

**KARAKTERISASI STRUKTUR DAN UJI DISOLUSI
KOKRISTAL ASIKLOVIR-ASAM ASKORBAT SECARA
SOLID STATE GRINDING**

***STRUCTURE CHARACTERIZATION AND DISSOLUTION
TEST OF ACYCLOVIR-ASCORBIC ACID COCRYSTAL
BY SOLID STATE GRINDING***

HAERIA



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2011**

TESIS

**KARAKTERISASI STRUKTUR DAN UJI DISOLUSI
KOKRISTAL ASIKLOVIR-ASAM ASKORBAT SECARA
SOLID STATE GRINDING**

Disusun dan diajukan oleh

Haeria

Nomor Pokok P2500208003

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 26 April 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat

Prof.Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc

Ketua

Ketua Program Studi
Pascasarjana
Farmasi

Prof.Dr. H.M. Natsir Djide, M.S

Subehan, S.Si,M.Pharm.Sc, Ph.D

Anggota

Direktur Program

Universitas Hasanuddin,

Prof. Dr. Ir. Mursalim

**KARAKTERISASI STRUKTUR DAN UJI DISOLUSI
KOKRISTAL ASIKLOVIR-ASAM ASKORBAT SECARA
SOLID STATE GRINDING**

Tesis

Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan Diajukan Oleh

Haeria

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2011

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Haeria
Nomor Mahasiswa : P2500208003
Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar,

Yang Menyatakan

Haeria

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala berkah, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penyusunan dan penulisan tesis berjudul “**Pembentukan, Karakterisasi Struktur dan Uji Disolusi Kokristal Asiklovir-Asam Askorbat Dengan Metode Solid State Grinding**” sebagai salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Magister Farnasi pada Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini tidak terlepas dari segala keterbatasan dan kendala tetapi berkat bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, baik moral maupun material sehingga dapat berjalan dengan baik. Oleh karena itu perkenankanlah dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak **Prof. Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc.**, selaku ketua komisi penasihat dan Bapak **Subehan, S.Si, M. Pharm. Sc, PhD.**, selaku anggota komisi penasihat yang telah dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam memberikan bimbingan kepada penulis sejak awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Selanjutnya, pada kesempatan ini perkenankanlah dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan ucapan terima kasih terima kasih yang sebesar-besarnya serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Mursalim, selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar beserta staf yang telah banyak membantu selama mengikuti pendidikan Program Magister Ilmu Farmasi.
2. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.
3. Bapak Prof.Dr. H. M. Natsir Djide, M.S, Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
4. Ibu Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS, Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan bimbingan hingga selesainya tesis ini.
5. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan bimbingan hingga selesainya tesis ini.
6. Bapak Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, M.Sc, Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan bimbingan hingga selesainya tesis ini.
7. Bapak/Ibu dosen Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar, terutama dosen Prodi Farmasi.
8. Seluruh pengelola dan staf Program Studi Farmasi, Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
9. Seluruh keluarga dan teman-teman tercinta yang dengan setia dan penuh kesabaran memberi dukungan hingga selesainya tesis ini.

Rasa kasih, hormat, terima kasih, dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis haturkan kepada ayahanda tercinta Doloking, serta ibunda tercinta Jamiah, yang senantiasa mengiringi penulis dengan doa, perhatian, bantuan materi dan dukungan moril sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, olehnya itu penulis mengharapkan saran dan kritikan yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tesis ini. Dan akhirnya penulis berharap semoga tesis ini bermanfaat bagi kita semua.

Akhirnya atas segala pengorbanan, waktu, tenaga, pikiran, saran, dan sumbangan moril maupun material yang telah diberikan dari semua pihak semoga mendapat imbalan dari Allah SWT.

Makassar, Februari 2011

Penulis

ABSTRAK

HAERIA: *Karakterisasi Struktur dan Uji Disolusi Kokristal Asiklovir-Asam Askorbat Secara Solid State Grinding* (dibimbing oleh **Amran Ilyas Tanjung dan Subehan**).

Penelitian ini bertujuan untuk merancang pembentukan kokristal asiklovir-asam askorbat, menganalisis karakteristik struktur dan mengetahui laju disolusi dari kokristal asiklovir-asam askorbat yang dihasilkan.

Pembentukan kokristal asiklovir-asam askorbat dilakukan dengan metode *solid state grinding*, karakterisasi struktur dengan Spektrofotometri Infra merah (FTIR), Difraksi sinar X (XRD), pengamatan morfologi permukaan dengan mikroskop pemindai elektron (SEM), serta uji disolusi dengan metode dayung dalam media HCl 0,1 N.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kokristalisasi asiklovir: asam askorbat dengan metode *solid-state grinding* baru mencapai fase amorf dan belum terbentuk fase kokristal. Pembentukan ikatan hidrogen dari asiklovir-asam askorbat belum dapat dipastikan dari analisis data spektrofotometri inframerah. Persentase disolusi asiklovir-asam askorbat adalah 61,73%, lebih besar di bandingkan dengan asiklovir sendiri, yaitu 49,89% pada 5 menit pertama.

Kata kunci : kokristal, asiklovir, *solid-state grinding*



ABSTRACT

HAERIA: *Structure Characterization and Dissolution Test of Acyclovir-Ascorbic Acid Cocystal by Solid State Grinding* (supervised by **Amran Ilyas Tandjung, and Subehan**).

The aims of this research to design formation of acyclovir-ascorbic acid cocystal, analyzed the structural characteristics and knowing dissolution rate of acyclovir-ascorbic acid cocystal produced.

Formation of acyclovir-ascorbic acid cocystal by solid state grinding method, structure characterization with Infrared spectrophotometry (FTIR), X-ray diffraction (XRD), observation of surface morphology with scanning electron microscopy (SEM), and dissolution test by paddle method in 0.1 N HCl medium.

The results of this research showed that formation of acyclovir: ascorbic acid cocystal by solid-state grinding has only reached amorphous phase. Hydrogen bond formation of acyclovir-ascorbic acid could not be ascertained by infrared spectrophotometry data. Percentage dissolution of acyclovir-ascorbic acid is 61.73%, higher compared with acyclovir, ie 49.89% in the first 5 minutes.

Key words : cocystal, acyclovir, solid-state grinding



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
E. Kerangka Pikir	8
BAB II TINJUAN PUSTAKA	9
A. Uraian Asiklovir	9
1. Nama	9
2. Indikasi, Indeks Terapi dan Toksisitas	9
3. Sifat Fisikokimia Asiklovir.....	10
a. Garam, ester, polimorf, hidrat	10
b. Kelarutan.....	11
c. Koefisien Partisi	11
d. pKa	11
4. Farmakokinetika Asiklovir	12
a. Permeabilitas dan Absorpsi	12
b. Distribusi	12

c. Metabolisme dan Ekskresi	13
B. Uraian Asam Askorbat	13
1. Nama	13
2. Sifat Fisikokimia Asam Askorbat	14
C. Uraian Kokristal	14
1. Kokristal dan Kriterianya	15
2. Peningkatan Sifat Fisikakimia melalui pembentukan Kokristal	17
a. Titik Lebur	18
b. Pembentukan Hidrat	19
c. Stabilitas Kimia	19
d. Laju Disolusi	20
e. Kelarutan	21
f. Bioavailabilitas	24
3. Interaksi Intermolekuler dan Pemilihan Komponen Kokristal	25
4. Metode Pembuatan Kokristal	28
a. Metode Pelarutan	28
b. Kokristalisasi Bahan Padat	30
D. Instrumentasi	32
1. Spektroskopi Inframerah	32
2. Difraksi Sinar X	33
3. Differensial Scanning Calorimetry	36
4. Mikroskop Pemindai Elektron	38
5. Uji Dissolusi	39
BAB III METODE PENELITIAN	43
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	43
B. Alat dan Bahan	43
1. Alat	43
2. Bahan	43
C. Cara Kerja	44

1. Pembuatan Kokristal Asiklovir-Asam Askorbat (1:1) Dengan Metode Solid State Grinding	44
2. Karakterisasi Kokristal	44
a. Difraksi sinar X	44
b. Fourier Transform Infrared Spectroscopy	44
c. Scanning Electron Microscope	45
d. Uji Disolusi	45
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	46
A. Hasil Penelitian	46
1. Representasi Ikatan Hidrogen Dengan ORTEP-3 ..	46
2. Hasil Pemeriksaan Dengan Difraksi sinar X.....	46
3. Hasil Pemeriksaan Dengan FTIR	47
4. Hasil Pemeriksaan Dengan SEM	48
5. Hasil Uji Disolusi	50
B. Pembahasan	52
BAB V PENUTUP	58
A. Kesimpulan	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Contoh sistem kokristal farmasi yang telah dilaporkan dalam literatur.....	29
Tabel 2. Hasil serapan kurva baku asiklovir	50
Tabel 3. Hasil uji disolusi asiklovir dan kokristal asiklovir-asam askorbat	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian	8
Gambar 2. Struktur Asiklovir	9
Gambar 3. Struktur Asam Askorbat	13
Gambar 4. Sistem multikomponen: kokristal, garam kokristal, dan garam hidrat/ solvate.....	16
Gambar 5. Sinton yang umum digunakan dalam pembentukan supramolekuler.....	27
Gambar 6. Skema spektrofotometer inframerah.....	33
Gambar 7. Skema difraksi sinar X	35
Gambar 8. Differential scanning colorimetry... ..	36
Gambar 9. Diagram mikroskop pemindai elektron.....	39
Gambar 10. Alat metode keranjang.....	41
Gambar 11. Alat metode dayung.....	42
Gambar 12. Representasi ORTEP-3 dari ikatan hydrogen antara asiklovir dan asam askorbat pada level probabilitas 50%	46
Gambar 13. Pola XRD dari a. asiklovir, b. asam askorbat, c. kokristal asiklovir-asam askorbat	47
Gambar 14. Spektra inframerah dari a. asiklovir, b. asam askorbat, c. kokristal asiklovir-asam askorbat	48
Gambar 15. Hasil pemeriksaan SEM a. asiklovir, b. asam askorbat, c. kokristal asiklovir-asam askorbat.....	49
Gambar 16. Kurva baku asiklovir	50
Gambar 17. Profil disolusi asiklovir dan asiklovir-asam askorbat	51

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Skema kerja
- Lampiran 2. Laporan pengujian XRD
- Lampiran 3. Pola XRD dari asiklovir, asam askorbat dan kokristal asiklovir-
asam askorbat.
- Lampiran 4. Hasil analisis puncak difraksi sinar x
- Lampiran 5. Laporan Pengujian FTIR
- Lampiran 6. Hasil analisis FTIR asiklovir, asam askorbat dan kokristal
asiklovir-asam askorbat
- Lampiran 7. Laporan pengujian SEM
- Lampiran 8. Tabel Data disolusi asiklovir
- Lampiran 9. Tabel Data disolusi kokristal asiklovir-asam askorbat (1:1)
- Lampiran 10. Contoh perhitungan uji disolusi

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bioavailabilitas suatu obat berkaitan dengan laju dan jumlah obat yang diabsorpsi ke dalam sirkulasi sistemik setelah pemakaian. Bioavailabilitas obat dipengaruhi oleh sifat fisikokimia, formulasi, kondisi saluran cerna, *circadian differences*, enzimologi dan mukosa lambung, motilitas intestinal, dosis pemakaian dan kondisi fisiologis dari pasien (Hetal, *at al.*,2010). Absorpsi dan bioavailabilitas obat secara oral dari suatu bentuk sediaan farmasi merupakan mekanisme yang sangat kompleks dan mempengaruhi efek farmakologinya.(Crowley and Martini, 2004; Nai-Ning Song, Shao Yu Zhang, and Chang-Xiao Liu, 2004). Senyawa obat yang memiliki bioavailabilitas oral yang rendah membutuhkan dosis pemakaian yang besar, karena hanya sebagian kecil yang diabsorpsi dalam sirkulasi sistemik dan mencapai situs targetnya (Hetal, *at al.*,2010).

Bioavailabilitas yang rendah dari suatu obat disebabkan oleh kelarutan dalam air yang rendah, koefisien partisi yang tidak sesuai, *first-pass metabolism*, degradasi dalam saluran cerna (pH, reaksi kimia, enzimatik, interaksi dengan makanan), dan waktu yang dibutuhkan untuk absorpsinya (Hetal, *at al.*,2010). Senyawa yang tidak larut seringkali

menunjukkan absorpsi yang tidak sempurna atau tidak menentu. Suatu obat harus mempunyai kelarutan dalam air sehingga obat dapat masuk dengan mudah ke sistem sirkulasi dan menghasilkan suatu efek terapeutik (Ansel., 1985; Hilfiker, 2006).

Tantangan besar dalam pengembangan obat saat ini adalah adanya aktivitas farmakologi yang baik berdasarkan kelarutan dan permeabilitas yang baik. Kelarutan obat yang rendah (kurang dari 10%) mengakibatkan disolusi yang rendah dalam saluran gastrointestinal sehingga absorpsinya tidak sempurna. Absorpsi yang tidak memadai ini menyebabkan terjadinya variasi bioavailabilitas. Besarnya dosis pemberian mengakibatkan terjadinya reaksi samping dan respon farmakologi yang tidak menentu, meningkatkan biaya terapi serta mengurangi kepatuhan pasien. Sekitar 40% dari senyawa yang telah digunakan dalam industri farmasi bersifat sukar atau tidak larut dalam air (Kumar *et al*, 2009).

Berbagai teknik yang dapat digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas termasuk modifikasi fisika (reduksi ukuran partikel, modifikasi habit kristal, dispersi dalam pembawa, kompleksasi inklusi), modifikasi kimia (perubahan pH sistem, pembentukan garam) dan pendekatan formulasi (kokristalisasi, kosolvensi, hidrotrofi, penambahan solubilizer, teknologi mikropartikel) (Hetal, *et al.*,2010). Berbagai teknik formulasi telah digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas dari senyawa obat yang mempunyai kelarutan yang rendah, termasuk mikronisasi,

nanomisasi, dispersi padat, enkapsulasi, dan *self emulsified drug delivery system*. Pengembangan produk farmasi dengan berbagai teknologi tersebut membutuhkan waktu untuk menghasilkan sifat kelarutan dan stabilitas yang diinginkan dari zat aktif (Shiraki, *et al*, 2008).

Kokristal dapat didefinisikan sebagai suatu kompleks kristalin yang terdiri dari dua konstituen atau lebih molekul netral yang saling berikatan dalam kisi-kisi kristal melalui interaksi nonkovalen, terutama ikatan hidrogen. Pembentukan kokristal meliputi pencampuran suatu bahan aktif (*host*) dengan bahan pembentuk kokristal (*guest*) dalam kisi-kisi kristal. Hasil penggabungan ini akan mempertahankan sifat intrinsik dari zat aktif utama (Mirza, *et al*, 2008).

Aplikasi teknik kokristal dalam industri farmasi menawarkan berbagai keuntungan. Kokristal dapat meningkatkan sifat bahan aktif dengan memodifikasi stabilitas kimia, stabilitas fisika, toksisitas, rasa (Childs, 2007) penyerapan uap air, perilaku mekanik, kelarutan, laju disolusi, dan bioavailabilitas (Trask, *et al*, 2005; Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007; Shiraki *et al*, 2008). Teknik kokristal dapat diterapkan pada berbagai jenis molekul termasuk bahan tambahan makanan, *preservative*, vitamin, mineral, asam amino serta eksipien farmasi. (Jones, Motherwell and Trask, 2006).

Bahan aktif farmasi dan pembentuk kokristalnya (*cocrystal former*) akan mengalami kokristalisasi dalam fase larutan atau dalam bentuk padat, misalnya melalui penggerusan, pemanasan atau

penguapan pelarut. Senyawa *cocrystal former* dapat berupa bahan aktif farmasi atau bukan. Pemilihan *cocrystal former* didasarkan atas adanya gugus fungsional yang dapat berfungsi sebagai akseptor dan donor ikatan hidrogen dalam strukturnya. *Cocrystal former* juga harus memenuhi syarat dari segi profil toksikologinya. (McMahon, *et al.*, 2010).

Untuk memprediksi ada tidaknya kokristal dapat dengan cara sederhana melalui struktur molekul kimianya. Jika ada sinthon pada keduanya yang saling mampu membebaskan dan menerima H^+ untuk membentuk ikatan hidrogen, maka diduga kuat keduanya akan mampu membentuk kokristal.

Itrakonazol merupakan salah satu obat yang memiliki kelarutan dan bioavailabilitas yang rendah yang telah berhasil ditingkatkan kelarutan dan bioavailabilitasnya melalui teknik rekayasa kristal yaitu dengan pembentukan kokristal. Oleh sebab itu teknologi rekayasa kristal sangat menjanjikan untuk senyawa obat yang sukar larut dalam air (Crowly and Martini, 2004).

Asiklovir juga dijelaskan sebagai senyawa yang sedikit larut dalam air dalam berbagai farmakope. Umumnya data yang ditemukan dalam literatur dihitung pada suhu ruangan ($22-25^{\circ}C$), dan dilaporkan angka kelarutan asiklovir adalah $1,2 - 1,6$ mg/ml. Dalam air suhu $37^{\circ}C$, kelarutannya adalah $2,5$ mg/ml (Arnal *et al*, 2008). Absorpsi terjadi secara lambat, bervariasi dan tidak sempurna melalui mekanisme difusi pasif.

Bioavailabilitas asiklovir setelah pemakaian oral pada manusia dilaporkan dalam *range* 10 – 30% (Drug Bank, 2009).

Asiklovir mengandung gugus NH dan C=O dalam struktur molekulnya yang dapat berfungsi sebagai donor dan akseptor ikatan hidrogen. Adanya gugus fungsional ini sehingga asiklovir dapat dibentuk menjadi senyawa kokristal dengan suatu bahan *cocrystal former* yang sesuai.

Asam askorbat merupakan salah satu senyawa *cocrystal former* yang disebutkan dalam literatur. Asam askorbat adalah senyawa antioksidan yang memiliki kelarutan yang baik dalam air dan telah dikenal secara umum dan aman atau *Generally Recognized as Safe* (GRaS). Asam askorbat memiliki gugus fungsional C=O dan OH yang berfungsi sebagai akseptor dan donor ikatan hidrogen (McMahon, *et al.*,2010). Adanya gugus C=O dan OH ini yang akan membentuk ikatan hidrogen dengan gugus NH dan C=O dari asiklovir. Asam askorbat bersifat tidak stabil dalam larutan dan akan teroksidasi dengan adanya pemanasan (Rowe, Sheskey and Owen, 2006).

Asiklovir sebagai senyawa golongan nukleosida purin tidak dilaporkan memiliki interaksi dengan asam askorbat sebagai golongan vitamin. Cao Wey-Yun (2007) melaporkan bahwa terapi kombinasi dari asiklovir, vitamin C dan interferon dapat secara efektif meningkatkan fungsi antivirus, meningkatkan kekebalan tubuh dan karenanya dapat mempersingkat waktu pengobatan dengan hasil yang lebih baik.

Berdasarkan sifat kelarutan dan bioavailabilitas serta data interaksi farmakologik dari asiklovir sebagaimana yang diuraikan di atas, maka perlu dikembangkan suatu metode untuk meningkatkan kelarutan dari asiklovir. Dengan adanya gugus fungsi dalam struktur asiklovir yang dapat berfungsi sebagai akseptor dan donor ikatan hidrogen, maka teknik kokristalisasi adalah metode yang kami kembangkan dalam penelitian ini, sehingga dapat menjadi alternatif pendekatan formulasi asiklovir untuk sediaan oral. Ketersediaan pelarut yang mampu melarutkan asiklovir dan asam askorbat, serta stabilitas dari asam askorbat menjadi pertimbangan untuk pemilihan metode pembentukan kokristal yang sesuai.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan di atas, maka permasalahan yang timbul adalah:

1. Apakah kokristal asiklovir-asam askorbat dapat terbentuk dengan menggunakan teknik rekayasa kristal ?
2. Bagaimana karakteristik dari struktur kokristal asiklovir-asam askorbat yang dihasilkan dari teknik rekayasa kristal?
3. Apakah kokristal asiklovir-asam askorbat dapat memperbaiki laju disolusi dari asiklovir?

C. Tujuan Penelitian

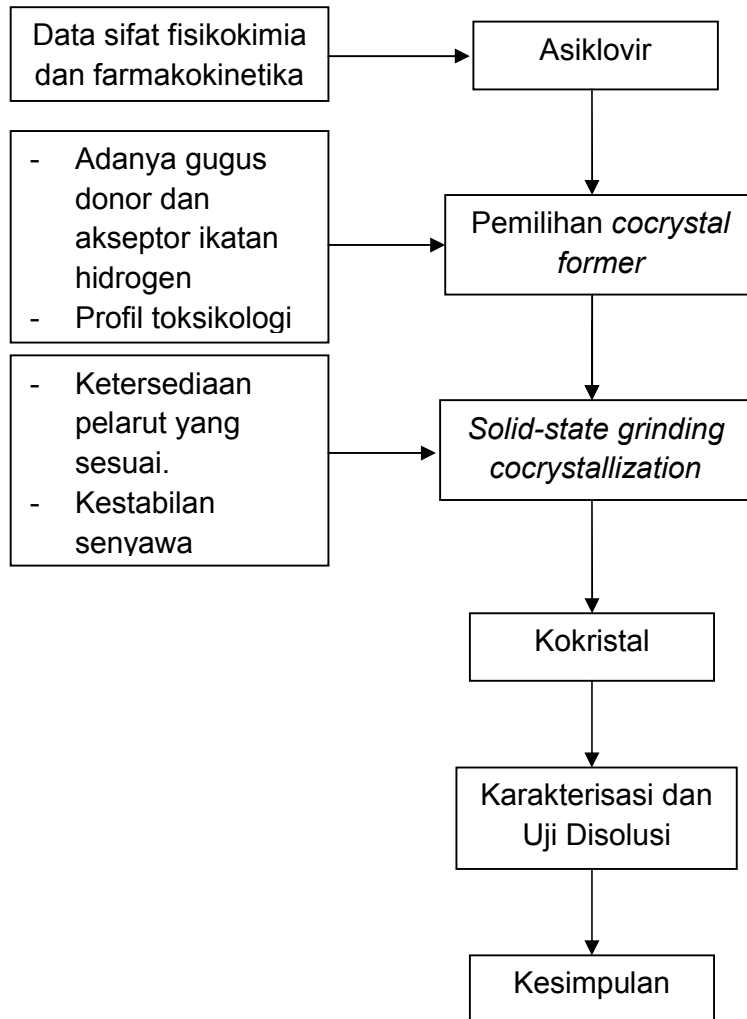
Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk merancang pembentukan kokristal asiklovir-asam askorbat melalui teknik rekayasa kristal.
2. Untuk menganalisis karakteristik dari kokristal asiklovir-asam askorbat yang dihasilkan dari teknik rekayasa kristal.
3. Untuk mengetahui laju disolusi dari kokristal asiklovir-asam askorbat.

D. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan menghasilkan senyawa kokristal asiklovir dengan kelarutan yang lebih baik sehingga dapat diusulkan sebagai strategi formulasi asiklovir untuk sediaan oral.
2. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi rujukan untuk penelitian mengenai teknik kokristalisasi untuk pengembangan formulasi sediaan obat oral.
3. Dari penelitian ini, diharapkan peneliti dapat memperoleh pengalaman dan pengetahuan mengenai teknik rekayasa kristal, khususnya teknik pembentukan senyawa kokristal.

E. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

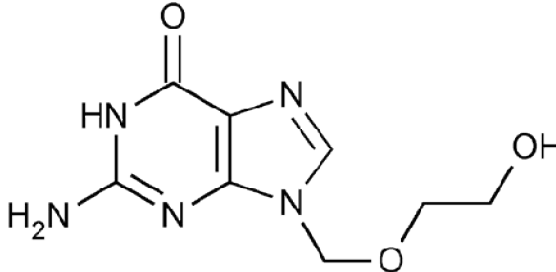
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Asiklovir

1. Nama

Nama kimia dari asiklovir adalah 2-amino-1,9-dihydro-9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6H-purin-6-one, atau 9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-guanin. Nama lain adalah acyclovir, acyclo-guanosine dan ACV. Rumus molekulnya $C_8H_{11}N_5O_3$, dengan berat molekul 225,21 g/mol (USP 29-NF 24).



Gambar 2. Struktur asiklovir (USP 29)

2. Indikasi, Indeks Terapi dan Toksisitas

Asiklovir digunakan secara oral untuk pengobatan dan pencegahan infeksi herpes labial dan untuk pengobatan herpes zoster akut, dan untuk pengobatan varisela (Ganiswarna, 2002; Drug Bank, 2009). Pemakaian oral dengan dosis sampai 4800 mg/hari dapat

ditoleransi dengan baik meskipun pengobatan dosis besar dengan asiklovir untuk herpes zoster dapat menimbulkan beberapa efek samping. Beberapa pasien yang meminum 20 g asiklovir, tidak menunjukkan efek samping yang berarti. Hal ini dimungkinkan karena sifat kelarutan dan absorpsinya yang terbatas. Neurotoksisitas tampak pada pemakaian dosis besar dari pasien dengan fungsi ginjal yang menurun. Efek samping neurologik terjadi dalam 1-2 hari setelah kadar maksimum tercapai dan mungkin tidak berhubungan langsung dengan kadar serum pada saat timbul efek toksik. Ambang neurotoksisitasnya dilaporkan pada 4,5 µg/ml, di mana kadar puncak normalnya adalah 0,4 – 2 µg/ml. Efek samping lainnya adalah diare, muntah, dan muntah (Arnal *et al*, 2008).

Asiklovir memiliki kelarutan yang rendah dalam urin dan kristal asiklovir dapat mengendap dalam tubuli ginjal, mengakibatkan disfungsi ginjal, gagal ginjal dan anuria (Arnal *et al*, 2008).

3. Sifat Fisikokimia Asiklovir

a. Garam, ester, polimorf, hidrat

Asiklovir umumnya digunakan sebagai bentuk asam bebas dalam bentuk sediaan padat, sementara garam natriumnya digunakan dalam sediaan parenteral. *Valaciclovir*, adalah ester l-valil dari asiklovir yang telah digunakan peroral untuk memperbaiki bioavailabilitasnya. Normalnya, asiklovir berada dalam bentuk hidrat dengan dua molekul air, dengan

kandungan air teoritis sekitar 5%. Bentuk anhidrat stabil diperoleh melalui pengeringan hidrat asiklovir pada suhu di atas 150°C. Bentuk anhidrat memiliki kelarutan yang lebih rendah dibanding bentuk hidratnya (Arnal *et al*, 2008).

b. Kelarutan

Asiklovir dijelaskan sebagai senyawa yang sedikit larut dalam air dalam berbagai farmakope. Umumnya data yang ditemukan dalam literatur dihitung pada suhu ruangan (22-25°C), dan dilaporkan angka kelarutan asiklovir adalah 1,2 – 1,6 mg/ml. Dalam air suhu 37°C, kelarutannya adalah 2,5 mg/ml (Arnal *et al*, 2008).

c. Koefisien Partisi

Koefisien partisi ($\log P$) dalam n-oktanol pada 22°C adalah -1,57. Pada 25°C, $\log P$ dan $\log D$ dilaporkan menjadi -1,8 pada pH 6,8 (Arnal *et al*, 2008).

d. pKa

Asiklovir termasuk senyawa amfolit dengan adanya gugus asam lemah dan basa dalam strukturnya. Nilai pKa dari asiklovir adalah 2,27 dan 9,25, tetapi ini berubah sesuai dengan suhu pada saat pengukuran (Arnal *et al*, 2008).

4. Farmakokinetika Asiklovir

a. Permeabilitas dan Absorpsi

Studi mengenai permeabilitas terhadap asiklovir menunjukkan koefisien permeabilitas senilai $1,19 \times 10^{-5}$ cm/s, tetapi dari studi yang lain dilaporkan $0,12 \times 10^{-6}$ sampai $2,0 \times 10^{-5}$ cm/s (Arnal *et al*, 2008). Absorpsi terjadi secara lambat, bervariasi dan tidak sempurna melalui mekanisme difusi pasif. Asiklovir bersifat konsisten mengikuti model dua kompartemen (Ganiswarna, 2002). Bioavailabilitas asiklovir setelah pemakaian oral pada manusia dilaporkan dalam range 10 – 30% (AHFS,2008). Kadar plasma maksimum dicapai dalam waktu 1,5 – 2,5 jam (Alpha Pharmaceutical, 1999). Kadar tunak dicapai setelah pemakaian dosis ganda dalam 1-2 hari (AHFS,2008).

b. Distribusi

Asiklovir terdistribusi secara luas ke dalam jaringan, termasuk otak, ginjal, paru-paru, liver, jaringan jantung, otot, limpa, plasenta, uterus, mukosa dan sekresi vagina, semen, saliva, cairan amniotik, *aqueous humor*, dan cairan serebrospinal. Asiklovir menunjukkan ikatan protein (9-33%) pada konsentrasi terapeutik plasma (AHFS, 2008, Drug Bank, 2009).

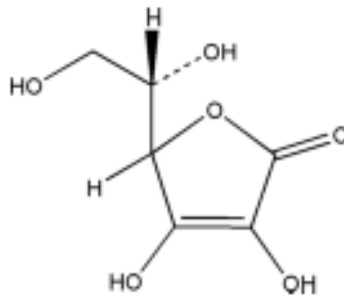
c. Metabolisme dan Ekskresi

Asiklovir dosis tunggal yang diberikan secara intravena, sebagian besar (62-91%) diekskresi dalam urin sebagai bentuk utuh melalui filtrasi glomerular dan sekresi tubuli pada pasien dewasa dengan fungsi ginjal normal. Asiklovir dimetabolisme dalam hati, menghasilkan 9-(carboxymethoxy)methyl] guanine (CMMG) dan sedikit 8-[(hydroxyl-9-(2-hydroxyethoxy)methyl] guanine (Drug Bank, 2009 , AHFS, 2008).

B. Uraian Asam Askorbat

1. Nama

Nama kimia dari asam askorbat adalah L-ascorbic acid, L-(+)-ascorbic acid, vitamin C, 3-oxo-L-gulofuranolactone, L-xyloascorbic acid, L-3-ketothreohexuronic acid lactone.



Gambar 3. Struktur asam askorbat (Rowe, Sheskey, and Owen, 2006)

2. Sifat Fisika Kimia Asam Askorbat

Asam askorbat berwarna putih atau hampir putih, hampir tidak berbau, berbentuk serbuk kristal atau kristal tidak berwarna, yang melebur pada suhu 190-192° C dengan mengalami peruraian, berubah warna bila terkena udara dan kelembaban (USP 29). Asam askorbat bersifat mudah larut dalam air, larut dalam etanol, larut dalam minyak, lemak, eter, petroleum eter, toluena dan kloroform. Asam askorbat memiliki pKa 4,2 dan 11,6 (Anonim).

Dalam bentuk serbuk, asam askorbat relatif stabil di udara. Asam askorbat tidak stabil dalam larutan, terutama larutan alkali, mudah mengalami oksidasi pada paparan udara. Proses oksidasi dipercepat oleh cahaya dan panas dan dikatalisis oleh tembaga dan besi. Larutan asam askorbat memiliki stabilitas maksimum sekitar pH 5,4. Bahan harus disimpan dalam sebuah wadah tertutup baik, non-logam, terlindung dari cahaya, di tempat yang sejuk dan kering (Rowe, Sheskey, and Owen, 2006)

C. Uraian Kokristal

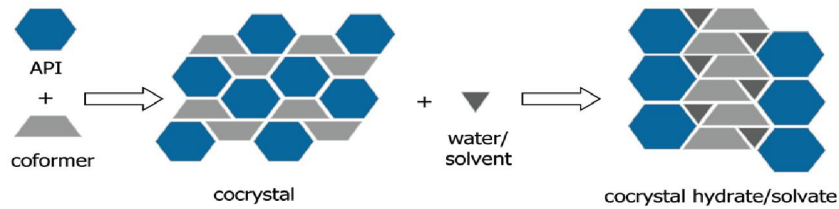
Kokristal dapat didefinisikan sebagai suatu kompleks kristalin yang terdiri dari dua atau lebih konstituen molekul netral yang saling berikatan dalam kisi-kisi kristal melalui interaksi nonkovalen, terutama ikatan hidrogen (Mirza, *et al*, 2008). Kokristal adalah suatu sistem supramolekular yang terjadi karena adanya interaksi ikatan hidrogen, *van*

der Waals, dan interaksi π - π yang menggabungkan molekul-molekul menjadi kompleks multimolekular (Rodriguez, *et al*, 2007; Yadav, 2009; Bethune, 2009). Definisi lain diberikan oleh Childs, 2007, kokristal merupakan kristalin yang tersusun dari dua atau lebih komponen dalam perbandingan stokiometrik yang setiap komponennya berupa atom, senyawa ionik atau molekul.

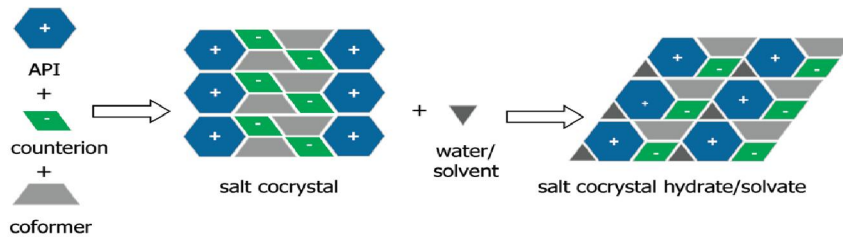
1. Kokristal dan Kriterianya

Hingga saat ini, definisi yang diterima secara universal dari kokristal masih belum tersedia. Dalam literatur akademik, berbagai parameter diterapkan pada definisi tentang apa yang bisa dan tidak bisa dianggap sebagai kokristal. Namun satu kesamaan yang disepakati secara luas bahwa semua kokristal adalah bahan kristal yang terdiri dari setidaknya dua komponen yang berbeda (atau biasa disebut kristal multikomponen). Berikut ini disajikan contoh kokristal berikut kriterianya (Schultheiss and Newmann, 2009):

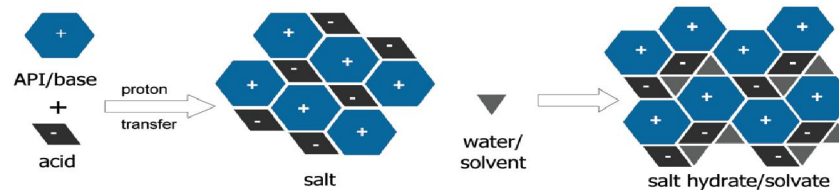
Example 1



Example 2



Example 3



Gambar 4. Sistem multikomponen: kokristal, garam kokristal, dan garam hidrat/solvat (Schultheiss and Newmann, 2009)

Kriteria kokristal:

- Suatu API (*Active Pharmaceutical Ingredient*) – zat aktif netral (contoh 1), atau bentuk ionik atau zwitterions (contoh 2), dengan *coformer* netral, terikat bersama melalui ikatan nonkovalen, dengan ikatan interaksi yang sangat reversible.
- Coformer*, berupa bahan yang dapat diterima atau tidak dapat diterima secara farmasetik (*pharmaceutically acceptable*).
- Materi mempunyai minimal satu sifat fisikokimia telah diketahui.

Analisis struktur dari lebih dari 80 senyawa garam dan kokristal yang disintesis dari jumlah ekimolar asam karboksilat dan N-heterosiklik menunjukkan bahwa pembentukan garam sebagai produk transfer proton dari asam ke basa yang dihasilkan dalam kisi-kisi dengan suatu bahan kimia (solvate) dengan komposisi stoikiometrik. Namun, jika tidak ada transfer proton yang terjadi, dan hasilnya adalah molekul kokristal, maka kisi-kisi kristal dengan kandungan kimia stoikiometrik (solvate) kemungkinannya jauh lebih kecil. Hal ini mengindikasikan bahwa proses konversi suatu asam karboksilat netral menjadi anion karboksilat dapat memiliki konsekuensi struktural yang mengakibatkan prediksi struktur dan sintesis supramolekular yang ditargetkan dari garam jauh lebih sulit dibanding kokristal. Sebagai konsekuensinya, kokristal menawarkan kesempatan baru untuk menghasilkan keragaman yang lebih besar dari bahan obat bentuk padat untuk dikembangkan menjadi produk obat yang layak dan efektif (Aakeroy and Salmon , 2005).

2. Peningkatan Sifat Fisika Kimia melalui Pembentukan Kokristal

Ilmuwan farmasi telah menggunakan bentuk polimorf atau garam sebagai alternatif untuk senyawa obat bebas berbentuk padat untuk meningkatkan sifat-sifat zat aktif. Senyawa yang tidak memiliki gugus fungsi yang dapat terionisasi, tidak dapat dibuat dalam bentuk garam, tetapi dapat dibuat dalam bentuk kokristal (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007; Jones, Motherwell and Trask, 2006). Kokristalisasi dapat merubah sifat dari zat aktif, sehingga dapat dijadikan alternatif yang

layak untuk formulasi produk obat. Sifat yang berhubungan dengan performa zat aktif dapat dikontrol dengan pembentukan kokristal adalah titik lebur, higroskopisitas, stabilitas kimia, disolusi, kelarutan, sifat mekanik, dan bioavailabilitas (Jones, Motherwell and Trask,, 2006).

a. Titik Lebur

Titik lebur merupakan sifat fisika yang fundamental yang ditentukan pada saat terjadi keseimbangan (ekuilibrium) antara fase padat dan fase cair. Untuk memperoleh data yang komprehensif mengenai titik lebur suatu bahan, maka *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) merupakan alat pilihan karena dapat memberikan data tambahan seperti entalpi, dibandingkan dengan metode Kofler (Schultheiss and Newman, 2009)

Titik leleh dari kokristal karbamazepin : nikotinamid (CBZ:NCT) dan karbamazepin:sakarín (CBZ:SAC) berbeda dengan titik leleh dari fase senyawa murninya. CBZ:NCT meleleh pada 156°C dan CBZ : SAC meleleh pada 177°C. Perubahan titik leleh dari zat aktif memberikan keuntungan dalam proses farmasetiknya, misalnya ketika diinginkan keadaan termolabil dari zat aktif selama proses ekstruksi, maka suatu kokristal memiliki titik lebur yang lebih rendah dibanding dengan kristal bahan aktif murni, sehingga memungkinkan untuk mencair pada suhu lebih rendah untuk menghindari degradasi kimia (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007; Seefeldt *et al*, 2006).

b. Pembentukan Hidrat

Suatu kokristal zat aktif dapat dirancang sedemikian rupa sehingga zat aktif tidak membentuk hidrat atau solvat. Karena kokristal adalah jaringan supramolekul dan dirancang berdasarkan ikatan hidrogen dari gugus fungsional yang saling melengkapi, maka pembentukan solvat akan dihambat oleh pembentukan kokristal, mengingat bahwa interaksi antarmolekul bahan aktif dengan koformer lebih kuat dibandingkan interaksi antara bahan aktif dengan molekul pelarut. Contohnya adalah kestabilan karbamazepin kokristal ketika kontak dengan kelembaban yang relatif tinggi. Meskipun kristal anhidrat karbamazepin murni akan berubah menjadi bentuk dihidrat saat kontak dengan kelembaban yang relatif tinggi, namun tidak demikian dengan bentuk kokristal. Suatu penelitian serupa pada kafein menunjukkan bahwa kokristal kafein:asam oksalat tidak membentuk kafein terhidrasi pada kelembaban tinggi selama percobaan. Namun kokristal lain dari kafein dapat ditransformasi menjadi bentuk zat aktif terhidrasi (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

c. Stabilitas Kimia

Pembentukan kokristal dapat meningkatkan stabilitas zat aktif bila reaktifitas kimia zat aktif dinyatakan dalam bentuk padat (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007). Sebagai contoh, kokristalisasi teofilin dengan asam oksalat, asam malonat, asam maleat dan asam glutarat

menunjukkan kestabilan yang tinggi selama penyimpanan dalam kelembaban yang tinggi (Trask, Motherwell and Jones, 2006).

d. Laju Disolusi

Laju disolusi berbagai kokristal zat aktif telah banyak dilaporkan. Laju disolusi intrinsik kokristal karbamazepin-nikotinamid (CBZ-NCT) dan karbamazepin-sakarín (CBZ-SAC) dalam air adalah 1,7 dan 2,3 kali dari karbamazepin (CBZ). Antifungi itrakonazol, adalah suatu zat aktif dengan daya larut dalam air yang sangat rendah sehingga dipasarkan sebagai bentuk amorf untuk meningkatkan bioavailabilitas oralnya. Empat bentuk kokristal dengan stokiometri 2:1 (obat : ligan), di mana ligan yang digunakan adalah asam fumarat, asam suksinat, asam malat, dan asam tartrat. Laju disolusi dari keempat kokristal ini kemudian dibandingkan dengan laju disolusi bentuk kristal dan amorfnya dalam HCl 0,1 N pada 25°C . Keempat bentuk kokristal ini memiliki laju disolusi 4 sampai 20 kali lebih tinggi dibandingkan dengan profil disolusi itrakonazol murni, sedangkan kokristal asam L-tartrat dan asam L-malat memiliki profil disolusi yang mirip dengan itrakonazol (Morissette *at al*, 2003).

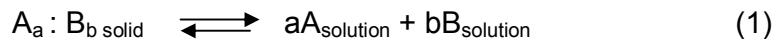
Kokristal indometasin dengan sakarin menunjukkan laju disolusi yang lebih tinggi dibandingkan dengan indometasi bentuk γ (Basavoju, Bostrom and Velaga, 2007).

e. Kelarutan

1. Kelarutan Kokristal Sebagai Fungsi Konsentrasi Ligand

Kelarutan kokristal tergantung kepada konsentrasi komponennya dan juga pH bila satu komponen atau lebih terionisasi. Model matematika telah dikembangkan yang menggambarkan kelarutan kokristal berdasarkan kesetimbangan antara kokristal dengan komponen kokristal dalam larutan (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

Kelarutan dari kokristal biner dari zat aktif (A) dan ligan atau komponen kokristal (B), dari komposisi $A_a : B_b$ dimana komponen kokristal tidak mengalami ionisasi atau membentuk kompleks dalam larutan, memberikan reaksi kesetimbangan sebagai berikut (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007):



di mana a dan b merupakan koefisien stoikiometrik dari molekul A dan B.

Sehingga konstanta kesetimbangan menjadi :

$$K_{\text{eq}} = \frac{a_A^a a_B^b}{a_{A:B}} \quad (2)$$

di mana $a_{A:B}$ adalah konstanta kesetimbangan, $a_A^a a_B^b$ adalah hasil kali

aktivitas dari spesies produk A dan B (komponen kokristal) dan $a_{A:B}$ adalah aktivitas dari spesies reaktan A:B (kokristal). Ini proporsional dengan produk aktivitas termodinamika dari komponen kokristal. Bila aktivitas dari padatan sama dengan 1 atau konstan, maka kelarutan kokristal dapat dijelaskan melalui persamaan berikut;

$$K_{sp} = \alpha_A^a \alpha_B^b \approx [A]^a [B]^b \quad (3)$$

di mana K_{sp} (*solubility-product constant*) adalah konstanta hasil kali kelarutan, $[A]$ dan $[B]$ adalah konsentrasi molar dari setiap komponen kokristal (A dan B) pada saat kesetimbangan, sepanjang koefisien aktivitasnya seragam.

Bila suatu kokristal biner dengan perbandingan stokiometrik 1:1 dilarutkan dalam pelarut murni menjadi komponen individual tanpa kompleksasi atau ionisasi lebih lanjut dalam larutan jenuh, maka keseimbangan massa dari tiap komponen dalam larutan dapat ditunjukkan sebagai kelarutan molar (*molar solubility*) dari kokristal, S .

$$[A] = S \quad \text{dan} \quad [B] = S \quad (4)$$

Sehingga substitusi dari persamaan (3) menghasilkan persamaan :

$$K_{sp} = S^2 \quad \text{dan} \quad S = (K_{sp})^{1/2} \quad (5)$$

Untuk komposisi larutan *non-stokiometrik*, misalnya kelebihan konsentrasi ligan dinyatakan sebagai C , maka keseimbangan massa menjadi

$$[A] = S \quad \text{dan} \quad [B] = S + C \quad (6)$$

Sehingga,

$$K_{sp} = S (S+C) \quad (7)$$

Untuk kasus di mana kelebihan konsentrasi ligan besar, $C \gg S$, maka

$$S \approx K_{sp}/C \quad (8)$$

Sebuah persamaan kuadrat akan ditemukan, menjadi

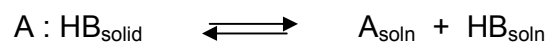
$$S = \frac{-C + \sqrt{C^2 + 4K_{sp}}}{2} \quad (9)$$

Persamaan ini memprediksikan bahwa penambahan komponen kokristal ke dalam larutan dengan S berlebih, akan menurunkan kelarutan kokristal bila kondisi sebelumnya berlaku. (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

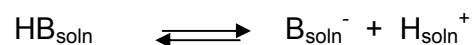
2. Kelarutan Kokristal Sebagai Fungsi pH

Meskipun kokristal meliputi molekul netral yang berbeda, bila salah satu atau kedua komponennya dapat mengion, maka kelarutan dari kokristal akan tergantung pada pH larutan. Untuk kesederhanaan, akan disajikan contoh mengenai profil pH-kelarutan dari kokristal bila salah satu komponennya berupa asam monoprotik.

Sebagai contoh, kokristal A : HB, dengan rasio komponennya adalah 1 : 1 dan HB merupakan asam monoprotik lemah. A dan HB sebagai API dan ligand. Konstanta kesetimbangan untuk disosiasi kokristal (dengan asumsi tidak ada kompleksasi dalam larutan) dan ionisasi dari asam lemah HB diberikan seperti:



$$K_{sp} = [A] [HB]$$



$$K_a = \frac{[H^{+}] [B^{-}]}{[HB]}$$

di mana, K_{sp} adalah hasil kali kelarutan dari kokristal dan K_a adalah konstanta disosiasi dari asam lemah.

Alternatif lain, persamaan yang dapat digunakan untuk memprediksi profil pH-kelarutan dari kokristal bila K_{sp} dan K_a diketahui adalah sebagai berikut:

$$S_{\text{cocystal}} = \sqrt{K_{sp} (1 + K_a / [H^+])}$$

f. Bioavailabilitas

Kokristal telah dijadikan sebagai alternatif untuk bentuk padat dari zat aktif, sehingga perlu dilakukan studi bioavailabilitasnya. McNamara telah melaporkan hasil studi bioavailabilitas dari senyawa kokristal 2 - [4 - 4-chloro-2-fluorophenoxy) fenil] pirimidin-4 -carboxamide dengan asam glutarat 1:1 yang memiliki tingkat disosiasi 18 kali lebih tinggi daripada bentuk obat murninya. Studi bioavailabilitasnya mengungkapkan bahwa bentuk kokristal mencapai konsentrasi plasma sekitar tiga kali lebih tinggi pada anjing (McNamara, 2006). Bentuk kokristal dari senyawa Amgen-asam sorbat juga menunjukkan disosiasi dan bioavailabilitas yang lebih baik dibanding bentuk bebasnya (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

3. Interaksi Intermolekul dan Pemilihan Komponen kokristal

Banyak keuntungan yang dapat diperoleh dengan mengetahui komponen molekul yang dapat membentuk kokristal dengan suatu bahan aktif farmasi. Bidang teknik kristal difokuskan pada pemahaman mengenai interaksi intermolekul dan konektivitas yang mengarah pada konstruksi supermolekul. Dengan mempelajari pola ikatan hidrogen dalam zat padat kristalin, diperoleh pengetahuan berharga untuk mengidentifikasi ikatan hidrogen preferensi dan *synthon* (unit struktural dalam molekul yang memungkinkan untuk perlakuan sintesis) yang mengarahkan kepada formasi kokristal. Frekuensi ikatan hidrogen dan interaksi lain dalam kisi-kisi kristal dapat dipelajari menggunakan *Cambridge Structural Database* (CSD) dengan mencari molekul spesifik, gugus fungsional, dan *synthon* (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

Tujuan utama dari pembuatan kokristal adalah untuk memperoleh suatu zat aktif padat dengan sifat fisika yang baik. Dari perspektif ini, maka langkah langkah dalam perancangan suatu kokristal farmasi yang baru meliputi tahap-tahap berikut (Mirza, *et al*, 2008):

- a. Disain, meliputi evaluasi sifat fisiko-kimia dari zat aktif bebas dan pemilihan senyawa pembentuk kokristal.
- b. Skrining, meliputi studi metode pembuatan kokristal yaitu *solvent-based crystallization* dan *solid-based crystallization*.

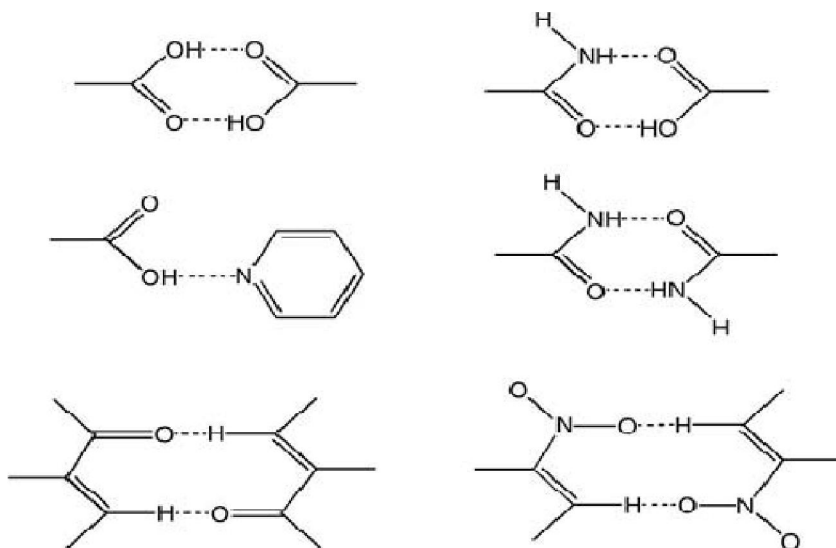
- c. Seleksi, meliputi karakterisasi kokristal yang dihasilkan yang terdiri dari struktur, komposisi, sifat fisikokimia dan stabilitasnya.

Kokristal farmasi tersusun dari satu zat aktif dan satu senyawa pembentuk kokristal (*coformer* atau *co-crystal formers*), yang keduanya dalam bentuk netral dan berinteraksi melalui ikatan hidrogen atau dengan ikatan non-kovalen lainnya (Peterson *et al*, 2006).

Ikatan hidrogen adalah interaksi yang penting dalam pembentukan kokristal (Jones, Motherwell, and Trask, 2006). Motif ikatan hidrogen dan interaksi lainnya dalam kisi kristal dapat dipelajari dengan menggunakan Cambridge Struktural Database (CSD) dengan mencari molekul yang spesifik, gugus fungsi, dan *synthons*. Pedoman pola ikatan hidrogen dalam kristal adalah berdasarkan analisis ikatan hidrogen yang ketat dan motif kemasan yang telah dikembangkan oleh Donohue dan Etter, ini termasuk (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007; Blagden *et al*, 2008):

- a. semua hidrogen asam yang tersedia dalam molekul akan digunakan dalam ikatan hydrogen dalam struktur kristal senyawa,
- b. semua akseptor yang baik akan digunakan dalam ikatan hydrogen bila tersedia donor ikatan hidrogen,
- c. donor dan akseptor ikatan hidrogen terbaik yang tersisa setelah pembentukan ikatan hidrogen intramolekul akan membentuk ikatan hidrogen antarmolekul satu sama lain.

Pemahaman mendalam tentang kimia supramolekul dan gugus fungsional dalam suatu molekul adalah prasyarat untuk merancang kokristal karena akan memfasilitasi pemilihan senyawa pembentuk kokristal yang sesuai (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007). Gugus fungsional seperti asam karboksilat, amida dan alkohol adalah yang umum digunakan untuk pembentukan *Synthon* supramolekular dalam merancang kokristal baru. Ikatan hidrogen yang kuat mencakup (NH --- O), (OH --- O), (-NH --- N,) dan (OH --- N). Ikatan hidrogen yang lemah melibatkan-CH dan CH --- O --- O = C (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007; Yadav, 2009) .



Gambar 5. *Synthon* yang umum digunakan dalam pembentukan supramolekular (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007)

Pertimbangan lain dalam studi mengenai kokristal adalah nilai pKa dari komponen kokristal. Larutan dari komponen kokristal

menunjukkan perbedaan nilai pKa setidaknya dua poin (antara asam dan basa) diperlukan untuk membentuk garam yang stabil dalam air (Blagden, *et al*, 2008).

4. Metode Pembuatan Kokristal

Kristalisasi dari berbagai komponen kristal dalam suatu hubungan stoikiometrik merupakan hasil dari kompetisi hubungan molekular antara molekul yang serupa atau homomer dan molekul yang berbeda atau heteromer. Saat ini, studi mengenai kokristal berfokus pada isolasi kokristal untuk penentuan strukturnya, dan variabel mengenai kinetika kristalisasi belum dijelaskan secara eksplisit. Kokristal dapat dibuat dari larutan, bentuk padat, atau proses peleburan yang didasarkan pada sistem *trial and error* (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

a. Metode Pelarutan (*Solvent-Based Cocrystallization*)

Metode yang paling umum digunakan pada pembuatan kokristal dari larutan adalah penguapan lambat dari larutan senyawa dengan konsentrasi ekuimolar atau stokiometrik. Metode *solvo-thermal* juga dilaporkan dalam literatur meskipun jarang digunakan. Pada metode ini, pemanasan digunakan untuk melarutkan komponen kokristal, larutan kemudian didinginkan dan dibiarkan terbentuk nukleasi dan pertumbuhan kristal. Proses ini memberi peluang terjadinya kristalisasi dari komponen fase tunggal, sehingga mengurangi kemungkinan untuk mengisolasi

kristalin multikomponen. (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007; Sekhon, 2009).

Tabel 1. Contoh sistem kokristal farmasi yang telah dilaporkan dalam literature (Mirza et al, 2008)

Zat Aktif	<i>Cocrystal Former</i>	Metode Pembuatan	Sifat yang Ditingkatkan	Pustaka
Aspirin	4,4'-dipyridil	<i>Slurry Conversion</i>		Walsh et al 2003
Kafein	Asam oksalat Asam Glutarat	<i>Solvent-assisted grinding</i>	Stabilitas Fisika	Trask et al 2005
Karbamazepin	Nikotinamid Sakarín	<i>Cooling cocrystallization</i>	Stabilitas Fisika, Laju disolusi dan Bioavailabilitas oral	Hickey et al 2007
Fluoxetine HCl	Asam Benzoat Asam Suksinat Asam Fumarat	<i>Solvent evaporation</i>	Laju disolusi intrinsik	Childs et al 2004
Flurbiprofen	4,4'-dipyridil	<i>Solvent evaporation</i>		Oberoin et al 2005
Ibuprofen	4,4'-dipyridil Nicotinamide	<i>Solvent evaporation</i>	kelarutan	Walsh et al 2003; Oberoin et al 2005
Indometasin	Sakarín	<i>Solvent evaporation or Solvent assisted grinding</i>	Stabilitas fisika dan laju disolusi	Basavoju et al 2008
Itrakonazol	Asam malat Asam tartrat Asam suksinat	<i>Solvent evaporation</i>	Laju disolusi	Remenar et al 2003
Norfloxacin	Isonicotinamide Asam suksinat Asam malonat Asam maleat	<i>Solvent evaporation</i>	Kelarutan	Basavoju et al 2006
Parasetamol	4,4'-dipyridil	<i>Solvent evaporation</i>		Oswald et al 2004
Piroxicam	Sakarín	<i>Solvent evaporation</i>		Childs et al 2007

Untuk kokristalisasi larutan, kedua komponen harus memiliki kelarutan yang sama, bila tidak, maka komponen kristal yang lain akan mengendap secara eksklusif. Namun demikian, kelarutan yang sama tidak

menjamin keberhasilan metode ini. Diduga bahwa kemungkinan akan terbentuk senyawa polimorfik, yang memiliki lebih dari satu bentuk kristal dari komponen kokristal (Yadav, 2009).

Percobaan *slurry conversion* dilakukan dalam berbagai pelarut organik dan air. Pelarut (100 atau 200 ml) ditambahkan ke dalam kokristal (20 mg) dan suspensi yang dihasilkan distirer pada suhu kamar selama beberapa hari. Setelah itu, pelarut dipisahkan dari padatan di bawah aliran nitrogen selama 5 menit. Padatan yang diperoleh dikarakterisasi dengan *Powder X-Ray Diffraction (PXRD)* (Yadav, 2009)

Penambahan antisolven adalah salah satu metode untuk presipitasi atau rekristalisasi dari senyawa aktif dan senyawa pembentuk kokristal. Pelarut yang digunakan termasuk buffer (pH) dan pelarut organik. Contohnya adalah pembuatan kokristal *aceclofenac* dengan menggunakan chitosan, di mana larutan chitosan dibuat dengan perendaman chitosan dalam asam asetat glasial. Sejumlah obat didispersikan dalam larutan chitosan dengan menggunakan *homogenizer*. Dispersi ini kemudian ditambahkan ke dalam air suling atau larutan natrium sitrat untuk mengendapkan chitosan dalam obat (Yadav, 2009).

b. Kokristalisasi Bahan Padat (*Solid-Based Cocrystallization*)

Pembuatan kokristal dari bahan padat berdasarkan pada mekanisme aktivasi bahan melalui proses penggilingan atau penggerusan. Dasar pembentukan kokristal dengan metode penggilingan ini adalah mobilitas molekul dan saling melengkapi antara molekul

komponen kokristal. Penggilingan akan merusak kisi, pembentukan fase amorf dan pembentukan polimorfisa zat aktif sebagai hasil dari tekanan yang diberikan (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

Penggilingan zat padat (*solid-state grinding*) adalah pencampuran, penekanan dan penghancuran bahan secara manual dengan mortar dan spatula atau secara mekanik dengan menggunakan suatu mesin penggiling (Jones, Motherwell and Trask, 2006; Trask *et al*, 2005). Dalam beberapa kasus, sintesis kokristal farmasi dengan cara penggilingan bahan padat menawarkan selektifitas yang lebih luas dibanding metode kristalisasi larutan. Sebuah contoh adalah dalam kokristalisasi dari 2, 4, 6-trinitrobenzoic acid dan indole-3-asetic acid, bentuk-bentuk kristal yang diperoleh dari larutan berbeda dibandingkan dengan penggilingan. Bila pembentukan kokristal telah berhasil diperoleh dari larutan, tetapi bukan dari penggilingan, maka penambahan pelarut dapat menjadi faktor untuk menstabilkan struktur supramolekul (Rodriguez, Nehm, and Jayasankar, 2007).

Pembentukan kokristal dengan penggilingan bahan padat telah digunakan sejak akhir abad ke-19, namun teknik terbaru yang telah dikembangkan adalah dengan menambahkan sejumlah kecil pelarut selama proses penggilingan untuk meningkatkan kinetika dan memfasilitasi pembentukan kokristal (Yadav, 2009; Trask *et al*, 2005). Istilah *solvent-drop grinding* menggambarkan suatu modifikasi dari metode *solid-state grinding*. Dalam hal ini dilakukan penggilingan dua bahan

kokristal secara bersama-sama seperti pada metode *solid-state grinding*, diikuti penambahan sejumlah kecil pelarut. Penambahan pelarut ini dapat dijelaskan sebagai mekanisme katalisis karena hanya ditambahkan dalam jumlah kecil dan tidak menjadi bagian dari komponen kokristal (Jones, Motherwell and Trask, 2006; Trask, Motherwell and Jones, 2004 and 2005).

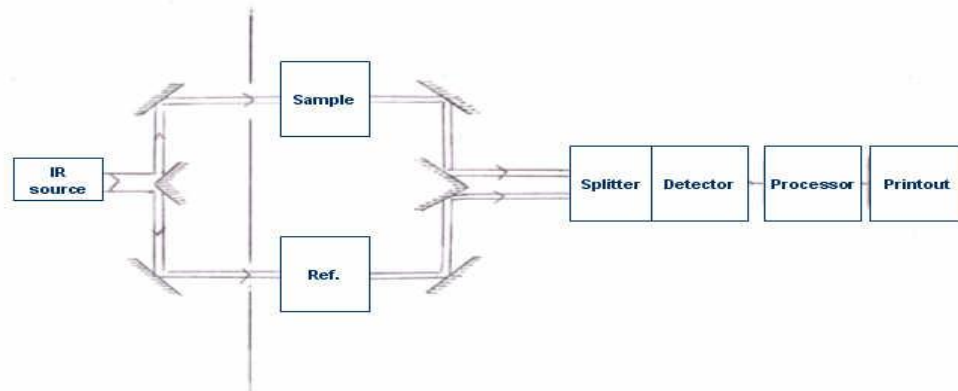
Pembuatan kokristal dengan *neat grinding* dan *liquid assisted-grinding* telah dilakukan terhadap model obat teofilin. Pembuatan kokristal teofilin dengan asam sitrat (1 : 1) dengan metode *neat grinding* menghasilkan kokristal anhidrous. Sedangkan kokristalisasi teofilin dengan asam sitrat monohidrat menghasilkan kokristal hidrat. Demikian juga dengan kokristalisasi dengan penambahan air (*liquid assisted grinding*) ternyata juga menghasilkan kokristal hidrat. Hal ini menunjukkan bahwa *liquid assisted grinding* lebih sesuai untuk menghasilkan kokristal hidrat dibandingkan dengan metode *neat grinding* (Karki *et al*, 2007).

D. Instrumentasi

1. Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi inframerah merupakan salah satu teknik spektroskopik yang paling umum digunakan dalam kimia organik dan anorganik. Spektroskopi inframerah adalah suatu teknik yang berdasarkan atas vibrasi atom dalam suatu molekul. Spektrum inframerah diperoleh dengan melewatkan radiasi inframerah melalui suatu sampel dan

menentukan bagian dari molekul yang mengabsorpsi energi radiasi. Radiasi inframerah ($10.000 - 100^{-1}$) diabsorpsi oleh molekul organik dan dikonversi menjadi energi vibrasi. Energi pada setiap puncak spektrum absorpsi yang muncul berhubungan dengan frekuensi vibrasi dari bagian molekul sampel (Settle, 1997).



Gambar 6. Skema Spektrofotometer Inframerah

Spektroskopi inframerah digunakan untuk menentukan gugus fungsi struktur senyawa dalam sampel. Gugus fungsi yang berbeda akan mengabsorpsi radiasi inframerah pada frekuensi tertentu. (Settle, 1997). Spektroskopi inframerah digunakan untuk elusidasi struktur dan identifikasi senyawa.

2. Difraksi Sinar X

Spektroskopi difraksi sinar – X (X ray diffraction/XRD) merupakan salah satu metoda karakterisasi material yang paling tua dan paling sering digunakan hingga sekarang. Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi

fasa kristalin dalam material dengan cara menentukan parameter struktur kisi serta untuk mendapatkan ukuran partikel (Hammond, 2009)..

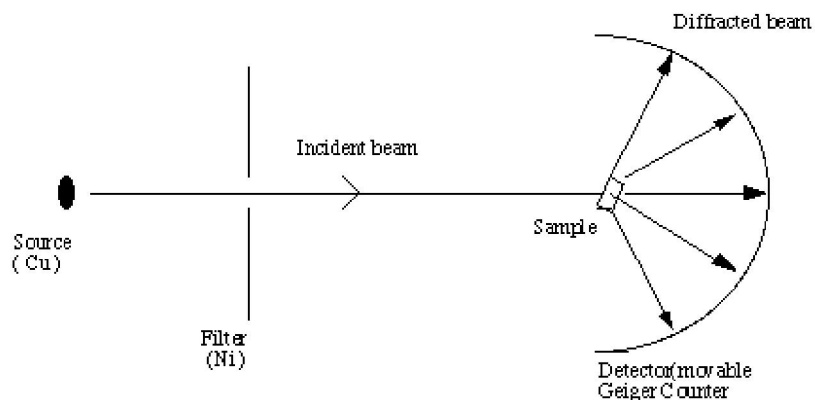
Difraksi sinar-X terjadi pada hamburan elastis foton-foton sinar-X oleh atom dalam sebuah kisi periodik. Hamburan monokromatis sinar-X dalam fasa tersebut memberikan interferensi yang konstruktif. Dasar dari penggunaan difraksi sinar-X untuk mempelajari kisi kristal adalah berdasarkan persamaan Bragg:

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin\theta; n = 1, 2, \dots$$

dengan λ adalah panjang gelombang sinar-X yang digunakan, d adalah jarak antara dua bidang kisi, θ adalah sudut antara sinar datang dengan bidang normal, dan n adalah bilangan bulat yang disebut sebagai orde pembiasan (Hammond, 2009; Settle, 1997).

Berdasarkan persamaan Bragg, jika seberkas sinar-X dijatuhkan pada sampel kristal, maka bidang kristal ini akan membiaskan sinar-X yang memiliki panjang gelombang sama dengan jarak antar kisi dalam kristal tersebut. Sinar yang dibiaskan akan ditangkap oleh detector kemudian diterjemahkan sebagai sebuah puncak difraksi. Makin banyak bidang kristal yang terdapat pada sampel, makin kuat intensitas pembiasan yang dihasilkannya. Tiap puncak yang muncul pada pola XRD mewakili satu bidang kristal yang memiliki orientasi tertentu dalam sumbu tiga dimensi. Puncak-puncak yang didapatkan dari data pengukuran kemudian dicocokkan dengan standar difraksi sinar-X untuk hampir semua jenis material (Hammond, 2009)..

Keuntungan utama penggunaan sinar-X dalam karakterisasi material adalah kemampuan penetrasinya, sebab sinar-X memiliki energy yang sangat tinggi akibat panjang gelombangnya yang pendek. Sinar-X adalah gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 0,5-2,0 mikron. Sinar ini dihasilkan dari penembakan logam dengan electron berenergi tinggi. Elektron itu mengalami perlambatan saat masuk ke dalam logam dan menyebabkan electron pada kulit atom logam tersebut terpental membentuk kekosongan. Electron dengan energy yang lebih tinggi masuk ke tempat kosong dengan memancarkan kelebihan energinya sebagai foton sinar-X (Hammond, 2009).



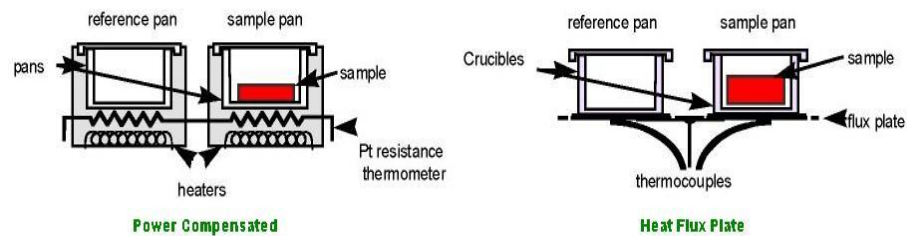
Gambar 7. Skema Difraksi Sinar X

Metode difraksi sinar-X digunakan untuk mengetahui struktur dari apisan tipis yang terbentuk. Sampel diletakkan pada sampel holder difraktometer sinar-X. Proses difraksi sinar-X dimulai dengan menyalakan difraktometer sehingga diperoleh hasil difraksi berupa difraktogram yang menyatakan hubungan antara sudut difraksi 2θ dengan intensitas sinar-X

yang dipantulkan. Difraktometer sinar-X, sinar-X terpancar dari tabung sinar-X. Sinar-X didifraksikan dari sampel yang konvergen yang diterima slit dalam posisi simetris dengan respon ke fokus sinar-X. sinar-X ini ditangkap oleh detektor sintilator dan diubah menjadi sinyal listrik. Sinyal tersebut, setelah dieliminasi komponen noisenya, dihitung sebagai analisa pulsa tinggi. Teknik difraksi sinar-X juga digunakan untuk menentukan ukuran kristal, regangan kisi, komposisi kimia dan keadaan lain yang memiliki orde yang sama (Hammond, 2009; Settle, 1997).

3. *Differential Scanning Calorimetry*

Differential Scanning Calorimetry adalah suatu teknik analisa termal yang mengukur jumlah panas yang dibutuhkan untuk menaikkan suhu sampel sebagai fungsi suhu. Ketika transisi termal terjadi pada sampel, DSC memberikan pengukuran kalorimetri dari energi transisi dari temperatur tertentu (Anonim).



Gambar 8. Differential Scanning Clorimetry

Differential Scanning Calorimetry merupakan suatu teknik analisa yang digunakan untuk mengukur energi yang diperlukan untuk membuat perbedaan temperature antara sampel dengan pembanding mendekati nol, yang dianalisa pada daerah suhu yang sama, dalam lingkungan panas atau dingin dengan kecepatan teratur. Terdapat dua tipe system DSC yang umum digunakan, yaitu (Anonim):

- Power-Compensation DSC

Pada Power-Compensation DSC, suhu sampel dan pembanding diatur secara manual dengan menggunakan tungku pembakaran yang sama dan terpisah. Suhu sampel dan pembanding dibuat sama dengan mengubah daya masukan dari kedua tungku pembakaran. Energy yang dibutuhkan untuk melakukan hal tersebut merupakan ukuran dari perubahan energy entalpi atau perubahan panas dari sampel terhadap pembanding.

- Heat-Flux DSC

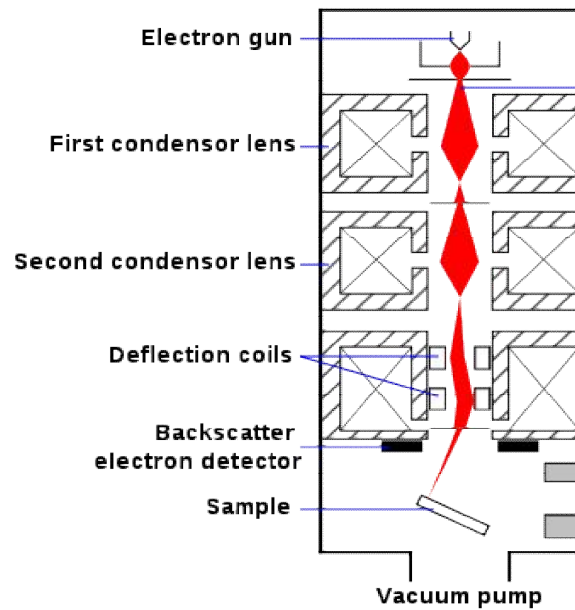
Pada Heat-Flux DSC, sampel dan pembanding dihubungkan dengan suatu lempengan logam. Sampel dan pembanding tersebut ditempatkan dalam satu tungku pembakaran. Perubahan entalpi atau kapasitas panas dari sampel menimbulkan perbedaan temperatur sampel terhadap pembanding, laju panas yang dihasilkan nilainya lebih kecil dibandingkan dengan *Differential Thermal Analysis (DTA)*. Hal ini dikarenakan sampel dan pembanding dalam hubungan termal

yang baik. Perbedaan temperatur dicatat dan dihubungkan dengan perubahan entalpi dari sampel menggunakan percobaan kalibrasi.

4. Mikroskop Pemindai Elektron

Mikroskop pemindai elektron (*Scanning electron microscopy*) adalah metode untuk pencitraan permukaan dengan resolusi tinggi. SEM menggunakan elektron untuk pencitraan, sebagaimana halnya cahaya tampak yang digunakan dalam mikroskop cahaya. Keuntungan dari SEM adalah dapat menghasilkan pembesaran > 100.000 kali (Amelinchx, *et al*, 1997).

Mikroskop pemindai elektron (SEM) yang digunakan untuk studi detil arsitektur permukaan sel dan obyek diamati secara tiga dimensi. Cara terbentuknya gambar pada SEM berbeda dengan apa yang terjadi pada mikroskop optik dan TEM. Pada SEM, gambar dibuat berdasarkan deteksi elektron baru (elektron sekunder) atau elektron pantul yang muncul dari permukaan sampel ketika permukaan sampel tersebut dipindai dengan sinar elektron. Elektron sekunder atau elektron pantul yang terdeteksi selanjutnya diperkuat sinyalnya, kemudian besar amplitudonya ditampilkan dalam gradasi gelap-terang pada layar monitor CRT. Di layar CRT inilah gambar struktur obyek yang sudah diperbesar bisa dilihat. Pada proses operasinya, SEM tidak memerlukan sampel yang ditipiskan, sehingga bisa digunakan untuk melihat obyek dari sudut pandang 3 dimensi (Anonim).



Gambar 9. Diagram Mikroskop Pemindai Elektron

5. Uji Disolusi

Disolusi didefinisikan sebagai suatu proses melarutnya zat kimia atau senyawa obat dari sediaan padat ke dalam suatu medium tertentu. Laju disolusi suatu obat adalah kecepatan perubahan dari bentuk padat menjadi terlarut dalam mediana setiap waktu tertentu. Jadi disolusi menggambarkan kecepatan obat larut dalam media disolusi (Dressmann dan Kramer, 2005).

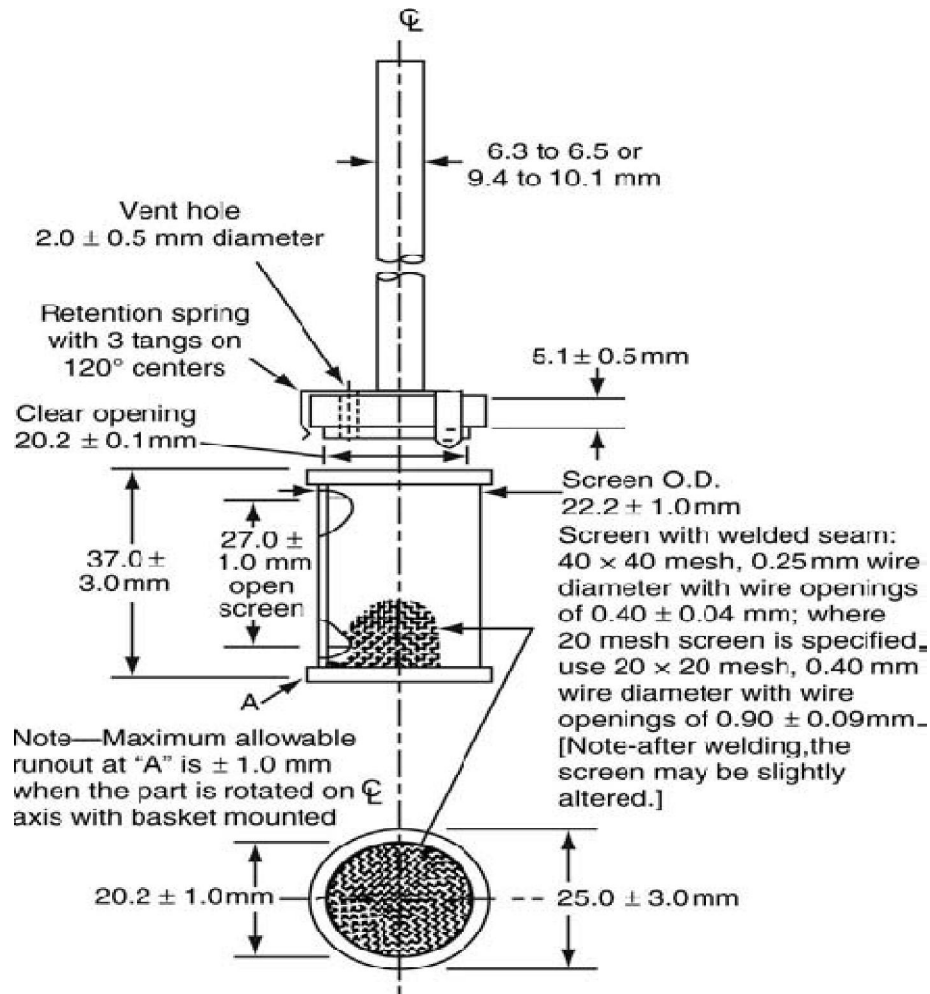
Ekspresi matematika untuk definisi ini dinyatakan dalam bentuk persamaan Noyes-Whitney sebagai berikut (Cartensen, 1998):

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DS (C_s - C_b)}{h} \quad (1)$$

dengan M adalah jumlah obat yang terlarut, t adalah waktu (detik), D adalah koefisien difusi dari obat (cm^2/s), S adalah luas permukaan (cm^2), h adalah ketebalan lapisan, $C_s - C_t$ adalah perbedaan kelarutan obat dan konsentrasi solute dalam medium pada waktu t (Cartensen, 1998)

Cara pertama yang diuraikan dalam Farmakope Indonesia adalah cara keranjang yang menggunakan pengaduk jenis keranjang dan cara yang kedua adalah cara dayung yang menggunakan pengaduk bentuk dayung. Di Farmakope Indonesia kedua cara ini dikenal dengan cara keranjang dan dayung.

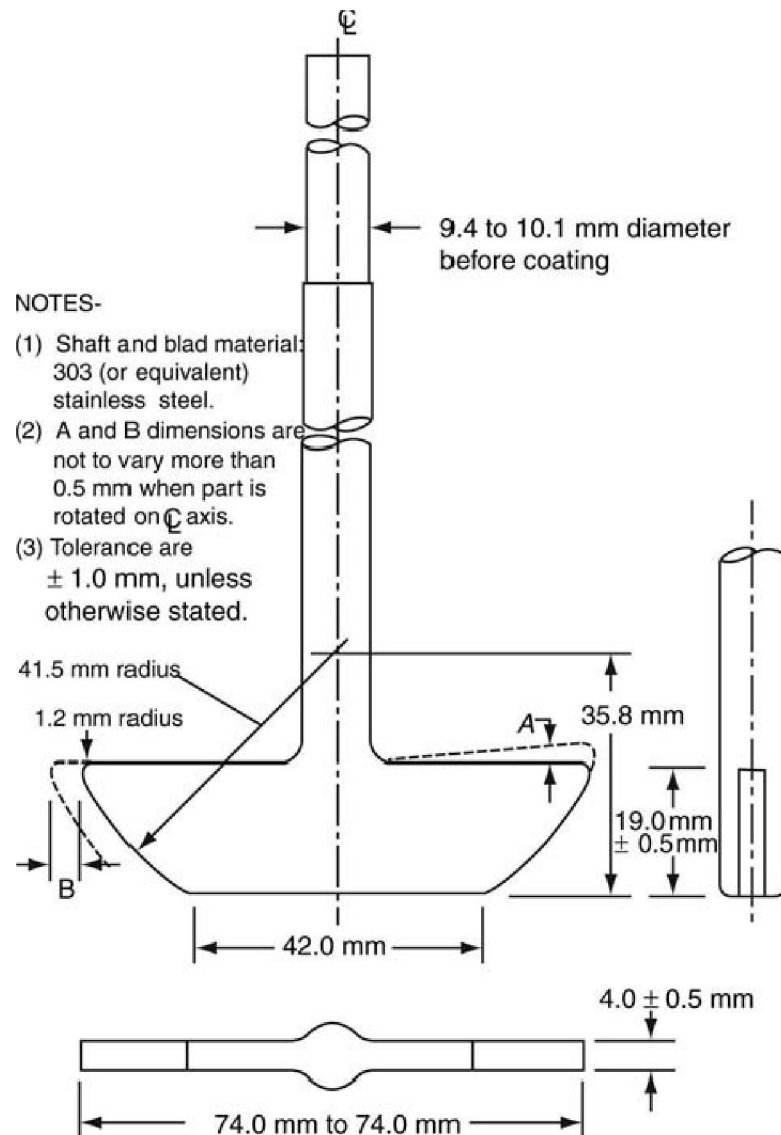
- a. Alat 1, terdiri dari sebuah wadah tertutup yang terbuat dari kaca atau bahan transparan lain yang inert, suatu motor, suatu batang logam yang digerakkan oleh motor dan keranjang berbentuk silinder. Wadah tercelup sebagian di dalam suatu tangas air yang sesuai berukuran sedemikian sehingga dapat mempertahankan suhu dalam wadah pada $37^\circ \pm 0,5^\circ$ selama pengujian berlangsung dan menjaga agar gerakan air dalam tangas air halus dan tetap. Bagian dari alat termasuk lingkungan tempat alat diletakkan tidak dapat memberikan gerakan, goncangan, atau getaran signifikan yang melebihi gerakan akibat perputaran alat pengaduk.



Gambar 10. Alat Metode Keranjang, (Swarbrik, 2007)

- b. Alat 2, sama seperti alat 1, bedanya pada alat ini digunakan dayung yang terdiri dari daun dan batang sebagai pengaduk. Batang berada pada posisi sedemikian sehingga sumbunya tidak lebih dari 2 mm pada posisi sedemikian sehingga sumbunya tidak lebih dari 2 mm pada setiap titik dari sumbu vertical wadah dan berputar dengan halus tanpa goyangan yang berarti. Jarak 25 mm ± 2 mm antara daun dan bagian dalam dasar wadah dipertahankan selama pengujian

berlangsung. Daun melewati diameter batang sehingga dasar daun dan batang rata.



Gambar 11. Alat metode dayung, (Swarbrik, 2007)