

**IDENTIFIKASI INTERAKSI PADATAN PADA SISTEM  
BINER KUERSETIN-NIKOTINAMIDA**

**SKRIPSI SARJANA FARMASI**

Oleh

**DILLAH AZHARI**

**No. BP 1111012061**



**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**PADANG**

**2015**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian**

**Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi**

**Universitas Andalas**

**Padang**

**Disetujui oleh**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

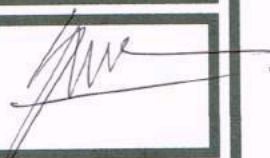
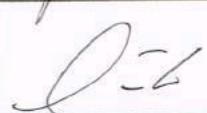
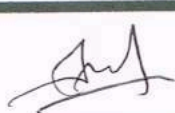
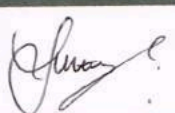
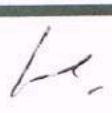
**Dr. Erizal, S.Si, M.Si, Apt**

**Lili Fitriani. M, Pharm, Sc. Apt**

**Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi**

**Fakultas Farmasi Universitas Andalas**

**Pada tanggal : 28 Desember 2015**

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Erizal, S.Si, M.Si, Apt	Ketua	
2	Lili Fitriani. M, Pharm, Sc. Apt	Sekretaris	
3	Dr. Febriyenti, S.Si, M.Si, Apt	Anggota	
4	Suryati, M.Farm, Apt	Anggota	
5	Rahmi Yosmar, S.Farm, M.Farm, Apt	Anggota	

## KATA PENGANTAR

### *Bismillahirrahmanirrahim*

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini dengan judul ” **Identifikasi Interaksi Padatan pada Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida** ”. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari do'a dan dukungan yang diberikan oleh orang tua, saudara, keluarga dan rekan-rekan penulis baik moril maupun materil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Dr. Erizal, S.Si, M.Si, Apt dan Ibu Lili Fitriani, M, Pharm, Sc. Apt selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, memberi petunjuk, ilmu, nasehat, dan bimbingan selama masa penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rahmi Nofita, M.Si, Apt selaku penasehat akademik yang telah banyak membantu dalam kelancaran studi penulis.
2. Bapak dan Ibu staf pengajar, karyawan-karyawati dan para analis laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
3. Orang tua dan seluruh keluarga yang senantiasa memberikan dukungan dan doa.

4. Rekan-rekan kerja serta analis labor di Laboratorium Unit Bidang Teknologi Farmasi yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pelaksanaan penelitian.
5. Rekan-rekan terdekat, Tria Ade Gustin, Wahyu Seftiani Harta, Rahma Hulyeni, Desi Eryon, Intan Novita Sari dan Putri Ramadhani.
6. Rekan-rekan mahasiswa farmasi, terutama keluarga besar Farmasi 2011 (EMPIRE), keluarga BP 061, dan semua pihak yang telah membantu serta memberikan dorongan kepada penulis selama pendidikan, penelitian dan penulisan skripsi ini.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Aamiin.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan dan kelemahan, oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan agar skripsi ini menjadi lebih baik lagi. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Padang, 22 Desember 2015

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian pembuatan sistem biner dispersi padat kuersetin-nikotinamida. Sistem biner dibuat dengan metode penguapan pelarut dan dibuat campuran fisik sebagai pembanding. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis interaksi struktur dan mengetahui pengaruh pembentukan sistem biner kuersetin-nikotinamida terhadap kelarutannya. Identifikasi interaksi sistem biner dilakukan dengan difraksi sinar-X serbuk, termal DTA (*Differential Thermal Analysis*), Spektroskopi inframerah (IR), pengamatan morfologi permukaan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*), dan uji kelarutan menggunakan larutan jenuh dengan medium etanol:air (1:1). Penetapan kadar kuersetin dilakukan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan fase gerak asetonitril:asam posfat 0,1% (55:45). Difraktogram sinar-X serbuk menunjukkan terjadinya penurunan intensitas puncak dari fase kristal tetapi tidak menandakan adanya terbentuk fase kristalin baru. Analisis termal DTA menunjukkan penurunan titik lebur pada sistem biner dibandingkan dengan kuersetin yang diduga terbentuk campuran eutektikum. Hasil SEM menunjukkan adanya perubahan bentuk morfologi kristal dibandingkan dengan komponen murni. Analisis FT IR memperlihatkan pergeseran bilangan gelombang dari spektrum kuersetin dan nikotinamida. Hasil interaksi menunjukkan pembentukan konglomerat (eutektikal) antara kedua fase kristalin dalam keadaan padat. Pembentukan sistem biner kuersetin-nikotinamida dapat meningkatkan kelarutan senyawa tunggal kuersetin. Kelarutan kuersetin, campuran fisik dan sistem biner kuersetin-nikotinamida yaitu  $0,294 \pm 0,005$  mg/mL,  $0,338 \pm 0,004$  mg/mL, dan  $0,419 \pm 0,001$  mg/mL. Kesimpulan, terjadinya peningkatan kelarutan setelah pembentukan sistem biner kuersetin-nikotinamida.

Kata Kunci : kuersetin, nikotinamida, interaksi, eutektik, uji kelarutan

## ABSTRACT

Preparation of binary system quercetin-nicotinamide and solubility evaluation have been conducted in this study. Binary system was prepared by solvent evaporation technique and physical mixture was used as comparison. The aim of this study is to analyze the structural interaction and to investigate the solubility of quercetin-nicotinamide produced. Identification of binary system interaction were done using Powder X-ray diffraction, Differential Thermal Analysis (DTA), Infrared spectroscopy (IR), observation of surface morphology with Scanning Electron Microscopy (SEM), and solubility test of saturated solution in ethanol:water (1:1). Quercetin assay was done by *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) using acetonitrile:phosphate acid 0,1% (55:45) as mobile phases. Diffractogram powder X-ray showed a decrease in the peak intensity, but did not show the a new crystalline phases. DTA thermal analysis showed a decrease in the melting point of the binary system compared to quercetin, which likely the mixture eutectikum was formed allegedly. SEM results indicated the changes in the morphology of the crystal compared to pure components. FT IR analysis showed a shift wavenumber of the spectrum quercetin and nicotinamide. Interaction between these compound showed that the conglomerated form (simple eutectic) between two crystalline phases. The solubility of binary system quercetin-nicotinamide increased compared to intact quercetin. Solubility of quercetin, physical mixture and binary system quercetin-nicotinamide were  $0,294 \pm 0,005$  mg/mL,  $0,338 \pm 0,004$  mg/mL, and  $0,419 \pm 0,001$  mg/mL, respectively. Conclusion, the increased solubility after the formation of binary system quercetin-nicotinamide.

Keywords : quercetin, nicotinamide, interaction, eutectic, solubility test

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kuersetin .....	5
2.1.1 Tinjauan Umum .....	5
2.1.2 Tinjauan Farmakologi .....	6
2.1.3 Tinjauan Farmakokinetik .....	7
2.2 Nikotinamida.....	7
2.2.1 Tinjauan Umum .....	7
2.2.2 Tinjauan Farmakologi .....	8
2.2.3 Tinjauan Farmakokinetik .....	8
2.3 Interaksi Fisika Sistem Biner .....	9
2.4 Karakterisasi Sifat Fisikokimia dan Kristalografik .....	15
2.4.1 Analisis pola difraksi sinar-X .....	15
2.4.2 Analisis Termal Diferensial .....	16



2.4.3	Analisis spektroskopi Infrared (IR) .....	17
2.4.4	Analisis SEM ( <i>Scanning Electron Microscopy</i> ) .....	18
2.5	Kelarutan .....	19
2.6	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) .....	20
<b>III. PELAKSANAAN PENELITIAN</b>		
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.2	Alat dan Bahan.....	24
3.2.1	Alat.....	24
3.2.2	Bahan .....	25
3.3	Metode penelitian.....	25
3.4	Prosedur penelitian .....	25
3.4.1	Pemeriksaan Bahan Baku .....	25
3.4.2	Pembuatan Campuran Fisik Kuersetin-Nikotinamida ....	26
3.4.3	Pembuatan Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida dengan metoda Kokristalisasi Penguapan Pelarut .....	26
3.4.4	Evaluasi Kuersetin, Campuran Fisik, dan Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida.....	26
3.4.4.1	Analisis pola difraksi sinar-X .....	26
3.4.4.2	Analisis Termal Diferensial .....	27
3.4.4.3	Analisis spektroskopi Infrared (IR) .....	27
3.4.4.4	Analisis SEM ( <i>Scanning Electron Microscopy</i> ) .....	27
3.5	Penetapan Perolehan Kembali .....	28
3.6	Uji Kelarutan .....	29

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Hasil Penelitian .....	31
4.2. Pembahasan.....	34
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Kesimpulan .....	43
5.2. Saran .....	43
<b>RUJUKAN</b> .....	44
<b>LAMPIRAN</b> .....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
IV.1. Hasil pemeriksaan bahan baku kuersetin .....	49
IV.2. Hasil pemeriksaan bahan baku nikotinamida .....	50
IV.3. Sertifikat analisis bahan baku kuersetin.....	51
IV.4. Sertifikat analisis bahan baku nikotinamida .....	52
IV.5. Data luas area kuersetin dengan fase gerak asetoniril:fosfat 1% (55:45).....	61
IV.6. Perhitungan validasi kuersetin .....	63
IV.7. Hasil perolehan kembali kuersetin pada pada sistem biner dan campuran fisik kuersetin nikotinamida dalam asetonitril menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45).....	64
IV.8. Hasil uji kelarutan kuersetin, campuran fisik dan sistem biner kuersetin- nikotinamida dalam medium etanol:air (1:1) menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45) .....	65

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
II.1. Struktur kuersetin .....	5
II.2. Struktur nikotinamida.....	7
II.3. Tipe interaksi fisika yang terbentuk dari campuran dua zat A dan B	10
II.4. Diagram titik leleh sistem biner eutektikum komponen A dan B ....	10
II.5. Diagram titik leleh kokristal dengan stoikiometri AB .....	11
II.6. Diagram sistem biner larutan padat komponen A dan B .....	12
II.7. Diagram KCKT .....	22
IV.1. Skema kerja.....	48
IV.2. Spektrum overlay spektroskopi Infrared (IR) .....	53
IV.3. Spektrum spektroskopi-IR kuersetin.....	54
IV.4. Spektrum spektroskopi-IR nikotinamida .....	54
IV.5. Spektrum spektroskopi-IR campuran fisik Kuersetin:Nikotinamida (1:1).....	55
IV.6. Spektrum spektroskopi-IR sistem biner Kuersetin-Nikotinamida (1:1).....	55
IV.7. Termogram Kuersetin .....	56
IV.8. Termogram nikotinamida murni .....	56
IV.9. Termogram campuran fisik kuersetin-nikotinamida (1:1) .....	57
IV.10. Termogram sistem biner kuersetin-nikotinamida (1:1) .....	57
IV.11. Difraktogram sinar-X.....	58
IV.12. Morfologi kuersetin .....	59
IV.13. Morfologi nikotinamida .....	59

IV.14. Morfologi campuran fisik kuersetin – nikotinamida.....	59
IV.15. Morfologi sistem biner kuersetin – nikotinamida.....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja.....	53
2. Pemeriksaan bahan baku .....	54
3. Analisis Spektroskopi Infrared (IR).....	58
4. Analisis <i>Differential Thermal Analysis</i> (DTA).....	56
5. Analisis Difraksi Sinar-X.....	58
6. Analisis <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) .....	59
7. Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dan penetapan perolehan kembali sampel dengan fase gerak asetonitril:asam posfat 0,1% (55:45).....	61
8. Hasil uji kelarutan .....	65
9. Contoh perhitungan perolehan kembali .....	66
10. Perhitungan kelarutan dalam medium etanol:air (1:1).....	68

## I. PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi dan S. Narasimhan, 1985). Senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Aktivitas biologis yang ada pada flavonoid yaitu sebagai antikanker (Bracke *et al.*, 1994), sebagai agen antioksidan (Zhu, *et al.*, 2000) dan juga sebagai agen antiinflamasi (Zhu, *et al.*, 2007). Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang beragam pada berbagai jenis sereal, sayuran dan buah-buahan (Redha, 2010).

Salah satu senyawa flavonoid yang terkenal adalah kuersetin. Kuersetin merupakan suatu senyawa flavonoid polifenol yang menarik untuk diteliti karena mempunyai beberapa aktivitas farmakologi (Zhu. *et al*, 2007). Disamping mempunyai beragam aktivitas farmakologi, kuersetin mempunyai kelemahan dari sifat fisikokimianya, yaitu kelarutannya rendah dalam air sehingga menyebabkan keterbatasan dalam proses absorpsi dan berpengaruh pada bioavailabilitasnya didalam tubuh (Smith , *et al.*, 2011).

Dari pernyataan diatas, dapat diketahui adanya suatu permasalahan yang umum dari kuersetin yakni kelarutan yang rendah dalam air, yang merupakan

faktor kunci dalam membatasi bioavailabilitasnya. Banyak pendekatan formulasi yang digunakan untuk meningkatkan kelarutan misalnya penggunaan polimer, siklodeksrin, Hidroksida berlapis (layered Hidroxides), nanopartikulat, garam dan material amorf.

Beberapa metoda telah dilakukan untuk meningkatkan kelarutan dan laju kelarutan dari kuersetin misalnya pembentukan kompleks inklusi dengan siklodeksrin (Syofyan, *et al.*, 2008), pembuatan dispersi padat (Zhu, *et al.*, 2007), menggunakan campuran pelarut (Kendre, *et al.*, 2014), pembentukan nanopartikel (Chang & Chiu, 2013), dan lainnya. Salah satu metoda yang menarik dan sederhana yang baru-baru ini dapat dikembangkan dalam bidang ilmu bahan dan rekayasa kristal untuk meningkatkan laju pelarutan dan ketersediaan hayati obat-obat yang sukar larut adalah teknik kokristalisasi untuk menghasilkan kokristal (senyawa molekular) dengan sifat-sifat fisika dan fisikokimia yang lebih unggul. Kokristal merupakan material padat yang terdiri dari dua atau lebih molekul padat yang membentuk satu kisi kristal yang berbeda yang dihubungkan dengan ikatan antar molekul seperti ikatan hidrogen dan *Vander Waals* (Zaini, dkk., 2011).

Nikotinamida adalah bahan yang aman untuk dikonsumsi manusia, nikotinamida juga bersifat inert dan GRAS (Generally Recognized as Safe) sehingga aman digunakan dalam pengembangan sediaan obat (United States Environmental, 2005). Nikotinamida telah banyak digunakan sebagai CCF (Cocrystal Coformer) untuk pembentukan ko-kristal dengan celecoxib (J.F



Remenar, *et al.*, 2007), teofilin (J.Lu, *et al.*, 2009), ibuprofen (D.J Berry, *et al.*, 2008), carbamazepin (N. Chieng, *et al.*, 2009), dan lamotrigin (M.L Cheney, *et al.*, 2010). Adanya gugus amida pada nikotinamid dapat membuka peluang terbentuknya ikatan hidrogen. Berdasarkan struktur kimianya kuersetin memiliki peluang besar untuk membentuk ko-kristal dengan nikotinamida (Alatas, dkk., 2014).

Nikotinamida larut dalam 1 bagian air, dalam 1,5 bagian etanol, sukar larut dalam kloroform dan eter. Nikotinamida memiliki titik lebur antara 128-131°C (Departemen Kesehatan RI, 1995). Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya nikotinamida memiliki dua *bonding site* yang dapat membentuk ikatan non kovalen dengan senyawa lain, yaitu gugus piridin dan gugus amida. Oleh karena itu nikotinamida dapat digunakan sebagai senyawa pembentuk kokristal (Pratiwi, 2012).

Upaya untuk meningkatkan kelarutan suatu senyawa obat yang sukar larut dalam air umumnya melibatkan interaksi antara dua senyawa (sistem biner) atau lebih. Interaksi fisika sistem biner umumnya terjadi pada dua materi yang bermiripan. Kemiripan tersebut umumnya berbasis pada rumus molekul dan struktur internal atau tingkat kesimetrian kisi kristalinnya (Zaini, 2010). Interaksi yang sering ditemukan dalam teknologi farmasi berdasarkan bentuk diagram fase campuran sistem biner digolongkan menjadi sistem interaksi fisika eutektikum (konglomerat), peritektikum (larutan padat), dan senyawa molekuler (kokristal) (Davis, 2004).

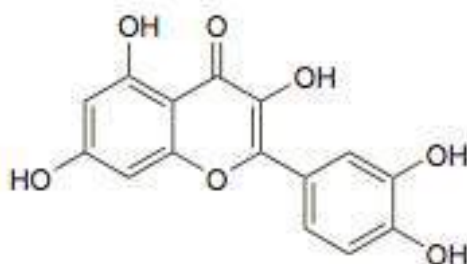
Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa kokristal kuersetin dapat dibentuk dengan bantuan koformer asam fenolat, lactamide dan karnitin (Veverka, *et al.*, 2014). Oleh karena itu, pada penelitian kali ini dilakukan pembentukan sistem biner kuersetin dengan senyawa lain yang dapat digunakan sebagai koformer yaitu nikotinamida dengan metode kokristalisasi penguapan pelarut yang bertujuan untuk meningkatkan kelarutan dari kuersetin sehingga dapat meningkatkan laju disolusinya. Selain itu, dilakukan juga karakterisasi kokristal yang terbentuk dengan *Differential Thermal Analysis (DTA)*, analisis *Scanning Electron Microcopy (SEM)*, *Power X-ray Diffraction (XRD)*, analisis spektrofotometri IR, dan uji kelarutan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Kuersetin

#### 2.1.1 Tinjauan Umum

Kuersetin adalah salah satu senyawa flavonoid jenis flavonol. Kuersetin mempunyai nama kimia 2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-3,5,7-trihydroxy-4*H*-1-benzopyran-4-one. Rumus molekul dari Kuersetin adalah  $C_{15}H_{10}O_7$  dengan berat molekul 302,2 (Sweetman, 2009). Rumus bangun kuersetin adalah sebagai berikut:



Gambar II.1. Struktur Kuersetin (Sweetman, 2009).

Kuersetin dapat diisolasi dari tumbuhan karena kuersetin terdistribusi luas pada tumbuhan tingkat tinggi, terutama pada bagian daun, kelopak bunga, kulit buah dan kulit kayu atau dapat juga diperoleh dari hasil hidrolisis rutin dan kuersitrin. Kuersetin yang terdapat di alam biasanya berada dalam bentuk glikosida yaitu kuersetin 3-glikosida (isokuersetin), kuersetin-3-rhamnoside (kuersitrin), kuersetin-3-rutinoside (rutin) adalah glikosida kuersetin. Kuersetin terdapat terutama pada tanaman teh, tomat, apel, kakao, anggur, dan bawang (Syofyan, 2007 ; Sweetman, 2009 ; The Merck Index, 1983).

Kuersetin merupakan serbuk hablur, berwarna kuning pucat sampai kuning kehijaun pucat. Satu gram kuersetin larut dalam 290 ml alkohol absolut dan larut dalam 23 ml alkohol mendidih, kuersetin larut dalam asam asetat glasial, praktis tidak larut dalam air. Kuersetin salah satu senyawa flavonoid, turunan flavonol yang mempunyai 3 cincin dengan 5 gugus hidroksil, kuersetin dikenal dengan nama 3,5,7,3',4' pentahidroksi flavon. Selain itu, kuersetin juga disebut dengan meletin, sopretin, dan sianidelon.

### **2.1.2 Tinjauan Farmakologi**

Kuersetin dilaporkan menunjukkan beberapa aktivitas biologi. Aktivitas ini dikaitkan dengan sifat antioksidan kuersetin, antara lain karena kemampuan menangkap radikal bebas dan radikal hidroksil. Kuersetin sangat efektif dalam mengurangi stress oksidatif dan mencegah produk potensial akibat stress oksidatif, seperti kanker (Haghiack , M, and Walle. T, 2005). Kuersetin juga mempunyai aktifitas menghambat reaksi oksidasi low-density lipoprotein (LDL) secara in vitro. Kuersetin yang diekstrak dari anggur merah misalnya memiliki aktivitas antioksidan yang sebanding dengan  $\alpha$ -tokoferol dalam menghambat peroksidasi lipid. Produk oksidasi LDL dan lipid dapat menginduksi terjadinya luka pada pembuluh darah dalam waktu yang relatif singkat dan selanjutnya dapat menimbulkan sumbatan (plak) akibat penimbunan kolesterol. Ini berarti bahwa dengan mengkonsumsi kuersetin secara teratur melalui pangan nabati, seperti buah apel, teh, dan bawang dapat melindungi LDL dari reaksi oksidasi yang pada gilirannya dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner dan stroke (Syofyan, 2007 ; Painter, 1998)

### 2.1.3 Tinjauan Farmakokinetik

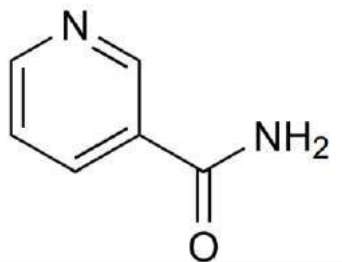
Kuersetin diserap di usus halus setelah pemberian oral kira-kira 25% dari dosis yang diberikan. Selanjutnya kuersetin akan dibawa ke hati dan akan mengalami *first pass metabolism*. Kuersetin yang berada dalam plasma akan berikatan kuat dengan albumin. Konsentrasi puncak dalam plasma dicapai pada menit ke-42 sampai jam ke-7 setelah obat diberikan. Waktu paruhnya sekitar 25 jam. (Syofyan, *et al.*, 2008)

Kuersetin dikategorikan dalam kelas 2 berdasarkan *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) dengan kelarutan rendah dan permeabilitas yang tinggi sehingga kelarutannya dalam air sangat rendah (Madaan, *et al.*, 2014). Oleh karena itu, obat ini perlu peningkatan laju disolusi dan bioavailabilitasnya agar efek terapetiknya tercapai.

## 2.2. Nikotinamida

### 2.2.1 Tinjauan Umum

Nikotinamida memiliki nama kimia piridin-3-karboksamida. Rumus empiris nikotinamida adalah  $C_6H_6N_2O$  dan memiliki berat molekul 122,1. Rumus bangun dari nikotinamida adalah sebagai berikut:



Gambar II.2. Struktur nikotinamida (British Pharmacopoeia, 2009).

Nikotinamida merupakan kristalin berwarna putih atau hampir putih. Nikotinamida larut dalam 1:1,5 bagian air, 1:10 bagian air mendidih, 1:5,5 bagian alkohol dan larut dalam gliserol. Nikotinamida mengandung tidak kurang dari 99,0 % dan tidak lebih dari 101,0 %  $C_6H_6N_2O$  dihitung terhadap berat yang telah dikeringkan. Nikotinamida disimpan dalam wadah yang kedap udara (British Pharmacopoeia, 2009).

Nikotinamida adalah bahan yang aman untuk dikonsumsi manusia, nikotinamida juga bersifat inert dan GRAS (Generally Recognized as Safe) sehingga aman digunakan dalam pengembangan sediaan obat (United States Environmental, 2005).

### **2.2.2 Tinjauan Farmakologi**

Nikotinamida merupakan komponen dari vitamin B (asam nikotinat), persyaratan biologis dari vitamin ini dapat terpenuhi jika asupan asam nikotinat dari makanan (dan asupan protein yang cukup) dengan konversi biologis dari asam amino triptopan menjadi asam nikotinat. Nikotinamida diberikan kepada pasien yang menderita kekurangan vitamin B atau yang lebih dikenal dengan *pellagra*. Dosis yang dapat diberikan maksimal 500 mg perhari dan sebaiknya diberikan dalam dosis terbagi (Sweetman, 2009).

### **2.2.3 Tinjauan Farmakokinetik**

Nikotinamida langsung diserap disaluran cerna segera setelah penggunaan oral dan didistribusikan hampir keseluruhan jaringan tubuh. Nikotinamida dimetabolisme menjadi metabolit N-metilnikotinamida, 2-piridon dan 4-piridon, terkadang juga dimetabolisme menjadi asam nikotinurea. Sebagian

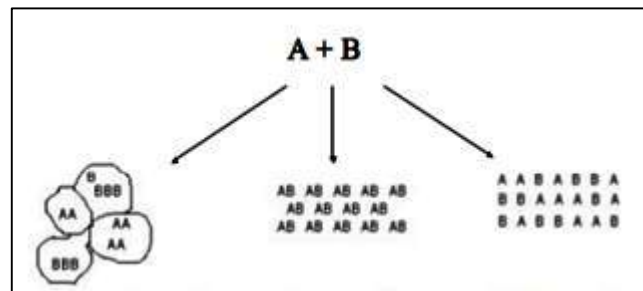
kecil nikotinamida diekskresikan lewat urine dalam bentuk utuh dan meningkat seiring dengan kenaikan dosis (Sweetman, 2009).

### **2.3 Interaksi Fisika Sistem Biner**

Secara umum dalam sediaan farmasi ditemukan adanya campuran dua atau lebih bahan obat dan eksipien. Kombinasi antara dua atau lebih bahan obat dan eksipien dapat menyebabkan terjadinya transformasi interaksi padatan secara kimia maupun fisika. Interaksi fisika yang sering ditemukan antara lain: campuran eutektik, larutan padat, dan fase kokristal (Zaini, 2010).

Tiga jenis interaksi padatan yang terbentuk jika diamati dari perilaku termal antara campuran fase leburan kedua komponen yaitu:

- (a) Konglomerat/campuran eutektik dimana kedua komponen tetap berada pada zona kristalin yang terpisah .
- (b) Kokristal atau senyawa molekular dimana pada zona pencampuran terbentuk fase padat yang mempunyai sifat-sifat yang berbeda dari kedua komponen pembentuk.
- (c) Larutan padat atau *solid solution* dimana kedua komponen bercampur dalam fase padat yang homogen (Davis, 2004; Zaini, 2010)

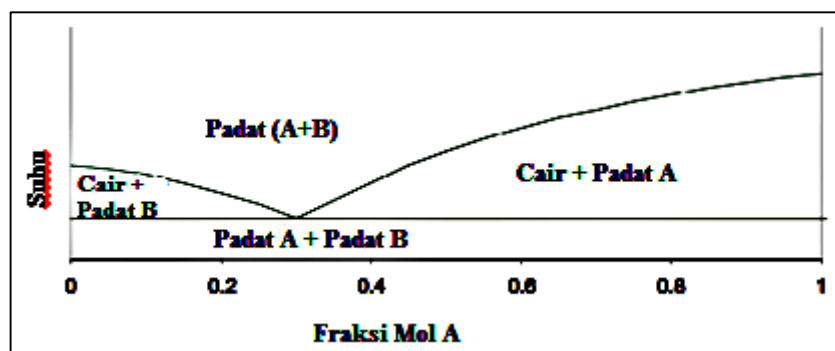


Konglomerat                      Kokristal                      Larutan Padat

Gambar II.3. Tipe interaksi fisika yang terbentuk dari campuran dua zat A dan B (Davis, *et al.*, 2004)

a. Sistem eutektikum (konglomerat)

Campuran eutektik disusun oleh molekul yang terikat lemah antar sesamanya, tetapi tidak memperlihatkan pembentukan interaksi kimia. Kehadiran setiap komponen menurunkan titik leleh yang lain, sehingga titik leleh menurun dari kedua sisi diagram. Kurva dibawah ini menunjukkan satu titik lebur bersamaan yang disebut titik eutektik (Davis, *et al.*, 2004)



Gambar II.4 Diagram titik leleh sistem biner eutektikum komponen A dan B (Davis, 2004)

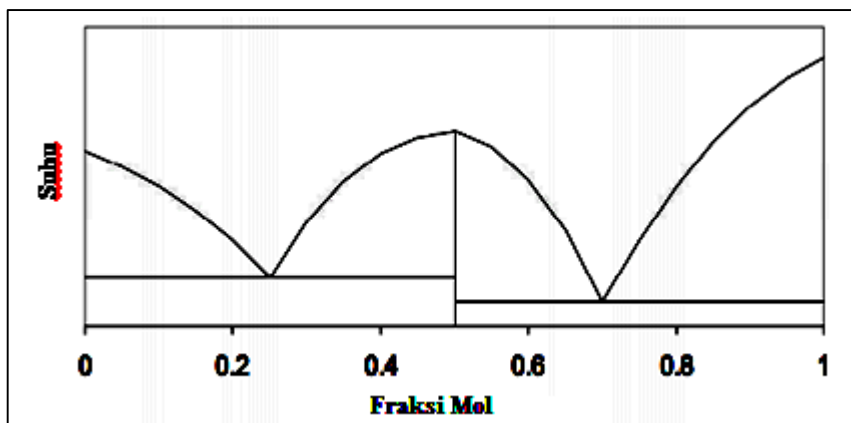
Titik lebur dari sistem penghantaran obat dapat diturunkan oleh formasi dari campuran eutektik yang merupakan sistem biner. Pada rasio yang konstan, komponen menghambat pembentukan kristal antara satu dan yang



lain, sehingga titik lebur dari kedua komponen dalam campuran lebih rendah dari pada komponen itu sendiri (Gaur, 2009).

b. Sistem senyawa molekular (Kokristal)

Fase kokristal dapat memiliki titik leleh yang lebih tinggi maupun lebih rendah dari komponen murninya, atau bisa berada diantara keduanya. Ketika suatu senyawa (fase kokristal) dari stoikiometri AB terbentuk, diagram memiliki penampilan umum ditunjukkan pada Gambar II.5 dengan tiga titik leleh maksimal (murni A, murni B, dan kokristal AB) yang dipisah oleh dua eutektik (Davis, 2004).

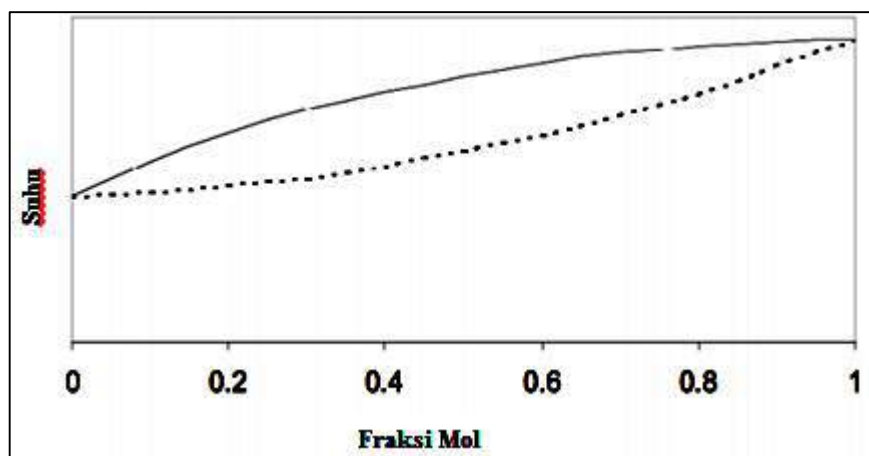


Gambar II.5. Diagram titik leleh kokristal dengan stoikiometri AB (Davis, 2004)

Sistem campuran eutektik tidak mengubah struktur kristal namun merubah ukuran kristal menjadi lebih halus, sedangkan campuran peritektikum dan senyawa molekular merubah struktur kristal. Perubahan ukuran dan struktur kristal merubah karakteristik termodinamika dan luas permukaan kristal sehingga dapat menyebabkan perubahan profil disolusi dan farmakokinetika dari bahan aktif (Nugrahani, 2007).

c. Sistem peritektikum (larutan padat)

Sistem peritektikum atau larutan padat merupakan dispersi molekuler suatu zat di dalam zat lain. Ketika larutan padat yang ideal terbentuk, titik leleh meningkat perlahan seperti yang ditunjukkan pada Gambar II.6. Diagram sistem biner larutan padat ini menunjukkan nilai maksimum atau minimum (Davis, 2004).



Gambar II.6 Diagram sistem biner larutan padat komponen A dan B (Davis, *et al.*, 2004)

## 2.4 Teknik Kokristalisasi dalam Sediaan Farmasi

Rekayasa kristal merupakan desain dan perkembangan dari suatu padatan molekul kristal dengan tujuan mempengaruhi sifat material. Salah satu rekayasa kristal yang telah diamati selama bertahun-tahun adalah kokristal (Sekhon, 2009.). Kokristal dapat didefinisikan sebagai kompleks yang terbentuk dari dua senyawa atau lebih yang saling terikat dalam suatu kisi kristal melalui ikatan non kovalen (biasanya ikatan hidrogen dan *Van der Waals*) (Paterson, 2006). Ikatan non kovalen inilah yang bertanggung jawab dalam interaksi fisika antar molekuler dalam padatan molekul-molekul kristal tanpa adanya transfer ion untuk

membentuk garam. Komponen kokristal ada dalam rasio stoikiometri yang pasti dan memiliki komposisi dan struktur yang berbeda bila dibandingkan dengan komponen kristal induk (Jayasangkar, 2008).

Kokristal dapat terbentuk antara zat aktif obat dengan zat lain baik itu bahan tambahan atau zat aktif obat lain (Chadha, 2011). Molekul yang menjadi agen kokristalisasi disebut dengan koformer. Koformer dalam upaya peningkatan laju kelarutan harus memiliki sifat tidak toksik dan inert secara farmakologi, dapat mudah larut dalam air, mampu berikatan non kovalen dengan obat contohnya ikatan hidrogen, mampu meningkatkan kelarutan obat dalam air, kompatibel secara kimia, dan tidak membentuk ikatan kompleks dengan obat.

Kokristalisasi merupakan salah satu metoda yang dapat digunakan untuk memodifikasi sifat fisika dari obat seperti kelarutan, laju disolusi higroskopisitas, dan kekompakan padatan tanpa mengganggu efek farmakologis dari zat aktif tersebut. Teknik kokristal ini dapat meningkatkan sifat fisika dari zat aktif kearah yang lebih baik (Chadha, 2011). Umumnya pada temperatur kamar kokristal berbentuk padat. Kokristal ini akan memiliki sifat yang berbeda dengan masing-masing komponen penyusunnya (titik lebur, kelarutan, stabilitas, dan lain-lain).

Syarat zat aktif obat yang digunakan dalam kokristalisasi agar dapat membentuk suatu kokristal harus memiliki gugusan yang mampu berikatan secara non kovalen dengan koformer. Fase multikristal yang dihasilkan akan mempertahankan aktivitas instrinsik zat aktif obat namun disisi lain memiliki sifat yang berbeda secara fisikokimia (Mirza, 2008).

Saat ini terdapat beberapa metoda pembuatan kokristal yang dapat dibagi menjadi:

1. Penggunaan Pelarut

Dua komponen yaitu zat aktif dan koformer dilarutkan dalam pelarut dengan perbandingan equimol 1:1. Kemudian campurkan larutan tersebut dan diuapkan sampai pelarut habis. Kokristal merupakan residu hasil penguapan.

2. Penggunaan Sedikit Pelarut

Metoda ini menggunakan sedikit pelarut. Pelarut yang digunakan tidak sampai melarutkan seluruh zat aktif maupun koformer. Contoh dari metoda ini adalah *slurrying* dan *solvent-drop grinding*.

3. Tanpa Pelarut

Metoda ini dilakukan dengan cara mencampurkan kedua komponen penyusun kokristal secara bersamaan lalu digerus atau digiling dengan mortar dan alu atau dengan *ball mill* atau *vibration mill*. Contoh metoda ini adalah *solid state grinding* (Upadhyay, 2011).

Salah satu metode yang sering digunakan dalam pembuatan kokristal adalah metode pelarutan, metode ini juga terdiri dari:

1. Metode Evaporasi

Dua komponen yang ekuivalen terdiri dari zat aktif obat dan koformer dilarutkan dalam satu pelarut atau campuran pelarut, kemudian untuk memperoleh keadaan lewat jenuh maka larutan tersebut diuapkan sampai pelarutnya habis menguap. Kokristal merupakan residu hasil penguapan tersebut.

## 2. Metode reaksi kristalisasi

Reaksi kristalisasi ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah komponen zat ke dalam larutan zat lain yang sudah jenuh atau mendekati jenuh sehingga larutan akan menjadi lewat jenuh dan terjadi proses rekristalisasi. Kokristal diperoleh dari hasil reaksi tersebut. Metode ini efektif untuk larutan dengan konsentrasi komponen yang tidak ekuivalen dan ketika satu komponen larutan menjadi lewat jenuh dengan penambahan komponen lainnya.

## 3. Metode pendinginan

Metode ini melibatkan suhu dalam proses kokristalisasi. Di mana sejumlah besar komponen yang merupakan zat aktif dan koformer dilarutkan dalam pelarut atau campuran pelarut yang kemudian dipanaskan untuk memastikan kedua komponen tersebut benar-benar larut. Lalu larutan didinginkan untuk memperoleh keadaan lewat jenuh. Kokristal akan mengendap saat larutan mencapai keadaan lewat jenuh. Metode ini cocok untuk membuat kokristal dalam skala besar (Triani, 2012).

## **2.4 Karakterisasi Sifat Fisikokimia dan Kristalografik**

### **2.4.1 Analisis pola difraksi sinar-X**

Penetapan pola difraksi sinar-X serbuk kokristal dilakukan dengan menggunakan difraktometer. Kondisi pengukuran sebagai berikut : sumber Cu  $K\alpha$ , voltase 45 kV, arus 25 mA, dan kecepatan *scanning*  $0,05^{\circ}$  per detik (West, 2001).

Jika cahaya dibiarkan mengenai suatu permukaan yang terdiri dari suatu seri lempengan atau garis-garis yang satu sama lainnya berjarak kurang lebih sama dengan panjang gelombang cahaya tersebut, maka berkas cahaya tersebut akan didifraksikan dan berbagai radiasinya akan didispersikan menjadi suatu seri spektrum. Disamping itu terdapat hubungan tertentu antara sudut difraksi, panjang gelombang radiasi, dan jarak antara garis-garis pada kisi yang teratur tersebut (West, 2001).

Menurut Max Von Laue, jika suatu kristal benar-benar tersusun dari atom-atom dalam susunan yang teratur, maka bidang-bidang atom tersebut di dalam kristal akan tersusun teratur dengan jarak lebih kurang  $10^{-8}$  cm satu dengan yang lainnya sehingga kristal tersebut merupakan suatu kisi tiga dimensi alami untuk sinar-X (West, 2001).

Menurut Bragg, suatu berkas sinar-X yang mengenai atom-atom dari bidang tersebut akan didifraksikan sedemikian rupa sehingga menyebabkan terjadinya interferensi maupun saling memperkuat dari berkas sinar-X yang didifraksikan dari bidang pertama atau bidang yang diluar dan seluruh berkas sinar-X akan bersifat sama seperti jika dipantulkan dari permukaan kristal (West, 2001).

#### **2.4.2 Analisis Termal Diferensial**

Metode analisis termal didefinisikan sebagai teknik untuk mengetahui sifat-sifat analit yang ditentukan sebagai fungsi suhu yang diberikan dari luar sistem, analisis termal dapat memantau proses endotermik (peleburan, sublimasi, penguapan, desolvasi, transisi fase padat-padat, degradasi kimiawi) dan

eksotermik (kristalisasi dan oksidasi). Metode ini sangat bermanfaat dalam studi formulasi yang dilakukan secara terencana untuk mengetahui adanya kemungkinan interaksi obat-obat dan obat-eksipien dalam sediaan farmasi. Suhu pemanasan dimulai 20<sup>0</sup>-150<sup>0</sup>C dengan kecepatan pemanasan 10<sup>0</sup>C per menit (Brittain, 1999).

### 2.4.3 Analisis spektroskopi Infrared (IR)

Pembuatan spektrum inframerah dilakukan dengan mendispersikan sampel pada pellet KBr yang dikempa dengan tekanan tinggi. Kemudian diukur persen transmisi dari bilangan gelombang 400-4000 cm<sup>-1</sup> (Brittain, 1999). Peralatan spektrofotometer inframerah asli mempunyai tipe *dispersive*. Alat akan memisahkan frekuensi dari masing-masing energi yang diemisikan dari sumber inframerah. Pemisahan ini dilakukan dengan bantuan prisma atau kisi-kisi. Prisma inframerah bekerja dengan memisahkan cahaya inframerah menjadi frekuensi-frekuensi tertentu, sedangkan kisi merupakan elemen *dispersive* yang memisahkan frekuensi energi inframerah lebih baik. Detektor akan mengukur energi tiap frekuensi yang melewati sampel dan akan menghasilkan spektrum yang merupakan plot antara intensitas dengan frekuensi (Brittain, 1999).

Spektroskopi-IR ditemukan untuk mengatasi keterbatasan pada instrument *dispersive* yaitu proses *scanning* yang berjalan lambat dan satu per satu. Interferometer sebagai alat optik sederhana dapat menghasilkan sinyal unik yang mempunyai semua frekuensi inframerah yang diterjemahkan ke dalamnya. Sinyal dapat diukur dengan sangat cepat dan biasanya berlangsung dalam

hitungan per detik. Kebanyakan interferometer memiliki *beamsplitter* yang membagi inframerah yang masuk menjadi dua sinar optik. Satu sinar akan direfleksikan dari kaca datar yang permanen, sedangkan sinar lainnya akan direfleksikan dari kaca yang dapat bergerak. Karena jalur sinar yang satu adalah dengan panjang gelombang tetap, sedangkan lainnya secara teratur dapat berubah sesuai dengan gerakan cermin, maka sinar yang dikeluarkan adalah hasil dari kedua sinar yang saling berinterferensi satu dengan lainnya. Hasil ini disebut dengan interferogram (Brittain, 1999).

Dengan interferogram, semua frekuensi diukur secara serentak sehingga dapat menghasilkan pengukuran yang cepat. Karena analisis membutuhkan spektrum frekuensi yang diidentifikasi, dibutuhkan alat untuk menerjemahkan frekuensi tersebut yang didapat dari teknik matematika yang disebut dengan *fourier transformation*. Transformasi ini dilakukan oleh komputer yang kemudian akan mengeluarkan informasi spektrum yang dibutuhkan (Brittain, 1999).

#### **2.6.4 Analisis SEM (*Scanning Electron Microscopy*)**

SEM adalah mikroskop yang mampu menghasilkan gambar beresolusi tinggi. Gambar SEM mempunyai karakteristik tiga dimensi dan sangat berguna untuk melihat struktur permukaan sampel. SEM menggunakan elektron untuk menghasilkan gambar. Elektron dilekatkan pada sebuah anoda sehingga mengalami percepatan dan diarahkan vertikal oleh sebuah lensa magnetik. Kemudian elektron diarahkan oleh sebuah kumparan ke permukaan sampel tertentu. Elektron yang menghantam sampel akan mengusir elektron yang ada



pada sampel. Elektron yang terusir akan ditarik oleh detektor. Sinyal elektron yang ditangkap oleh detektor akan diubah menjadi informasi untuk menghasilkan gambar (Reimar, 1998).

## **2.5. Kelarutan**

Kelarutan merupakan sifat fisikokimia yang penting dari suatu zat, terutama kelarutan dalam air. Agar suatu obat dapat mencapai sasaran terapi dengan baik dalam waktu yang cepat, obat tersebut sebaiknya tidak memiliki masalah dengan kelarutannya. Sebab suatu obat harus berada dalam larutan agar dapat mencapai sistem sirkulasi dan menghasilkan efek terapeutik. Senyawa-senyawa yang relatif tidak larut cenderung akan menunjukkan absorpsi yang tidak sempurna (Ansel, 2005).

Kelarutan dapat dinyatakan dalam jumlah gram zat terlarut yang larut dalam sejumlah mililiter pelarutnya. Kelarutan suatu zat dalam pelarut tertentu dapat diketahui dengan membuat larutan jenuh dari zat tersebut pada suhu yang spesifik. Kelarutan suatu bahan obat dalam suatu pelarut tertentu menunjukkan konsentrasi maksimum larutan, yang mana bila suatu pelarut pada suhu tertentu melarutkan semua zat terlarut sampai batas daya melarutkannya, larutan ini yang disebut dengan larutan jenuh (Ansel, 2005).

Salah satu faktor penting dalam penentuan kelarutan suatu obat adalah suhu. Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi kelarutan adalah tekanan, keadaan dari zat terlarut, dan pengadukan secara fisik terhadap larutan selama proses melarut.

Kelarutan zat murni pada suhu dan tekanan tertentu adalah tetap, tapi laju larutnya tergantung pada ukuran partikel zat dan tingkat pengadukan (Ansel, 2005).

Terdapat beberapa istilah yang berhubungan dengan kelarutan (Departemen Kesehatan, 1995):

- |                        |                |
|------------------------|----------------|
| a. Sangat mudah larut  | : < 1          |
| b. Mudah larut         | : 1 - 10       |
| c. Larut               | : 10 – 30      |
| d. Agak sukar larut    | : 30 – 100     |
| e. Sukar larut         | : 100 – 1000   |
| f. Sangat sukar larut  | : 1000 – 10000 |
| g. Praktis tidak larut | : > 10000      |

## **2.6. Kromatografi Cair Tingkat Tinggi**

KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) merupakan teknik analisis yang paling cepat berkembang dalam kimia analitik. Penggunaannya terdiri dari beberapa metoda dalam kromatografi cair, yaitu: Kromatografi Cair Retensif dan Kromatografi Cair Non-retensif (Harmita, 2007). Kromatografi merupakan salah satu cara pemisahan komponen-komponen dari campurannya, yang didasarkan oleh adanya perbedaan sifat kepolaran dari komponen-komponen tersebut terhadap fase diam dan fase gerak yang ada dalam sistem kromatografi. Perbedaan kecepatan migrasi didasarkan pada berbagai macam mekanisme, antara lain adsorpsi, partisi, penukaran ion, fase terikat, dan eksklusi. KCKT adalah

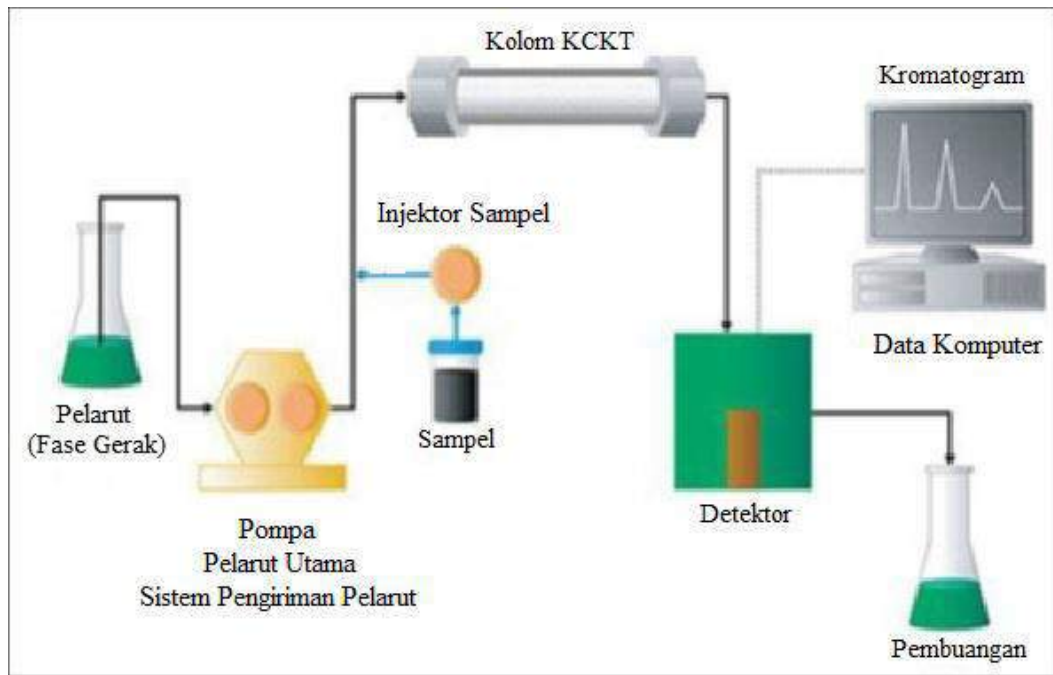
instrumen yang dikembangkan untuk mendapatkan pemisahan yang baik dan dalam waktu yang cepat (Khopkar, 1990).

Fase gerak pada KCKT adalah salah satu yang mempengaruhi pemisahan. Senyawa yang akan dipisahkan harus larut dalam pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan tidak perlu sama dengan eluen, akan tetapi pelarut harus larut di dalam eluen (Harmita, 2007).

Secara umum eluen yang baik harus mempunyai sifat sebagai berikut :

- a. Murni
- b. Tidak bereaksi dengan kolom
- c. Sesuai dengan detector
- d. Dapat melarutkan cuplikan
- e. Selektif terhadap komponen
- f. Viskositasnya rendah
- g. Dapat memisahkan zat dengan baik

Prinsip kerja dari KCKT adalah pelarut dari reservoir dipompa dengan tekanan yang cukup tinggi ke dalam injektor. Bila sampel dimasukkan ke dalam injektor maka sampel tersebut akan terbawa oleh pelarut dan masuk ke dalam kolom tersebut. Komponen yang telah dipisahkan dalam kolom terus mengalir ke dalam kolom dan detektor kemudian sinyal yang dihasilkan diteruskan ke *recorder/integrator*, kemudian ke luar dalam bentuk kromatogram atau peak sebagai *print out* (Khopkar, 1990).



Gambar II.7. Diagram KCKT (Harmita, 2007).

Saat ini, KCKT banyak digunakan untuk analisis terhadap industri farmasi, cairan biologis, polimer alami dan sintetis, cemaran lingkungan, dan berbagai senyawa anorganik dan unsur dalam konsentrasi yang sangat kecil. Beberapa kelebihan pemakaian dari KCKT yaitu waktu analisis cepat, waktu yang diperlukan biasanya kurang dari satu jam, seringkali hanya 15 menit hingga 30 menit. Untuk analisis yang mudah diperlukan waktu kurang dari 5 menit. Selain waktu yang cepat kelebihan lain dari pemakaian KCKT ini adalah daya pisah yang baik, lebih peka tetapi tergantung pada jenis detektor yang digunakan, pemilihan kolom dan eluen sangat bervariasi, kolom dapat dipakai kembali, dapat digunakan untuk molekul besar dan kecil, dapat menghitung sampel dengan kadar yang sangat rendah.

KCKT terbagi atas dua pembagian, yaitu :

a. KCKT fase normal

Pada KCKT fase normal, kolom diisi dengan partikel silika yang sangat kecil dan pelarut non polar, misalnya heksan. Sebuah kolom sederhana memiliki diameter 4,6 mm dengan panjang 150-250 mm. Senyawa-senyawa polar dalam campuran melalui kolom akan melekat lebih lama pada silika yang polar dibanding dengan senyawa-senyawa non polar. Karena itu, senyawa yang non polar kemudian akan lebih cepat melewati kolom (Khopkar, 1990).

b. KCKT fase terbalik

KCKT fase terbalik merupakan jenis KCKT yang banyak digunakan, khususnya di bidang farmasi. Ukuran kolom pada fase terbalik sama, tetapi silika dimodifikasi menjadi non polar melalui pelekatan rantai-rantai hidrokarbon panjang pada permukaannya secara sederhana baik berupa atom C8 atau C18. Oktadesil silika (ODS atau C18) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Oktil atau rantai alkil yang lebih pendek lagi lebih sesuai untuk zat terlarut yang polar (Khopkar, 1990).

Pada KCKT fase terbalik, fase gerak yang digunakan bersifat polar, misalnya campuran air, metanol, atau asetonitril. Sehingga senyawa non polar akan melekat lebih lama di kolom, sedangkan senyawa polar akan keluar terlebih dahulu (Khopkar, 1990).

### III. PELAKSANAAN PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan lebih kurang empat bulan yaitu dari bulan Juni - November di Laboratorium Teknologi Farmasi Sediaan Steril, Laboratorium Analisa Fisiko Kimia, Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi, Laboratorium Teknologi Farmasi Sediaan Padat, Laboratorium Metalurgi Jurusan Teknik Fakultas Teknik Universitas Andalas dan Laboratorium Instrumen Jurusan Biologi dan Kimia FMIPA UNP.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Alat

Timbangan digital (Shimadzu-AUX220), *mortar and pestle*, *hot plate*, *orbital shaker*, spektrofotometer UV (SHIMADZU UV-1700), spektroskopi-IR, difraktometer sinar-X serbuk (Rigaku tipe RINT-2500), *Differential Thermal Analysis* (Shimadzu DTA/TG-60), *Scanning Electron Microscopy* (Jeol tipe JSM-6360LA, Japan), *High performance Liquid Chromatography* (Shimadzu LC-20AD), *Orbital Sheeker*, pipet ukur, *aluminium foil*, kertas saring *Whatman* 0,2  $\mu\text{m}$  dan 0,45  $\mu\text{m}$ , tube dan alat-alat gelas standar laboratorium lainnya.

### **3.2.2. Bahan**

Kuersetin (Sigma Aldrich), Nikotinamida (Kimia Farma), etanol 96% (Brataco Chemika), metanol (Brataco Chemika), aquabidest bebas CO<sub>2</sub> (Brataco Chemika), *acetonitril grade HPLC* (Merck), etanol pro analysis (Merck), asam fosfat dan aquadest.

### **3.3. Metoda Penelitian**

Penelitian ini diawali dengan pemeriksaan bahan baku kuersetin dan nikotinamida sesuai dengan *Farmakope IV*, *The Merck Index*, dan *United State Pharmacopoeia Medicines Compendium*. Selanjutnya pembuatan sistem binner menggunakan metoda kokristalisasi penguapan pelarut dan campuran fisik kuersetin-nikotinamida. Sampel kemudian dikarakterisasi dengan analisis difraksi sinar-X, *differential thermal analysis* (DTA), analisis *scanning electron microcopy* (SEM), analisis spektroskopi-IR dan setelah itu dilakukan penetapan kadar perolehan kembali zat aktif, kemudian dilakukan uji kelarutan

### **3.4. Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1. Pemeriksaan Bahan Baku**

- 1) Pemeriksaan bahan baku kuersetin dan Nikotinamida dilakukan sesuai dengan *British Pharmacopoeia*, dan *United State Pharmacopoeia Medicines Compendium* dan *The Merck Index* meliputi pemeriksaan organoleptis (bentuk, warna, dan bau), kelarutan, identifikasi DTA, SEM, difraksi sinar-X, dan Uji kelarutan.

- 2) Pemeriksaan bahan baku nikotinamid dilakukan sesuai dengan Farmakope Indonesia edisi IV dan *British Pharmacopeia* meliputi pemeriksaan organoleptis (bentuk, warna, dan bau), dan kelarutan

#### **3.4.2. Pembuatan Campuran Fisik Kuersetin-Nikotinamida**

Campuran fisik kuersetin - nikotinamida dibuat dengan perbandingan equimol 1:1 (3,04391g : 1,95608g). Kuersetin dan nikotinamida digerus masing-masing dalam *mortar and pestle* berbeda selama 1 jam. Keduanya dicampur dan diaduk-aduk dengan sudip. Kemudian sampel disimpan dalam desikator.

#### **3.4.3. Pembuatan Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida dengan metoda Kokristalisasi Penguapan Pelarut.**

Kuersetin dan nikotinamida dicampur dengan perbandingan equimol 1:1 (3,04391g : 1,95608g) dan dilarutkan dengan etanol hingga semua larut. Etanol dipilih karena kuersetin memiliki kelarutan yang lebih baik dalam etanol. Kemudian pelarut diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporatore*. Kemudian disimpan dalam wadah yang tertutup rapat di desikator

#### **3.4.4 Evaluasi Kuersetin, Campuran Fisik, dan Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida (Zaini, 2010)**

##### **3.4.4.1. Analisis Difraksi Sinar-X**

Analisis difraksi sinar-X serbuk sampel dilakukan pada suhu ruang dengan menggunakan alat tipe difraktometer Rigaku tipe RINT-2500. Kondisi pengukuran sebagai berikut: target logam Cu, filter Ka, voltase 40 kV, arus 40



mA, analisis dilakukan pada rentang  $2\theta$  5 °- 35 °. Sampel diletakkan pada tempat sampel (kaca) dan diratakan untuk mencegah orientasi partikel selama penyiapan sampel.

#### **3.4.4.2. Analisis Termal Diferensial**

Analisis termal sampel dilakukan dengan menggunakan alat DTA yang telah dikalibrasi suhunya dengan Indium. Sampel sejumlah 3-5 mg diletakkan pada plat alumunium yang tertutup. Alat DTA diprogram pada rentang suhu 30-330 °C dengan kecepatan pemanasan 10 °C per menit.

#### **3.4.4.3. Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM)**

Sampel serbuk diletakkan pada tempat sampel yang terbuat dari alumunium dan dilapisi dengan emas ketebalan 10 nm. Sampel kemudian diamati pada berbagai perbesaran alat SEM. Voltase diatur pada 20 kV dan arus 12 mA.

#### **3.4.4.4. Analisis Spektrofotometer IR**

Sampel diletakkan diatas kristal ATR hingga menutupi semua permukaan kristal. Tutup sampel dengan memberikan sedikit tekanan dan pengambilan spektrum serapan IR dilakukan terhadap sampel.

### 3.5 Penetapan Perolehan Kembali (Behera, *et. al.*, 2013)

#### 3.5.1 Kondisi Kromatografi

Kolom	: LiChrosper RP-18, 4,0 x 125 (5 $\mu$ m)
Fase gerak	: Asetonitril grade HPLC : Asam Fosfa(55:45)
Laju alir	: 1 mL/menit
Detektor	: UV $\lambda$ 373 nm
Volume injek	: 20 $\mu$ L
<i>Run time</i>	: 5,22 menit

#### 3.5.2 Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Sebanyak 25 mg kuersetin dilarutkan dengan asetonitril, dicukupkan hingga 25 ml sehingga larutan didapatkan konsentrasi 1000 ppm.

#### 3.5.3 Penentuan Waktu Retensi Kuersetin dengan HPLC

Sebanyak 1,25 ml larutan induk kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dicukupkan hingga tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi analit kuersetin 50 ppm. Penentuan waktu retensi menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat (55:45). Didapatkan waktu retensi kuersetin 5,22 menit.

#### 3.5.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin dengan HPLC

Dari larutan induk, dibuat pengenceran dengan cara masing-masing dipipet 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan 5 ml ke dalam labu ukur 50 ml. Cukupkan dengan asetonitril sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 20  $\mu$ g/ml, 40  $\mu$ g/ml, 60  $\mu$ g/ml, 80  $\mu$ g/ml, dan 100  $\mu$ g/ml.

Semua larutan standar disaring dengan menggunakan penyaring *milipore*. Lalu luas areanya ditentukan menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat (55:45).

#### 3.5.5 Penetapan perolehan kembali kuersetin dengan HPLC

Ditimbang serbuk yang setara dengan 25 mg kuersetin, dilarutkan dalam 25 ml asetonitril. Dari larutan kuersetin dilakukan pengenceran dengan cara memipet sebanyak 2,5 mL larutan kemudian dicukupkan volumenya sampai 25 mL. Lalu luas areanya ditentukan menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat (55:45). Konsentrasi kuersetin dalam serbuk ditentukan menggunakan kurva kalibrasi lalu dihitung kadar masing-masing formula dan ditentukan persen perolehan kembalinya. Pengulangan untuk penetapan kadar dilakukan sebanyak 3 kali.

### 3.6 Uji kelarutan

Uji kelarutan dilakukan pada kuersetin murni, campuran fisik, dan sistem biner kuersetin-nikotinamida yang dibuat menjadi larutan jenuh. Kuersetin murni ditimbang dengan jumlah berlebih, campuran fisik dan sistem biner kuersetin-nikotinamida sebanyak 146,47 mg (setara 100 mg kuersetin) dimasukkan dalam erlenmeyer 100 mL kemudian tambahkan 100 mL etanol:air (1:1) (Smith, A.D., *et al.*, 2011 ). Pengujian dilakukan selama 24 jam menggunakan alat *orbital shaker*. Setelah itu sampel disaring dengan menggunakan kertas saring *Whatman* (0,45  $\mu\text{m}$ ). Larutan filtrat dihomogenkan kemudian diambil sebanyak 1,25 mL, lalu

hitung kadar kuersetin terlarut dengan menggunakan HPLC (M. Kakran, *et al.*, 2008).

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Hasil Penelitian

#### 4.1.1. Pemeriksaan Bahan Baku

##### a. Pemeriksaan bahan baku kuersetin

Pemeriksaan bahan baku kuersetin sesuai dengan persyaratan yang tercantum pada *USP Medicines Compendium* dan *The Merck Index*. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada Lampiran 2 Tabel II.1 dan sertifikat analisisnya pada Lampiran 2 Tabel IV.3.

##### b. Pemeriksaan bahan baku nikotinamida

Pemeriksaan bahan baku nikotinamida sesuai dengan persyaratan yang tercantum pada *Farmakope Indonesia IV* dan *USP 30*. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada Lampiran 2 Tabel II.2 dan sertifikat analisisnya pada Lampiran 2 Tabel IV.4.

#### 4.1.2. Evaluasi Sistem Biner

- a. Hasil analisis difraksi sinar-X dari kuersetin, nikotinamida murni, campuran fisik, dan sistem biner kuersetin-nikotinamida dapat dilihat pada Lampiran 5 Gambar IV.11. Dari difraktogram tersebut jika dibandingkan dengan kuersetin dan nikotinamida murni terlihat bahwa terdapat penurunan intensitas pada beberapa puncak interferensi pada sampel campuran fisik

dan sistem biner hasil penguapan pelarut. Namun pada sistem biner tidak terdapat beberapa puncak interferensi khas baru yang muncul.

- b. Hasil analisis termal (DTA) dari kuersetin, nikotinamida murni, campuran fisik dan sistem biner kuersetin-nikotinamida dapat dilihat pada Lampiran 4 Gambar IV.7 – IV.10. Kuersetin memiliki titik lebur 318,1 °C dan nikotinamida memiliki titik lebur 134,4 °C. Hasil termogram DTA sampel campuran fisik dan sistem biner terlihat adanya perubahan titik lebur menjadi 231,3 °C dan 230,1 °C yang menandakan adanya interaksi fisika dari kedua zat tersebut yang diduga merupakan fase kokristal.
- c. Hasil pemeriksaan morfologi kuersetin, nikotinamida murni, campuran fisik, dan sistem biner kuersetin – nikotinamida menggunakan SEM dapat dilihat pada Lampiran 6 Gambar IV.12 - IV.15.
- d. Hasil analisis dengan Spektroskopi-IR kuersetin, nikotinamida murni, campuran fisik, dan sistem biner kuersetin – nikotinamida dapat dilihat pada Lampiran 3 Gambar IV.3–IV.6.

#### **4.1.3 Penentuan Perolehan Kembali Kuersetin dalam Campuran Fisik dan Sistem Biner dengan HPLC**

- a. Penentuan waktu retensi kuersetin dan nikotinamida dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat (55:45) pada panjang gelombang 373 nm. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada Lampiran 7 Gambar IV.16.
- b. Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45) pada panjang gelombang 373 nm menghasilkan

persamaan  $Y=34210x + 1140622,5$  nilai  $r = 0,999$ . Hasilnya dapat dilihat pada Lampiran 7 Tabel IV.4 dan gambar IV.2. Serta validasi metoda dari masing-masing zat dapat dilihat pada Lampiran 7 Tabel IV.6.

- c. Hasil penentuan perolehan kembali kuersetin pada campuran fisik dan sistem biner dalam asetonitril adalah  $95,9 \pm 0,16\%$  dan  $103,7 \pm 0,5\%$ . Hasil lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 7 Tabel IV.7.

#### **4.1.4 Uji Kelarutan**

Hasil uji kelarutan dari kuersetin, campuran fisik kuersetin-nikotinamida dan sistem biner kuersetin-nikotinamida dalam medium etanol:air (1:1) dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45) didapatkan kelarutan dari kuersetin murni  $0,297 \pm 0,005$  mg/ml, campuran fisik kuersetin-nikotinamida  $0,338 \pm 0,004$  mg/ml, sistem biner kuersetin-nikotinamida  $0,419 \pm 0,001$  mg/ml. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 8 Tabel IV.8.

## 4.2 Pembahasan

Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan bahan baku yang digunakan yaitu kuersetin dan nikotinamida. Pemeriksaan bahan baku kuersetin dilakukan berdasarkan persyaratan yang ada dalam *The Merck Index*, *USP Medicine Compendum*, dan *British Pharmacopoeia tahun 2009*. Pemeriksaan bahan baku nikotinamida berdasarkan persyaratan yang ada didalam *Farmakope Indonesia edisi IV* dan *British Pharmacopoeia tahun 2009*.

Dari pemeriksaan organoleptis, kuersetin berbentuk serbuk hablur berwarna kuning pucat dan tidak berbau. Kelarutannya praktis tidak larut dalam air (1 : > 10000) dan larut dalam etanol mendidih (1 : <30). Pada pengujian dengan spektrofotometer UV dalam pelarut etanol 30 % diperoleh nilai serapan maksimum pada panjang gelombang yang mendekati nilai pada literatur yaitu 252,2 nm dan 373 nm.

Pemeriksaan nikotinamida dilakukan berdasarkan persyaratan yang tertera di dalam Farmakope Indonesia edisi IV dan United States Pharmacopoeia XXX. Dari pemeriksaan organoleptis yang telah dilakukan, nikotinamida berbentuk serbuk hablur, memiliki bau yang khas dan berwarna putih. Kelarutannya mudah larut dalam air dan etanol 96% dengan kriteria 1 : <1. Pada pengujian spektrofotometer UV, didapat nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 261,8 nm menggunakan pelarut metanol.

Setelah dilakukan pemeriksaan bahan baku dan bahan tambahan (*co-former*) dilakukan pembuatan sistem biner kuersetin-nikotinamida dengan perbandingan ekuimolar (1:1) dengan metode kokristalisasi penguapan pelarutan. Pelarut yang



digunakan yaitu etanol. Kuersetin terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol sampai semua bagian kuersetin terlarut sehingga hanya nampak larutan bening berwarna kuning. Diwadiah yang berbeda nikotinamida dilarutkan dengan etanol sampai larut. Setelah itu kedua zat tersebut digabung dan dikeringkan dengan menggunakan *rotary evaporation*. Sistem biner dan campuran fisik yang diperoleh akan dianalisis dengan spektroskopi-IR, difraksi sinar X, DTA, SEM, penetapan kadar perolehan kembali dan uji kelarutan.

Analisa spektroskopi-IR kuersetin dilakukan untuk melihat adanya pergeseran spektrum yang terbentuk dari sistem biner kuersetin-nikotinamida karena setiap ikatan dalam suatu senyawa dapat menyerap sinar inframerah, salah satunya yaitu ikatan hidrogen atau ikatan *Van Der Waals*. Ikatan tersebut dapat mengalami *stretching* (peregangan) ataupun *bonding* (pengerutan). Daerah sidik jari (pada bilangan gelombang 1500-500  $\text{cm}^{-1}$ ) juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dengan membandingkan spektrum serapan sampel dengan spectrum serapan senyawa pembanding (Dachriyanus, 2004). Analisa menggunakan spektroskopi ini juga sering digunakan untuk mengetahui terjadinya interaksi antara obat dengan zat lain didalam sampel.

Pemeriksaan spektrum IR kuersetin menunjukkan bahan baku kuersetin memiliki transmittan spektrum IR yang relatif sama dengan transmittan spektrum IR kuersetin yang tertera pada literatur. Hal ini dibuktikan dengan hampir samanya transmittan kuersetin uji dengan pembanding menggunakan spektroskopi *infrared* pada bilangan gelombang 2000–400  $\text{cm}^{-1}$  (Dachriyanus, 2004). Dapat dilihat dari spektrum IR kuersetin didapat panjang gelombang 1655  $\text{cm}^{-1}$  menandakan adanya

regangan ikatan gugus C=O karena berada dalam kisaran  $1800 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ . Pemeriksaan spektrum IR nikotinamida menunjukkan bahwa nikotinamida juga memiliki transmitansi spektrum IR yang relatif sama pada bilangan gelombang uji  $2000-400 \text{ cm}^{-1}$ . Dapat dilihat dari spectrum spektroskopi-IR nikotinamida murni adanya panjang gelombang  $3357,96 \text{ cm}^{-1}$  menandakan adanya regangan ikatan gugus N-H karena berada dalam kisaran  $3060-3500 \text{ cm}^{-1}$ .

Setelah itu dilakukan analisa spektrum IR terhadap sistem biner kuersetin-nikotinamida, terlihat pada spektrum IR yang diberikan oleh sistem biner tersebut menunjukkan adanya perbedaan ketajaman puncak yang dihasilkan. Terlihat pada spektrum IR yang terbentuk, terjadi pergeseran pada gugus karbonil dengan intensitas yang lebih rendah dari murni, yaitu pada bilangan gelombang  $1686 \text{ cm}^{-1}$ . Pergeseran bilangan gelombang yang terjadi diduga karena telah terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus karbonil pada kuersetin dengan gugus amida pada nikotinamida (Mirza, 2008). Pergeseran gugus karbonil yang terjadi ini juga dapat menunjukkan telah terbentuknya fase kokristal (Alatas, *et al.*, 2013), tetapi dugaan pembentukan fase kokristal ini tidak didukung oleh data X-Ray. Untuk lebih jelasnya, dapat dilihat pada gambar dibawah ini dan juga pada Lampiran 3 Gambar IV.2–IV.6.

Pada analisa spektroskopi-IR kuersetin terdapat spektrum yang terbaca pada bilangan gelombang  $3000-3500 \text{ cm}^{-1}$ , setelah diperhatikan bilangan gelombang pada angka tersebut merupakan bilangan gelombang pada ikatan N-H. Padahal dari struktur kimia kuersetin tidak ada terdapat ikatan antara atom N dengan H. Diduga hal ini terjadi karena kuersetin yang didapat tidak dalam keadaan murni (didukung

oleh termogram DTA kuersetin) sehingga panjang gelombang yang terbaca merupakan panjang gelombang zat lain yang menjadi pengotornya. Lain halnya dengan spektrum nikotinamida, seharusnya pada panjang gelombang 3000-3500  $\text{cm}^{-1}$  terdapat serapan yang mengartikan adanya ikatan antara atom H dengan N mengingat pada struktur kimia nikotinamida terdapat gugus fungsi amina. Tetapi pada spektrum yang diperoleh tidak adanya serapan pada panjang gelombang tersebut, hal ini terjadi diduga kurang sensitifnya alat spektroskopi-IR yang digunakan.

Setelah analisis dengan spektroskopi-IR, dilakukan analisis termal DTA. Analisa termal DTA ini merupakan instrument analitik yang sangat bermanfaat dalam karakterisasi keadaan padat (*solid state interaction*) antara dua atau lebih material obat. Analisis termal DTA digunakan untuk mengevaluasi perubahan sifat termodinamika yang terjadi saat materi diberikan energi panas (Zaini, *et al.*, 2011). Sehingga dari analisis termal DTA ini dapat diamati perubahan sifat termodinamika yang terjadi pada saat materi diberikan energi panas, diantaranya peristiwa peleburan, rekristalisasi, desolvasi dan transformasi ke fase padat, yang dapat ditunjukkan pada puncak endotermik atau eksotermik pada termogram DTA.

Titik lebur kuersetin terlihat pada Lampiran 4 Gambar IV.7 yaitu 318,1°C ditunjukkan dengan satu puncak endotermik yang tajam, dan nikotinamida terlihat pada Gambar Lampiran 4 IV.8 memiliki titik lebur 134,4 °C. Sedangkan analisis termal sistem biner menggunakan alat DTA pada Lampiran 4 Gambar IV.10 memperlihatkan puncak endotermik baru dititik 230,1 °C yang diduga merupakan titik lebur fase kokristal antara kuersetin-nikotinamida.

Dari data yang didapatkan mengindikasikan penurunan titik lebur sistem biner hasil kokristalisasi yang diduga terbentuk campuran eutetik antara kuersetin-nikotinamida (Zaini, *et al.*, 2011). Pembentukan eutektikal sejumlah materi obat dengan nikotinamida juga telah dilaporkan, antara lain trimetoprim (Zaini, 2011) dan ibuprofen (Varma, 2005). Selain itu hasil ini didukung oleh difraktogram sistem biner kuersetin-nikotinamid adanya perbedaan puncak interferensi yang muncul antara kuersetin dan nikotinamida.

Pada termogram kuersetin terdapat banyak puncak yang mendampingi senyawa utama, didukung oleh data spektroskopi-IR sebelumnya, kuersetin yang digunakan tidak dalam keadaan murni sehingga zat lain yang diduga sebagai pengotor dalam zat tersebut ikut terdeteksi saat pengujian DTA. Selain itu kuersetin mempunyai sifat mudah teroksidasi oleh udara (Zenkevich, *et.al.*, 2007), sifat tersebut juga dianggap salah satu alasan yang diduga kenapa terbentuknya banyak puncak endotermik pada termogram kuersetin, puncak yang terbentuk tersebut dianggap hasil dari oksidasi kuersetin yang lama terpapar oleh udara saat dilakukan pengujian. Pada termogram sistem biner kuersetin-nikotinamida terdapat dua puncak endotermik yang berdampingan dengan puncak senyawa utama. Dua puncak tersebut dianggap sebagai campuran eutektikum dan puncak endotermik yang tajam kebawah dianggap sebagai puncak endotermik fase kokristal atau campuran peritektikum (terlihat pada Lampiran 4 gambar IV.10). Hal yang serupa juga terjadi pada campuran fisik kuersetin-nikotinamida. Tetapi pada pola difraktogram sinar-X tidak mendukung hasil pengamatan pada termogram DTA, karena tidak adanya puncak baru terbentuk pada difraktogram sinar-X sistem biner

kuersetin-nikotinamida yang mengartikan tidak terbentuknya fase kokristal. Sehingga analisis termogram DTA ini harus diteliti lebih lanjut.

Difraksi sinar X serbuk merupakan metode yang handal untuk karakterisasi interaksi padatan antara dua komponen padat (*solid state interaction*) untuk mengetahui apakah terbentuk fase kristalin baru atau tidak. Jika terbentuk fase kristalin baru dari hasil interaksi antar kedua komponen maka akan teramati secara nyata dari difraktogram sinar-X yang berbeda dari campuran fisika kedua komponen (Zaini, *et al.*, 2011).

Dari difraktogram sinar-X, dapat dilihat terjadinya penurunan intensitas puncak pada sampel sistem biner hasil penguapan pelarut disebabkan karena penguapan pelarut menggunakan rotary berlangsung pada suhu yang lebih tinggi dari pada suhu ruang, yaitu pada suhu 45°C. Sehingga proses rekristalisasi pertumbuhan kristal belum berlangsung secara sempurna, yang mengakibatkan derajat kristalinitas yang teramati melalui difraktogram sinar-X menjadi rendah, hanya sedikit terdapat puncak-puncak kristal (Jamaluddin, 2010). Hal ini mengindikasikan bahwa sistem biner antara kuersetin dan nikotinamida tidak menghasilkan fase kristalin baru (senyawa molekular), melainkan konglomerasi kedua fase kristal dalam keadaan padat atau seringkali disebut sebagai campuran eutektik sederhana (Zaini, 2011). Gambar diagram difraktogram dapat dilihat pada Lampiran 5 Gambar IV.11.

Hasil *Scanning Electron Microscopy* (SEM) kuersetin, nikotinamida, sistem biner kuersetin-nikotinamida terlihat habit kristal yaitu berbentuk seperti jarum pada kuersetin dan nikotinamida berbentuk seperti batang. Pada habit sistem biner

kuersetin-nikotinamida terdapat perbedaan yaitu memiliki ukuran kristal yang lebih kecil dan membentuk agregat dibandingkan dengan habit kristal murni. Hasil SEM telah menunjukkan bahwa telah terjadinya interaksi antara kuersetin dan nikotinamida sehingga mempengaruhi morfologi kristal masing-masing zat (Alatas, *et al.*, 2013). Hasil analisa SEM ini lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 6 Gambar IV.12-IV.15.

Setelah dilakukan pemeriksaan terhadap zat murni dan kokristal yang terbentuk melalui analisis spektroskopi-IR, DTA, Difraksi sinar-X, dan SEM, dilakukan penetapan kadar perolehan kembali dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Sebelum menentukan kadar zat aktif dalam sistem biner, maka terlebih dahulu harus dilakukan optimasi terhadap fase gerak yang digunakan. Optimasi dapat dilihat dari waktu retensi yang dihasilkan, linearitas, akurasi, dan presisi (Harmita, 2007). Dari Lampiran 7 Gambar IV.16 dapat dilihat waktu retensi untuk kuersetin adalah 5,2 menit.

Kurva kalibrasi kuersetin dibuat dengan cara membuat seri larutan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 20,3 ppm, 40,6 ppm, 60,9 ppm, 81,2 ppm, dan 101,6 ppm didalam pelarut asetonitril. Dari seri larutan zat ini didapatkan persamaan regresi kuersetin adalah  $Y = 34210x + 1140622,5$  dan nilai  $r^2 = 0,9981$   $r = 0,999$ . Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan linear antara konsentrasi dan luas area dalam asetonitril. Hasil ini dapat dilihat jelas pada Lampiran 7 Tabel IV.5 dan Gambar IV.16. Hasil uji penetapan perolehan kembali zat dalam campuran fisik dan sistem biner kuersetin-nikotinamida adalah  $95,9 \pm 0,16\%$  dan  $103,7 \pm 0,5\%$ . Hasil ini dapat dilihat pada Lampiran 7 Tabel IV.7.

Pengujian selanjutnya adalah uji kelarutan terhadap kuersetin, sistem biner, dan campuran fisik kuersetin-nikotinamida. Senyawa obat terkadang memiliki kelarutan yang buruk didalam air. Peningkatan kelarutan senyawa obat sukar larut dalam air merupakan pendekatan yang sangat tepat untuk memperbaiki absorpsi senyawa obat tersebut dalam saluran pencernaan melalui rute oral (Chono, 2008). Kelarutan merupakan salah satu sifat fisikokimia senyawa obat yang dapat meramalkan derajat absorpsi obat dalam saluran cerna (Zaini *et.al.*, 2011). Pembentukan fase kokristal merupakan salah satu metode yang dikembangkan dalam bidang ilmu rekayasa kristal untuk mendapatkan senyawa dengan sifat fisikokimia yang lebih baik terutama dari segi kelarutannya (Trask, 2005).

Uji kelarutan dilakukan terhadap kuersetin, campuran fisik dan sistem biner kuersetin-nikotinamida dalam medium etanol:air (1:1) (Smith, A.D., *et al.*, 2011). Medium ini dipilih mengingat sifat kuersetin yang dapat mengalami oksidasi didalam air dan oksigen yang berada didalam air dan udara (Zenkevich, *et.al.*, 2007). Dimana sampel ditimbang terlebih setelah itu dilarutkan dalam 100 mL etanol:air lalu dilakukan homogenisasi hingga larutan mencapai titik jenuh dengan menggunakan alat *orbital shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 125 ppm. Dari hasil yang diperoleh didapatkan uji kelarutan kuersetin adalah  $0,297 \pm 0,005$  mg/mL sesuai dengan literatur (Smith, A.D., *et al.*, 2011), campuran fisik dan sistem biner adalah  $0,338 \pm 0,004$  mg/mL dan  $0,419 \pm 0,001$  mg/mL. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan kelarutan sistem biner dan campuran fisik dibandingkan dengan kuersetin disebabkan berbagai mekanisme diantaranya proses penambahan pelarut sehingga menyebabkan kuersetin terdispersi dalam bentuk

molekul dan pembentukan eutektik yang memperkecil ukuran partikel (Zaini *et al.*, 2011). Selain itu diduga adanya interaksi kimia yang terjadi antara kuersetin dan nikotinamida dan ditambah dengan hadirnya nikotinamida yang bersifat sangat hidrotropik sehingga dapat meningkatkan kelarutan kuersetin (Martin, 1983).

Peningkatan kecepatan kelarutan ini juga didukung dari hasil pemeriksaan sebelumnya dimana pada analisa DTA terjadinya penurunan titik lebur dari sistem biner yang dibentuk. Penurunan titik lebur ini menandakan telah terjadinya interaksi antara dua senyawa tersebut. Penurunan titik lebur ini diduga menyebabkan sistem biner yang dibuat memiliki kecepatan kelarutan yang lebih baik karena semakin rendah titik lebur suatu senyawa maka semakin cepat senyawa tersebut untuk melebur dan akan cepat larut.

Dari analisa spektroskopi-IR juga dapat dilihat terjadinya pergeseran gelombang dari gugus senyawa yang ada, dimana kemungkinan terbentuknya ikatan hidrogen dari interaksi kedua senyawa. Ikatan hidrogen yang terbentuk akan mempermudah putusnya ikatan antar molekul saat kontak dengan air saat dilakukan uji kelarutan. Hal ini lah yang menyokong kenapa terjadi peningkatan kecepatan kelarutan dari sampel sistem biner yang telah dibentuk. Walaupun terjadinya peningkatan kelarutan, kategori kelarutan sistem biner dan campuran fisik ini masih dalam kelas “Sangat Sukar Larut” dalam medium etanol:air (1:1), sehingga dapat disimpulkan pembentukan sistem biner kuersetin-nikotinamida tidak terlalu meningkatkan kelarutan dari zat tersebut.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari data yang diperoleh pada penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pembentukan sistem biner kuersetin-nikotinamida dengan metode kokristalisasi pelarut tidak menghasilkan fase kristalin yang baru.
2. Dari hasil identifikasi dengan difraksi sinar-X, DTA , FT-IR, dan SEM menunjukkan pembentukan campuran eutektik sederhana antara kedua fase kristalin dalam keadaan padat yang ditandai dengan penurunan titik lebur yaitu diantara titik lebur kedua komponen penyusunnya.
3. Terjadinya peningkatan kelarutan sistem biner ( $0,419 \pm 0,001$  mg/mL) dan campuran fisik ( $0,338 \pm 0,004$  mg/mL) dibandingkan dengan kuersetin murni ( $0,297 \pm 0,005$  mg/mL)

### 5.2. Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait metode dan koformer yang tepat dalam pembentukan kokristal kuersetin seperti kafein, asam asetilsalisilat, asam suksinat, asam fumarat, dan lain sebagainya.

## DAFTAR PUSTAKA

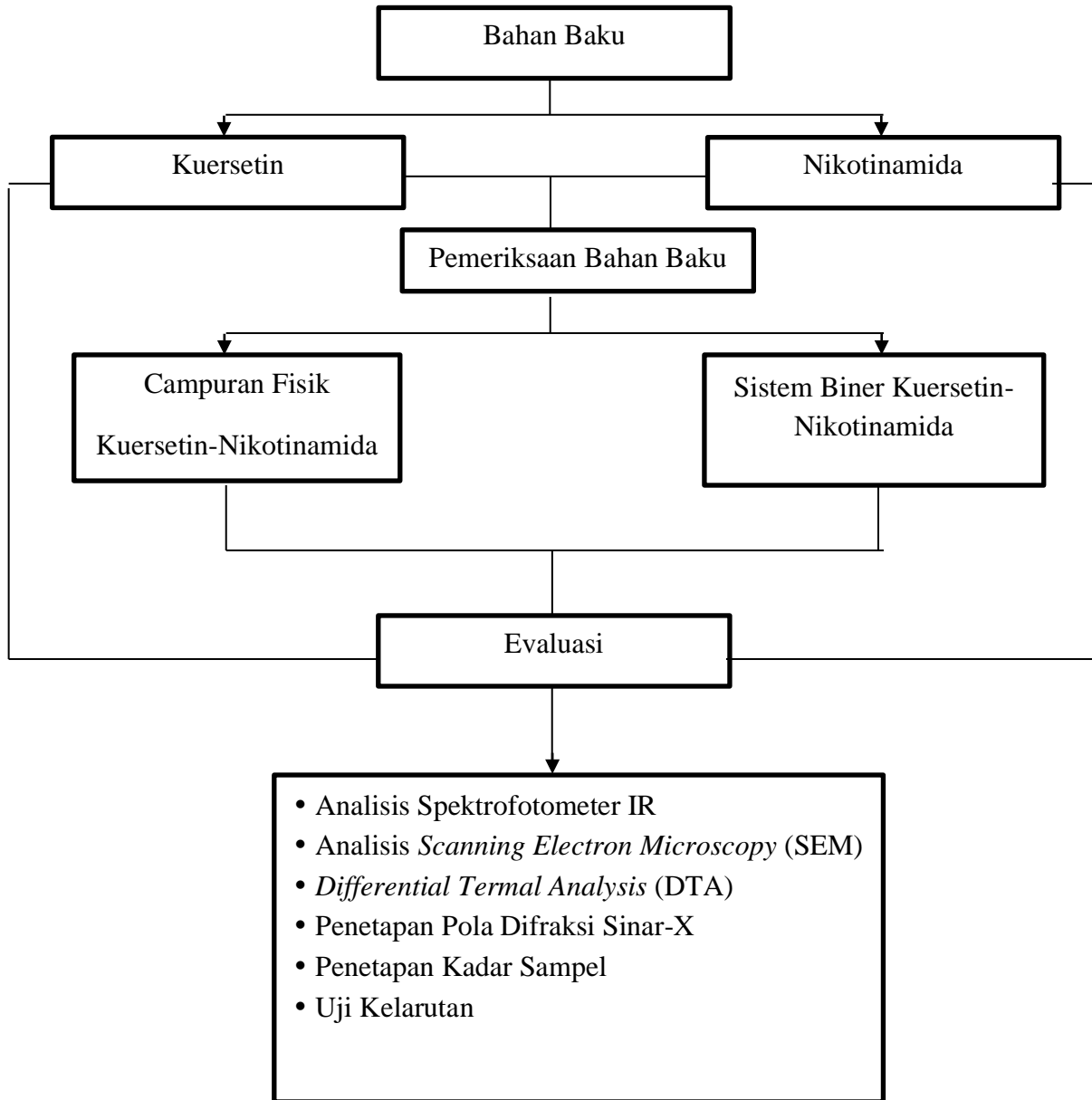
- Alatas, F., Soewandhi S.N., Sasongko, L., & Ismunandar. 2014. Kelarutan dan Stabilitas Kimia Komplek Didanosin dengan Nikotinamida atau L-Arginin. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 15, 94–102
- Ansel, C.H. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Keempat*. Jakarta: UI Press
- Berry DJ, C.C. Seaton, W. Clegg, R.W. Harrington, S.J. Coles, P.N. Horton, M.B. Hursthouse, R. Storey, W. Jones, T. Friscic, N. Blagden. 2008. Applying Hot-stage Microscopy to Co-crystal Screening: A Study of icotinamide with Seven Active Pharmaceutical Ingredients. *Crystal. Growth Design*. 8, 697-712
- Bracke, Marc E, Eric A. Bruyneel, Stefan J. Vermeulen, Krist’l Vennekens, Veerle Van Marck, and Marc M. Mareel. 1994. *Citrus Flavonoid Effect on Tumor Invasion and Metastasis*. Food Tech :121-124
- Brittain, H.G. 1999. *Analytical profiles of drugs substances and excipients Volume 26*. California : Academic Press.
- British Pharmacopoeia Commission. 2009. *British Pharmacopoeia 2009*. London: The Pharmaceutical Press.
- Cadha, R., Saini, A., Arora, P., Chanda, S., & Dharamvirsingh Jain. 2011. Cocrystal of Efavirenz with Selected Coformer: Preparation and Characterization. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 4, 244-250.
- Chang, K.L. & Chiu, G.N.C. 2013. *Micellar Quercetin Shows Significant Improvement in Water-solubility and Notable Anti-cancer Activity against Mammalian Breast Cancer Cells*. Department of Pharmacy, Faculty of Science, National University of Singapore
- Cheney, N. Shan, E.R. Healey, M. Hanna, L. Wojtas, M.J. Zaworotko, V. Sava, S. Song, J.R. Sanches-Ramos. 2010. Effects of crystal form on solubility and pharmacokinetics: a crystal engineering case study of amotrigine. *Crystal Growth Design*, 10, 394-405
- Chieng, M.N. Hubert, D. Saville, T. Rades, J. Aaltonen. 2009. Formation Kinetics and Stability of Carbamazepine-Nicotinamide Cocrystals Prepared by Mechanical Activation. *Crystal Growth Design*, 9, 77-86

- Chono, S., Takeda, E., Seki, T., & Marimoto, K. 2008. Enhancement of the Dissolution Rate and Gastrointestinal Absorption of Prankulast as a Model Poorly Water Soluble Drug by Grinding with Gelatin, *Int J Pharm*, 347, 71-78.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis struktur senyawa organik secara spektroskopi*. Padang: Universitas Andalas.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta.
- Davis, R. E., Lorimer, K. A., Wilkowski, M. A., & Rivers, J. H. 2004. Studies of relationship in cocrystal systems. *ACA Transactions*, 39, 41-61
- Gaur, P.K, Mishra, Purohit, S dan Dave, K, 2009, Transdermal drug delivery system: A Review. *AJPCR* , 2, 14-20.
- Haghiack, M, and Walle. T. 2005. Quercetin Induces Necrosis and Apoptosis in SCC-9 Oral Cancer Cells, Nutrition and Cancer. *Journal American Society for Nutritional Sciences*, 131, 745-748.
- Harmita. 2007. *Pemanfaatan kromatografi cair kinerja tinggi untuk analisis obat dalam bentuk sediaan farmasi dan bioanalisis*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Jamaluddin. 2010. *Xray Diffractions*. Kendari: Universitas Haluoleo
- Jayasankar, A. 2008. *Understanding the mechanisms, thermodynamics and kinetics of cocrystallization to control phase transformations*. (Disertasi). Michigan: The University of Michigan Press.
- Kendre, P.N., Pande, V.V. & Chavan M.K. 2014. Novel Formulation Strategy to Enhance Solubility of Quercetin. *Pharmacophore Journal*, 5 (3), 358-370
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.
- Lu, S.J. Rohani. 2000. Preparation and Characterization of Theophylline-Nicotinamide Cocrystal. *Organic Process Research & Development*, 13, 69-75
- Martin, A., Swarbrick, J., & Cammarata, A. 1983. *Physical Pharmacy 3<sup>rd</sup> edition*. Philadelphia: Lea & Fabringer.
- Mirza, S., Miroshnyk, I., Heinamaki, J., & Yliruusi, J. 2008. Co-Crystals: An Emerging Approach For Enhancing Properties Of Pharmaceutical Solids. *Pharmacophore Journal* 24,90-95.

- Nugrahani, I., Asyarie, S., Soewandhi, S.N. & Ibrahim, S. (2007). Solid State Interaction Between Amoxicillin Trihydrat and Potassium Clavulanat. *Malay J of Pharm Sci*, 5, 45-57.
- Painter, F. M. 1998. Monograph Quercetin. *Alternative Medicine Review*. 3 (2).
- Paterson, M. L., Hickey, M. B., Zaworotko, M. J., & Almarsson, O. 2006. Expanding the scope of crystal from evaluation in pharmaceutical science, *Journal of Pharmaceutical Science*, 9, 317-326.
- Pratiwi, Weni. (2013). *Preparasi Tablet Kokristal Ibuprofen – Nikotinamid Dan Evaluasi Laju Disolusinya*. (Skripsi). Padang: Universitas Andalas.
- Rajalakshmi, D dan S. Narasimhan. 1985. *Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation dalam D.L. Madhavi: Food Antioxidant, Technological, Toxilogical and Health Perspectives*. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 76-77
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*, 9 (2), 196 – 202
- Reimar, L. 1998. *Scanning Electron Microscopy : Physics of image formation and microanalysis 2<sup>nd</sup> edition*. London : Springer
- Remenar, J.F., M.L. Peterson, P.W. Stephens, Z. Zhang, Y. Zimenkov, M.B. Hickey. 2007. Celecoxib:Nicotinamide Dissociation: Using Excipients to Capture the Cocrystal's Potential. *Molecular Pharmaceutics*, 4, 386-400
- Sekhon, B.S. 2009. Pharmaceutical co-crystals – a review. *ARS Pharmaceutica*, 50, 99–117.
- Smith, A.D., Kavuru, P., Wojtas, L., Zaworotko, M.J., & Shytle, R.D. 2011. Cocrystal of Quercetin with Improved Solubility and Oral Bioavailability. *Mol. Pharmaceutics*, 8, 1867 – 1876.
- Sweetman, S.C. (2009). *Martindale, The Complete Drug Reference* (36<sup>th</sup> ed). London: The Pharmaceutical Press.
- Syofyan, Lucida, H., dan Bakhtiar, A. 2008. Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan  $\beta$ -siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13, 43 – 48
- The Merck Index. 1983. *An encyclopedia of chemical, drug, and biological* (Tenth Edition). London : Harper and Row
- Trask, A.V., dan Jones, W. 2005. Crystal Engineering of Organic Cocrystal by The Solid State Grinding Approach. *Topic on Current Chemistry*, 254, 41-70.

- Triani, F. 2012. *Pengaruh Metode Pembentukan Kokristal terhadap Laju Pelarutan Karbamazepin Menggunakan Asam Suksinat Sebagai Koformer* (Skripsi). Depok : FMIPA UI
- United States Environmental. 2005. *Nicotinamide*. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substance.
- Upadhyay, N., Shukla T. P., Mathur, A., Manmohan, & Jha, S. K. 2011. Pharmaceutical Co-Crystal: An Emerging Approach to Improve Physical Property. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 8, 144-148.
- Varma, M.M. & Pandi, J.K. 2005. Dissolution, solubility, XRD, and DSC studies on flurbiprofen-nicotinamide solid dispersions. *Drug Dev and Indust Pharm*, 31, 417-423.
- Veverka, M., Dubaj, Tibor., Gallovic, J., Jorik V., Veverkova, E., Danihelova M. & Simon, P. 2014. Cocrystal of Quercetin : Synthesis, Characterization, and Screening of Biological Activity. *Monatsh Chem*. 146, 99-109
- West, A.R. 2001. *Basic Solid State Chemistry 2<sup>nd</sup> edition*. Toronto : John Wiley & Sons.
- Zaini, E., Halim, A., Soewandhi, S.N., & Setyawan, D. 2011. Peningkatan Laju Pelarutan Trimetoprim melalui Metode Kokristalisasi dengan Nikotinamida. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 5, 195-204.
- Zenkevich, I.G., Eshchenko, A.Y., Makarova, S.V., Vitenberg, A.G., Dobryakov, Y.G., Utsal, V.A. 2007. Identification of the Products of Oxidation of Quercetin by Air Oxygen at Ambient Temperature. *Journal of Molecules*. 12, 654-672
- Zhu, J., Yang, Z.G., Chen, X.M., Sun, J.B., Awuti, G., Zhang, X. & Zhang, Q. 2007. Preparation and Physicochemical Characterization of Solid Dispersion of Quercetin and Polyninylpyrrolidone. *Journal of Chinese Pharmaceutical Science*. 16, 51-56
- Zhu, Qin Yan, Yu Huang and Zhen-Yu Chen. 2000. Interactions Between Flavonoids and  $\alpha$ -Tocopherol in Human Low Density Lipoprotein. *J. Nutr. Biochem*, 11, 14-21

## Lampiran 1. Skema Kerja



Gambar IV.1. Skema Kerja

## Lampiran 2. Pemeriksaan Bahan Baku

Tabel IV.1. Hasil pemeriksaan bahan baku kuersetin

No.	Pemeriksaan	Rujukan	Persyaratan	Pengamatan
1	Pemerian			
	a.Bentuk	The Merck Index, 1983	Serbuk	Serbuk
	b.Warna	The Merck Index, 1983	Kuning pucat	Kuning pucat
2	Kelarutan			
	a.dalam air	The Merck Index, 1983	Praktis tidak larut	1 - >10.000
	b.dalam etanol absolut	The Merck Index, 1983	1 gram larut dalam 290 ml etanol 96%	1 : > 100
	c. dalam etanol:air (1:1)	Smith, <i>et al.</i> , 2011	0,267 mg/mL	0,294 mg/mL
3	Identifikasi			
	Spektrofotometer UV dalam etanol	The Merck Index, 1983	250 dan 375 nm	252,2 dan 373 nm

## Lampiran 2. (lanjutan)

Tabel IV.2. Hasil pemeriksaan bahan baku nikotinamida

No.	Pemeriksaan	Persyaratan ( <i>Farmakope Indonesia IV, USP 30</i> )	Pengamatan
1	Pemerian		
	a.Bentuk	Serbuk hablur	Serbuk hablur
	b.Bau	Bau khas lemah	Berbau
	b.Warna	Putih atau tidak berwarna	Putih
2	Kelarutan		
	a.Dalam air	Sangat mudah larut	1 : <1
	b.Dalam etanol	Sangat mudah larut	1 : <1
3	Identifikasi		
	Spektrofotometer UV dalam metanol	262 nm	261,8 nm



## Lampiran 2. (lanjutan)

Tabel IV.3. Sertifikat analisis bahan baku kuersetin

**SIGMA-ALDRICH** sigmaaldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA  
Website: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)  
Email USA: [techserv@sigmaaldrich.com](mailto:techserv@sigmaaldrich.com)  
Outside USA: [eurotechserv@sigmaaldrich.com](mailto:eurotechserv@sigmaaldrich.com)

**Certificate of Analysis**

Product Name:  
Quercetin - ≥95% (HPLC), solid

Product Number: Q4251  
Batch Number: BLBK4625V  
Brand: SIGMA  
CAS Number: 117-09-5  
Formula: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>  
Formula Weight: 302.24 g/mol  
Quality Release Date: 19 MAY 2014



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Yellow to Yellow-Green	Yellow - Green
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color) 50 mg/mL, 1 M NaOH	Red to Very Dark Red	Very Dark Red
Water (by Karl Fischer)	≤ 4 %	2 %
Purity (HPLC)	≥ 95 %	98 %

  
Rodney Burbach, Manager  
Analytical Services  
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1 Page 1 of 1

## Lampiran 2. (lanjutan)

Tabel IV.4. Sertifikat analisis bahan baku nikotinamida

**kimia farma**

Piant Bandung

**LAPORAN ANALISA BAHAN BAKU**

Nama Bahan Baku : <b>NICOTINAMIDUM</b>	No. Batch : 11-12/NMD(P)/B/112 Exp. Date : 01-08-2016	Kode : FQC-01-0202/01 Tgl. Bertaku : 19 Maret 2012
Kode Bahan : 3312008 Origin : Western-India No. LA : B120241 No. SP : P123110	Supplier : PT.Kinas Global Indonusa Tgl. Sampling : 14-03-2012 Tgl. Selesai : 19-03-2012	Jumlah : 200 kg Pemeriksa : Bambang No. BTBS : B120241

No.	PEMERIKSAAN	SPESIFIKASI	HASIL
1	Pemerian (R)	Hablur atau serbuk hablur, warna putih atau tidak berwarna, berbau lemah dan khas	Serbuk hablur, warna putih, berbau lemah
2	Kelarutan (R)	Larut dalam 1 bagian air, dalam 1,5 bagian etanol; Sukar larut dalam kloroform dan eter	Sesuai
3	Identifikasi (R)	- Terbentuk bau ammonia - Terbentuk warna kuning - Jarak lebur 128° - 131° C	Sesuai 129,5° - 130,8°C
4	Susut pengeringan (R)	Tidak lebih dari 0,5 %	0,20%
5	Sisa pemijaran	Tidak lebih dari 0,1 %	0%
6	pH 5 %	6,0 - 7,5	6,6
7	Logam berat	Tidak lebih dari 30 bpj	Sesuai
8	Kejernihan larutan 5%	Jernih	Sesuai
9	Bahan yang mudah terarangkan	Warna lebih muda dari baku	Sesuai
10	Kadar (R)	99,0 - 101,0 % terhadap berat kering.	99,52%

Pustaka : FI IV, USP 25

Kesimpulan : Memenuhi syarat

Bandung, 19 Maret 2012

Penanggung Jawab :

AMQC

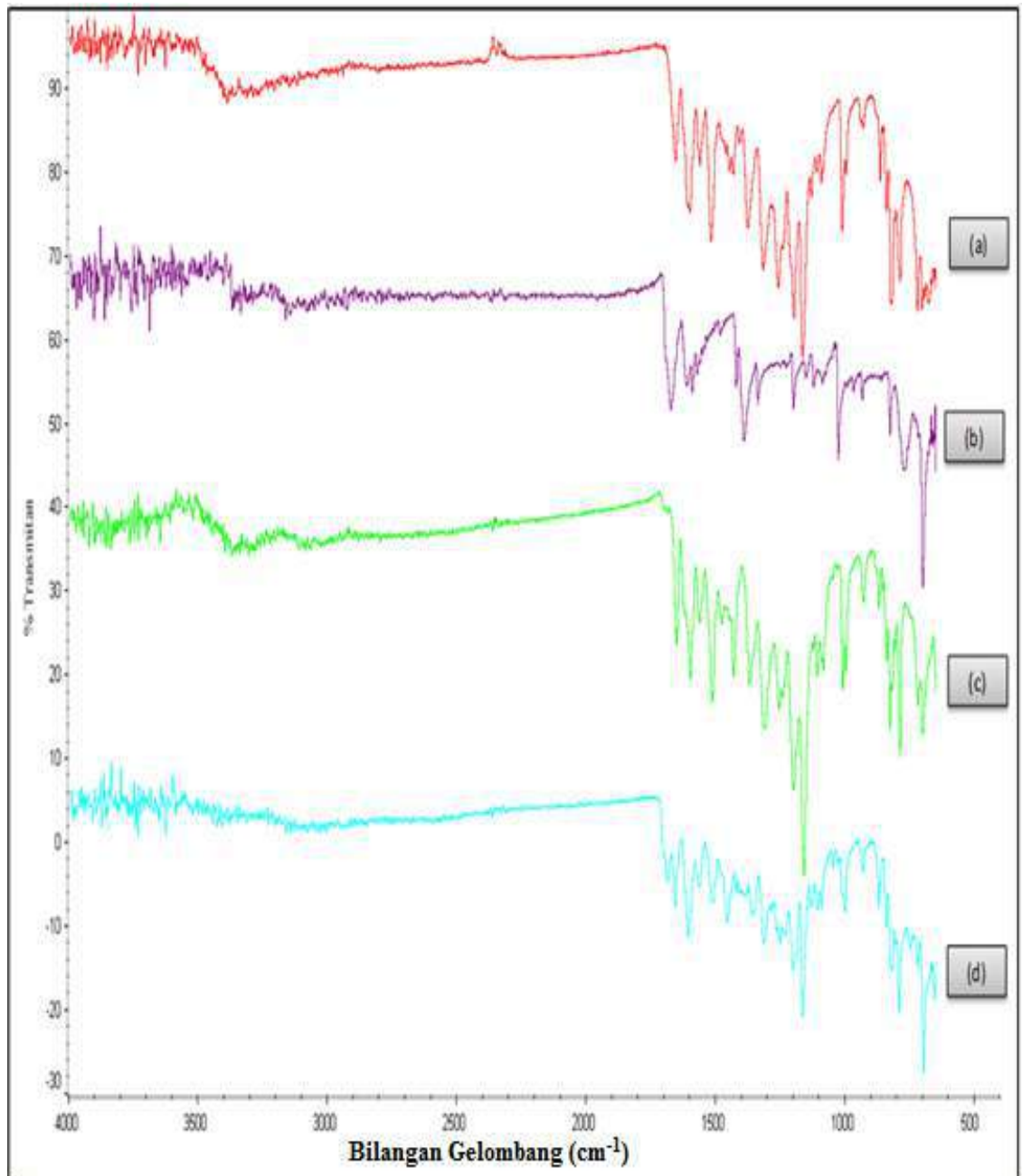
(Yanyan Solehuddin, S.Si, Apt)

Halaman 1 dari 1

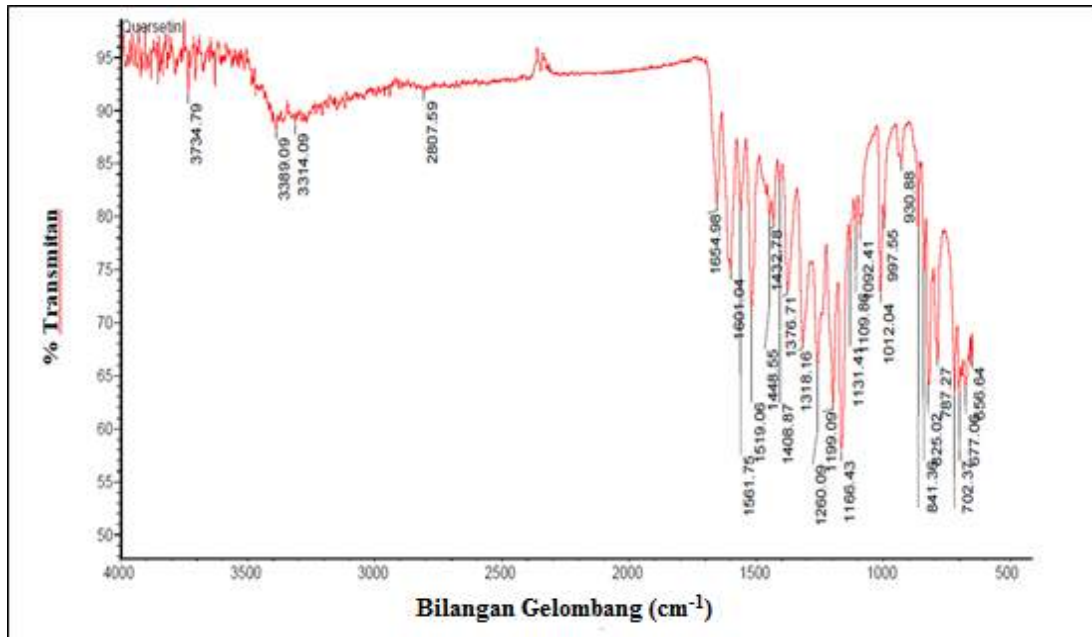
Jl. Pajajaran No. 29-31  
Bandung 40171  
Indonesia

Telp. (022) 4204043, 4204044  
Fax. (022) 4237079

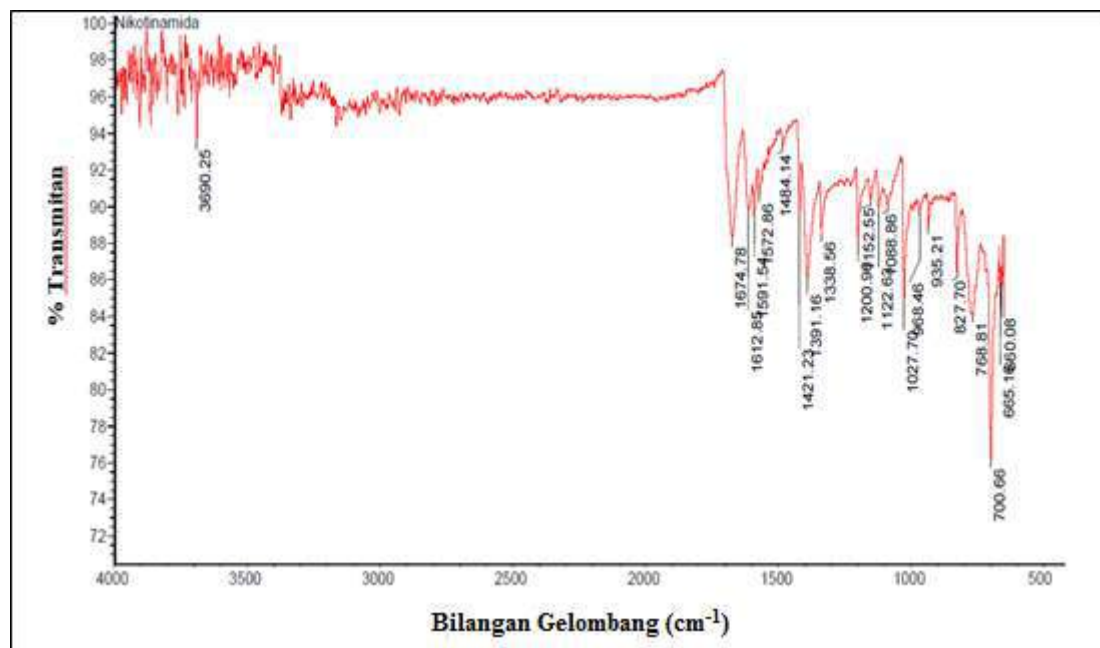
### Lampiran 3. Analisis Spektroskopi Infrared (IR)



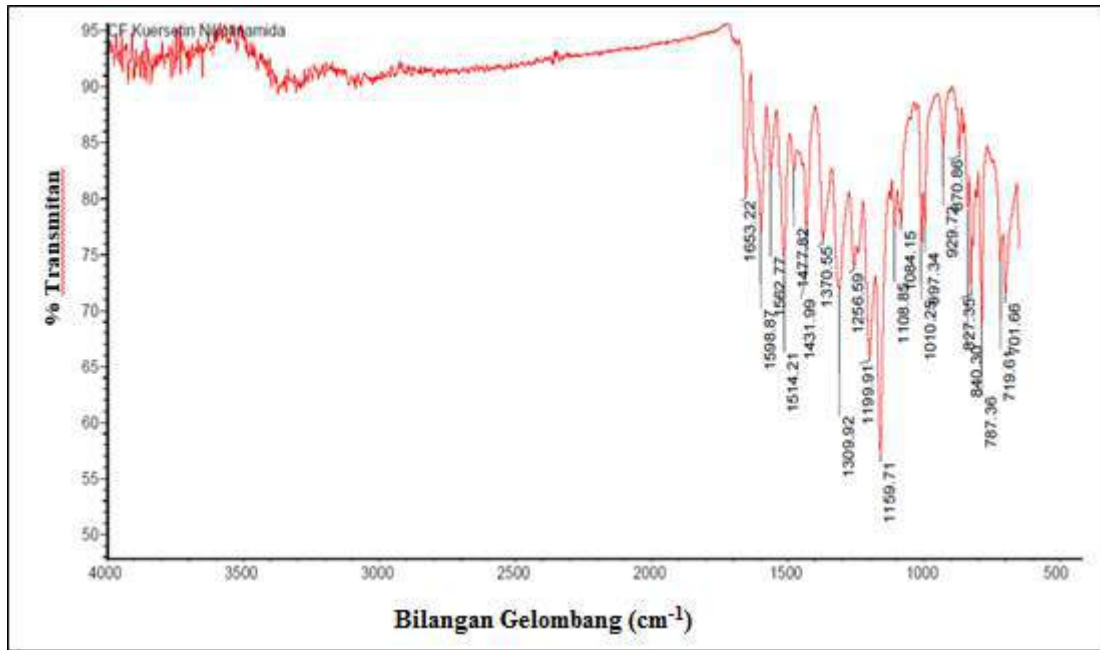
Gambar IV.2. Spektrum spektroskopi IR kuersetin (a), spektrum spektroskopi nikotinamida (b), spektrum spektroskopi campuran fisik kuersetin-nikotinamida (c), spektrum spektroskopi sistem biner kuersetin-nikotinamida (d).



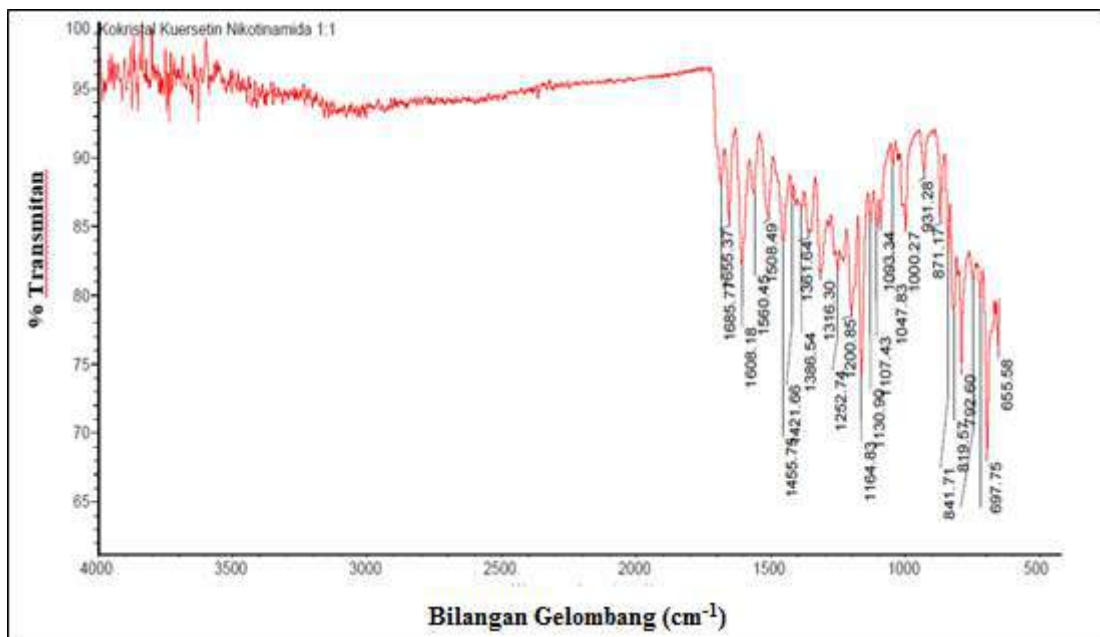
Gambar IV.3. Spektrum spektroskopi-IR kuersetin



Gambar IV.4. Spektrum spektroskopi-IR Nikotinamida murni

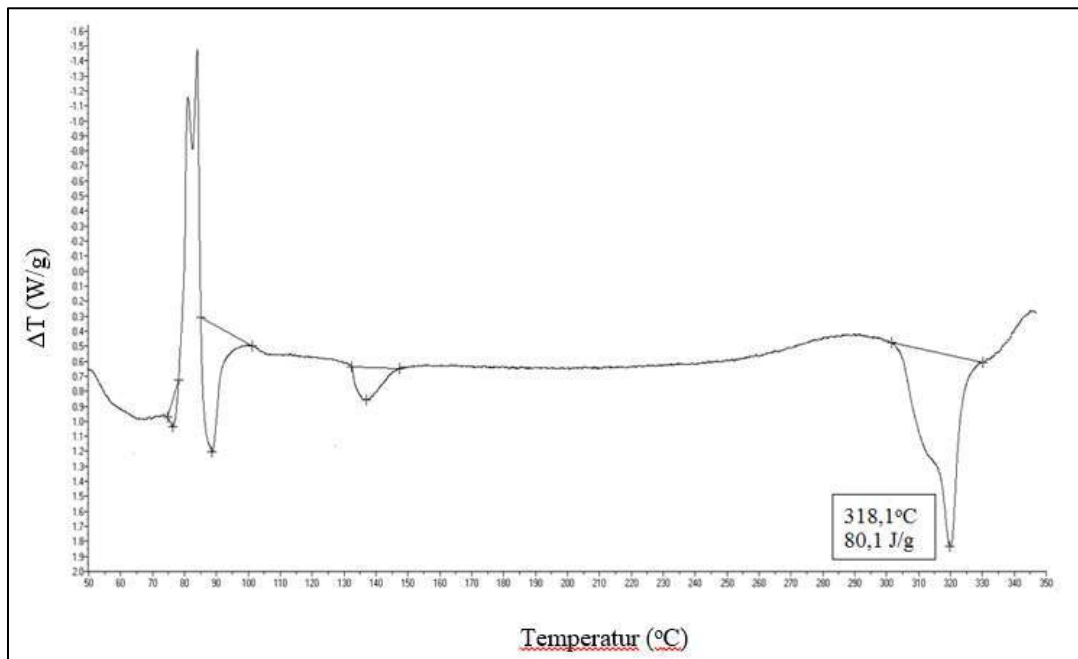


Gambar IV.5. Spektrum spektroskopi-IR campuran fisik Kuersetin:Nikotinamida (1:1)

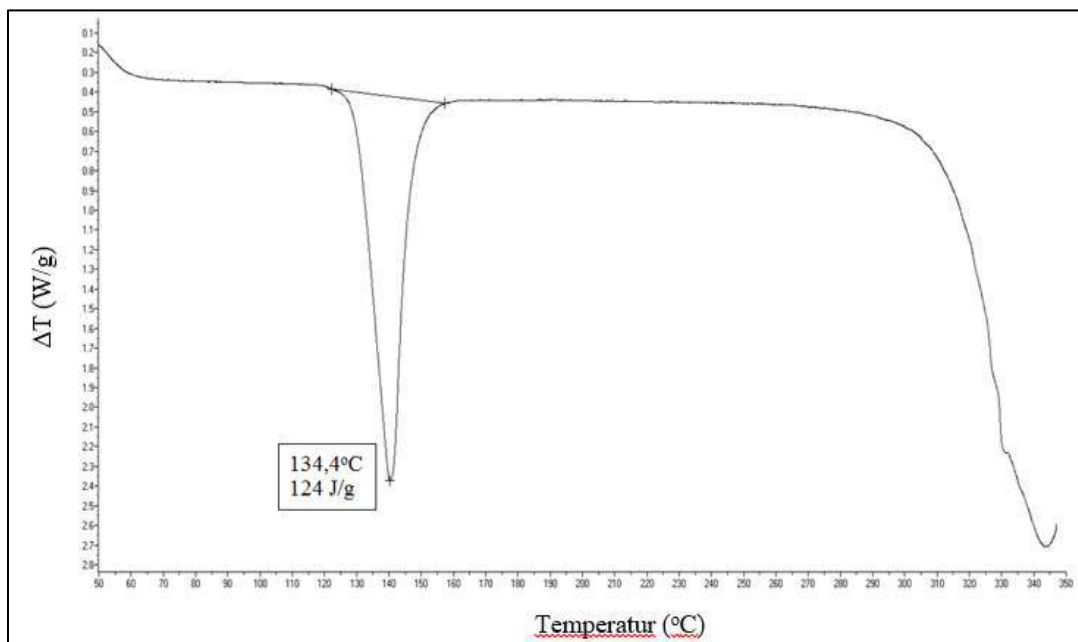


Gambar IV.6. Spektrum spektroskopi-IR sistem biner Kuersetin : Nikotinamida (1:1)

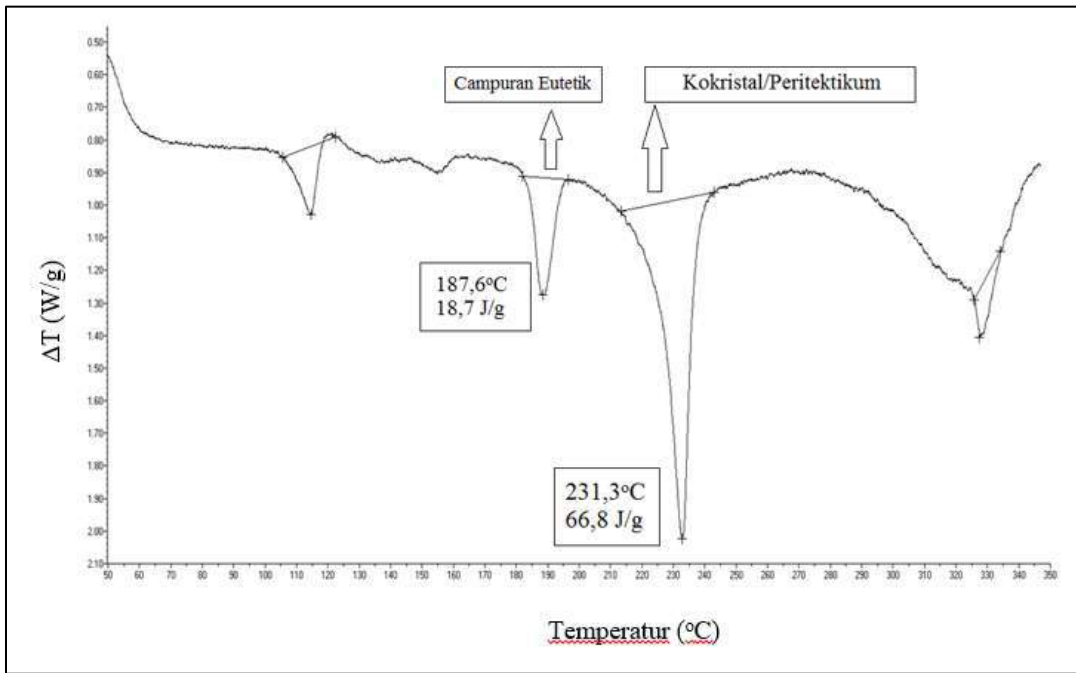
Lampiran 4. Analisa *Differential Thermal Analysis* (DTA)



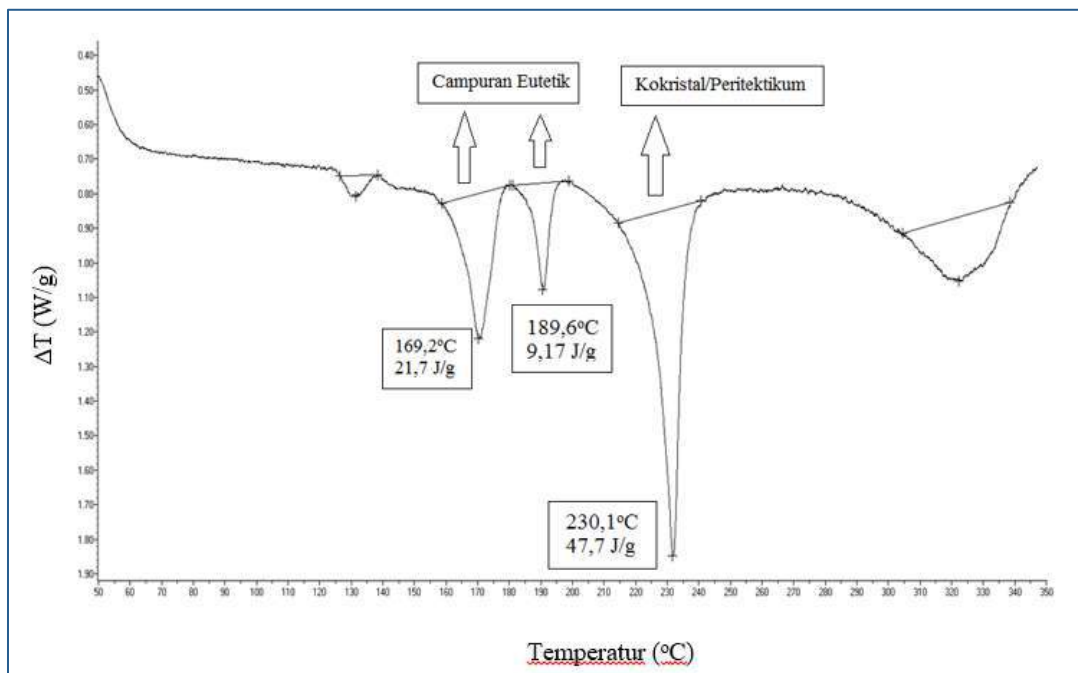
Gambar IV.7 Termogram kuersetin



Gambar IV.8. Termogram nikotinamida murni



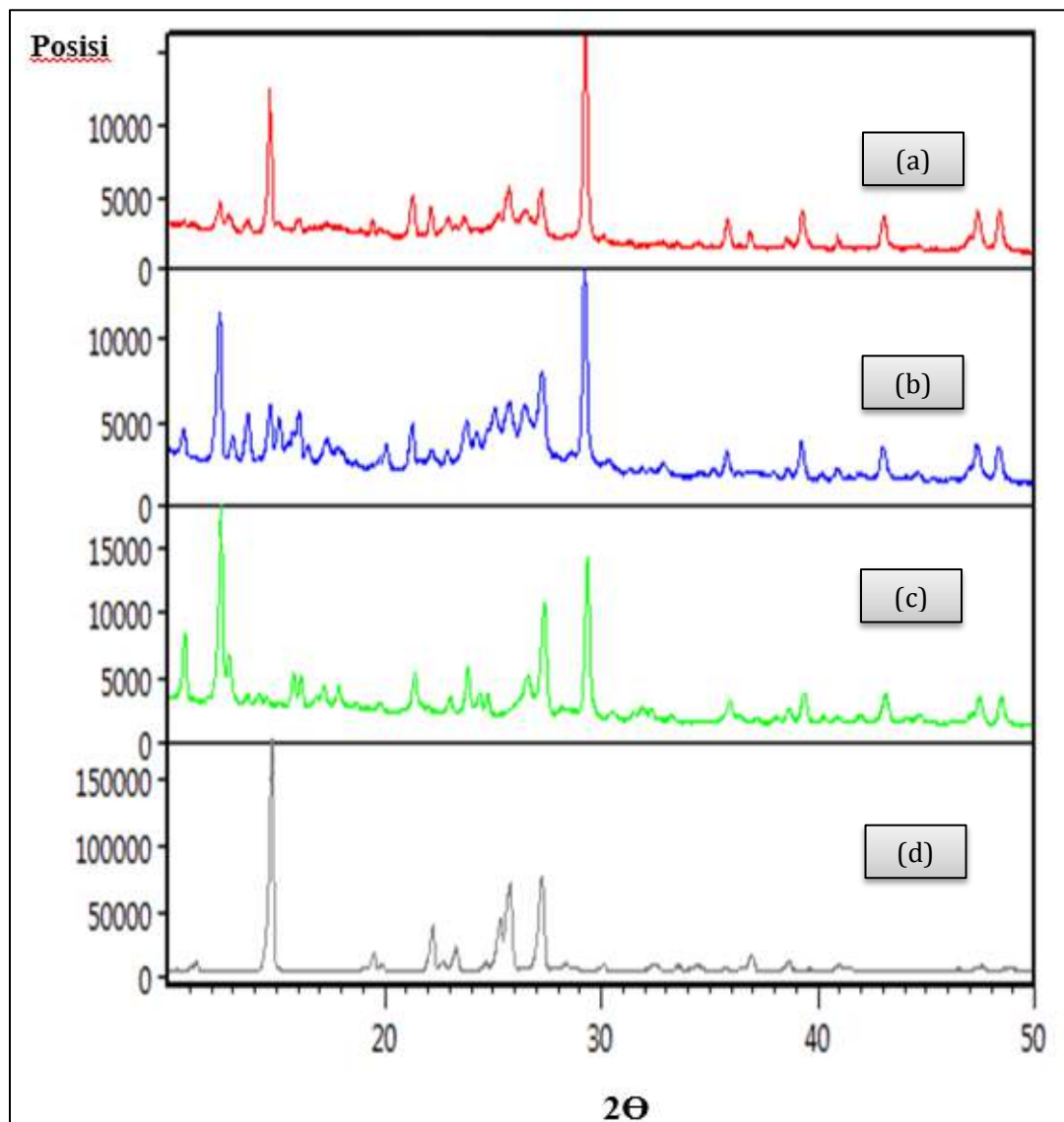
Gambar IV.9. Termogram campuran fisik kuersetin-nikotinamida (1:1)



Gambar IV. 10. Termogram sistem biner kuersetin-nikotinamida (1:1)



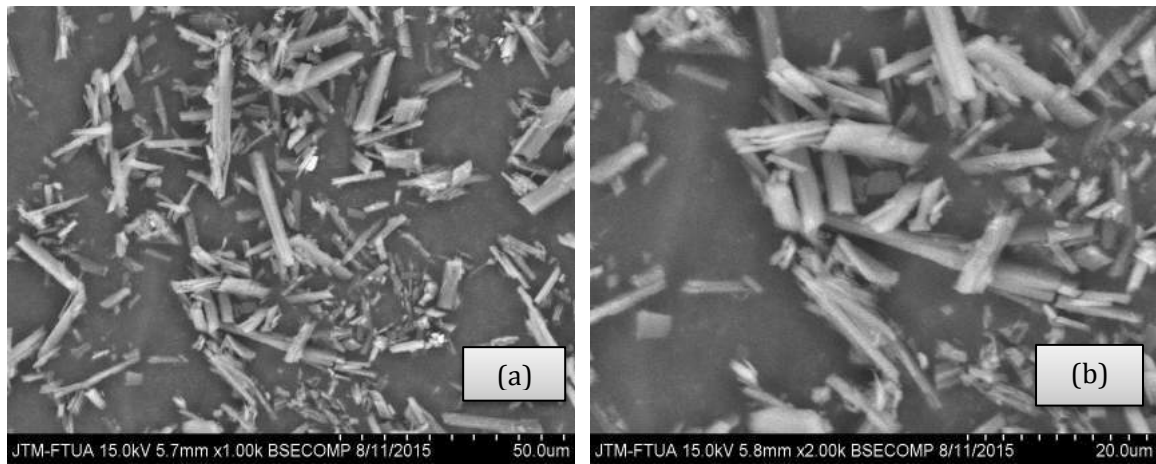
## Lampiran 5. Analisis Difraksi Sinar-X



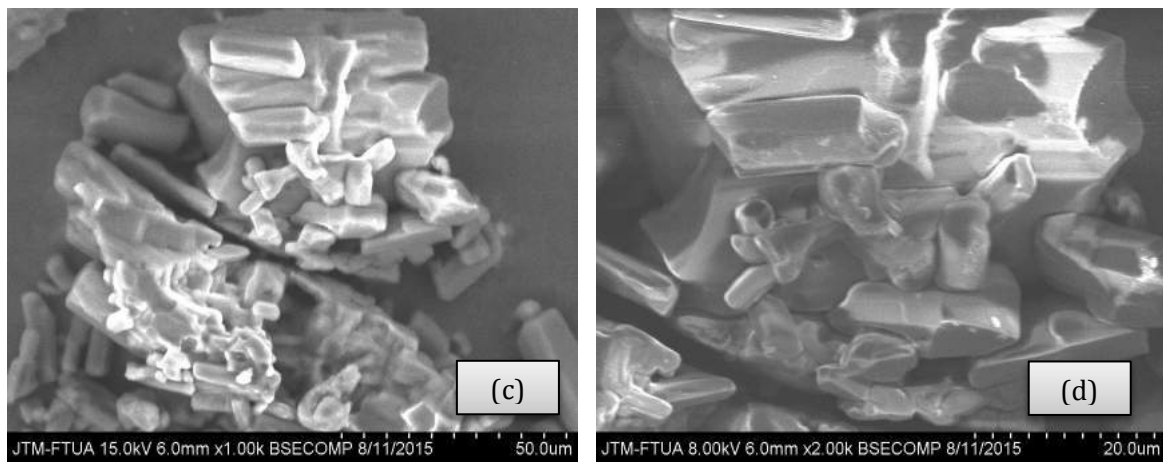
Gambar IV.11. (a) Difraktogram sinar-X campuran fisik kuersetin – nikotinamida 1:1, (b) difraktogram sinar-X sistem biner kuersetin-nikotinamida 1:1, (c) Difraktogram sinar-X kuersetin, (d) Difraktogram sinar-X nikotinamida murni



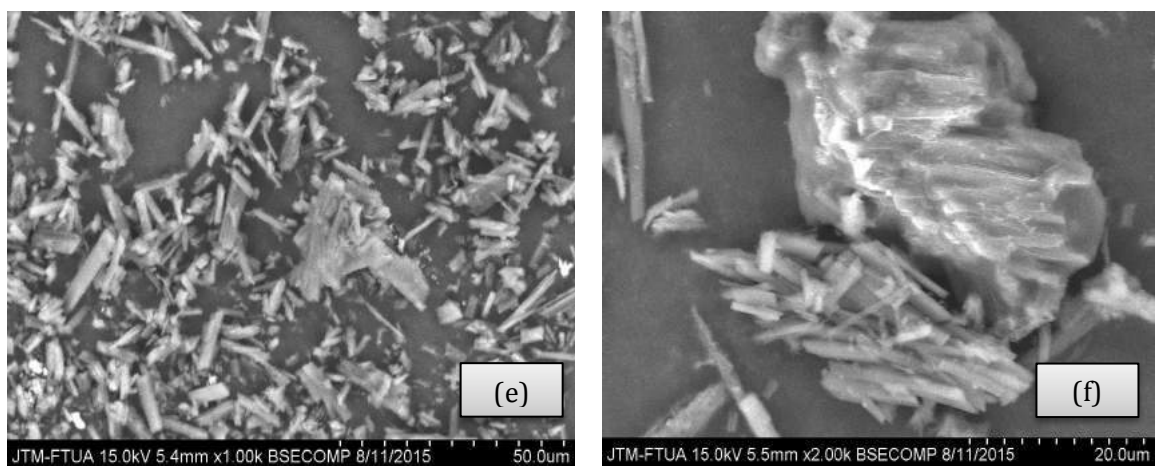
**Lampiran 6. Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM)**



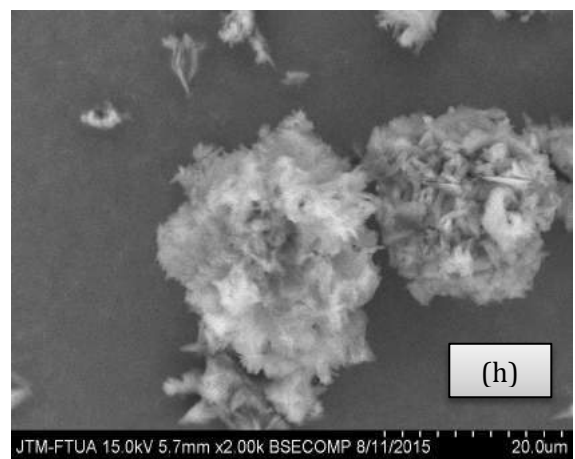
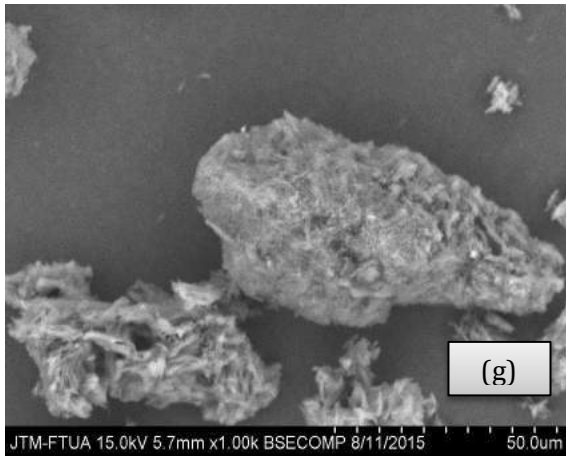
Gambar IV.12. Morfologi kuersetin perbesaran 1000x (a) dan 2000x (b)



Gambar IV.13. Morfologi nikotinamida murni perbesaran 1000x (c) dan 2000x (d)

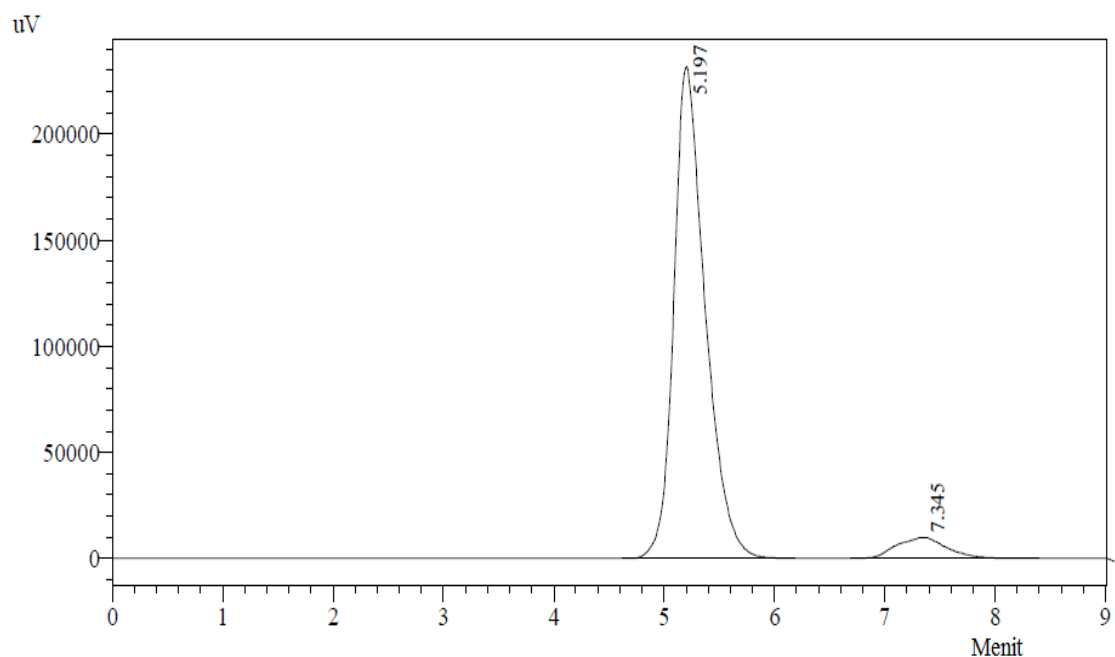


Gambar IV.14. Morfologi campuran fisik kuersetin – nikotinamida 1:1 perbesaran 1000x (e) dan perbesaran 2000x (f)



Gambar IV.15. Morfologi sistem biner kuersetin – nikotinamida 1:1 perbesaran 1000x (g) dan perbesaran 2000x (h)

**Lampiran 7. Penentuan Waktu Retensi Kuersetin, Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin dan Penetapan Perolehan Kembali Sampel dengan Fase Gerak Asetonitril:Asam Fosfat 0,1% (55:45)**

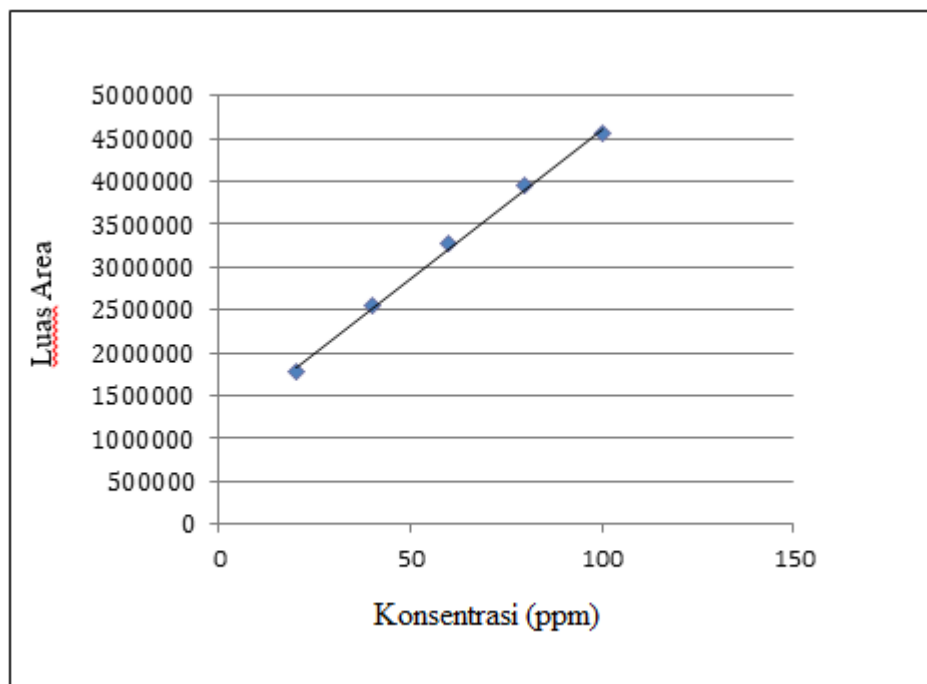


Gambar IV.16. Waktu retensi kuersetin murni dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45)

Tabel IV.5. Data luas area kuersetin dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45)

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Luas Area
20,3	1789605
40,6	2541360
60,9	3284695
81,2	3943419
101,6	4564461

## Lampiran 7. (Lanjutan)



Gambar IV.17. Kurva kalibrasi kuersetin murni dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 1% (55:45)

Keterangan :

$$y = 34210x + 1140622,5$$

$$r = 0,999$$

### Lampiran 7. (Lanjutan)

$$SD = \sqrt{\frac{(y-y_1)^2}{n-1}}$$

$$= 47974,09$$

$$LOD = 3 \times SD/\text{slope}$$

$$= 4,207 \mu\text{g/mL}$$

$$LOQ = 10 \times SD/\text{slope}$$

$$= 14,023 \mu\text{g/mL}$$

Tabel IV.6. Perhitungan validasi kuersetin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Luas Area	Kons. Terukur ( $\mu\text{g/mL}$ )	SD	KV	% Akurasi
20,3	1797555	19,20	0,33	0,59	-0,054
	1776498	18,59			-0,084
	1794764	19,12			-0,058
40,6	2564024	41,61	0,61	0,50	0,025
	2523010	40,41			-0,005
	2537046	40,82			0,005
60,9	3293270	62,92	0,45	0,24	0,033
	3293997	62,95			0,034
	3266820	62,15			0,021
81,2	3988420	83,24	1,18	0,48	0,025
	3910854	80,98			-0,003
	3930982	81,57			0,005
101,6	4580147	100,54	1,17	0,39	-0,010
	4594231	100,95			-0,006
	4519005	98,75			-0,028

**Lampiran 7. (lanjutan)**

Tabel IV.7. Hasil perolehan kembali kuersetin pada sistem biner dan campuran fisik kuersetin nikotinamida dalam asetonitril menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45)

Sampel	Luas Area	Kadar (mg)	Kadar Rata-rata (mg)	% Perolehan Kembali
Campuran Fisik	4401576	23,7	23,7	95,9±0,16
	4365481	23,5		
	4404430	23,8		
Sistem Biner	4743651	26,3	25,9	103,7±0,5
	4617557	25,4		
	4706188	26,0		

**Lampiran 8. Uji Kelarutan Kuersetin, Campuran Fisik dan Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida dalam Medium Etanol:Air (1:1)**

Tabel IV.8. Hasil uji kelarutan kuersetin, campuran fisik dan sistem biner kuersetin-nikotinamida dalam medium etanol:air (1:1) menggunakan HPLC dengan fase gerak asetonitril:asam fosfat 0,1% (55:45)

Sampel	Luas Area	Kadar Terlarut (mg/mL)	Kadar Rata-rata (mg/mL)
Kuersetin	3171912	0,296	0,294±0,005
	3190616	0,296	
	3120623	0,29	
Campuran Fisik	3462871	0,34	0,338±0,004
	3420897	0,33	
	3478887	0,34	
Sistem Biner	4016580	0,42	0,419±0,001
	4002563	0,418	
	4019677	0,42	

## Lampiran 9. Contoh Perhitungan Perolehan Kembali Kuersetin dalam Sistem Biner dengan HPLC

Luas Area = pengukuran 1: 4743651

pengukuran 2: 4617557

pengukuran 3: 4706188

Berat sistem biner ditimbang 36,61 mg (~ 25 mg kuersetin)

Dilartukan dalam 25 mL asetonitril dan pengenceran (25/2,5)

### Pengukuran 1 :

Luas area = 4743651

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$4743651 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 105,32 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,105 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Kadar} = 0,105 \text{ mg/mL} \times 50 \text{ mL} \times \frac{25\text{mL}}{2,5 \text{ mL}}$$

$$= 26,3 \text{ mg}$$

### Pengukuran 2 :

Luas area = 4617557

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$4617557 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 101,63 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,102 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Kadar} = 0,102 \text{ mg/mL} \times 25\text{mL} \times \frac{25\text{mL}}{2,5 \text{ mL}}$$

$$= 25,4 \text{ mg}$$



## Lampiran 9. (lanjutan)

### Pengukuran 3 :

Luas area = 4706188

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$4706188 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 104,2 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,104 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Kadar} = 0,104 \text{ mg/mL} \times 25\text{mL} \times \frac{25\text{mL}}{2,5 \text{ mL}}$$

$$= 26,05 \text{ mg}$$

$$\% \text{ perolehan kembali kuersetin} = \frac{26,3+25,4+26,05}{3}$$

$$= 25,93 \text{ mg}$$

$$= \frac{25,93 \text{ mg}}{25 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \mathbf{103,7 \%}$$

## Lampiran 10. Perhitungan Kelarutan Kuersetin, Campuran Fisik dan Sistem Biner Kuersetin-Nikotinamida dalam Medium Etanol:Air (1:1)

### 10.1. Kelarutan Kuersetin

Pengulangan 1 :

Luas area = 3171912

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$3171912 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 59,38 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,059 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar terlarut} = 0,084 \text{ mg/ml} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5}$$

$$= 29,6 \text{ mg}$$

$$= 29,6 \text{ mg/100mL}$$

$$= 0,296 \text{ mg/mL}$$

Pengulangan 2 :

Luas area = 3190616

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$3190616 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 59,9 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,059 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Kadar terlarut} = 0,0599 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5}$$

$$= 29,6 \text{ mg}$$

$$= 29,6 \text{ mg/100mL}$$

$$= 0,296 \text{ mg/mL}$$

## Lampiran 10. (Lanjutan)

Pengulangan 3 :

Luas area = 3120623

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$3120623 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 57,87 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,05787 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Kadar terlarut} = 0,0578 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5}$$

$$= 29 \text{ mg}$$

$$= 29 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$$

$$= 0,29 \text{ mg/mL}$$

Rata-rata kadar terlarut sistem biner kuersetin-nikotinamida :

$$= \frac{(0,296+0,296+0,29)\text{mg/mL}}{3}$$

$$= 0,294 \text{ mg/mL}$$

$$= 0,000294 \text{ g/mL}$$

$$= 1 \text{ g}/3401,3 \text{ mL}$$

$$= 1: >1000$$

Jadi, 1 g sistem biner membutuhkan lebih dari seribu mL pelarut, sehingga masuk dalam kelas “Sangat Sukar Larut”.

## 10.2. Kelarutan Campuran Fisik

Pengulangan 1 :

Luas area = 3462871

$$y = 1140622,5 + 34210x$$

$$3462871 = 1140622,5 + 34210x$$

$$x = 67,88 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,06788 \text{ mg/ml}$$

### Lampiran 10. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}\text{Kadar terlarut} &= 0,06788 \text{ mg/ml} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5} \\ &= 34 \text{ mg} \\ &= 34 \text{ mg}/100\text{mL} \\ &= 0,34 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Pengulangan 2 :

$$\text{Luas area} = 3420897$$

$$\begin{aligned}y &= 1140622,5 + 34210x \\ 3420897 &= 1140622,5 + 34210x \\ x &= 66,65 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ &= 0,06665 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar terlarut} &= 0,06665 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5} \\ &= 33,3 \text{ mg} \\ &= 33,3 \text{ mg}/100\text{mL} \\ &= 0,33 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Pengulangan 3 :

$$\text{Luas area} = 3478887$$

$$\begin{aligned}y &= 1140622,5 + 34210x \\ 3478887 &= 1140622,5 + 34210x \\ x &= 68,35 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ &= 0,06835 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar terlarut} &= 0,06835 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5} \\ &= 34,1 \text{ mg} \\ &= 34,1 \text{ mg} /100 \text{ mL} \\ &= 0,34 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

## Lampiran 10. (Lanjutan)

Rata-rata kadar terlarut sistem biner kuersetin-nikotinamida :

$$\begin{aligned} &= \frac{(0,34+0,33+0,34)\text{mg/mL}}{3} \\ &= 0,338 \text{ mg/mL} \\ &= 0,000338 \text{ g/mL} \\ &= 1 \text{ g/2958,5 mL} \\ &= 1: >1000 \end{aligned}$$

Jadi, 1 g sistem biner membutuhkan lebih dari seribu mL pelarut, sehingga masuk dalam kelas “Sangat Sukar Larut”.

### 10.3. Kelarutan Sistem Biner

Pengulangan 1 :

Luas area = 4016580

$$\begin{aligned} y &= 1140622,5 + 34210x \\ 4016580 &= 1140622,5 + 34210x \\ x &= 84,07 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ &= 0,084 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar terlarut} &= 0,084 \text{ mg/ml} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5} \\ &= 42,03 \text{ mg} \\ &= 42,03 \text{ mg/100mL} \\ &= 0,42 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Pengulangan 2 :

Luas area = 4002563

$$\begin{aligned} y &= 1140622,5 + 34210x \\ 4002563 &= 1140622,5 + 34210x \\ x &= 83,66 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ &= 0,083 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

### Lampiran 10. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}\text{Kadar terlarut} &= 0,083 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5} \\ &= 41,83 \text{ mg} \\ &= 41,83 \text{ mg} / 100 \text{ mL} \\ &= 0,418 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Pengulangan 3 :

Luas area = 4019677

$$\begin{aligned}y &= 1140622,5 + 34210x \\ 4019677 &= 1140622,5 + 34210x \\ x &= 84,16 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ &= 0,084 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar terlarut} &= 0,084 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \times \frac{25}{5} \\ &= 42,08 \text{ mg} \\ &= 42,08 \text{ mg} / 100 \text{ mL} \\ &= 0,42 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Rata-rata kadar terlarut sistem biner kuersetin-nikotinamida :

$$\begin{aligned}&= \frac{(0,42+0,418+0,42)\text{mg/mL}}{3} \\ &= 0,419 \text{ mg/mL} \\ &= 0,000419 \text{ g/mL} \\ &= 1 \text{ g} / 2386,6 \text{ mL} \\ &= 1: >1000\end{aligned}$$

Jadi, 1 g sistem biner membutuhkan lebih dari seribu mL pelarut, sehingga masuk dalam kelas “Sangat Sukar Larut”.