

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan semua objek yang menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah paracetamol dan sampel pada penelitian adalah *Cocrystal* paracetamol yang menggunakan coformer asam sitrat yang dilakukan preparasi berupa pemberian berbagai tekanan suhu dan waktu.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah paracetamol dan asam sitrat serta *Cocrystal* paracetamol dan asam sitrat yang dibuat dengan cara pemberian tekanan suhu yang melawati *melting pointnya* yaitu 130°C , 160°C dan 190°C selama 10, 20 dan 30 menit

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang diidentifikasi lebih dahulu dapat dikelompokkan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel utama yang sengaja diubah-ubah untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel yang tergantung dengan perubahan-perubahan yang dilakukan. Variabel bebas yang di maksud adalah *Cocrystal* paracetamol yang dibuat dalam berbagai macam perubahan suhu dengan waktu yang bervariasi dan sebagai pembanding adalah paracetamol

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah paracetamol yang baru dan murni dari pabrik sesuai dengan alat dan instrumen yang digunakan.

Variabel tergantung dari penelitian ini merupakan akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah perubahan stabilitas dilihat gugus struktur *Cocrystal* paracetamol dan paracetamol murni, serta laju disolusi dari *Cocrystal* paracetamol pada dengan perbandingan karakteristik paracetamol murni dan *Cocrystal* paracetamol.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, paracetamol dan asam sitrat adalah sediaan senyawa yang nantinya diambil senyawanya berupa sediaan kristalnya.

Kedua, senyawa paracetamol dan asam sitrat dibuat kedalam sediaan kapsul dengan cara kristal *Cocrystal* paracetamol dan paracetamol dimasukkan kedalam cangkang kapsul.

Ketiga, kristal paracetamol dan asam sitrat dibuat dalam bentuk *Cocrystal*. Pada saat akan dilakukan pengujian suhu, dibuat dengan cara pemberian tekanan suhu dengan melawati *melting pointnya* yaitu 130°C , 160°C dan 190°C selama 10,20 dan 30 menit

Keempat, Pengujian disolusi dengan cara sediaan paracetamol murni yang dimasukkan ke dalam kapsul dan *Cocrystal* paracetamol di uji disolusinya dengan alat *Dissolution Tester*

Kelima, di lakukan pengujian FTIR (*Fourier Transform Infrared*) pada sediaan kristal paracetamol murni dan *Cocrystal* paracetamol

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Paracetamol (CV. GM Medica), asam sitrat (Laboratorium Farmasi Universitas Setia Bu), kalium dihidrogenfosfat (KH_2PO_4) (Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi), natrium hidroksida (NaOH) (Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi), metanol p.a (Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi), cangkang capsul no 1 (Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi) dan aquadest (Laboratorium Farmasi Universitas Setia Budi).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (Ohaus PA213 ketelitian 1 mg dan Ohaus AV264 ketelitian 0,1 mg), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific), alat disolusi (Erweka type DT 700), FTIR, oven, batang pengaduk, labu ukur, erlenmeyer, mortir, stamfer, sendok tanduk, pH meter, mikrotube, mikropipet, vial kaca.

D. Jalannya Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian tugas akhir ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pembuatan kurva kalibrasi

2.1. Pembuatan larutan dapar fosfat 30 L pH 5,8 Kalium dihidrogen fosfat ditimbang dengan seksama lebih kurang 34 gram untuk 5 liter, kemudian dimasukan dalam gelas beker dan dilarutkan ke dalam 1250 ml aquadest sampai homogen. Diperoleh larutan kalium dihidrogen fosfat 0,2 M. Selanjutnya NaOH ditimbang seksama lebih kurang 8 gram untuk 30 liter, kemudian dimasukkan aquades 200 ml dalam gelas beker aduk hingga homogen. Diperoleh larutan NaOH 1 N. Dimasukkan larutan kalium dihidrogen ke dalam wadah penyimpanan 5 liter tambahkan aquadest 4,7 liter, kemudian tambahkan larutan NaOH lebih kurang 20 sampai 30 ml dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya di cek pH dapar fosfat menggunakan pH meter dan bila kurang dari pH 5,8 ditambahkan larutan NaOH 1 N $\pm 10\text{ml}$ hingga mendekati pH 5,8 diperoleh larutan dapar fosfat pH 5,8 sebanyak 5 liter. Lakukan ini sebanyak 5 kali dari cara sebelumnya untuk memperoleh 30 L larutan dapar fosfat pH 5,8.

2.2. Pembuatan larutan baku NaOH Paracetamol Ditimbang bahan untuk pembuatan larutan baku uji untuk membuat NaOH 0,1 N Timbang NaOH 8 gram Kemudian larutkan bahan dengan menambahkan aquadest sebanyak 2 liter

ke dalam gelas baker campurkan hingga homogen. Dari hasil penimbangan didapat dari baku NaOH 9,6 mg dan 10,8 mg paracetamol masukkan masing - masing ke dalam labu ukur 100 ml tambahkan larutan NaOH 0,1 N sampai tanda baca. Kemudian gocok hingga larutan homogen. Kemudian didapat hasil baku NaOH dengan kadar 96 ppm dan 108 ppm.

2.3. Pembuatan baku dapar fosfat Hasil timbang bahan awal baku inti NaOH 9,6 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml tambahkan larutan dapar fosfat sampai tanda batas gocok sampai larutan homogen. Maka dapat hasil baku dafar posfat dengan kadar 96 ppm.

2.4. Pembuatan Cocrystal Paracetamol dan Asam sitrat Dilakukan pengujian dengan menggunakan Paracetamol dan Asam sitrat murni yang telah di uji. Dibagi menjadi beberapa pengujian yang sesuai dengan keterangan dibawah. Selanjutnya bahan yang telah ditimbang dimasukan ke dalam oven pada suhu 130°C , 160°C dan 190°C selama 10, 20 dan 30 menit. Dinginkan dengan suhu ruangan 25°C . Hasilnya ditimbang kembali. Disimpan dalam wadah kering yang tertutup rapat atau dimasukkan kedalam cangkang kapsul.

Tabel 2. Pembuatan perlakuan senyawa Paracetmaol (6 gram)

Suhu	Waktu		
	10 menit	20 menit	30 menit
130°C	1A	2A	3A
160°C	4A	5A	6A
190°C	7A	8A	9A

Tabel 3. Pembuatan perlakuan senyawa Asam sitrat (6 gram)

Suhu	Waktu		
	10 menit	20 menit	30 menit
130°C	1B	2B	3B
160°C	4B	5B	6B
190°C	7B	8B	9B

Tabel 4. Pembuatan Cocrystal senyawa Paracetamol dan Asam sitrat 1:1 (6 gram)

Suhu	Waktu		
	10 menit	20 menit	30 menit
130°C	1C	2C	3C
160°C	4C	5C	6C

190 ⁰ C	7C	8C	9C
--------------------	----	----	----

2.5. Pembuatan pelet blanko KBr dengan menimbang secara seksama ± 300 mg KBr dimasukkan di mortir yang terbuat dari batu giok dan digerus menjadi halus, dimasukkan sedemikian rupa dalam wadah cetakkan pelet dan selanjutnya di pompa dengan tekanan sebanyak 30 kali. Keluarkan pelet KBr dari wadah cetakkan secara hati-hati.

2.6.Pembuatan sampel Kbr pada spektro IR dilakukan penimbang secara seksama ± 300 mg KBr dan 3 mg sampel yang mau diuji. Kemudian masukkan di mortir yang terbuat dari batu giok dan di gerus menjadi halus dan homogen. Masukkan sedemikian rupa dalam wadah cetakkan pelet dan selanjutnya di pompa dengan tekanan sebanyak 30 kali. Kemudian keluarkan pelet KBr sampel dari wadah cetakkan pelet secara hati-hati

3. Uji Disolusi

Berdasarkan pada farmakope Indonesia jilid V, Larutan dapar fosfat pH 5,8 sebanyak 30 liter untuk 3 kali replikasi. Kemudian masukkan kedalam chamber uji disolusi sebanyak 500 ml untuk masing - masing sampel. Timbang sampel 100 mg masukkan kedalam kapsul no.1. Selanjutnya ambil masing - masing sampel pada menit ke 5, 15, dan 30. Kemudian masukkan kedalam vial dan diberi label.

4. Uji Spekro

Masukkan blanko berupa dapar fosfat dengan menggunakan panjang gelombang 243 nm. Untuk pengujian pada sampel A (Paracetamol) dimasukkan dengan cara ambil 1 ml dari vial. Kemudian sampel dilarutkan dalam labu ukur 25 ml kemudian dibaca absorbansinya. Pada sampel C (*Cocrystal*) diencerkan dengan diambil 1 ml dari vial sampel. Kemudian dilarutkan dalam labu takar 10 ml dan di baca abs nya. Pada paracetamol murni diencerkan dengan cara diambil 0,5ml dari vial. Kemudian dilarutkan dalam labu takar 10 ml dan di baca absorbansinya semua pengujian tersebut dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

5. Penginpretasikan Paracetamol murni menggunakan FTIR *Fourier Transform Infrared Spectrometry*

Fourier Transform Infrared Spectrometry (FTIR) kegunaannya untuk Identifikasi zat kimia. Cara kerjanya cukup kompleks untuk kimia analitik. karakterisasi FTIR berasal dari inframerah yang memiliki pita absorpsi yang tumpang tindih, sehingga sulit untuk dianggap akurat, dan dapat dibuktikan dengan fakta database spektrum yang digunakan dengan komputer.

Analisis FTIR menjadi teknik utama yang digunakan saat ini, terutama ketika analisis non-destruktif. Akan tetapi terdapat dua masalah penting yaitu pertama materi artistik harus dianalisis sementara masalah kedua berasal dari analisis yang sangat spesifik seperti biomaterial. Dan ketika masalah penilaian FTIR dari sampel arkeologi tidak sesuai sampel amber dan masing-masing penilaian FTIR dari sistem bio-mimetik yang dikembangkan pada manusia *imobilisasi lipoprotein* pada pendukung konduktif padat. Dalam kedua kasus itu dibatasi jumlah sampel dan panggilan yang muncul untuk analisis non-destruktif menciptakan kendala dalam prosedur kerja..

Pengujian FTIR dari amber dilakukan menggunakan teknik FTIR-VAR dengan sudut pancaran sinar 45°C, pada instrumen Bruker TENSOR 27, menggunakan perangkat lunak OPUS versi 6.0. Sampel digunakan tanpa perlakuan awal, karena seluruh bagian dipasang pada cermin emas, dan semua spektra dimasukkan dengan latar belakang foil emas bersih antara 4000 dan 600 cm⁻¹. Resolusi spektral adalah 4 cm⁻¹, dan scan tambahan 96, dengan lobang 4 nm. Teknik FTIR-VAR mampu memberikan informasi yang sama seperti FTIR dalam hal transmitansi dengan berkembangnya intensitas sinyal, tetapi mempunyai keuntungan menjaga integritas sampel. Selain itu, jarak antara bagian atom tidak hancur sehingga jumlah informasi yang disediakan meningkat.

Untuk melihat adanya perubahan tersebut, dapat dilihat pada syarat – syarat tabel IR sebagai berikut:

5.1. Periksa adanya gugus karbonil (C=O) Gugus karbonil (C=O) terdapat pada daerah $1640 - 1810 \text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas yang kuat biasanya puncak kuat dengan lebar medium. Serapan ini sangat karakteristik. Apabila ada gugus karbonil selanjutnya periksa tipe – tipenya. (Apabila tidak terdapat lanjutkan tahap selanjutnya). Pada gugus Asam Karboksilat (-COOH) yaitu serapan pada daerah $1700 - 1725 \text{ cm}^{-1}$ (umumnya 1710 cm^{-1}), karena adanya C – H pada aldehid maka ada 2 puncak lemah pada daerah 2750 dan 2850 cm^{-1} . Pada gugus Amida (CONH_2) yaitu serapannya pada daerah $1649 - 1690 \text{ cm}^{-1}$ (umumnya 1690 cm^{-1}) karena adanya N – H ditunjukkan oleh pucak dengan intensitas medium pada daerah $3100 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ (kadang – kadang berupa puncak yang ganda) dan daerah $1550 - 1640 \text{ cm}^{-1}$

5.2. Periksa gugus alkohol, amina dan eter dalam hal ini yang dapat dilihat yaitu gugus Alkohol (OH) apabila bebas pada peak $3600 - 3650 \text{ cm}^{-1}$ maka intensitasnya sedang. Kemudian pada Ikatan hydrogen pada peak $3200 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ maka intensitas sedang. Pada asam karboksilat dengan peak $2400 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ maka intensitas sedang. Pembuktian selanjutnya serapan C – O di daerah peak $1000 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas kuat. Selanjutnya pada gugus Amina (NH) baik untuk amina primer, amina sekunder dan amina pada daerah peak $3100 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ maka (intensitas sedang) dan daerah peak $1550 - 1640 \text{ cm}^{-1}$ intensitas sedang.

5.3. Periksa adanya ikatan rangkap dua atau cincin aromatis. Dapat dilihat pada gugus Aromatis di gugus C – H pada daerah peak $3050 - 3150 \text{ cm}^{-1}$ memiliki intensitas kuat. Pada gugus C = C pada daerah peak 1475 dan 1600 cm^{-1} memiliki intensitas sedang. Pada gugus Subtitusi yaitu bagian Monosubtitusi pada daerah peak 690 dan 720 cm^{-1} memiliki intensitas kuat. Pada Disubtitusi dapat dilihat pada posisi Orto daerah peak 690 cm^{-1} intensitas kuat, Posisi Meta pada daerah peak 690 dan 780 cm^{-1} dengan intensitas sedang, dan Posisi Para pada daerah peak $800 - 850 \text{ cm}^{-1}$ intensitas kuat dan $667 - 720 \text{ cm}^{-1}$ intensitas kuat.

5.4. Periksa gugus lain dapat dilihat pada gugus Alkana untuk CH_3 di daerah peak 1450 dan 1375 cm^{-1} intensitas sedang. CH_2 di daerah peak 1465 cm^{-1} dengan intensitas sedang dan Untuk CH pada peak daerah $2850 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ memiliki intensitas kuat.

E. Skema Penelitian

