningkatan titik lebur menjadi 210,2°C dan

210,4°C. Pada perlakuan SE, terjadi penurunan titik lebur dengan ditunjukkan puncak endoterm pada 203,3°C.

Hasil analisis termal menunjukkan bahwa tidak terjadi pergeseran titik lebur yang signifikan antara kristal bahan baku GMP dengan hasil perlakuan NG dan SDG. Namun terjadinya penurunan titik lebur pada kristal SE ini berkaitan juga dengan penurunan intensitas puncak pada difraktogram kristal SE akibat terjadi proses amorfisasi. Semakin tinggi puncak difraktogram maka semakin tinggi juga kristalinitas sehingga dibutuhkan suhu yang semakin tinggi untuk meleburkannya. Sedangkan pada difraktogram terlihat SE mengalami proses amorfisasi sehingga suhu yang dibutuhkan untuk meleburkannya juga lebih kecil.



**Gambar V.5** Termogram DSC serbuk: (a) GMP sebelum perlakuan, (b) GMP dari perlakuan NG, (c) GMP dari perlakuan SDG dan (d) GMP dari perlakuan SE.

### 5.3.2. Fungsional

Bahan baku GMP memiliki sifat yang cenderung membentuk gumpalan atau beraglomerasi yang akan mengganggu sifat alirnya. GMP umumnya dibuat dalam sediaan tablet, dimana permasalahan sifat alir ini menjadi urgensi dalam proses pembuatannya. Untuk melihat apakah hasil perlakuan dapat mempengaruhi atau merubah sifat alirnya, maka dilakukan karakterisasi fungsional menggunakan FT dan BD.

#### a. Kecepatan alir

Sampel bahan baku GMP dan hasil perlakuan yang telah ditimbang kemudian dimasukan ke dalam corong FT lalu dibiarkan mengalir dan dicatat waktunya.

Pada Tabel V.2 dapat dilihat bahwa bahan baku GMP sama sekali tidak bisa mengalir. Sedangkan pada perlakuan NG dan SDG, sampel dapat mengalir yaitu 3,34 g/detik dan 3,10 g/detik.

Kemudian dilakukan pengukuran sudut istirahat dari timbunan kerucut hasil dari penentuan kecepatan alir. Sudut istirahat dipengaruhi oleh bentuk dan ukuran partikel. Semakin halus ukuran partikel suatu massa atau bahan maka akan sulit mengalir dan membentuk sudut dengan kemiringan yang tinggi. Semakin besar sudut yang dihasilkan menandakan bahwa semakin buruk sifat alir serbuk tersebut. Ukuran partikel bahan baku GMP yang halus menyebabkannya tidak dapat mengalir (Yanuar, 2010). Karena perlakuan NG dan SDG dapat mengalir, maka dapat ditentukan pula sudut istirahatnya. NG memiliki sudut istirahat  $28,37^\circ$

dan berarti sifat alirnya baik, sedangkan SDG memiliki sudut istirahat  $33,82^\circ$  dan berarti sifat alirnya cukup baik (Wells, 1988).

#### **b. Indeks kompresibilitas**

Pada penentuan indeks kompresibilitas, sampel yang telah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam BD dan diukur volume sebelum diketuk 10 dan 500 kali. Semakin kecil persentase indeks kompresibilitas maka semakin mudah massa mengalir bebas (Siregar dan Wikarsa, 2010).

Dari data pengamatan (Tabel V.2) dapat terlihat bahan baku GMP memiliki persentase tertinggi yaitu 28,88 %, perlakuan NG 23,68 % dan SDG 26,24 %.

Tetapi pada perlakuan SE tidak dilakukan pengukuran kecepatan alir maupun indeks kompresibilitas. Hal ini disebabkan keterbatasan kelarutannya yang sangat rendah (100 mg/100 ml aseton) karena pada karakterisasi fungsional ini dibutuhkan sampel sebanyak 20-50 g bahkan beberapa literatur menyebutkan 100 g, sehingga akan dibutuhkan banyak pelarut (Fhadoli, 1983).

**Tabel V.2** Data karakterisasi fungsional

<b>Sampel</b>	<b>Kecepatan alir (g/detik)</b>	<b>Sudut istirahat (<math>^\circ</math>)</b>	<b>Indeks kompresibilitas (%)</b>
GMP	Tidak mengalir	Tidak mengalir	28,88
NG	3,34	28,37	23,68
SDG	3,10	33,82	26,24
SE	Tidak dilakukan	Tidak dilakukan	Tidak dilakukan

#### **5.4. Evaluasi Kinerja Polimorf GMP**

Penelitian selanjutnya adalah pengujian kelarutan dan disolusi. Bahan baku GMP memiliki kelarutan praktis tidak larut di dalam air yaitu 0,00384

mg/mL (Frick A, et al., 1998). Dengan diberikannya perlakuan, maka akan terlihat apakah kelarutan ataupun disolusinya meningkat atau tidak.

#### 5.4.1. Uji kelarutan

Uji kelarutan bertujuan untuk melihat berapa banyak zat yang terlarut ketika dikondisikan dalam keadaan jenuhnya. Pengujian dilakukan pada bahan baku GMP dan hasil perlakuan.

Bahan baku GMP dan hasil perlakuan NG, SDG dan SE ditimbang seksama sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan larutan dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 10 mL. Penggunaan dapar fosfat pH 7,4 selain untuk menjaga pH dari pengaruh lingkungan dan juga pada pH > 7 kelarutan GMP sedikit meningkat (Chawdhary, 2004)

Vial-vial kemudian ditempatkan sedemikian rupa dalam suatu wadah dan dimasukkan ke dalam *orbital shaker* dengan kecepatan 50 rpm pada suhu  $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  yang merupakan kondisi suhu tubuh selama 24 jam hingga mencapai kesetimbangan, yaitu dimana larutan dapar tidak dapat lagi melarutkan karena sudah dalam kondisi jenuh.

Sampel-sampel hasil pengujian disaring dengan kertas saring dan diukur serapannya pada panjang gelombang 229 nm dengan spektrofotometer UV-sinar tampak. Kemudian ditentukan konsentrasinya dengan memasukan nilai serapan yang diperoleh ke dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari pembuatan kurva kalibrasi sebelumnya (Lampiran 3).

Pada Tabel V.3 dapat dilihat bahan baku GMP memiliki kelarutan yang sangat kecil yaitu 0,0047-0,0052 mg/mL. Tetapi terjadi penurunan kelarutan pada

perlakuan NG dan SDG menjadi 0,0049 mg/mL dan 0,0046 mg/mL. Hal ini sejalan dengan karakterisasi fisik sebelumnya menggunakan DSC dimana titik leburnya naik. Sedangkan pada perlakuan SE, terjadi peningkatan kelarutan menjadi 0,0096 mg/mL yang juga sejalan dengan karakterisasi fisik sebelumnya menggunakan PXRD dan DSC. Penurunan kristalinitas (amorfisasi) dan penurunan titik lebur menjadikan perlakuan SE meningkat kelarutannya (Lampiran 4).

Tabel V.3 Data uji kelarutan

Sampel	Kelarutan (mg/mL)
GMP	0,0050
NG	0,0049
SDG	0,0046
SE	0,0096

#### 5.4.2. Uji disolusi

Uji disolusi bertujuan untuk melihat banyaknya zat yang terlarut tiap satuan waktu. Uji disolusi yang dilakukan adalah uji disolusi intrinsik, yaitu uji yang dilakukan pada sampel yang hanya zat aktif saja pada rentang pH biologis, dimana dapar fosfat pH 7,4 yang digunakan sebagai medium merupakan pH usus halus (Ansel, 1989). Pengujian dilakukan pada bahan baku GMP dan hasil perlakuan.

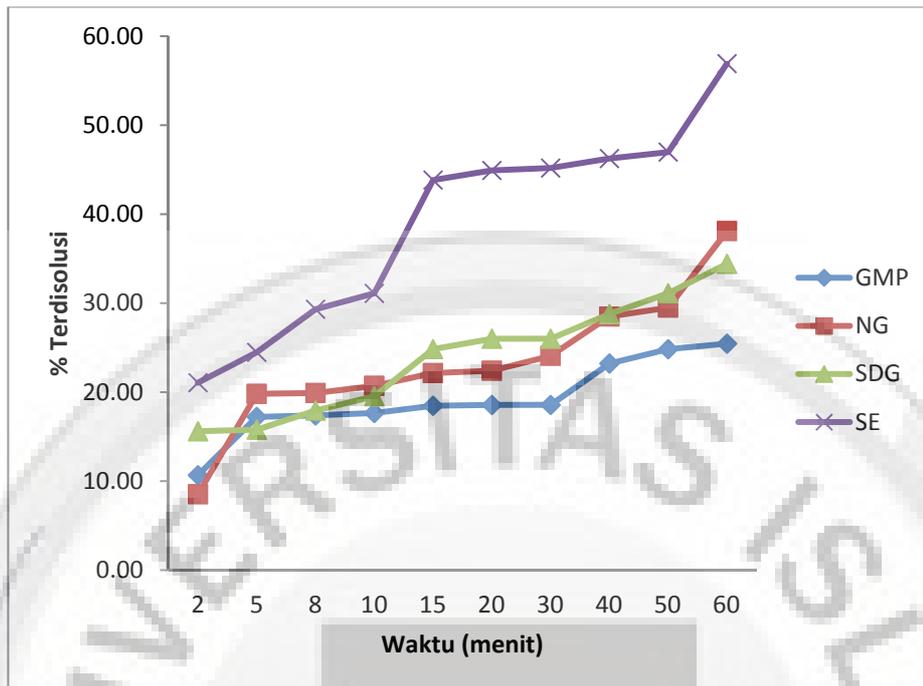
Larutan dapar fosfat pH 7,4 dimasukkan ke dalam bejana disolusi dan dikondisikan pada suhu  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  yaitu kondisi suhu tubuh. Bahan baku GMP dan hasil perlakuan NG, SDG dan SE ditimbang seksama sebanyak 10 mg ditetapkan dengan metode II USP (tipe alat dayung) dimasukkan ke dalam bejana disolusi dan

diputar dengan kecepatan 50 rpm dimana ini adalah kondisi fisiologis pergerakan lambung.

Sampel diambil sebanyak 10 mL pada interval waktu 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit dan digantikan sejumlah volume yang sama dengan larutan medium setiap pengambilannya. Sampel disaring dengan kertas saring dan diukur serapannya pada panjang gelombang 229 nm dengan spektrofotometer UV-sinar tampak. Kemudian ditentukan konsentrasinya dengan memasukan nilai serapan yang diperoleh ke dalam persamaan regresi linier yang diperoleh dari pembuatan kurva kalibrasi sebelumnya (Lampiran 3).

Pada Gambar V.8 dapat dilihat bahan baku GMP memiliki persentase disolusi yang paling kecil. Hal ini membuktikan bahan baku GMP memiliki sifat yang sulit terbasahi karena ukuran partikelnya yang sangat halus. Pada saat pengujian, bahan baku GMP mengambang dan hanya sebagian kecil yang terlarut. Sedangkan pada hasil perlakuan NG dan SDG, terjadi peningkatan persentase disolusi setiap waktunya. Ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh terhadap disolusi sampel. (Lampiran 5)

Pada perlakuan SE terjadi peningkatan yang signifikan dimana persentase disolusinya meningkat hingga 2 kali lipat dari bahan baku GMP. Hal ini disebabkan adanya pengaruh pH media dan juga bentuk amorf hasil perlakuan SE. Hasil ini memang sejalan dengan semua karakterisasi fisik dengan SEM, PXRD dan DSC sebelumnya.



Gambar V.8 Grafik persentase terdisolusi

Keterangan:

GMP : Glimepiride

NG : Perlakuan *Neat Grinding*

SDG : Perlakuan *Solvent Drop Grinding*

SE : Perlakuan *Solvent Evaporation*