

BAB 1V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Percobaan Pendahuluan

Pembuatan kristal sferis gemfibrozil dilakukan dengan metode spherical agglomerasi (SA) yang bertujuan untuk membuat suatu partikel kecil terpisah yang dapat menggumpal dan membentuk partikel yang lebih sferis. Penelitian awalnya dilakukan percobaan pendahuluan yang bertujuan untuk mendapatkan kristal sferis. Parameter yang perlu diperhatikan dalam metode ini adalah jumlah dan metode penambahan *briggling liquid*, suhu, dan kecepatan pengadukan. Proses penambahan *briggling liquid* memiliki pengaruh pada tingkat aglomerasi dan pada kekuatan aglomerasi, sehingga *briggling liquid* yang digunakan dapat melarutkan sebagian obat tapi tidak larut dalam pelarut buruk.

Penambahan *briggling liquid* bertujuan untuk meningkatkan agen pembasahan dan mempercepat pembentukan kristal sferis. Ada beberapa penelitian menjelaskan tentang perluasan gumpalan dengan meningkatkan jumlah cairan *briggling liquid*. Apabila *briggling liquid* hanya sedikit atau terlalu banyak juga akan mempengaruhi dan menghasilkan kristal yang kasar.

Dilakukan percobaan pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui hasil yang terbaik untuk menghasilkan bentuk kristal yang sferis. Kemudian dilakukan skrining formula untuk mendapatkan formula terpilih yang menghasilkan kristal sferis. Didapatkan formula yang memenuhi syarat membentuk kristal sferis. Pembuatan formula dilakukan dengan membuat 3 formula yang menggunakan polimer yaitu PVP 2% (F1), PVA 2% (F2), dan PEG 4000 (F3). Penambahan variasi polimer bertujuan untuk mengetahui perbedaan kristal yang terbentuk bulat sempurna.

B. Pembuatan Kristal Sferis Gemfibrozil

Pembuatan spherical agglomeration ini bertujuan meningkatkan kecepatan kelarutan gemfibrozil yang berdasarkan BCS (*Biopharmaceutical Clasification*

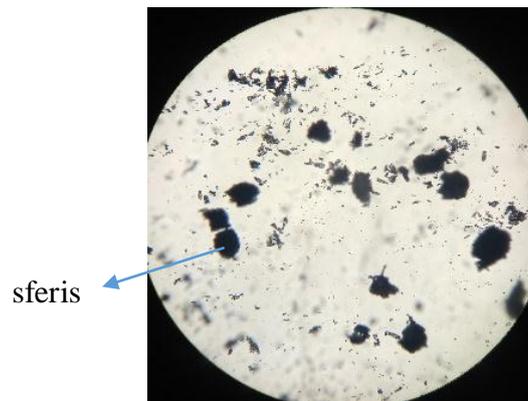
System) termasuk ke dalam golongan kelas II yang memiliki kelarutan yang rendah. Kristal sferis dibuat dengan menggunakan tiga pelarut yaitu etanol sebagai pelarut baik, air sebagai pelarut buruk, dan etil asetat sebagai *briggings liquid*.

Pemilihan pelarut ini tergantung pada kemampuan pelarut untuk melarutkan gemfibrozil. Etanol digunakan sebagai pelarut yang baik karena etanol termasuk dalam kelas pelarut yang lebih aman dan tidak toksik bagi manusia. Sedangkan metanol meskipun dapat melarutkan gemfibrozil tapi relatif kurang aman dan toksik dalam tubuh manusia. Penambahan polimer dibedakan PVP 2%, PVA 2% dan PEG 2% bertujuan untuk mengetahui bentuk kristal sferis yang terbentuk sempurna. Dalam penelitian ini PVP lebih baik, digunakan untuk meningkatkan kelarutan obat.

C. Evaluasi Kristal Sferis Gemfibrozil

1. Uji Mikroskop

Penentuan bentuk kristal sferis dapat dilihat menggunakan mikroskop binokuler (Leica) merupakan tahap awal untuk mendapatkan tampilan bagian luar kristal dan morfologi kristal. Pengujian dilakukan dengan cara sampel diletakkan pada *objek glass* pada saat serbuk sudah kering kemudian ditutup dengan *deg glass* dan dilihat di mikroskop dengan perbesaran 10x, 40x, dan 100x. Tujuan pengamatan mikroskop yaitu untuk mengetahui bentuk kristal sferis yang dihasilkan dari masing-masing formula serta bentuk kristal dari bahan baku gemfibrozil. Pada kristal bahan baku gemfibrozil memiliki bentuk seperti batang (lampiran 6), sedangkan hasil dari *spherical agglomeration*, bentuk kristal yang terbentuk berukuran kecil berbentuk sferis. Hal ini disebabkan karena faktor pengadukan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 600 rpm sehingga dapat memecah kristal dari bahan baku gemfibrozil yang berukuran besar menjadi kristal berukuran kecil. Dari pengamatan secara mikroskopi, dapat dilihat dari faktor pengadukan dengan kecepatan 600 rpm mempengaruhi habit (bentuk) dan morfologi kristal.

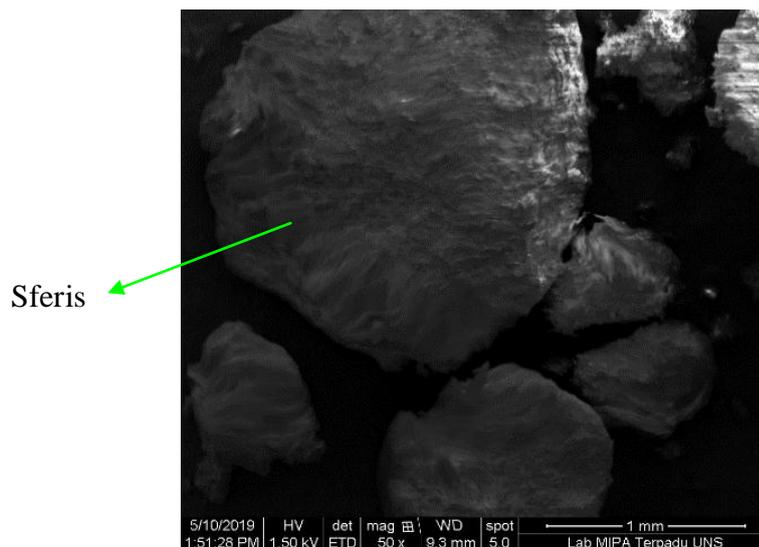


Gambar 7. Kristal gemfibrozil + PVP 2% perbesaran 40x

Pengujian mikroskop untuk mengetahui sudah terbentuk kristal sferis. Dari F1 dengan menggunakan polimer PVP 2% sudah terbentuk kristal sferis dapat dilihat pada gambar 7 dan lampiran 6. Dapat dilihat perbedaan antara gemfibrozil murni dengan F1 dimana gemfibrozil murni berbentuk batang dan F1 berbentuk lebih sferis daripada yang lain.

2. Uji SEM

Pengujian menggunakan FEI Quanta 200 Scanning Electron Mikroskop (SEM) dilakukan dengancara sampel diberi lapisan tipis emas paladium (Au 80% dan Pd 20%) dengan tegangan 1,50 KV menunjukkan bahwa gemfibrozil telah terbentuk kristal sferis dengan ukuran 1 mm dengan perbesaran 50x.



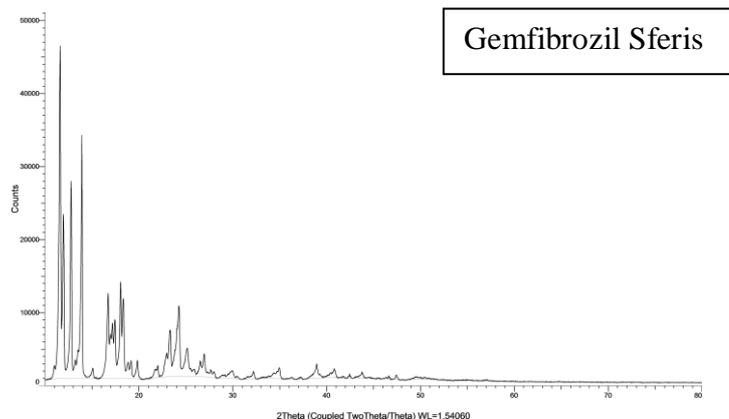
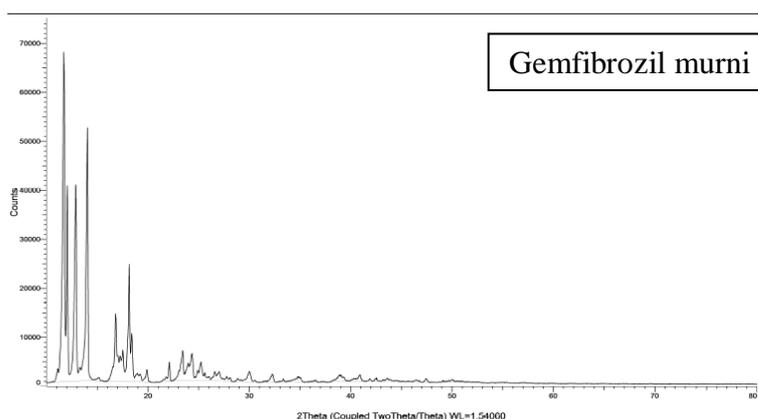
Gambar 8. Gemfibrozil sferis pengujian SEM

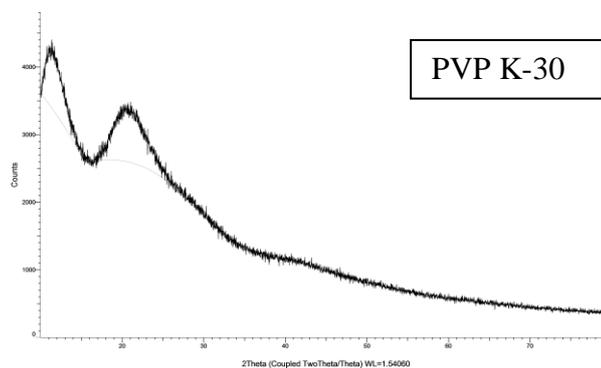
Pada hasil dari pengamatan dengan alat SEM (gambar 8), kristal sferis yang dihasilkan melalui proses pengadukan serta penambahan PVP 2% diperoleh

bentuk kristal yang memiliki keseragaman bentuk, yaitu bentuk sferis. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa dengan penambahan polimer PVP 2% dapat diperoleh kristal yang sferis.

3. Uji XRD

Pengujian XRD dilakukan untuk mengetahui fasa kristalin. Karakterisasi menggunakan range 2θ yang digunakan dengan sudut 10° - 80° . Data hasil pengujian XRD berupa spektrum XRD yang menyatakan hubungan antara sudut hamburan (2θ) dan intensitas (I) puncak spektrum. Apabila sampel yang diuji tersebut kristal maka grafik XRD muncul banyak puncak-puncak tajam. Namun apabila puncak-puncak tajam tidak ada, maka dapat dipastikan sampel tersebut adalah amorf. Pola difraksi sinar-X gemfibrozil murni, gemfibrozil sferis, dan PVP dapat dilihat pada gambar 9.





Gambar 9. Pola difragtogram XRD gemfibrozil, PVP, gemfibrozil sferis

Dari grafik yang ditunjukkan oleh gambar 9 tampak sumbu vertikal adalah intensitas sinar-X dalam satuan counts sedangkan sumbu horizontal menunjukkan 2θ yang merupakan sudut pergerakan *counter detector*. Hasil pengujian XRD menunjukkan difragtogram yang hampir sama antara gemfibrozil murni dengan gemfibrozil hasil spherical agglomeration. Hal ini menunjukkan bahwa gemfibrozil murni dengan gemfibrozil sferis memiliki sistem kristal yang sama. Namun terjadi penurunan intensitas pada puncak difraktogram gemfibrozil sferis (gambar 9 dan lampiran 15). Berdasarkan persamaan Bragg jika seberkas sinar-X dijatuhkan pada sampel kristal, maka bidang kristal itu akan membiaskan sinar-X yang memiliki panjang gelombang sama dengan jarak antar kisi dalam kristal tersebut. Sinar yang dibiaskan akan ditangkap oleh detektor yang kemudian diterjemahkan sebagai puncak difraksi. Penurunan intensitas pada sampel merupakan hasil pengurangan kisi atau bidang dari gemfibrozil setelah mengalami proses spherical agglomeration. Setiap puncak yang muncul pada pola XRD mewakili satu kisi atau bidang yang memiliki orientasi tertentu dalam sumbu tiga dimensi, sehingga banyak kisi atau budang kristal yang terdapat dalam suatu sampel, maka makin kuat intensitas yang dihasilkan.

Hasil serupa pernah disebutkan oleh Varshosaz dkk, 2008 pada hasil penelitian mereka menyebutkan bahwa puncak yang tajam pada sudut 2θ yang sama dengan obat murni, namun intensitas atau ketinggian puncak lebih rendah dibandingkan obat murni. Ketinggian puncak dipengaruhi oleh ukuran kristal dan

kristalinitas. Oleh karena itu, ketinggian puncak gemfibrozil sferis yang muncul diperkirakan lebih kecil dari pada gemfibrozil murni.

4. Uji Penentuan % Rendemen

Uji penentuan % rendemen kristal sferis gemfibrozil sebesar 93,117 % dilakukan untuk mengetahui bahwa rendemennya sudah maksimal atau belum. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa rendemen dari kristal sferis gemfibrozil memenuhi syarat mendekati angka 100%.

5. Uji Kelarutan

Kelarutan kristal sferis gemfibrozil merupakan perbandingan karakteristik kelarutan gemfibrozil murni dengan kristal sferis gemfibrozil. Medium yang digunakan untuk menguji kelarutan menggunakan dapar phospat pH 7,5 perlakuan dilakukan selama 1 jam pada suhu ruang. Hasil grafik perbandingan kelarutan kristal sferis gemfibrozil selama 1 jam dapat dilihat pada gambar 10.

Tabel 6. Kelarutan

No	Obat	Kadar (ppm)	Kadar (mg)
1.	Gemfibrozil Murni	55,704	2,285
2.	Krital sferis Gemfibrozil	146,143	7,307

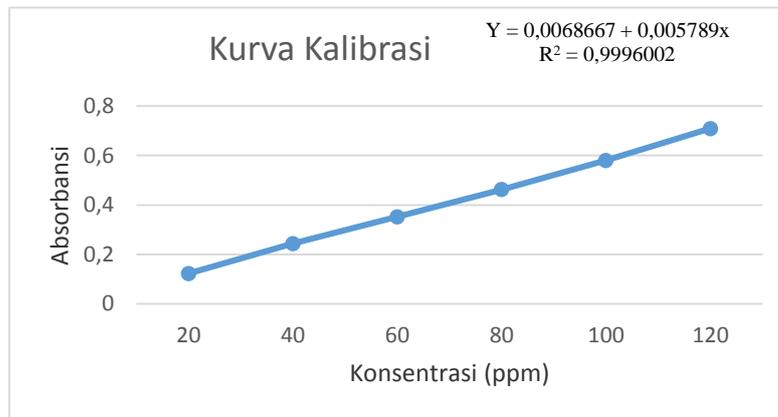
Hasil pengujian kelarutan menunjukkan bahwa kristal sferis yang dihasilkan dari proses spherical agglomeration yang dilakukan dapat meningkatkan kelarutan gemfibrozil. Jumlah gemfibrozil murni(mg) yang larut setelah 1 jam adalah 2,285 mg, sedangkan kelarutan dari gemfibrozil sferis 7,307 mg menunjukkan sudah mengalami kenaikan kelarutan.

D. Kurva Kalibrasi dan Verifikasi metode analisis

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi

1.1 Penentuan Panjang gelombang Maksimum. Penetapan λ_{maks} diperoleh dengan panjang gelombang maksimum 274 nm dengan absorbansi 0,6876 serta *operating time* pada menit ke 8-17 nilai absorbansi yang stabil muncul.

1.2 Kurva Kalibrasi. Hasil pembuatan kurva baku gemfibrozil menggunakan dapar phospat pH 7,5 dapat dilihat pada gambar 5



Gambar 10. Kurva kalibrasi dapar phospat 7,5

Hasil persamaan regresi linier dengan pelarut dapar phospat dengan pH 7,5 yang diperoleh yaitu $y = 0,0068667 + 0,005789x$ dengan koefisien korelasi 0,9996002.

2. Verifikasi Metode Analisis

3.1 Linearitas. Dari hasil pembuatan kurva baku gemfibrozil diperoleh data seperti pada tabel 1:

Tabel 2. Linearitas

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan
20	0,128	$a = 0,0098667$ $b = 0,0058114$ $r = 0,9997116$
40	0,243	
60	0,359	
80	0,472	
100	0,583	
120	0,715	

Persamaan regresi diatas diperoleh dari hasil regresi antara konsentrasi dengan absorbansi, sehingga diperoleh nilai koefisien korelasi sebesar

0,9997116. Harga koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan.

3.2 Penentuan batas deteksi (LOD) dan penentuan batas kuantitas (LOQ)

Tabel 3. Parameter verifikasi metode

Parameter	Hasil
R ² (Koefisien determinasi)	0,9996
Batas deteksi (LOD)	4,0350 ppm
Batas deteksi (LOQ)	12,2274 ppm

Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dilakukan dengan metode perhitungan yaitu berdasarkan standar deviasi respon dan kemiringan (slope) kurva baku. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual dari regresi linier atau standar deviasi intersep-y pada garis regresi. Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi (Noviny *et al* 2015). Verifikasi metode analisis penentuan batas deteksi (LOD) menggambarkan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dianalisis dengan cermat dan seksama. Berdasarkan kurva baku maka diperoleh nilai LOD yaitu sebesar 4,0350 ppm dan LOQ sebesar 12,2274 ppm. Perhitungan tertera pada lampiran 12.

3.3 Presisi

Tabel 4. Presisi

Konsentrasi	ABS	Konsentrasi(ppm)
100	0,583	99,627
100	0,578	98,762
100	0,587	100,319
100	0,585	99,973
100	0,583	99,627
100	0,598	102,221
100	0,588	100,492
100	0,584	99,800
100	0,586	100,146
100	0,593	101,356

Presisi merupakan metode yang digunakan untuk menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji yang diukur melalui penyebaran hasil dari rata-rata secara terulang. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan relatif (koefisien variasi) berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap replikasi sampel yang diambil dari campuran homogen (Noviny *et al* 2015). Dengan kata lain metode dapat menghasilkan nilai rata-rata yang sangat dekat dengan nilai sebenarnya dimana simpangan baku (SD) dan koefisien variasi (KV) sebagai parameter ukur. Hasil uji presisi dikatakan baik apabila nilai CV antara 1-2%. Dari hasil yang diperoleh dari data menunjukkan bahwa nilai presisi 0,993%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data diterima.

3.4 Akurasi

Tabel 5. Akurasi

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	konsentrasi	Recovery	Rata-rata
80	1	0,456	77,6663	97%	95,28%
	2	0,438	74,5537	93%	
	3	0,449	76,4559	96%	
100	1	0,58	99,1090	99%	99,40%
	2	0,583	99,6278	100%	
	3	0,582	99,4549	99%	
120	1	0,759	130,0626	108%	107,91%
	2	0,752	128,8521	107%	
	3	0,756	129,5438	108%	
Rata-rata					99,196%

Pengujian parameter akurasi pada penelitian ini menggunakan metode standar adisi. Pengujian dilakukan dengan larutan standart konsentrasi 80, 100, dan 120. Dengan replikasi tiap masing-masing konsentrasi 3 replikasi. Dari data diatas didapat nilai % recovery yaitu 99,196%, dimana persen perolehan dapat diterima karena memenuhi syarat akurasi yaitu pada rentang rata-rata persen perolehan 80%-120% (Noviny *et al* 2015).