

**SKRIPSI SARJANA FARMASI**  
**PEMBENTUKAN DAN KARAKTERISASI MULTIKOMPONEN**  
**KRISTAL FEBUXOSTAT-ASAM SIRINGAT DENGAN METODE**  
**PENGGILINGAN BASAH**



**Oleh:**

**GITA SRI FITRI**

**NIM. 2111012008**

**Dosen Pembimbing:**

1. apt. Adhitya Jessica, M. Si
2. apt. Lili Fitriani, M. Pharm.Sc

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS ANDALAS**  
**PADANG**

**2025**

**PEMBENTUKAN DAN KARAKTERISASI MULTIKOMPONEN  
KRISTAL FEBUXOSTAT-ASAM SIRINGAT DENGAN METODE  
PENGGILINGAN BASAH**

**Oleh :**

**GITA SRI FITRI**

**NIM : 2111012008**



**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2025**

## PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

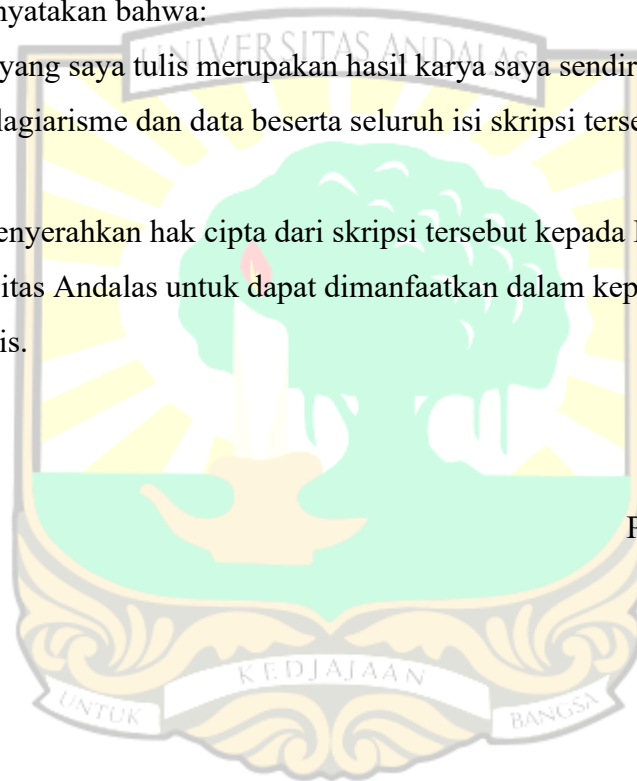
Nama : Gita Sri Fitri

NIM : 2111012008

Judul Skripsi : Pembentukan dan Karakterisasi Multikomponen Kristal  
Febuxostat - Asam Siringat dengan Metode Penggilingan Basah

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.



Padang, Juni 2025

Gita Sri Fitri

## HALAMAN PENGESAHAN

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh Seminar Hasil Penelitian Program Sarjana (S1) Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas**

Nama : Gita Sri Fitri

NIM : 2111012008

Judul Penelitian : Pembentukan dan Karakterisasi Multikomponen Kristal Febuxostat – Asam Siringat dengan Metode Penggilingan Basah

Disetujui oleh:

Pembimbing 1,

Pembimbing 2,



apt. Adhitya Jessica, M. Si  
NIP. 199003042019032014

apt. Lili Fitriani, M.Pharm.Sc  
NIP. 198507172009122003

## LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI

**Proposal Penelitian Tugas Akhir Ini Telah Diperbaiki Sesuai Masukan  
Pembahas Seminar Proposal Penelitian Fakultas Farmasi  
Universitas Andalas  
Pada: 25 Oktober 2024**

| No | Nama                                 | Jabatan      | Tanda Tangan                                                                          |
|----|--------------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | apt. Deni Noviza, S.Si, M.Si, Ph.D   | Ketua        |    |
| 2  | apt. Azhoma Gumala, M.Farm           | Pembahas     |   |
| 3  | apt. Dini Hanifa, M.Farm             | Pembahas     |  |
| 4  | apt. Adhitya Jessica, M.Si           | Pembimbing 1 |  |
| 5  | apt. Lili Fitriani, S.Si, M.Pharm.Sc | Pembimbing 2 |  |



## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

*Alhamdulillah* rabbil'alamiin, segala puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat serta karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **"Pembentukan dan Karakterisasi Multikomponen Kristal Febuxostat - Asam Siringat dengan Metode Penggilingan Basah"**, sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program Sarjana Farmasi di Universitas Andalas.

Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari do'a, dukungan, bimbingan, motivasi serta bantuan yang diberikan kepada penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Prof. Dr. apt. Fatma Sri Wahyuni, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
2. Ibu Dr. apt. Meri Susanti, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
3. Ibu apt. Adhitya Jessica, M.Si., selaku pembimbing I dan Ibu apt. Lili Fitriani, M.Pharm.Sc., selaku pembimbing II yang telah membimbing, mengarahkan, dan memberikan saran serta dukungan kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Ibu apt. Deni Noviza, S.Si, M.Si, Ph.D., Ibu Azhoma Gumala, M.Farm dan Ibu apt. Dini Hanifa, M.Farm., selaku dosen pembahas yang telah membimbing dan memberikan masukan dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Bapak Prof. Dr. apt, Deddi Prima Putra, selaku dosen penasehat akademis yang telah membantu dalam kelancaran studi penulis.
6. Bapak dan Ibu Bimbingan Riset Solida (Bapak Erizal Zaini, Ibu Deni Noviza, Ibu Rini Agustin, Ibu Uswatul Hasanah dan Ibu Azhoma Gumala) yang sudah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu dan nasehat kepada penulis selama penelitian.

7. Bapak dan ibu dosen pengajar, analis laboratorium, dan seluruh civitas akademik yang telah membantu dan membimbing penulis selama menjalani perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
8. Kedua orang tua, Ayah Rinaldi dan Mama Sulastris serta kakak Lasri Utami Abang Rafi Novrianto, Aira, Abang serta keluarga besar yang menjadi motivasi serta senantiasa memberikan doa, kasih sayang, semangat dan nasihat kepada penulis serta menjadi tempat pulang bagi penulis.
9. Naya, Sipa, Naiya, Indah, Faiz, Rifaldi, dan Zikri yang menemani, menghibur, memberikan semangat, dan dukungan kepada penulis.
10. Dindut, Nunuk, Pipin, Kakga, Cindy yang membantu, memberikan motivasi serta menjadi pendengar yang baik untuk penulis.
11. Rekan-rekan satu tim penelitian (Indah, Choy, Naiya, Livia, Lidia, Nurul, Bunga, Hani, Syahda, Alya, Ayu, Salwa, Qina, Aurora, dan Diva) yang berjuang bersama dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.
12. Sekar, Elly dan teman-teman seperjuangan Farmasi Angkatan 2021 yang membersamai sejak awal perkuliahan serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dari awal hingga terselesaikannya skripsi ini.

Skripsi ini ditulis dengan harapan dapat berkontribusi pada perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan dan bisa bermanfaat bagi banyak pihak. Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki kekurangan dan keterbatasan yang juga jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran untuk menjadikan skripsi ini menjadi lebih baik

Padang, Juni 2025

Penulis

## ABSTRAK

### PEMBENTUKAN DAN KARAKTERISASI MULTIKOMPONEN KRISTAL FEBUXOSTAT-ASAM SIRINGAT DENGAN METODE PENGGILINGAN BASAH

Oleh :

**GITA SRI FITRI**

**NIM : 2111012008**

**(Program Studi Sarjana Farmasi)**

Febuxostat merupakan obat golongan inhibitor xantin oksidase selektif non-purin dengan efek farmakologi mengurangi produksi asam urat. Berdasarkan *Biopharmaceutical Classification System* (BCS), febuxostat termasuk dalam BCS kelas II yang mempunyai kelarutan rendah di dalam air dan permeabilitas tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan laju disolusi febuxostat dengan pembentukan multikomponen kristal febuxostat menggunakan koformer asam siringat dengan metode penggilingan basah. Multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dibuat dengan rasio mol 4,5:5,5 dan digerus selama 30 menit dengan pelarut asetonitril. Karakterisasi multikomponen kristal yang terbentuk dilakukan menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), *Powder X-ray Diffraction* (PXRD), spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Uji disolusi dilakukan menggunakan alat uji disolusi tipe II dalam medium dapar fosfat-sitrat selama 60 menit. Hasil uji disolusi dianalisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Berdasarkan hasil karakterisasi multikomponen kristal pada perbandingan febuxostat dan asam siringat 4,5:5,5, terlihat adanya perubahan titik lebur dan entalpi fusi pada termogram DSC, penurunan intensitas puncak pada pola difraksi PXRD, serta pergeseran bilangan gelombang pada spektrum FTIR. Analisis SEM menunjukkan perubahan morfologi berupa ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan zat penyusunnya. Hasil uji disolusi dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan uji ANOVA satu arah. Jumlah febuxostat yang terdisolusi dalam multikomponen kristal meningkat sebesar 1,305 kali ( $p < 0,05$ ) dibandingkan febuxostat murni. Dapat disimpulkan bahwa pembentukan multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dapat meningkatkan laju disolusi febuxostat.

Kata kunci : febuxostat, asam siringat, multikomponen kristal, penggilingan basah, disolusi



## ABSTRACT

### THE FORMATION AND CHARACTERIZATION MULTICOMPONENT CRYSTAL OF FEBUXOSTAT-SYRINGIC ACID USING LIQUID ASSISTED GRINDING METHOD

By :

**GITA SRI FITRI**

**Student ID Number : 2111012008**

**(Bachelor of Pharmacy)**

Febuxostat is a non-purine selective xanthine oxidase inhibitor that pharmacologically reduces uric acid production. According to the Biopharmaceutical Classification System (BCS), febuxostat belongs to BCS Class II, characterized by low aqueous solubility and high permeability. This study aimed to enhance the dissolution rate of febuxostat through the formation of multicomponent crystal with syringic acid as a coformer using the Liquid Assisted Grinding (LAG) method. The multicomponent crystal was prepared at a molar ratio of 4.5:5.5 and ground for 30 minutes using acetonitrile as a solvent. Characterization of multicomponent crystals was performed using Differential Scanning Calorimetry (DSC), Powder X-ray Diffraction (PXRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and Scanning Electron Microscopy (SEM). A dissolution test was conducted using a USP Type II dissolution apparatus in a phosphate-citric acid buffer for 60 minutes. The amount of dissolved febuxostat was quantified by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The characterization results of the 4.5:5.5 febuxostat–syringic acid multicomponent crystal showed changes in melting point and fusion enthalpy (DSC), reduced peak intensity (PXRD), and shifts in wave number absorption (FTIR). SEM analysis revealed morphological changes, showing smaller particle sizes compared to the pure components. Statistical analysis of the dissolution data using one-way ANOVA (SPSS) showed a significant improvement ( $p < 0.05$ ) in febuxostat dissolution, with a 1.305-fold increase compared to pure febuxostat. It can be concluded that the formation of febuxostat–syringic acid multicomponent crystal can enhance the dissolution rate of febuxostat.

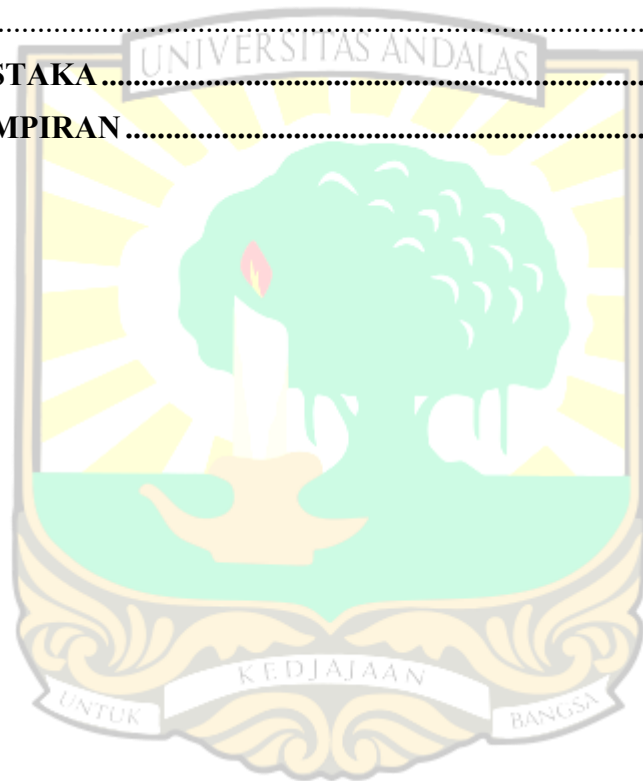
**Keywords:** febuxostat, syringic acid, multicomponent crystal, liquid assisted grinding, dissolution

## DAFTAR ISI

|                                                               |             |
|---------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                                    | <b>ii</b>   |
| <b>PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA .....</b> | <b>iii</b>  |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>                               | <b>iv</b>   |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI.....</b>                         | <b>v</b>    |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                    | <b>vi</b>   |
| <b>ABSTRAK .....</b>                                          | <b>viii</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                         | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                        | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                     | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                     | <b>xiv</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                  | <b>xv</b>   |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                                 | <b>1</b>    |
| 1.1 Latar Belakang .....                                      | 1           |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                     | 3           |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                                    | 3           |
| 1.4 Hipotesis Penelitian.....                                 | 3           |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                           | <b>4</b>    |
| 2.1 Febuxostat .....                                          | 4           |
| 2.2 Asam Siringat .....                                       | 5           |
| 2.3 Multikomponen Kristal .....                               | 6           |
| 2.3.1 Definisi Multikomponen Kristal .....                    | 6           |
| 2.3.2 Jenis Multikomponen Kristal .....                       | 6           |
| 2.4 Teknik Pembentukan Multikomponen Kristal .....            | 8           |
| 2.4.1 <i>Solvent based method</i> .....                       | 9           |
| 2.4.2 <i>Solid-based method</i> .....                         | 12          |
| 2.4.3 Pemilihan Koformer .....                                | 14          |
| 2.5 Karakterisasi Sifat Fisiko Kimia .....                    | 15          |
| 2.5.1 <i>Differential Scanning Calorimetry (DSC)</i> .....    | 15          |
| 2.5.2 <i>X-Ray Diffraction (XRD)</i> .....                    | 16          |
| 2.5.3 <i>Fourier Transform Infrared (FT-IR)</i> .....         | 18          |
| 2.5.4 <i>Scanning Electron Microscope (SEM)</i> .....         | 19          |

|                                                                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.6 Kelarutan .....                                                                                                            | 19        |
| 2.7 Disolusi.....                                                                                                              | 21        |
| 2.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....                                                                                      | 22        |
| 2.9 Validasi dan Verifikasi Metode Analisis.....                                                                               | 25        |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>                                                                                         | <b>27</b> |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....                                                                                          | 27        |
| 3.2 Alat dan Bahan .....                                                                                                       | 27        |
| 3.2.1 Alat.....                                                                                                                | 27        |
| 3.2.2 Bahan.....                                                                                                               | 27        |
| 3.3 Prosedur Penelitian.....                                                                                                   | 27        |
| 3.3.1 Pemeriksaan Bahan Baku.....                                                                                              | 27        |
| 3.3.2 Pembuatan Multikomponen Kristal Febuxostat – Asam Siringat<br>Metode Liquid Assisted Grinding dengan Berbagai Rasio..... | 28        |
| 3.3.3 Pembuatan Campuran Fisik Febuxostat – Asam Siringat.....                                                                 | 28        |
| 3.3.4. Karakterisasi Febuxostat, Asam siringat, Campuran Fisik, dan<br>Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam siringat.....     | 28        |
| 3.3.5 Optimasi Sistem KCKT .....                                                                                               | 29        |
| 3.3.6 Validasi Metode Analisis KCKT .....                                                                                      | 30        |
| 3.3.7 Penetapan Kadar Perolehan Kembali.....                                                                                   | 31        |
| 3.3.8 Uji Disolusi .....                                                                                                       | 32        |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                                                                       | <b>33</b> |
| 4.1 Pemeriksaan Bahan Baku .....                                                                                               | 33        |
| 4.2 Penentuan Titik lebur dan Optimasi Perbandingan Zat aktif dengan<br>Koformer .....                                         | 34        |
| 4.3 Karakterisasi Febuxostat, Asam siringat, Campuran Fisik, dan<br>Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam siringat .....       | 35        |
| 4.3.1 Analisis Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....                                                                   | 35        |
| 4.3.2 Analisis <i>Powder X-ray Diffraction</i> (PXRD).....                                                                     | 37        |
| 4.3.3 Analisis dengan Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)..                                                         | 40        |
| 4.3.4 Analisis dengan Scanning Electron Microscopy (SEM).....                                                                  | 42        |
| 4.4 Optimasi Sistem KCKT.....                                                                                                  | 43        |
| 4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....                                                                       | 43        |
| 4.4.2 Penentuan Kondisi Optimum KCKT .....                                                                                     | 43        |
| 4.5 Validasi Metode Analisis .....                                                                                             | 45        |
| 4.5.1 Uji Linearitas.....                                                                                                      | 45        |

|                                                                                           |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.5.2 Uji Akurasi .....                                                                   | 46        |
| 4.5.3 Uji Presisi .....                                                                   | 47        |
| 4.5.4 Uji Selektivitas .....                                                              | 48        |
| 4.5.5 Uji Penentuan Limit of Detection (LoD) dan Limit of Quantitation (LoQ) .....        | 49        |
| 4.6 Penetapan Kadar Febuxostat dalam Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam Siringat ..... | 50        |
| 4.7 Uji Disolusi .....                                                                    | 50        |
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                                   | <b>54</b> |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                      | 54        |
| 5.2 Saran .....                                                                           | 54        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                                               | <b>55</b> |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                                              | <b>61</b> |



## DAFTAR TABEL

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 2. 1 Kelarutan menurut Farmakope Indonesia edisi VI .....                       | 20 |
| Tabel 2. 2 Klasifikasi obat berdasarkan BCS .....                                     | 21 |
| Tabel 4. 1 Hasil pemeriksaan bahan baku febuxostat .....                              | 33 |
| Tabel 4. 2 Hasil pemeriksaan bahan baku asam siringat .....                           | 33 |
| Tabel 4. 3 Data Titik leleh dan energi fusi.....                                      | 35 |
| Tabel 4. 4 Data termogram DSC .....                                                   | 36 |
| Tabel 4. 5 Data intensitas puncak pada PXRD .....                                     | 38 |
| Tabel 4. 6 Perbandingan bilangan gelombang FTIR .....                                 | 41 |
| Tabel 4. 7 Data optimasi kondisi KCKT.....                                            | 44 |
| Tabel 4. 8 Kondisi analisis KCKT febuxostat .....                                     | 45 |
| Tabel 4. 9 Hasil luas area kurva kalibrasi febuxostat.....                            | 46 |
| Tabel 4. 10 Hasil perolehan kembali febuxostat.....                                   | 47 |
| Tabel 4. 11 Data LoQ dan LoQ febuxostat.....                                          | 49 |
| Tabel 4. 12 Hasil penetapan kadar multikomponen kristal febuxostat-asam siringat..... | 50 |
| Tabel 4. 13 Jumlah febuxostat terdisolusi (%).....                                    | 51 |



## DAFTAR GAMBAR

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2. 1 Struktur febuxostat .....                                        | 4  |
| Gambar 2. 2 Struktur asam siringat .....                                     | 5  |
| Gambar 2. 3 Metode pembuatan kokristal .....                                 | 9  |
| Gambar 2. 4 Jenis supermolecular synthon .....                               | 15 |
| Gambar 2. 5 Termogram DSC febuxostat.....                                    | 16 |
| Gambar 2. 6 Pola Difraktogram febuxostat .....                               | 17 |
| Gambar 2. 7 Spektum IR febuxostat .....                                      | 18 |
| Gambar 4. 1 Termogram perbandingan febuxostat dan asam siringat.....         | 34 |
| Gambar 4. 2 Termogram DSC .....                                              | 36 |
| Gambar 4. 3 Pola XRD .....                                                   | 38 |
| Gambar 4. 4 Spektrum FTIR.....                                               | 40 |
| Gambar 4. 5 Hasil SEM .....                                                  | 42 |
| Gambar 4. 6 Spektrum febuxostat dalam metanol pada konsentrasi 6 µg/mL.....  | 43 |
| Gambar 4. 7 Kromatogram febuxostat 500 µg/mL dalam metanol .....             | 44 |
| Gambar 4. 8 Kurva kalibrasi febuxostat dalam metanol.....                    | 46 |
| Gambar 4. 9 Kromatogram multikomponen kristal febuxostat-asam siringat.....  | 48 |
| Gambar 4. 10 Kurva jumlah febuxostat terdisolusi (%) .....                   | 52 |
| Gambar 6. 1 Termogram DSC febuxostat.....                                    | 61 |
| Gambar 6. 2 Termogram DSC asam siringat .....                                | 61 |
| Gambar 6. 3 Termogram DSC multikomponen kristal febuxostat-asam siringat. 62 |    |
| Gambar 6. 4 Termogram DSC campuran fisik febuxostat asam siringat .....      | 62 |
| Gambar 6. 5 Difraktogram XRD febuxostat.....                                 | 63 |
| Gambar 6. 6 Difraktogram XRD asam siringat .....                             | 63 |
| Gambar 6. 7 Difraktogram XRD multikomponen kristal .....                     | 64 |
| Gambar 6. 8 Difraktogram XRD campuran fisik .....                            | 64 |
| Gambar 6. 9 Spektrum FTIR febuxostat .....                                   | 65 |
| Gambar 6. 10 Spektrum FTIR asam siringat .....                               | 65 |
| Gambar 6. 11 Spektrum FTIR multikomponen kristal .....                       | 65 |
| Gambar 6. 12 Spektrum FTIR campuran fisik .....                              | 66 |
| Gambar 6. 13 Kromatogram penetapan kadar .....                               | 66 |
| Gambar 6. 14 Kromatogram uji disolusi febuxostat .....                       | 67 |
| Gambar 6. 15 Kromatogram uji disolusi multikomponen kristal .....            | 69 |
| Gambar 6. 16 Kromatogram uji disolusi campuran fisik.....                    | 70 |
| Gambar 6. 17 Kromatogram febuxostat 100 µg/mL dalam metanol .....            | 72 |
| Gambar 6. 18 Kromatogram febuxostat 300 µg/mL dalam metanol .....            | 72 |
| Gambar 6. 19 Kromatogram febuxostat 500 µg/mL dalam metanol .....            | 73 |
| Gambar 6. 20 Hasil analisis uji normalitas .....                             | 78 |
| Gambar 6. 21 Hasil analisis uji homogenitas.....                             | 78 |
| Gambar 6. 22 Hasil analisis SPSS uji ANOVA.....                              | 78 |
| Gambar 6. 23 <i>Certificate of Analysis</i> Febuxostat .....                 | 79 |
| Gambar 6. 24 <i>Certificate of Analysis</i> asam siringat.....               | 80 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1. 1 Data karakterisasi sampel .....                                   | 61 |
| Lampiran 1. 2 Data penetapan kadar.....                                         | 66 |
| Lampiran 1. 3 Data disolusi febuxostat.....                                     | 66 |
| Lampiran 1. 4 Data disolusi multikomponen kristal febuxostat-asam siringat..... | 68 |
| Lampiran 1. 5 Data disolusi campuran fisik febuxostat-asam siringat .....       | 69 |
| Lampiran 2. 1 Perhitungan validasi metode analisis.....                         | 71 |
| Lampiran 2. 2 Perhitungan sampel yang mengandung febuxostat .....               | 73 |
| Lampiran 2. 3 Perhitungan penetapan kadar .....                                 | 74 |
| Lampiran 2. 4 Perhitungan uji disolusi .....                                    | 75 |
| Lampiran 2. 5 Hasil analisis SPSS uji normalitas terdisolusi .....              | 77 |
| Lampiran 2. 6 Hasil analisis SPSS uji homogenitas terdisolusi .....             | 78 |
| Lampiran 2. 7 Hasil analisis SPSS uji ANOVA .....                               | 78 |
| Lampiran 3. 1 Sertifikat analisis febuxostat.....                               | 79 |
| Lampiran 3. 2 Sertifikat analisis asam siringat .....                           | 80 |
| Lampiran 3. 3 Skema kerja .....                                                 | 81 |



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Febuxostat (FEB) merupakan bahan aktif farmasi yang tergolong asam lemah dengan nilai  $pK_a=3,42$  dan  $pK_a=0,39$ . Senyawa ini digunakan sebagai inhibitor xantin oksidase selektif non-purin untuk mengurangi produksi asam urat (1). FEB praktis tidak larut dalam air (dengan kelarutan  $12,9 \mu\text{g/mL}$ ) dan termasuk dalam senyawa Kelas II menurut *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) yang kelarutannya rendah namun permeabilitasnya tinggi (2). Seperti banyak obat lain dalam Kelas II BCS, kelarutan FEB yang sangat rendah dalam air menjadi faktor yang membatasi bioavailabilitas oralnya kurang dari 50% (3).

Untuk mencapai efek farmakologi, kelarutan merupakan salah satu parameter penting dalam laju absorpsi ke dalam sirkulasi sistemik. Kelarutan obat yang rendah dalam air dapat menyebabkan laju disolusi yang lambat dan penyerapan yang tidak sempurna menyebabkan bioavailabilitas yang rendah saat obat dikonsumsi secara oral. Pengurangan ukuran partikel, pembentukan multikomponen kristal, dispersi padat, penggunaan surfaktan, dan kompleksasi adalah beberapa cara yang dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan senyawa dengan kelarutan rendah (4).

Peningkatan kelarutan obat BCS kelas II untuk meningkatkan bioavailabilitas obat tetap menjadi tantangan utama dalam pengembangan obat terutama untuk formulasi oral (5). Salah satu tantangan utama dalam pengembangan bentuk padat baru FEB dengan kelarutan dan bioavailabilitas oral yang lebih tinggi adalah menciptakan produk yang lebih efektif secara farmakologis, lebih mudah diformulasikan, dan memiliki persyaratan produksi atau penyimpanan yang lebih praktis (6).

Terdapat beberapa upaya yang telah dilakukan untuk meningkatkan kelarutan febuxostat seperti pembentukan sistem dispersi padat (5), campuran eutektik (6) dan multikomponen kristal (7). Namun, dispersi padat rentan terhadap ketidakstabilan seiring waktu. Bentuk amorf dari obat, yang sering kali memiliki kelarutan lebih tinggi, dapat kembali ke bentuk kristal selama penyimpanan, yang menyebabkan penurunan kelarutan dan bioavailabilitas (8). Sedangkan sistem



eutektik sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban, yang dapat mempengaruhi stabilitas dan kinerja produk selama penyimpanan dan transportasi obat (9). Salah satu metode yang paling banyak dilakukan untuk meningkatkan sifat kelarutan obat-obat yang sukar larut adalah dengan memodifikasi obat-obat tersebut dalam bentuk multikomponen kristal. Multikomponen kristal memiliki keuntungan dalam memodifikasi sifat fisik zat aktif tanpa mengubah efek farmakologinya (10). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pembentukan multikomponen kristal febuxostat menggunakan metode *liquid assisted grinding* dengan asam p-toluenasulfonat sebagai koformer (7).

Dalam proses pembentukan multikomponen kristal diperlukan pemilihan koformer yang tepat. Pemilihan koformer dapat dilakukan melalui pendekatan pKa, kelarutan, dan synthon. Terdapat beberapa kriteria yang perlu diperhatikan dalam pemilihan koformer yang baik. Pertama, senyawa yang dipilih berada dalam daftar FDA yang mengakui senyawa tersebut aman untuk digunakan (*FDA's list of Generally Recognized As Safe*). Kedua, senyawa tersebut memiliki gugus yang dapat mendonorkan hidrogen. Ketiga, selisih pKa antara koformer dan zat yang akan dijadikan multikomponen kristal  $\leq 3$  (11).

Asam siringat memiliki nilai pKa 4,34, dengan nilai kelarutan di dalam air (5780 mg/L (25°C)) serta memiliki gugus karboksilat yang dapat berfungsi sebagai titik ikatan yang membentuk ikatan non-kovalen berupa ikatan hidrogen sehingga dapat dipilih sebagai koformer (12,13). Selain itu asam siringat juga telah banyak diterapkan dalam berbagai penelitian sebagai koformer, termasuk dalam pembuatan kokristal piridoksin (14) dan kokristal riluzol (15).

Pembentukan multikomponen kristal febuxostat dengan koformer asam siringat didasarkan pada selisih derajat pKa  $\leq 3$  yang diprediksi akan terbentuk kokristal. Metode yang digunakan dalam pembentukan multikomponen kristal perlu diperhatikan agar sesuai dengan karakteristik akhir kristal yang diinginkan. Salah satu metode yang sering digunakan. *Liquid-assisted grinding* (LAG) juga dikenal sebagai *solvent-drop grinding* menggunakan sejumlah kecil cairan digunakan sebagai bahan tambahan untuk meningkatkan atau mengontrol reaksi kimia (16). Metode ini mengombinasikan teknik *neat grinding* dan *solvent evaporation*, dengan cara menggiling dua komponen pembentuk kristal dalam rasio

stoikiometri sambil menambahkan sejumlah kecil pelarut selama proses penggilingan (17). Kelebihan dari LAG yaitu penggunaan sedikit pelarut, dan membentuk kokristal dengan kemurnian yang tinggi dengan proses pembuatan yang mudah dan cepat (18,19).

Pada penelitian ini dilakukan pembentukan multikomponen kristal febuxostat menggunakan koformer asam siringat dengan metode penggilingan basah (*liquid assisted grinding*) yang bertujuan untuk membentuk multikomponen kristal yang dapat meningkatkan laju disolusi febuxostat. Karakterisasi padatan seperti FTIR, PXRD, DSC, dan SEM akan dilakukan untuk konfirmasi terbentuknya multikomponen kristal. Selain itu uji kelarutan dan uji disolusi dilakukan untuk menilai efektivitas multikomponen febuxostat – asam siringat yang terbentuk mempunyai peningkatan laju disolusi dibandingkan dengan febuxostat tunggal.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah multikomponen kristal febuxostat dapat terbentuk dengan koformer asam siringat menggunakan metode penggilingan basah ?
2. Bagaimana pengaruh pembentukan multikomponen kristal febuxostat terhadap laju disolusi febuxostat ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

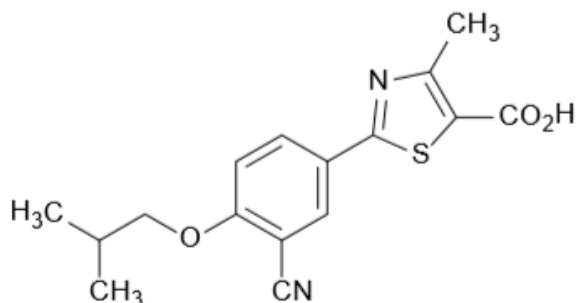
1. Untuk membentuk dan mengkarakterisasi multikomponen kristal febuxostat - asam siringat sebagai koformer
2. Untuk menentukan pengaruh pembentukan multikomponen kristal febuxostat terhadap laju disolusi

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

1.  $H_0$  = Multikomponen kristal febuxostat-asam siringat tidak memiliki laju disolusi yang berbeda dibandingkan dengan febuxostat murni  
 $H_1$  = Multikomponen kristal febuxostat-asam siringat memiliki laju disolusi yang berbeda dibandingkan dengan febuxostat murni.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Febuxostat



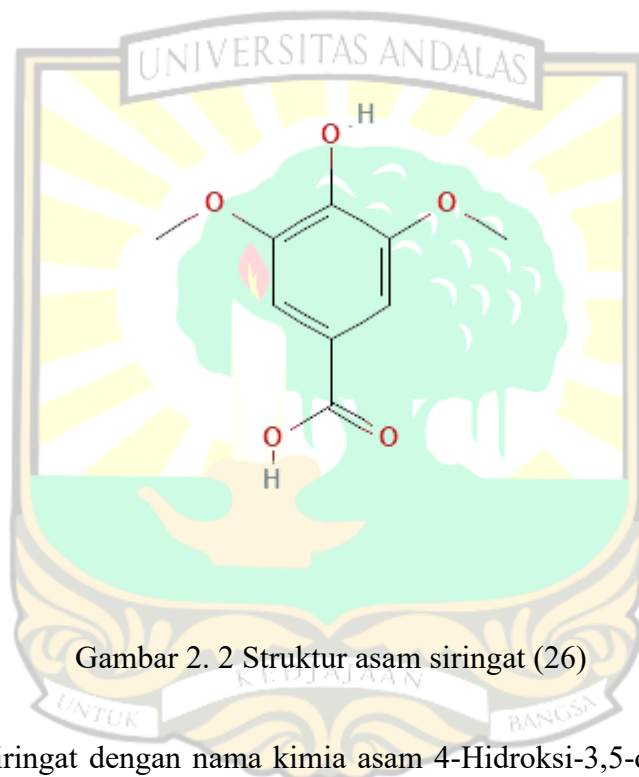
Gambar 2. 1 Struktur febuxostat (21)

Febuxostat (FEB) dengan nama kimia 2-[3-siano-4-(2-metilpropoksi)fenil]-4-metiltiazol-5-asam karboksilat digunakan sebagai inhibitor xantin oksidase selektif nonpurin untuk mengurangi produksi asam urat. FEB bekerja dengan cara menghambat xantin oksidase selektif non-purin yang digunakan untuk manajemen hiperurisemia pada pasien dengan gout. Zat aktif ini bersifat asam lemah dan menunjukkan kelarutan yang meningkat pada pH basa serta memiliki bentuk seperti serbuk kristal berwarna putih (22). Febuxostat dengan berat molekul 316,37 g/mol membentuk struktur kimia seperti gambar 2.1, mempunyai nilai pka 3.42 dan kelarutan rendah yakni kurang dari 0.1 mg/ml pada suhu 25°C dalam air serta larut dalam 5mg/ml etanol. Senyawa ini memiliki titik lebur pada 238-239°C, dan panjang gelombang maksimum 317 nm dalam pelarut asetonitril. Febuxostat disimpan dalam wadah yang tertutup rapat di tempat yang terlindung dari sinar matahari (23).

Mekanisme kerja FEB yaitu menghambat xantin oksidase dengan mengikat saluran panjang dan sempit yang mengarah ke situs aktif enzim molibdenum-pterin (24). FEB telah terbukti efektif dalam pengujian klinis dengan mengurangi kadar serum asam urat hingga 80% pada subjek sehat dan pasien dengan asam urat. FEB diserap dengan cepat ke dalam aliran darah setelah diberikan secara oral dengan konsentrasi plasma maksimum (C max) biasanya berkisar antara 0,5-1,5 jam, dan dipengaruhi oleh makanan atau tidak (25).

Dosis umum febuxostat adalah satu kali sehari dengan bentuk sediaan tablet, berkisar antara 40 mg - 120 mg. Respon farmakodinamik dapat berbeda pada tiap individu, dengan beberapa pasien mengalami penurunan kadar asam urat yang lebih besar daripada yang lain. Bagi pasien yang tidak toleran terhadap allopurinol, obat ini sangat membantu. Febuxostat telah disetujui sebagai pilihan untuk pengobatan hiperurisemia kronis yang terkait dengan asam urat karena kemampuan untuk menurunkan kadar asam urat dan mencegah serangan asam urat (25).

## 2.2 Asam Siringat



Asam siringat dengan nama kimia asam 4-Hidroksi-3,5-dimetoksibenzoat adalah senyawa fenolik alami yang berasal dari tanaman dan buah-buahan, senyawa ini berupa serbuk putih dan larut dalam etanol atau metanol atau etil eter, sedikit larut dalam air (5780 mg/L pada suhu 25°C) (11). Senyawa ini mempunyai nilai pKa 4,34 (12) dan titik lebur 205-209°C (13). Asam siringat memiliki panjang gelombang maksimum 260-278 nm.

Asam siringat menunjukkan berbagai efek farmakologis, seperti antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi serta neuroprotektif dan hepatoprotektif (27). Aktivitas terapeutik asam siringat ini dikaitkan dengan keberadaan gugus metoksi pada cincin aromatiknya (13). Asam siringat yang bersifat antioksidan dan

neuroprotektif akan mendukung efek dari febuxostat dalam mengobati gout, dikarenakan asam siringat akan melawan stress oksidatif yang memperburuk kondisi gout dan mengurangi peradangan dan kerusakan sendi akibat kristal asam urat (28).

## **2.3 Multikomponen Kristal**

### **2.3.1 Definisi Multikomponen Kristal**

Pengembangan teknologi baru dalam industri farmasi sangat penting untuk meningkatkan sifat penting bahan aktif farmasi (API), seperti rasa, higroskopisitas, ukuran partikel, stabilitas kristalinitas termal, bioavailabilitas, dan kelarutan. Akibatnya, pengembangan produk obat diharapkan dapat menghasilkan pengobatan yang lebih efisien dan hemat biaya untuk bentuk sediaan obat padat. Salah satu metode untuk meningkatkan kelarutan obat tanpa mengubah aktivitas farmakologisnya adalah dengan memodifikasi bentuk padatnya melalui pembuatan multikomponen kristal, seperti garam dan kokristal. Multikomponen kristal mencakup kokristal, garam, dan solvat, yang terbentuk dari interaksi antara dua fase padat dan menghasilkan fase kokristal. Multikomponen kristal terbentuk ketika lebih dari satu jenis molekul mengkristal bersama dalam satu kisi kristal, membentuk ikatan non-kovalen dengan perbandingan stoikiometri tertentu (29).

Kokristal farmasi didefinisikan sebagai fase kristal tunggal yang homogen, umumnya terdiri dari zat aktif obat dan koformernya. Komponen-komponen dalam kokristal dibuat berdasarkan rasio stoikiometri yang pasti serta terikat umumnya melalui ikatan hidrogen (30). Sehingga kokristal memiliki komposisi dan struktur yang berbeda dari kristal asalnya. Ikatan nonkovalen berperan penting dalam membentuk dan mempertahankan struktur kristal kokristal, dan sifat fisikokimianya dapat mempengaruhi sifat farmasetik dari bahan aktif farmasi yang terlibat (10).

### **2.3.2 Jenis Multikomponen Kristal**

#### **a. Solvat**

Solvat adalah suatu kompleks molekul di mana satu atau lebih molekul pelarut terintegrasi ke dalam struktur kristal dengan proporsi stoikiometri

tertentu. Hidrat merupakan jenis solvat yang mengandung molekul air. Molekul air dapat berfungsi sebagai stabilisator kristal ketika terdapat ketidakseimbangan jumlah ikatan hidrogen dan donor (31). Solvat atau hidrat umumnya kurang stabil karena pelarutnya bisa menguap akibat perubahan suhu dan kelembapan selama proses penyimpanan (32).

Zat aktif obat dengan berat molekul kecil sering membentuk solvat atau hidrat karena ukuran molekulnya yang kecil. Molekul air memiliki atom donor dan akseptor ikatan hidrogen yang memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen antar molekul. Kehadiran molekul air memengaruhi interaksi intermolekuler (entalpi) serta tingkat ketidakteraturan kristal (entropi), yang pada akhirnya mempengaruhi parameter termodinamika, kelarutan, laju disolusi, stabilitas, dan bioavailabilitas zat aktif obat (33).

b. Garam

Garam merupakan senyawa yang terbentuk melalui transfer proton dari satu senyawa ke senyawa lain. Perbedaan antara garam dan kokristal terletak pada transfer proton, di mana proton berpindah dari asam ke basa pada garam (34). Menurut *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC “*Gold Book*”), garam adalah senyawa kimia yang terdiri dari kumpulan kation dan anion. Dalam sediaan farmasi, garam terdiri dari molekul zat aktif yang berperan sebagai kation atau anion, serta counter ion yang dapat berupa molekul atau ion monoatomik. Garam terbentuk melalui proses transfer proton ( $H^+$ ) dari asam ke basa (35).

Aturan umum dalam pembentukan garam adalah selisih nilai konstanta ionisasi asam ( $pK_a$ ) antara asam dan basa harus sekitar dua hingga tiga unit. Penetapan aturan ini memerlukan pertimbangan kondisi kesetimbangan. Pembentukan garam bermanfaat karena dapat memperbaiki sifat fisikokimia zat aktif, tetapi terbatas pada adanya gugus yang dapat terionisasi pada zat aktif tersebut (36). Pembentukan garam atau kokristal dapat diperkirakan berdasarkan nilai  $\Delta pK_a$ . Secara umum, jika  $\Delta pK_a > 3$ , garam cenderung terbentuk, sedangkan jika  $\Delta pK_a < 0$ , kokristal lebih mungkin terbentuk. Meskipun parameter ini kurang tepat dalam

memprediksi pembentukan kokristal, peluang pembentukan garam meningkat seiring dengan kenaikan nilai  $\Delta pK_a$  (37).

c. Kokristal

Kokristal merupakan senyawa supramolekular yang terdiri dari dua atau lebih molekul berbeda dalam kisi kristal yang sama melalui perbandingan stoikiometri dan terbentuk melalui ikatan non kovalen (38). Kokristal adalah multikomponen kristal yang setidaknya memiliki dua bagian yang terdiri dari atom, ion, atau molekul yang saling terikat dan padat pada suhu kamar dalam rasio stoikiometrik. Kokristal memiliki interaksi nonkovalen seperti ikatan hidrogen, ikatan van der Waals, ikatan ion dalam kisi kristal, interaksi  $\pi$ - $\pi$  ( $\pi$ - $\pi$ ), susunan aromatik, dan ikatan halogen (39). Akibatnya, kokristal memiliki struktur dan komposisi yang berbeda dari kristal induknya (10).

Tidak seperti garam yang bergantung pada ikatan ionik, struktur kokristal memiliki susunan kisi kristal yang netral atau terionisasi. Koformer adalah molekul yang bertanggung jawab untuk membentuk kokristal. Koformer dihubungkan dengan zat aktif melalui ikatan hidrogen. Kokristal dipilih sebagai alternatif karena dapat meningkatkan sifat fisikokimia zat aktif, termasuk laju disolusi, bioavailabilitas, dan kelarutan di dalam air (39).

## 2.4 Teknik Pembentukan Multikomponen Kristal

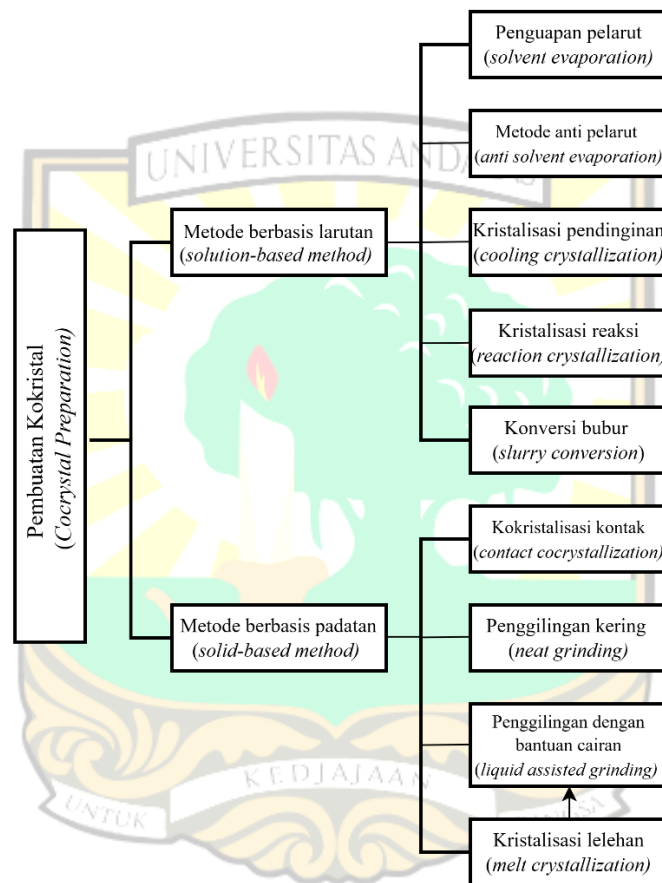
Sampai saat sekarang ini, berbagai metode telah dilakukan untuk pembuatan kokristal, seperti penggilingan dalam keadaan padat, kristalisasi reaksi larutan, penguapan pelarut, konversi suspensi, dan ekstrusi lebur panas. Namun, pemilihan metode kokristalisasi yang tepat masih bersifat empiris. Secara umum, pendekatan pembentukan kokristal yang paling sering digunakan dapat diklasifikasikan menjadi metode berbasis larutan dan metode berbasis padatan (17).

Pada metode berbasis larutan, penggunaan pelarut yang banyak diperlukan untuk melarutkan komponen kokristal. Selain itu, pemilihan pelarut memengaruhi hasil kokristalisasi karena dapat mengubah interaksi antarmolekul antara API dan koformer. Sebaliknya, metode berbasis padatan menawarkan potensi untuk



menghilangkan kebutuhan penggunaan pelarut dalam pembentukan kokristal, di mana tidak atau hanya sedikit pelarut yang diperlukan (17).

Pemilihan metode yang tepat untuk pembuatan kokristal didasarkan pada karakteristik akhir kristal yang diinginkan, seperti ukuran kristal, morfologi, dan tingkat kemurniannya. Secara umum, metode kokristalisasi terbagi menjadi dua kategori, yaitu berbasis pelarut dan tanpa pelarut (18).



Gambar 2. 3 Metode pembuatan kokristal (18).

#### 2.4.1 Solvent based method

Metode berbasis pelarut merupakan yang paling umum digunakan, terutama dalam skala laboratorium, karena kemudahannya, kemampuan untuk memantau proses, serta kontrol terhadap kualitas produk akhir, misalnya dengan mengubah pelarut dan/atau suhu. Pemilihan pelarut merupakan langkah kunci dalam metode ini dan harus dilakukan dengan cermat serta secara rasional. Pelarut



dapat memengaruhi sifat kokristal, termasuk kemurnian, ukuran dan bentuk kristal, bentuk polimorfik, serta keberadaan solvat (19).

Berdasarkan mekanisme yang mendasarinya, metode kristalisasi dapat dibagi menjadi metode termodinamika dan kinetika. Pada metode termodinamika, reaksi berlangsung dalam kondisi kesetimbangan dan biasanya memerlukan waktu yang cukup lama. Sebaliknya, metode kinetika melibatkan kondisi nonekuilibrium dan bergantung pada energi yang dihasilkan selama proses reaksi (19).

*a) Solvent evaporation*

Evaporasi pelarut adalah teknik yang paling umum digunakan dalam kristalisasi dan menghasilkan kristal tunggal berkualitas tinggi yang cocok untuk analisis menggunakan difraksi sinar-X kristal tunggal (33). Metode ini didasarkan pada pelarutan bahan aktif farmasi dan koformer dalam pelarut atau campuran pelarut. Pada tahap akhir, pelarut diuapkan untuk membentuk kokristal. Jika kedua komponen memiliki kelarutan yang serupa dalam pelarut, kokristal akan mengalami kejenuhan yang seimbang. Namun, dalam banyak kasus kokristalisasi farmasi, terdapat perbedaan kelarutan yang signifikan antara bahan aktif farmasi dan koformer, sehingga kokristal jenuh secara tidak seimbang. Dalam situasi seperti ini, digunakan konsentrasi komponen yang tidak seimbang untuk mencapai fase padat yang stabil secara termodinamika (19).

Penguapan pelarut adalah metode paling sederhana untuk menghasilkan kokristal, dengan memanfaatkan koformer dan pelarut yang sesuai. Selama pelarutan kedua senyawa, terjadi interaksi molekuler yang menghasilkan ikatan hidrogen selama proses kokristalisasi. Tujuan penguapan pelarut adalah menghilangkan pelarut sehingga terbentuk padatan kristalin dengan sifat fisikokimia yang berbeda dari bentuk murni senyawanya. Keunggulan metode ini adalah kokristal yang dihasilkan stabil secara termodinamika (31).

Teknik ini memiliki beberapa kelebihan, seperti kokristal yang dihasilkan secara termodinamika lebih disukai dan proses pembuatannya relatif sederhana. Namun, ada juga beberapa kekurangan, yaitu penggunaan pelarut yang cukup banyak serta rendahnya tingkat keberhasilan pertumbuhan kokristal pada produksi skala besar. Selain itu, teknik ini lebih cocok untuk

senyawa yang stabil terhadap panas, karena prosesnya sering memerlukan pemanasan (40).

b) *Cooling cocrystallization*

Metode ini didasarkan pada perubahan suhu dan umumnya melibatkan penggunaan reaktor untuk mencampurkan komponen dan pelarut. Sistem tersebut dipanaskan untuk melarutkan kedua komponen, lalu saturasi dicapai dengan menurunkan suhu. Pendekatan ini dapat diterapkan bersama diagram fase komplementer untuk mengidentifikasi wilayah stabil secara termodinamika dan memprediksi kemungkinan pembentukan kokristal. Selain itu, dengan menganalisis jalur kinetik senyawa serta tingkat kejenuhannya, kondisi optimal dapat ditentukan (41).

c) *Slurry conversion*

Teknik ini menggunakan suspensi molekul zat aktif dan koformer dalam pelarut dengan perbandingan mol yang tetap. Proses pembuatan dilakukan dengan menambahkan molekul zat aktif ke dalam larutan atau suspensi koformer dalam pelarut. Dalam metode ini, saat zat aktif dan koformer berinteraksi dengan pelarut, keduanya akan larut secara terpisah sesuai kelarutannya masing-masing. Kokristal terbentuk dengan melarutkan koformer dalam sejumlah kecil pelarut hingga menghasilkan suspensi. Kelebihan metode ini adalah kesederhanaan alat dan prosesnya, serta memungkinkan untuk dilakukan skrining dalam skala laboratorium (42).

Ada beberapa kelebihan dalam menggunakan teknik ini, seperti penggunaan pelarut sederhana, misalnya air. Metode ini juga tidak memerlukan suhu yang sangat tinggi, karena kristal dapat dibentuk pada suhu kamar dalam waktu enam hari, atau melalui metode kering selama dua hari pada suhu 40°C. Namun, kelemahan dari teknik ini adalah hasil kristal yang diperoleh tidak sebanyak jika dibandingkan dengan metode lain, terutama *solvent drop grinding* atau *liquid-assisted grinding* (40).

d) *Anti solvent addition cocrystallization*

Kokristalisasi dengan penambahan antipelarut memanfaatkan reduksi kelarutan kokristal akibat penambahan antipelarut yang mendorong supersaturasi dan menyebabkan presipitasi kokristal. Beberapa contoh

campuran pelarut/antipelarut yang digunakan untuk menghasilkan kokristal adalah etanol/air, etanol/asetonitril, dan etanol/etil asetat (43). Dalam teknik ini, pemilihan pelarut sangat penting, karena kokristal harus memiliki kelarutan rendah dalam antipelarut, dan kedua pelarut harus dapat bercampur. Selain itu, optimalisasi rasio pelarut/antipelarut sangat penting. Rasio yang ideal dapat meningkatkan hasil kokristalisasi dan mencegah pembentukan solvat. Kekurangan dari metode ini adalah jika bahan aktif menghasilkan hidrat, ikatan hidrogen antara molekul air dan metanol akan berkurang (44).

e) *Spray drying*

*Spray drying* adalah teknik yang biasa digunakan dalam industri farmasi untuk mengatur partikel dan memiliki karakteristik yang cocok untuk memproduksi kokristal dalam skala besar dengan perbaikan pada ukuran partikel, morfologi, kemurnian, ukuran partikel, morfologi, dan kepadatan (19). Fase pertama *spray drying* disebut sebagai fase atomisasi, cairan disebarkan di dalam gas pengering sehingga membentuk kabut tetesan dengan ukuran partikel yang mengecil. Setelah itu, tetesan yang terbentuk dan gas pengering berinteraksi pada suhu yang memadai selama fase pengeringan. Pada tahap ini, pelarut diuapkan, dan produk padat kemudian dipisahkan dari gas pengering (45).

#### 2.4.2 *Solid-based method*

Metode ini menggunakan sedikit atau bahkan tanpa pelarut sama sekali. Keunggulan dari pendekatan ini adalah prosesnya yang lebih ramah lingkungan karena tidak memerlukan pelarut, tidak ada risiko pembentukan solvat, serta waktu produksi yang relatif singkat. Namun, kelemahannya adalah sulitnya mengendalikan sifat kristal yang dihasilkan, dan metode ini tidak cocok untuk obat-obatan yang sensitif terhadap panas (19).

a) *Neat grinding*

Metode tanpa pelarut ini dilakukan dengan mencampurkan bahan-bahan penyusunnya dalam jumlah stoikiometri yang tepat, menekannya, dan kemudian menggilingnya menggunakan mortar dan alu, *ball mill* atau *vibrating mill*. Waktu penggilingan biasanya tiga puluh hingga enam puluh

menit untuk menghasilkan serbuk yang dapat dipisahkan. Metode ini memungkinkan pengurangan ukuran partikel sehingga dapat meningkatkan luas permukaan tertentu, yang memudahkan pembentukan ikatan antar molekul antar bahan (32,46).

b) *Liquid assisted grinding*

Liquid assisted grinding dikenal juga dengan solvent drop grinding, pengadukan basah, atau penggilingan basah yakni penambahan sedikit pelarut yang berfungsi sebagai katalis untuk meningkatkan kinetika pembentukan kokristal. Peningkatan kinetik dalam *liquid assisted grinding* disebabkan oleh derajat orientasi dan kebebasan konformasi molekul yang lebih tinggi, serta peningkatan kemungkinan tumbukan molekuler (19).

Metode ini merupakan kombinasi antara *neat grinding* dengan *solvent evaporation technique* berupa penggilingan kedua komponen pembentuk kristal dalam rasio stoikiometri dengan menambahkan sejumlah kecil pelarut selama proses penggilingan dilakukan. Teknik ini dikembangkan untuk meningkatkan kecepatan pembentukan kokristal (17).

Keunggulan metode ini termasuk peningkatan kinerja, produksi polimorf yang dapat dikontrol, kristalinitas produk yang lebih tinggi, dan banyaknya koformer yang cocok untuk pembuatan kokristal ini. Setelah dilakukan metode *neat grinding*, beberapa kokristal menunjukkan kinerja kokristalisasi yang lebih rendah, sehingga metode ini dapat meningkatkan laju kokristalisasi (47). Oleh karena itu, penggunaan sedikit pelarut akan mengurangi gesekan dan pemanasan selama pembentukan kokristal, yang dapat berbahaya bagi bahan yang sensitif terhadap panas. LAG juga dapat digunakan untuk membentuk kokristal dengan kemurnian yang tinggi dengan proses pembuatan yang mudah dan cepat (20).

c) *Hot melt extrusion*

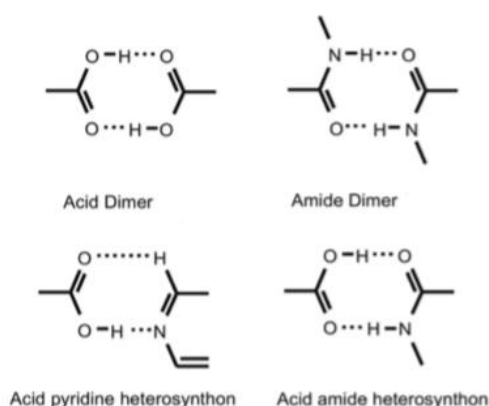
Metode ini umum diterapkan dalam industri plastik, karet, dan makanan. Dalam sektor farmasi, teknik ini berfungsi untuk memodifikasi sifat zat aktif, seperti kelarutan, disolusi, bioavailabilitas, dan karakteristik pelepasan obat. Prinsip dasar metode ini melibatkan peleburan dan ekstrusi campuran zat aktif dengan koformer. Selama proses peleburan, terjadi

pencampuran antara kedua komponen tersebut, menghasilkan kokristal. Ekstrudat kokristal yang dihasilkan kemudian diisolasi dari ekstruder. Keunggulan metode ini termasuk tidak memerlukan pelarut, waktu produksi yang cepat, dan mencegah terbentuknya solvat atau hidrat. Namun, metode ini juga memiliki kelemahan, seperti risiko kerusakan panas pada molekul yang sensitif terhadap panas dan kompleksitas dalam proses pembuatannya (48).

### 2.4.3 Pemilihan Koformer

Dalam memilih koformer dapat didasarkan pada kemampuan koformer untuk membentuk interaksi reversibel atau non-kovalen dengan bahan aktif farmasi. Selain itu, baik agen bahan aktif farmasi maupun koformer harus mengandung donor dan akseptor ikatan hidrogen. Interaksi antara bahan aktif dan koformernya melibatkan interaksi antarmolekul, seperti ikatan hidrogen, gaya van der Waals, serta interaksi elektrostatik. Pemilihan koformer dapat ditentukan oleh supramolecular synthon yang ada pada molekul. Supramolecular synthon ini berperan penting dalam memilih koformer yang tepat dan memprediksi ikatan yang terbentuk. Cambridge Structural Database (CSD) menyimpan pasangan supramolecular synthon yang umum digunakan (41).

Terdapat dua jenis supramolecular synthon: homosynthon, di mana interaksi terjadi antara gugus fungsi yang sama, seperti interaksi antara gugus amida dengan amida atau asam karboksilat dengan asam karboksilat. Sebaliknya, heterosynthon melibatkan interaksi antara gugus fungsi yang berbeda tetapi saling melengkapi, seperti asam karboksilat dengan amida atau asam karboksilat dengan piridin (49). Pemahaman terhadap struktur kimia dan gugus fungsi dalam suatu bahan obat penting untuk memprediksi pembentukan kokristal melalui pendekatan synthon. Setelah mendapatkan struktur umum dalam CSD untuk menentukan supramolecular synthon, langkah selanjutnya adalah memilih komponen pembentuk kokristal yang memiliki gugus fungsi komplementer agar proses kokristalisasi dapat terjadi (50).



Gambar 2. 4 Jenis supermolecular synthon (46)

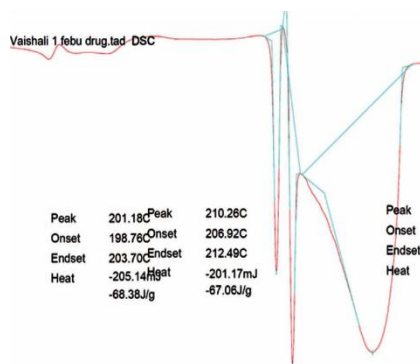
Pendekatan lain dalam memprediksi pembentukan molekul didasarkan pada pengukuran *molecular electrostatic potential surfaces* (MEPS) untuk menilai kemungkinan terbentuknya kokristal, menggunakan model elektrostatik yang mengidentifikasi interaksi intramolekul sebagai titik kontak spesifik pada permukaan molekul. Sementara itu, nilai  $\Delta pK_a$  membantu mengidentifikasi donor ikatan hidrogen. Kokristal biasanya terbentuk ketika  $\Delta pK_a > 0$ . Menurut FDA, jika  $\Delta pK_a \geq 1$ , kompleks yang terbentuk adalah garam, sedangkan jika  $\Delta pK_a < 1$ , kompleks tersebut adalah kokristal. Selain itu, jika  $\Delta pK_a > 2,7-3$ , pembentukan garam lebih mungkin dibanding kokristal (37).

## 2.5 Karakterisasi Sifat Fisiko Kimia

### 2.5.1 *Differential Scanning Calorimetry (DSC)*

*Differential scanning calorimetry* (DSC) adalah teknik eksperimental yang digunakan untuk mengeksplorasi perubahan sifat termodinamika pada kokristal saat dipanaskan (11). *Differential Scanning Calorimetry (DSC)* digunakan untuk karakterisasi kokristal dengan mengevaluasi perubahan fisik dan kimia pada sampel seiring dengan variasi suhu terhadap waktu. Metode ini berfungsi sebagai skrining kokristal dengan menilai kompatibilitas antara zat aktif dan koformer. Proses skrining dapat dilakukan dengan cepat dan memerlukan sedikit sampel tanpa penggunaan pelarut, sehingga metode ini juga dikenal sebagai "*green technique*." Namun, dalam praktiknya, DSC kurang cocok untuk senyawa yang bersifat termolabil atau mudah menguap karena melibatkan proses pemanasan (51)





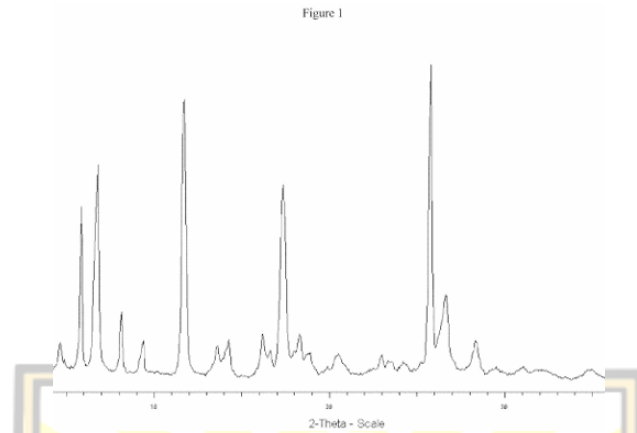
Gambar 2. 5 Termogram DSC febuxostat (52)

Analisis termal seperti DSC banyak digunakan dalam menentukan sifat fisikokimia dari suatu kristal seperti titik lebur, kristalisasi, sublimasi, dekomposisi, transisi bentuk padatan dan kuantifikasi senyawa volatil. DSC dalam karakterisasi kokristal ditentukan dengan melihat adanya puncak eksotermik yang diikuti dengan puncak endotermik dalam spektrum DSC. DSC digunakan untuk mengetahui titik lebur, sifat polimorfik, panas fusi, serta sifat eksotermik dan endotermik suatu senyawa. DSC mengukur panas yang mengalir melewati sampel. Panas yang mengalir melewati sampel tersebut dibandingkan dengan standar. Data yang diberikan analisis DSC berupa daya berbanding suhu atau kapasitas panas berbanding suhu (diperoleh dengan membagi data daya dengan laju pemanasan) dalam bentuk termogram (51).

### 2.5.2 X-Ray Diffraction (XRD)

*X-Ray Diffraction* (XRD) adalah alat yang umum digunakan dalam penelitian dan industri. XRD dikenal terutama untuk analisis kualitatif dan kuantitatif fase kristal dalam material. Namun, analisis pola difraksi juga dapat memberikan informasi yang lebih luas dengan menggunakan pengaturan XRD tertentu, seperti karakterisasi larutan padat, ukuran dan bentuk kristalit, orientasi kristal, serta regangan atau tekanan elastis internal pada berbagai tingkat. Selain itu, XRD juga dapat digunakan untuk mempelajari efek suhu dan karakterisasi permukaan. XRD dibagi menjadi dua kategori: *Single X-Ray Diffraction* (SXRD) dan *Powder X-Ray Diffraction* (PXRD). SXRD umumnya digunakan untuk

karakterisasi struktur bentuk padat kokristal pada tingkat atom, termasuk dimensi sel satuan dan kelompok ruang kristalografi (53).

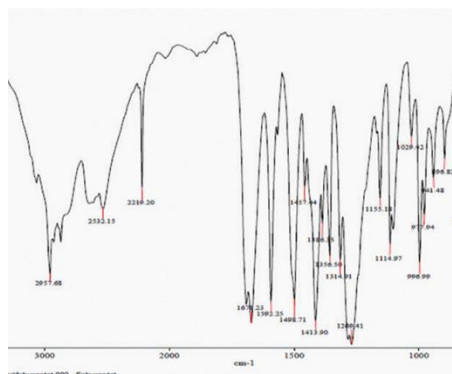


Gambar 2. 6 Pola Difraktogram febuxostat (54)

PXRD adalah metode yang paling umum digunakan untuk mengidentifikasi kristal baru. Dalam PXRD, ketika sinar-X diarahkan ke kristal, sinar tersebut akan terdifraksi dan membentuk pola khas. Pola difraksi ini memplot intensitas pada sudut detektor,  $2\theta$ , dan hasil yang diperoleh dikenal sebagai difraktogram (Sebagian besar kokristal dibuat dalam bentuk serbuk mikrokristalin, sehingga *Powder X-Ray Diffraction* (PXRD) lebih sering digunakan dibandingkan *Single X-Ray Diffraction* (SXRD), karena tidak memerlukan kristal tunggal. Metode PXRD juga bersifat non-destruktif, memiliki sensitivitas tinggi, serta proses penyiapan sampel dan prosedur operasional yang mudah. Selain itu, interpretasi data dari PXRD dapat diterapkan dalam analisis kualitatif dan kuantitatif (55).



### 2.5.3 *Fourier Transform Infrared (FT-IR)*



Gambar 2. 7 Spektum IR febuxostat (56)

*Fourier Transform Infrared (FTIR)* adalah metode untuk karakterisasi kristal yang melibatkan radiasi infra merah yang melewati sampel. Sebagian cahaya akan diserap oleh sampel, sementara sisanya ditransmisikan. Spektrum yang dihasilkan mencerminkan penyerapan dan transmisi molekul, memberikan sidik jari pada permukaan sampel. Spektrum IR menunjukkan puncak penyerapan yang sesuai dengan frekuensi getaran antar ikatan yang terbentuk (57). Ketika suatu frekuensi tertentu dari radiasi IR dipancarkan pada sampel, sampel itu akan menyerap frekuensi tersebut. Kemudian detektor akan membaca frekuensi yang dilewatkan pada senyawa namun tidak diserap, hal ini yang diukur sebagai persen transmittan (53).

*Fourier Transform Infrared (FTIR)* adalah teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa dengan memanfaatkan radiasi infra merah. Spektroskopi inframerah mengukur penyerapan radiasi yang dihasilkan oleh setiap ikatan dalam molekul. Spektrum yang dihasilkan biasanya dinyatakan sebagai persentase transmitansi relatif terhadap bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ). Wilayah infra merah terletak di antara ujung spektrum yang terlihat dan gelombang mikro dari radiasi elektromagnetik, dan secara umum dibagi menjadi tiga bagian utama: IR dekat ( $14.000 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ ), IR tengah ( $4.000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ), dan IR jauh ( $400 - 40 \text{ cm}^{-1}$ ) (58).

#### **2.5.4 Scanning Electron Microscope (SEM)**

*Scanning Electron Microscope* (SEM) adalah instrumen yang digunakan dalam karakterisasi kokristal untuk menentukan ukuran partikel dan menganalisis morfologi kokristal. SEM mampu memberikan gambaran partikel dengan detail tinggi dan resolusi spasial hingga 1 nm. Teknik ini digunakan untuk karakterisasi kokristal dalam aspek kristalografi, magnetik, dan elektrik, serta untuk mendeteksi adanya perubahan morfologi partikel setelah modifikasi permukaan dengan molekul lain, meskipun hanya melalui gambar permukaan sampel. Sampel ditembak dengan elektron berenergi tinggi, yang menghasilkan sinar-X yang memberikan informasi tentang topografi, morfologi, komposisi, orientasi butiran, dan kristalografi. Morfologi kristal mencakup bentuk dan ukuran kristal, sedangkan topografi menunjukkan karakteristik permukaan seperti tekstur dan kehalusan atau kekasaran permukaan kristal. Komposisi mencakup unsur dan senyawa yang menyusun kokristal, sementara kristalografi menggambarkan susunan atom dalam material tersebut (59).

Prinsip kerja Scanning Electron Microscope (SEM) melibatkan pelepasan elektron primer dari sumbernya, yang kemudian memberikan energi kepada elektron dalam atom spesimen. Elektron tersebut kemudian dilepaskan sebagai elektron sekunder. SEM beroperasi dalam ruang hampa untuk menghindari interaksi antara elektron dan molekul gas, sehingga menghasilkan resolusi tinggi. Elektron primer yang dihasilkan akan dipercepat melalui pemanasan atau dengan menggunakan energi tinggi dalam rentang 1-40 keV. Elektron yang dipancarkan akan difokuskan dan dibatasi menjadi berkas monokromatik dengan diameter sekitar 100 nm melalui lensa medan magnet dan celah logam di dalam kolom vakum. Elektron primer kemudian melewati permukaan sampel dan berinteraksi dengan area di dekat permukaan hingga kedalaman tertentu, dengan energi kinetik yang besar (60).

#### **2.6 Kelarutan**

Kelarutan dapat dinyatakan dalam berbagai satuan konsentrasi, seperti molalitas, fraksi mol, rasio mol, dan unit lainnya. Kelarutan suatu zat pada dasarnya dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, serta suhu dan tekanan. Pelarut umumnya berupa cairan, baik yang murni maupun campuran dua cairan. Tingkat

kelarutan suatu zat dalam pelarut tertentu diukur sebagai konsentrasi saturasi, di mana penambahan lebih banyak zat terlarut tidak akan meningkatkan konsentrasinya dalam larutan. Kelarutan merujuk pada kemampuan zat kimia baik padat, cair, atau gas yang disebut zat terlarut, untuk larut dalam pelarut (padat, cair, atau gas) sehingga membentuk larutan homogen. IUPAC mendefinisikan kelarutan sebagai komposisi analitik dari larutan jenuh yang dinyatakan sebagai proporsi zat terlarut yang ditentukan dalam pelarut yang ditentukan (4).

Farmakope dan USP mengelompokkan kelarutan berdasarkan dari pelarut yang digunakan, hanya dalam hal kuantifikasi dan mendefinisikan kriteria seperti Tabel 2.1 dibawah ini :

Tabel 2. 1 Kelarutan menurut Farmakope Indonesia edisi VI

| Istilah kelarutan   | Jumlah bagian pelarut yang diperlukan untuk melarutkan 1 bagian zat |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Sangat mudah larut  | Kurang dari 1                                                       |
| Mudah larut         | 1 sampai 10                                                         |
| Larut               | 10 sampai 30                                                        |
| Agak sukar larut    | 30 sampai 100                                                       |
| Sukar larut         | 100 sampai 1000                                                     |
| Sangat sukar larut  | 1000 sampai 10.000                                                  |
| Praktis tidak larut | Lebih dari 10.000                                                   |

*Biopharmaceutics Classification System* (BCS) merupakan pedoman untuk memprediksi penyerapan obat yang disediakan oleh Food and Drug Administration (FDA). Sistem ini membatasi prediksi menggunakan parameter, kelarutan dan permeabilitas pada usus. BCS mendefinisikan zat aktif sebagai sangat larut jika dosis tertinggi dapat larut dalam 250 mL atau kurang dalam media berair dengan pH antara 1 hingga 7,5 (4).

Tabel 2. 2 Klasifikasi obat berdasarkan BCS (34).

| Klasifikasi | Keterangan                            |
|-------------|---------------------------------------|
| BCS I       | Kelarutan tinggi-permeabilitas tinggi |
| BCS II      | Kelarutan rendah-permeabilitas tinggi |
| BCS III     | Kelarutan tinggi-permeabilitas rendah |
| BCS IV      | Kelarutan rendah-permeabilitas rendah |

## 2.7 Disolusi

Disolusi, yaitu proses pelepasan obat dari bentuk sediaan, merupakan aspek penting dalam pengembangan berbagai sediaan oral, terutama yang berbentuk padat dan mengikuti pola pelepasan tertentu. Bentuk sediaan oral perlu memiliki bioavailabilitas yang cukup agar obat dapat efektif diberikan secara sistemik. Proses disolusi adalah ketika zat kimia atau obat larut dalam pelarut. Disolusi ini sangat krusial untuk semua sediaan oral padat, serta untuk sediaan lepas yang dimodifikasi, karena proses ini dapat menentukan laju pembebasan obat saat diberikan secara oral (61). Pada tahun 1987 Noyes dan Whitney, bersama peneliti lainnya, mempelajari laju disolusi pada sediaan obat padat. Mereka mengamati bahwa langkah-langkah dalam proses disolusi meliputi pelarutan obat di permukaan partikel padat, yang menghasilkan larutan jenuh di sekelilingnya. Obat yang terlarut dalam larutan jenuh, yang dikenal sebagai lapisan stagnan, akan berdifusi ke dalam pelarut dari area dengan konsentrasi tinggi ke area dengan konsentrasi rendah. Kecepatan disolusi obat dapat dijelaskan menggunakan persamaan Noyes-Whitney (62).

$$\frac{dc}{dt} = \frac{DA}{h} (C_s - C)$$

Keterangan :

dC: Kecepatan disolusi pada waktu t (kg/s) dt

D : Konstanta disolusi (m/s)

A : Luas permukaan partikel yang mengalami disolusi (m<sup>2</sup>)

Cs : Konsentrasi obat (yang sebanding dengan obat yang larut) di dalam stagnant layer(mol/L)

C : Konsentrasi obat dalam sejumlah pelarut (mol/L)

H : Ketebalan dari stagnant layer (m)

United States Pharmacopeia dan National Formulary (USP-NF) mengkategorikan alat uji disolusi menjadi tujuh tipe, tipe keranjang, tipe dayung, silinder reciprocating, sel alir, dayung di atas cakram, silinder berputar, dan cakram reciprocating. Alat uji disolusi yang umumnya dipakai melibatkan alat uji disolusi tipe 1, seperti tipe keranjang, dan alat uji disolusi tipe 2, seperti tipe dayung. Ketika menguji sediaan padat oral, umumnya dipilih alat uji disolusi tipe 1 atau tipe 2 karena kemudahan pengoperasian, ketersediaan alat, dan metode otomatis yang tersedia (62).

Alat tipe 1, yaitu keranjang, terdiri dari silinder yang berfungsi untuk menampung sampel dan berputar dalam labu berisi media disolusi yang dipanaskan pada suhu konstan 37°C. Kecepatan putaran umumnya berkisar antara 100 hingga 150 rpm. Namun, alat ini memiliki kelemahan, seperti risiko penyumbatan pada ayakan dengan mesh 40 akibat formulasi tertentu. Sementara itu, alat tipe 2, yaitu dayung, dirancang untuk mengurangi turbulensi selama proses pengadukan. Dayung ini terpasang secara vertikal dan berputar pada kecepatan yang terkontrol dalam labu bulat dengan suhu yang juga dijaga di 37°C. Kecepatan yang biasa digunakan adalah 50 atau 75 rpm, dan untuk mencegah tablet atau kapsul mengambang, biasanya digunakan pemberat seperti kawat platinum. Pemberat ini tidak memengaruhi karakteristik disolusi dari sediaan tersebut (62).

## **2.8 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah teknik yang digunakan untuk memverifikasi kemurnian senyawa baru, memantau perubahan dalam reaksi, mengevaluasi formulasi baru, serta berkontribusi dalam pengendalian mutu dan jaminan kualitas produk farmasi. Metode ini melibatkan injeksi larutan sampel ke dalam kolom (fase diam), di mana fase cair (fase gerak) dipompa dengan tekanan tinggi. Pemisahan senyawa terjadi karena adsorpsi zat terlarut pada fase diam, yang bergantung pada afinitas masing-masing senyawa terhadap fase diam tersebut.

Kelebihan dari KCKT adalah analisis yang cepat, resolusi tinggi, diameter kolom yang kecil, ketepatan analisis, kepekaan yang lebih tinggi, serta cocok untuk memisahkan senyawa yang nonvolatile (63,64).

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) menghasilkan kromatogram yang menggambarkan waktu retensi pada sumbu x dan respons detektor pada sumbu y, yang ditunjukkan sebagai tinggi atau luas puncak dari analit yang keluar dari kolom. Setiap analit memiliki waktu retensi ( $t_R$ ), yaitu waktu yang diperlukan sejak analit diinjeksikan hingga mencapai puncak maksimum pada detector. Waktu retensi pelarut elusi ( $t_M$ ) adalah waktu yang diperlukan oleh pelarut untuk melewati kolom tanpa interaksi dengan fase diam. Perbedaan antara waktu retensi analit ( $t_R$ ) dan waktu retensi pelarut elusi ( $t_M$ ) disebut waktu retensi senyawa yang disesuaikan ( $t_R'$ ) atau waktu retensi terkoreksi. Rumus untuk menghitung  $t_R'$  adalah (64):

$$t_R' = t_R - t_M \quad (64)$$

Waktu retensi dapat bervariasi tergantung pada panjang kolom dan laju aliran fase gerak, sehingga faktor kapasitas atau faktor retensi ( $k'$ ) dapat digunakan untuk mengidentifikasi puncak dalam kromatogram dengan lebih baik. Faktor kapasitas mewakili puncak analit yang dielusi relatif terhadap puncak fase gerak. Nilai faktor kapasitas yang baik adalah antara 2 dan 10. Jika nilai  $k'$  kecil, berarti analit hanya ditahan sedikit oleh kolom dan akan terelusi hampir bersamaan dengan pelarut, yang mengakibatkan pemisahan yang kurang efektif. Sebaliknya, nilai  $k'$  yang besar (misalnya 20–30 menit) menunjukkan pemisahan yang baik, tetapi dapat menyebabkan waktu analisis menjadi terlalu lama (64).

Untuk mengevaluasi kualitas pemisahan, dua parameter penting yang digunakan adalah ukuran pelebaran puncak masing-masing zat terlarut (efisiensi) dan kemampuan untuk memisahkan puncak yang berdekatan (resolusi). Dalam KCKT, pemisahan yang berlangsung di kolom diukur menggunakan jumlah lempeng atau plate number ( $N$ ) sebagai indikator efisiensi.  $N$  menunjukkan jumlah distribusi kesetimbangan dinamis yang terjadi dalam kolom. Umumnya, efisiensi kolom KCKT akan meningkat dengan menurunnya ukuran partikel dalam kolom.  $N$  dapat dinyatakan sebagai (57,64) :

$$N = 16 \frac{t_R^2}{W}$$



Keterangan:

$t_R$  : waktu retensi analit

$W$  : lebar pada dasar puncak

Resolusi puncak-ke-puncak ( $R_s$ ) atau resolusi diukur sebagai selisih waktu retensi antara dua puncak yang berdekatan dibagi dengan rata-rata lebar puncak. Waktu retensi dan lebar puncak dari setiap analit berpengaruh pada pemisahan komponen. Nilai  $R_s$  dapat dihitung dengan rumus berikut (57):

$$R = \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{0,5 (W_2 + W_1)}$$

Keterangan:

$t_R$  : waktu retensi komponen

$W$  : lebar alas puncak

Kromatografi partisi terbagi menjadi dua jenis yaitu kromatografi fase terbalik dan kromatografi fase normal. Dalam kromatografi fase terbalik, fase gerak yang digunakan lebih polar dibandingkan fase diam yang bersifat nonpolar atau kurang polar, sehingga sampel yang lebih polar akan keluar terlebih dahulu. Sebaliknya, pada kromatografi fase normal, fase gerak yang digunakan bersifat kurang polar atau nonpolar, sementara fase diam lebih polar, sehingga elusi dimulai pada sampel yang kurang polar.

Kromatografi fase terbalik umumnya menggunakan oktadesil silana (C18) dan oktil silana (C8) sebagai fase diam. Sementara itu, dalam kromatografi fase normal, fase diam yang sering digunakan adalah alkil nitril dan alkil amina. Fase diam ODS atau C18 dapat memisahkan senyawa dengan berbagai tingkat polaritas, baik tinggi, sedang, maupun rendah. Fase gerak memainkan peran penting dalam pemisahan pada KCKT. Pelarut yang digunakan dalam KCKT harus bebas dari kontaminan, inert atau tidak reaktif terhadap kemasan, mampu melarutkan sampel, memiliki viskositas rendah, dan sesuai dengan detektor yang digunakan (66) .

Pemilihan komposisi fase gerak sering kali dilakukan melalui proses percobaan hingga diperoleh kromatogram yang diinginkan. Sebagian besar fase gerak terdiri dari kombinasi pelarut organik seperti asetonitril dan metanol, serta *buffer* seperti *buffer* fosfat dan tetrahidrofuran (THF). Asetonitril dipilih sebagai



fase gerak karena reaktivitas kimianya yang rendah, kemampuannya melarutkan dengan baik dalam air, dan viskositas yang rendah. *Buffer* umumnya digunakan dalam kromatografi fase terbalik untuk sampel yang memiliki gugus fungsi asam atau basa, serta dapat membantu mengurangi fluktuasi pH (66).

## 2.9 Validasi dan Verifikasi Metode Analisis

Validasi metode analitik merupakan prasyarat untuk melakukan evaluasi kimia. Tujuan dari validasi adalah untuk menilai dan memverifikasi bahwa sistem pengujian analitis yang dilakukan sudah memadai dan mampu memberikan data analitis yang berguna dan valid (67). Validasi metode analisis yang umum dilakukan untuk menjamin hasil analisis meliputi: selektivitas/spesifisitas, batas deteksi, batas kuantifikasi, akurasi dan presisi (57).

Verifikasi metode analisis merupakan konfirmasi ulang untuk memastikan bahwa metode yang digunakan sudah memenuhi persyaratan dan memberikan hasil yang valid. Verifikasi dilakukan apabila metode analisis yang digunakan berasal dari metode baku seperti Farmakope Indonesia, United States Pharmacopeia (USP), Indian Pharmacopeia (IP) dan kompoendial lain yang memiliki metode dan tidak mengalami perubahan pada metode tersebut. Namun, jika metode yang digunakan mengalami perubahan atau baru dikembangkan, maka perlu untuk melakukan validasi metode analisis. Parameter yang wajib dilakukan pada verifikasi adalah uji presisi dan akurasi. Parameter lain yang dapat diujikan adalah linearitas, batas deteksi dan batas kuantifikasi, dan spesifisitas (57) :

### a. Spesifisitas

Spesifisitas metode analitik adalah kemampuannya untuk mengukur secara akurat analit dengan adanya interferensi yang mungkin ada dalam sampel. Spesifisitas diperiksa dengan memeriksa kromatografi kosong (dari sampel yang diketahui tidak mengandung analit) di jendela waktu yang diharapkan dari puncak analit (57).

### b. Akurasi

Akurasi merupakan tingkat kesesuaian hasil uji yang dihasilkan menggunakan metode tertentu dengan nilai sebenarnya. Akurasi diukur dengan menambahkan sampel dengan konsentrasi standar analit yang diketahui dan dianalisis dengan

menggunakan metode yang sedang divalidasi. Akurasi dihitung sebagai % recovery (58).

c. Presisi

Presisi merupakan tingkat kedekatan pengukuran suatu sampel atau analit melalui pengukuran yang berulang. Presisi diukur dengan cara menganalisis serangkaian sampel dari beberapa sampel yang homogen. Dari hasil pengukuran yang didapatkan, maka dapat dilakukan perhitungan standar deviasi (SD) dan nilai rata-rata (Mean). Presisi dinyatakan sebagai simpangan baku relatif (Relative Standard Deviation). % RSD dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (58).

$$\%RSD = \frac{\text{Standar deviasi (SD)}}{\text{rata-rata}} \times 100$$

d. Linearitas

Linearitas dinyatakan sebagai kemampuan suatu metode dalam rentang tertentu dalam memperoleh hasil uji yang berbanding lurus dengan konsentrasi (jumlah) analit dalam sampel (58).

e. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Sensitivitas suatu metode analisis ditentukan berdasarkan batas deteksi (Limit of Detection, LoD) dan batas kuantifikasi (Limit of Quantitation, LoQ). LoD merupakan jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat dideteksi namun tidak harus dikuantifikasi sebagai nilai yang tepat. LoQ merupakan jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif melalui prosedur presisi dan akurasi yang sesuai. LoQ merupakan parameter uji kuantitatif untuk kadar terendah suatu senyawa dalam sampel dan digunakan untuk menentukan adanya pengotor di dalam sampel (58).

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 – Mei 2025 di Laboratorium Teknologi Sediaan Padat, Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Laboratorium Instrumen Jurusan Fisika FMIPA Universitas Negeri Padang, Laboratorium Elektron Mikroskop Pusat Penelitian Nanosains dan Nanoteknologi Institut Teknologi Bandung, Laboratorium Vahana Padang.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Timbangan digital (OHAUS Analytical Balance tipe EX224, AS), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC-60 Shimadzu, Jepang), *Powder X-Ray Diffraction* (PAN analytical MPD PW3040/60 tipe XPERT-PRO, Belanda), spektrofotometer FT – IR (Shimadzu IR-Tracer-100 AH, Jepang), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor DAD UV-VIS (Agilent 1220, AS), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1700, Jepang), *Orbital Shaker* (Memmert, Jerman), *Dissolution tester* (SR8 Plus Dissolution Test Station Hanson Virtual Instrument, AS), lumpang, alu, desikator, kertas saring, aluminium foil, dan alat gelas standar laboratorium lainnya.

#### 3.2.2 Bahan

Febuxostat (Lupin, India), asam siringat (TCI, Jepang), asetonitril *pro analysis* (Merck, Jerman), air suling bebas CO<sub>2</sub>, asetonitril *grade for liquid chromatography* (Merck, Jerman), metanol *pro analysis* (Merck, Jerman), aquabidest (Ikapharmino, Indonesia), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck, Jerman), asam sitrat, (TCI, Jepang), Sodium lauryl sulfat (Kao, Indonesia).

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Pemeriksaan Bahan Baku

Untuk bahan baku febuxostat, asam siringat pemeriksaan dilakukan sesuai dengan *Japanese Pharmacopoeia 2021* dan *certificate of analysis* (CoA).

Pemeriksaan termasuk pemeriksaan organoleptis (bentuk, warna, dan bau), serta titik lebur menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC).

### **3.3.2 Pembuatan Multikomponen Kristal Febuxostat – Asam Siringat** **Metode Liquid Assisted Grinding dengan Berbagai Rasio**

Dalam menentukan perbandingan yang tepat untuk zat aktif dan koformer dibuat perbandingan 1:1; 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 4,5:5,5; 5,5:4,5; 6:4; 7:3; 8:2; dan 9:1 untuk memilih perbandingan yang memiliki satu puncak. Multikomponen kristal febuxostat dibuat dengan perbandingan equimolar febuxostat dengan asam siringat 1:1; 4:6; 4,5:5,5; 5,5:4,5 dan 6:4. Pindahkan ke dalam mortar dan digerus selama 30 menit menggunakan lumpang dan alu sambil ditambahkan asetonitril *pro analysis* menggunakan mikropipet sebanyak 30  $\mu\text{L}$ . Sampel disimpan dalam wadah tertutup rapat dan diletakkan dalam desikator.

### **3.3.3 Pembuatan Campuran Fisik Febuxostat – Asam Siringat**

Campuran fisik febuxostat- asam siringat dibuat dengan menggunakan perbandingan equimolar yang terpilih dari multikomponen kristal febuxostat-asam siringat. Kedua zat dimasukkan ke dalam wadah tertutup rapat dan dihomogenkan selama 30 detik. Sampel disimpan pada wadah tertutup rapat dan diletakkan di dalam desikator.

### **3.3.4. Karakterisasi Febuxostat, Asam siringat, Campuran Fisik, dan Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam siringat**

#### **3.3.4.1. Analisis Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

Alat DSC yang suhunya telah dikalibrasi digunakan. Analisis dilakukan terhadap sampel FEB, asam siringat, campuran fisik, dan multikomponen kristal FEB-asam siringat. Tiga mg sampel diletakkan pada plat yang terbuat dari aluminium, ditutup, dan dipanaskan pada suhu 50 – 250°C dengan kecepatan 10°C per menit.

#### **3.3.4.2 Analisis Powder X-ray Diffraction (PXRD)**

Sampel FEB, asam siringat, campuran fisik dan multikomponen kristal FEB-asam siringat ditempatkan pada holder difraktometer sinar-X dengan kondisi berikut: target logam Cu, filter  $K\alpha$ , tegangan 40kV, dan kuat arus 30 mA. Pola

difraksi diukur pada sudut  $2\theta$  dari 5 hingga  $50^\circ$ . Hasil dari analisis ini adalah kurva antara intensitas puncak difraksi sampel dan sudut  $2\theta$ .

#### **3.3.4.3 Analisis Fourier Transform Infrared (FT-IR)**

Sampel FEB, asam siringat, campuran fisik dan multikomponen Kristal FEB-asam siringat ditimbang sebanyak 5 mg miligram diletakkan pada plat alumunium, ditutup, dan kemudian spektrum absorbansi diukur dengan FT-IR pada bilangan gelombang 4000 – 600  $\text{cm}^{-1}$

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

Sampel sebanyak 10 mg diletakan pada plat aluminium kemudian dilapisi dengan emas. Tegangan diatur pada 20 kV dengan kuat arus 12 mA. Selanjutnya sampel diamati pada variasi perbesaran alat SEM. Sampel FEB, asam siringat, campuran fisik dan multikomponen kristal FEB-asam siringat dianalisis terhadap variasi perbesaran alat SEM.

### **3.3.5 Optimasi Sistem KCKT**

#### **3.3.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Febuxostat**

Larutan induk febuxostat disiapkan dengan melarutkan 10 mg febuxostat murni dalam metanol *pro analysis* dalam labu ukur 10 mL, lalu dipipet 1 mL dan dicukupkan dengan metanol *pro analysis* sampai tanda batas dan didapat larutan induk dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$ . Kemudian dari larutan induk tersebut diencerkan hingga didapat konsentrasi 6  $\mu\text{g/mL}$  diukur serapannya dalam rentang 200-400 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimal febuxostat.

#### **3.3.5.2 Pembuatan Fase Gerak**

Analisis kuantitatif untuk febuxostat menggunakan fase diam kolom diamonsil berdiameter dalam 4,6 mm dan panjang 15 cm, diisi dengan gel silika oktadesilsilanisasi untuk kromatografi cair (diameter partikel 10  $\mu\text{m}$ ). Fase geraknya adalah asetonitril dan asam asetat 0,2% dengan perbandingan 75:25. Larutan asam asetat 0,2% dibuat dengan mengencerkan asam asetat glasial sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 1000 mL, kemudian ditambahkan aquabides hingga mencapai volume total 1000 mL. Fase gerak disaring menggunakan kertas saring Whatman 0,45  $\mu\text{m}$  dengan bantuan pompa vakum, kemudian fase gerak

disonikasi menggunakan sonikator untuk menghilangkan gas yang ada di dalam larutan selama  $\pm 15$  menit. Pencampuran fase gerak dilakukan di dalam alat KCKT.

### 3.3.6 Validasi Metode Analisis KCKT

#### 3.3.6.1 Uji Linearitas

Pengujian dilakukan dengan membuat suatu seri larutan standar febuxostat dengan konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$ , lalu dilakukan pengenceran dengan memipet larutan induk sebanyak 1; 2; 3; 4; dan 5 mL ke labu ukur 10 mL kemudian dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$ , 200  $\mu\text{g/mL}$ , 300  $\mu\text{g/mL}$ , 400  $\mu\text{g/mL}$ , dan 500  $\mu\text{g/mL}$ . Masing-masing larutan disaring dengan membran PTFE 0,22  $\mu\text{m}$  dan diinjeksikan ke alat KCKT untuk dianalisis. Setelah itu dibuat kurva kalibrasi dari luas area yang didapat.

#### 3.3.6.2 Uji Akurasi

Pengujian dilakukan dengan membuat suatu seri larutan standar febuxostat dengan konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$ , lalu dilakukan pengenceran dengan memipet larutan induk sebanyak 1; 3; dan 5 mL ke labu ukur 10 mL kemudian dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$ , 300  $\mu\text{g/mL}$ , dan 500  $\mu\text{g/mL}$ . Masing-masing larutan disaring dengan membran PTFE 0,22  $\mu\text{m}$  dan diinjeksikan ke alat KCKT untuk dianalisis. Luas area yang didapat, dihitung konsentrasinya dan dibandingkan dengan konsentrasi seri larutan yang telah dibuat sehingga didapatkan persentase *recovery* dari masing-masing konsentrasi seri. Pengujian akurasi dilakukan dengan 3 kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi. Persentase *recovery* dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

#### 3.3.6.3 Uji Presisi

Uji presisi dilakukan dengan mengencerkan larutan induk febuxostat 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Larutan induk dipipet 3 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas dan diperoleh larutan dengan konsentrasi 300  $\mu\text{g/mL}$ . Larutan sampel disaring dengan membran PTFE 0,22  $\mu\text{m}$ , kemudian sebanyak 20  $\mu\text{L}$  dari larutan tersebut dipipet dan diinjeksikan ke alat

KCKT yang telah diatur pada kondisi analisis yang sesuai. Pengujian dilakukan dengan 6 kali pengulangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (KV).

#### 3.3.6.4 Uji Spesifisitas

Pada uji selektivitas larutan yang berasal dari larutan induk 1000 µg/mL, dipipet 5 mL dan dicukupkan dengan metanol *pro analysis* hingga didapat konsentrasi 500 µg/mL. Larutan sampel disaring dengan kertas saring Whatman 0,45 µm, kemudian sebanyak 20 µL dari larutan tersebut dipipet dan diinjeksikan ke alat KCKT yang telah diatur pada kondisi analisis yang sesuai.

#### 3.3.6.5 Limit of Detection (LoD) dan Limit of Quantitation (LoQ)

Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung dari persamaan regresi linear yang telah diperoleh sebelumnya. LoD dan LoQ dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{LoD} = \frac{3 sy/x}{b}$$

$$\text{LoQ} = \frac{10 sy/x}{b}$$

Simpangan baku residual dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\frac{sy}{x} = \frac{\sqrt{\sum(y_1 - y_1')^2}}{N-2}$$

Keterangan :

LoD : batas deteksi

LoQ batas kuantitasi

Sy/x : simpangan baku residual

#### 3.3.7 Penetapan Kadar Perolehan Kembali

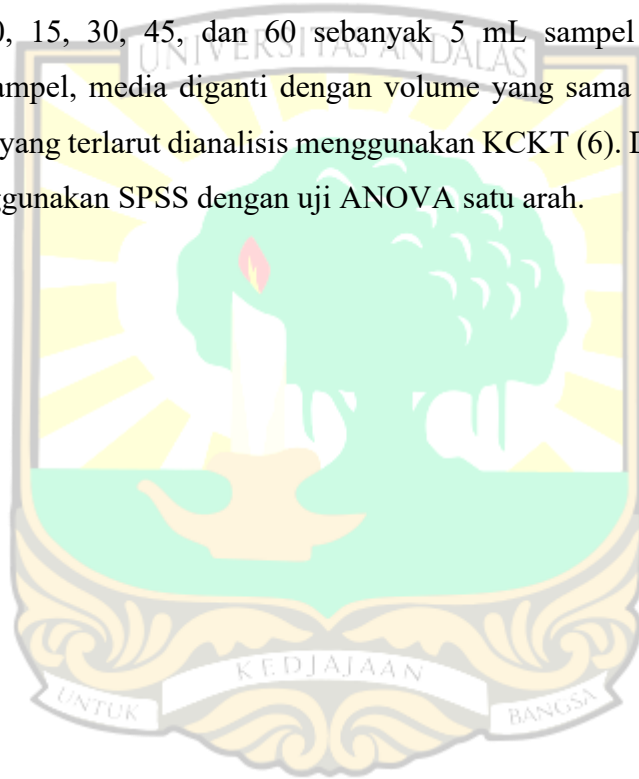
Penetapan kadar perolehan kembali dilakukan dengan cara menimbang multikomponen febuxostat dan campuran fisik yang masing-masing 40,65 mg setara dengan 25 mg febuxostat murni. Sampel dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 25 mL hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL. Kemudian larutan induk dipipet sebanyak 5 mL dan dicukupkan dengan metanol di labu ukur 10 mL. Larutan sampel disaring dengan kertas saring Whatman 0,45 µm, kemudian sebanyak 20 µL dari larutan tersebut dipipet dan diinjeksikan ke alat KCKT yang telah diatur pada kondisi analisis yang sesuai. Pengujian penetapan



kadar dilakukan menggunakan nilai AUC febuxostat kemudian dihitung kadar febuxostat pada masing–masing sampel dan ditentukan persen kadar rata– ratanya. Pengujian dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali.

### 3.3.8 Uji Disolusi

Profil disolusi untuk febuxostat, campuran fisik, multikomponen kristal febuxostat, dan campuran fisik ditimbang 65,05 mg yang setara 40 mg febuxostat murni ditimbang kemudian dianalisis menggunakan alat uji disolusi tipe 2 dengan medium dapar fosfat-sitrat pH 5,5 0,1 M + SLS 1% sebanyak 900 mL, pada kecepatan 50 rpm dan suhu  $37\pm0,05^{\circ}\text{C}$ . Setiap interval waktu yang ditentukan, yaitu menit ke-5, 10, 15, 30, 45, dan 60 sebanyak 5 mL sampel dipipet. Setelah pengambilan sampel, media diganti dengan volume yang sama dari media baru. Jumlah sampel yang terlarut dianalisis menggunakan KCKT (6). Data yang didapat dianalisis menggunakan SPSS dengan uji ANOVA satu arah.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pemeriksaan Bahan Baku

Pemeriksaan bahan baku febuxostat dan asam siringat secara organoleptis (bentuk, warna dan bau) serta penentuan titik lebur dilakukan untuk menjamin mutu dari bahan baku febuxostat dan asam siringat. *Certificate of Analysis* (CoA) dan monografi febuxostat dalam Japanese Pharmacopoeia 2021 digunakan sebagai acuan dalam mengidentifikasi bahan baku. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2

Tabel 4. 1 Hasil pemeriksaan bahan baku febuxostat

| Pemeriksaan | Persyaratan <i>Japan Pharmacopoeia</i> | CoA            | Hasil          |
|-------------|----------------------------------------|----------------|----------------|
| Bentuk      | Serbuk kristal                         | Serbuk kristal | Serbuk kristal |
| Warna       | Putih                                  | Putih          | Putih          |
| Bau         | Tidak berbau                           | Tidak berbau   | Tidak berbau   |
| Titik lebur | 209°C                                  | 209°C          | 208,9°C        |

Berdasarkan tabel 4.1, febuxostat secara keseluruhan memenuhi semua persyaratan yang diberikan.

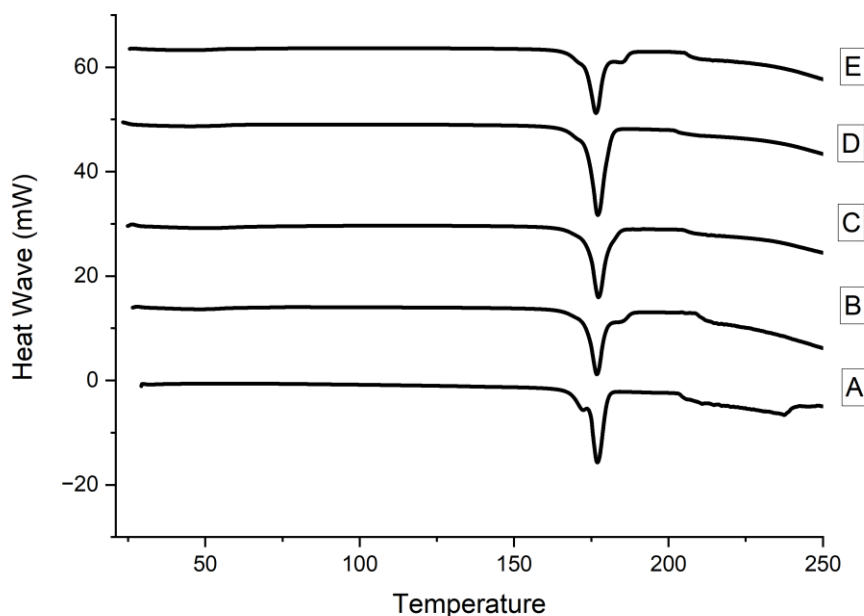
Tabel 4. 2 Hasil pemeriksaan bahan baku asam siringat

| Pemeriksaan | CoA               | Hasil             |
|-------------|-------------------|-------------------|
| Bentuk      | Serbuk            | Serbuk            |
| Warna       | Putih agak kuning | Putih agak kuning |
| Bau         | Tidak berbau      | Tidak berbau      |
| Titik lebur | 204-212°C         | 210,93°C          |

Hasil pemeriksaan bahan baku asam siringat dibandingkan dengan data yang tercantum di *certificate of analysis* asam siringat. Berdasarkan hasil pemeriksaan, bahan baku asam siringat sesuai dengan data yang tercantum pada CoA.

## 4.2 Penentuan Titik lebur dan Optimasi Perbandingan Zat aktif dengan Koformer

Pada penelitian ini dibuat multikomponen kristal dengan pelarut asetonitril dikarenakan berdasarkan hasil DSC penggunaan asetonitril sebagai pelarut karena sifat asetonitril sebagai pelarut polar aprotik yang dapat mendukung terjadinya interaksi non kovalen antar komponen sehingga menghasilkan kristal baru. Hal ini tercermin dari termogram DSC yang menunjukkan titik lebur jelas dan kurva yang lebih tajam saat dibandingkan dengan pelarut etanol, menandakan kristal yang lebih murni, homogen, dan stabil secara termal. Dilakukan juga pembuatan multikomponen kristal febuxostat dengan koformer asam usnat, L-glutamin, dan asam siringat. Asam siringat dipilih sebagai koformer karena asam siringat memiliki sifat antioksidan yang akan bermanfaat pada terapi inflamasi bersama dengan febuxostat. Dibuat multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dengan perbandingan febuxostat-asam siringat 1:1; 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 4,5:5,5; 5,5:4,5; 6:4; 7:3; 8:2; dan 9:1. Namun dikarenakan keterbatasan alat diperoleh data termogram DSC dari 5 perbandingan yaitu 1:1; 4:6 4,5:5,5; 5,5:4,5; dan 6:4.



Gambar 4. 1 Termogram perbandingan koformer (A) 1:1 (B) 4:6 (C) 4,5:5,5 (D) 5,5:4,5 (E) 6:4

Tabel 4. 3 Data Titik leleh dan energi fusi pada perbandingan zat aktif dan koformer

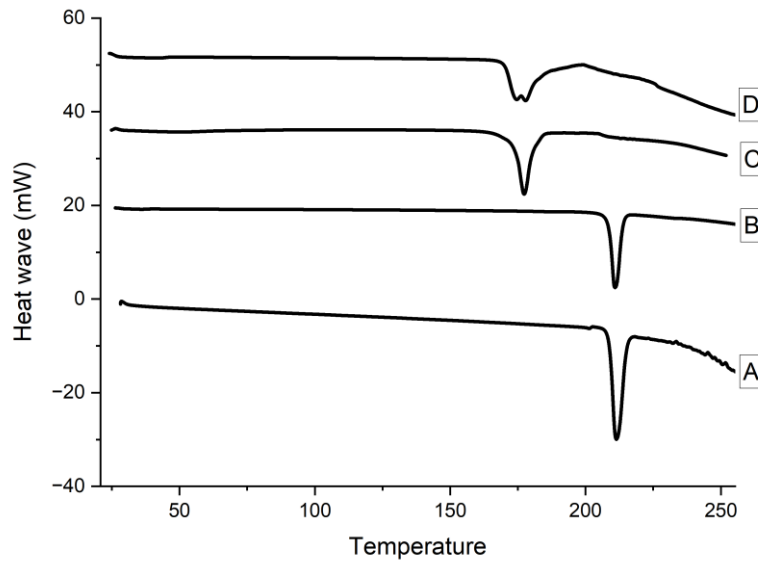
| Perbandingan<br>Febuxostat : Asam<br>siringat | Titik Leleh lebur (°C) | $\Delta H$ Fusi (J/g) |
|-----------------------------------------------|------------------------|-----------------------|
| 1 : 1                                         | 176,98                 | 99,64                 |
| 4 : 6                                         | 176,74                 | 111,85                |
| 4,5 : 5,5                                     | 177,31                 | 114,72                |
| 5,5 : 4,5                                     | 177,10                 | 136,71                |
| 6 : 4                                         | 176,50                 | 114,26                |

Dari kelima perbandingan, pada perbandingan febuxostat dan asam siringat 4,5:5,5 didapatkan puncak endotermik tunggal yang paling rendah dibandingkan puncak endotermik yang lain yaitu pada 177,31°C. Perbandingan zat aktif dan koformer 4,5:5,5 dipilih karena pada perbandingan ini yang paling terbaik dari kurva termogram yang didapat. Puncak endotermik yang dihasilkan tajam, simetris, dan terpisah dengan jelas dari puncak lainnya menunjukkan bahwa pada perbandingan ini, terbentuk interaksi molekul yang paling optimal antara komponen aktif dan koformer, menghasilkan sistem yang termodinamis paling stabil. Dari perbandingan yang terpilih perlu dilakukan karakterisasi XRD, Spektrofotometer FTIR dan SEM untuk mengetahui tipe mutikomponen kristal yang terbentuk.

#### **4.3 Karakterisasi Febuxostat, Asam siringat, Campuran Fisik, dan Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam siringat**

##### **4.3.1 Analisis Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

Analisis DSC merupakan analisis yang digunakan untuk mengetahui perubahan termodinamika zat padat saat diberikan energi panas. Multikomponen kristal baru yang terbentuk ditandai dengan munculnya puncak endotermik atau eksotermik pada termogram DSC (68). Data termogram akan memberikan informasi titik lebur dan energi fusi dari zat aktif, koformer, multikomponen kristal dan campuran fisik. Data hasil analisis DSC dapat dilihat pada Gambar 4.2 dan Tabel 4.4.



Gambar 4. 2 Termogram (A) febuxostat, (B) asam siringat, (C) multikomponen kristal febuxostat-asam siringat, dan (D) campuran Fisik febuxostat-asam siringat

Berdasarkan Gambar 4.2, termogram multikomponen kristal memiliki puncak endotermik yang tunggal dengan titik lebur lebih rendah daripada komponen penyusunnya. Hal ini menunjukkan bahwa zat aktif dan koformer telah melebur bersamaan dan membentuk satu padatan. Penurunan titik lebur ini mengindikasikan adanya interaksi fisik antara febuxostat dan asam siringat, yang menyebabkan melemahnya energi kisi kristal. Akibatnya, energi yang dibutuhkan untuk memutuskan interaksi dalam pembentukan kristal menjadi lebih rendah. Sedangkan pada termogram campuran fisik terdapat lebih dari 1 puncak endotermik, yang menandakan bahwa kedua komponen pada campuran fisik belum melebur secara bersamaan. Pada multikomponen kristal, puncak endotermik yang dihasilkan terlihat lebih tajam dibandingkan campuran fisik. Hal ini yang menunjukkan peleburan terjadi pada rentang suhu yang lebih sempit, yang diartikan terdapat homogenitas dan keteraturan struktur dari fase kristalin.

Tabel 4.4 Data termogram febuxostat, asam siringat, multikomponen kristal febuxostat-asam siringat, dan campuran Fisik febuxostat-asam siringat

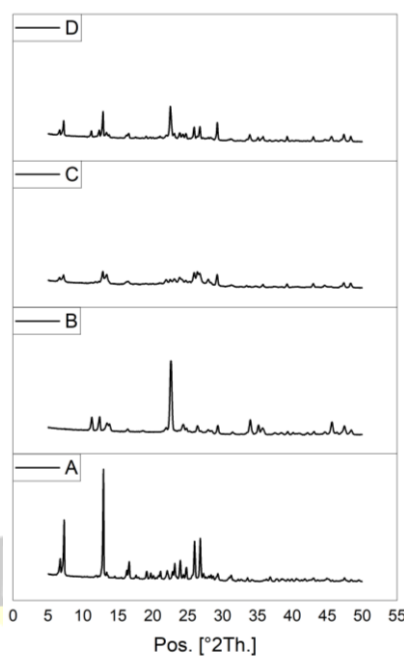
| Sampel        | Titik lebur (°C) | $\Delta H$ Fusi (J/g) |
|---------------|------------------|-----------------------|
| Febuxostat    | 211,41           | 128,53                |
| Asam siringat | 210,93           | 77,36                 |

|                       |        |        |
|-----------------------|--------|--------|
| Multikomponen kristal | 177,31 | 114,72 |
| Campuran fisik        | 177,82 | 131,49 |

Multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dengan perbandingan 4,5:5,5 yang terbentuk melebur bersamaan pada suhu 177,31°C dan memiliki satu puncak endotermik tunggal serta memiliki titik lebur yang lebih rendah dari zat aktif dan koformer. Analisis DSC juga memberikan informasi data penurunan nilai entalpi fusi suatu sampel yaitu febuxostat 128,53 J/g menjadi 114,72 J/g pada multikomponen kristal febuxostat-asam siringat. Hal ini menunjukkan bahwa multikomponen kristal memerlukan energi lebih rendah untuk melebur. Selain itu, juga mengindikasikan adanya penurunan derajat kristalinitas pada kristal multikomponen. Penurunan kristalinitas ini dapat dibuktikan melalui data hasil analisis difraksi sinar-X.

#### **4.3.2 Analisis Powder X-ray Diffraction (PXRD)**

Analisis difraksi sinar –X merupakan metode yang umum digunakan untuk melihat sifat kristalin dari sampel yang meliputi kemurnian, struktur, dan tekstur dari sampel serbuk serta ada atau tidaknya terbentuk puncak baru yang berbeda pada multikomponen kristal dengan komponen murni penyusunnya (69). Fase kristal baru, seperti garam dan kokristal akan menghasilkan pola difraksi sinar-X yang berbeda dari komponen penyusunnya.



Gambar 4. 3 Pola XRD (A) febuxostat, (B) asam siringat, (C) multikomponen kristal febuxostat-asam siringat, dan (D) campuran fisik febuxostat-asam siringat

Berdasarkan Gambar 4.3 sumbu x menunjukkan posisi sudut  $2\theta$  dalam derajat, sedangkan sumbu y menunjukkan intensitas difraksi dari masing-masing sampel. Pola XRD ini mencerminkan struktur kristalin dari masing-masing sampel, di mana setiap puncak yang muncul menandakan keberadaan fase kristalin tertentu dalam material tersebut. Variasi dalam posisi dan intensitas puncak memberikan indikasi tentang interaksi antar komponen atau perubahan sifat kristalinitas dalam campuran. Penurunan intensitas pada multikomponen kristal febuxostat – asam siringat kemungkinan besar disebabkan oleh penataan ulang atau keteraturan yang rendah dari kisi kristal karena aktivitas termodinamika. Data intensitas puncak dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.5 Intensitas puncak spesifik sampel febuxostat, asam siringat, multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dan campuran fisik febuxostat-asam siringat pada posisi  $2\theta$

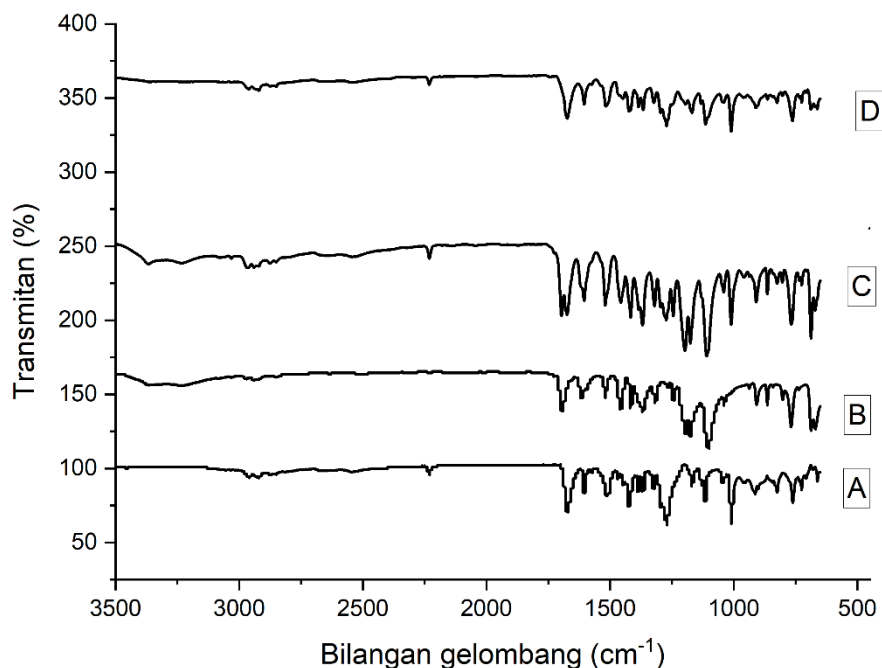
| Posisi $2\theta$ | Intensitas Puncak |               |               |                |
|------------------|-------------------|---------------|---------------|----------------|
|                  | Febuxostat        | Asam siringat | Multikomponen | Campuran fisik |
| 6,665            | 4504,54           |               | 1047,21       | 1389,95        |



|        |          |         |         |         |
|--------|----------|---------|---------|---------|
| 7,312  | 14812,44 |         | 1819,14 | 3880,26 |
| 11,29  |          | 3418,6  |         |         |
| 11,802 | 471,86   |         | 394,33  |         |
| 12,843 | 28947,81 | 3614,98 | 3191,43 | 6747,67 |
| 13,442 | 3201.327 | 1402,11 | 2415,51 | 2056,04 |
| 16.547 | 4444,27  | 582,64  | 695,5   | 1177,75 |
| 21.886 | 2316,16  |         | 1304,63 | 966,45  |
| 22.482 | 2036,45  |         | 1417,46 |         |
| 23.833 | 5114,42  |         | 1961,99 | 1743,69 |
| 24.764 | 3356,09  |         | 1253,99 | 1510,49 |
| 25.936 | 10420,61 |         | 3390,49 | 3365,55 |
| 26.360 | 10982.74 | 1937,79 | 3478,05 | 3504,25 |
| 29.240 | 1833,50  | 2074,56 | 2999,63 | 4713,3  |
| 31.246 | 1449,66  |         | 406,94  |         |
| 35.792 | 573,41   |         | 684,47  | 1147,78 |
| 39,229 | 471,73   | 777,6   | 832,32  | 1197,   |
| 42.983 | 811,39   | 813,1   | 998,16  | 1242,51 |
| 47,450 | 944,92   | 2281,4  | 1254,24 | 1863,65 |
| 48,393 | 428,65   | 1223,6  | 1127,22 | 1335,55 |

Pada sampel Multikomponen, terjadinya penurunan dan kenaikan intensitas puncak yang mengindikasikan adanya interaksi antar senyawa Febuxostat dan Asam Siringat. Selain itu, perubahan intensitas pada beberapa puncak yang terdapat dalam Multikomponen dibandingkan dengan Campuran Fisik juga menunjukkan bahwa pencampuran tidak hanya bersifat fisik, tetapi mungkin telah terjadi modifikasi pada struktur kristalin, seperti pembentukan kompleks atau perubahan tingkat kristalinitas. Difraktogram campuran fisik terlihat adanya puncak utama dari masing masing zat aktif dan koformer tanpa adanya pergeseran yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi atau pembentukan struktur baru antara Febuxostat dan Asam Siringat dalam campuran fisik tersebut.

#### 4.3.3 Analisis dengan Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)



Gambar 4. 4 Spektrum FTIR(A) febuxostat, (B) asam siringat, (C) multikomponen kristal febuxostat-asam siringat, dan (D) campuran fisik febuxostat-asam siringat

Analisis FTIR digunakan untuk mengetahui informasi terkait gugus-gugus fungsional, jenis dan interaksi kimia yang ada dalam sampel dengan menganalisis pergeseran pita transmisi pada spektrumnya. Analisis FT-IR diperlukan untuk mendukung hasil karakterisasi menggunakan XRD dan DSC. Metode ini dapat digunakan untuk memastikan tidak adanya gugus fungsi baru akibat pembentukan multikomponen kristal karena reaksi yang terjadi bersifat reaksi fisika. Pergeseran spektrum yang terjadi pada multikomponen febuxostat-asam siringat 4,5:5,5, menunjukkan perubahan ikatan akibat interaksi antara kedua senyawa. Interaksi tersebut dapat menyebabkan peregangan (*stretching*) atau pengerutan (*bonding*) pada ikatan tertentu, yang pada akhirnya dapat mempengaruhi sifat fisikokimia senyawa, termasuk kelarutannya. Gambar 4.4 merupakan spectrum FTIR untuk masing-masing komponen febuxostat dan asam siringat, multikomponen kristal dan campuran fisik.

Tabel 4.6 Perbandingan bilangan gelombang febuxostat, asam siringat, multikomponen kristal febuxostat-asam siringat, dan campuran Fisik

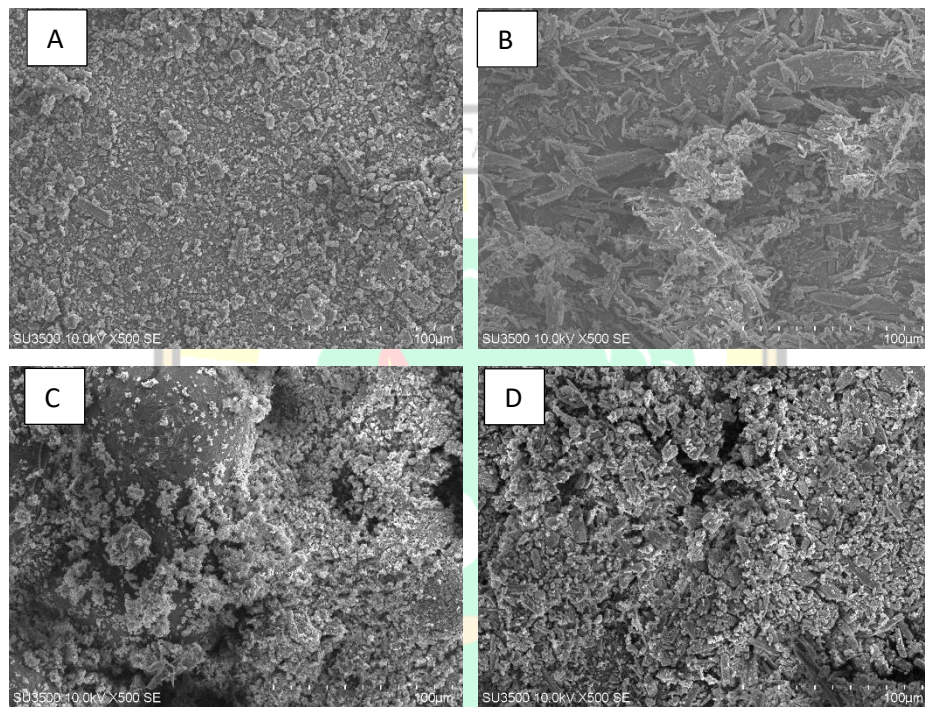
| Rentang Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Gugus Fungsi                      | Bilangan Gelombang |                  |                       |                |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|------------------|-----------------------|----------------|
|                                                 |                                   | Febuxostat         | Asam siringat    | Multikomponen Kristal | Campuran fisik |
| 3600-3300                                       | O-H (Asam karboksilat)            | 3456,12            | 3365,56          | 3367,47               | 3366,01        |
| 3000-2850                                       | C-H                               | 2919,09            | 2971,79          | 2940,28               | 2850,08        |
| 2260-2210                                       | $\text{C}\equiv\text{N}$ (Nitril) | 2231,65            |                  | 2231,44               | 2231,78        |
| 1690-1640                                       | $\text{C}=\text{N}$ (Imina)       | 1673,49            |                  | 1673,95               | 1673,76        |
| 1600-1475                                       | $\text{C}=\text{C}$ (aromatik)    | 1573,64            |                  | 1519,96               | 1517,07        |
| 1450-1375                                       | $\text{CH}_3$                     |                    |                  | 1417,12               | 1447,39        |
| 1375-1300                                       | $\text{S}=\text{O}$ (Sulfon)      | 1295,17            |                  | 1320,58               | 1322,90        |
| 1350-1000                                       | C-N                               | 1010,43            |                  | 1175,51               | 1272,12        |
| 1300-1000                                       | C-O                               | 1181,76            | 1264,52, 1101,99 | 1109,85               | 1132,22        |

Tabel 4.5 menunjukkan informasi mengenai gugus fungsi yang menjadi karakteristik dari febuxostat dan asam siringat. Febuxostat mempunyai gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang  $3456,12 \text{ cm}^{-1}$ , gugus  $\text{C}\equiv\text{N}$  pada  $2231,65 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{C}=\text{N}$  pada  $1673 \text{ cm}^{-1}$ , gugus  $\text{C}=\text{C}$  pada  $1573 \text{ cm}^{-1}$ , gugus  $\text{S}=\text{O}$  pada  $1295,17 \text{ cm}^{-1}$ , C-N pada  $1010,43 \text{ cm}^{-1}$  dan C-O pada  $1181,76 \text{ cm}^{-1}$ . Sedangkan asam siringat mempunyai gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang  $3365,56 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  pada  $1726,57 \text{ cm}^{-1}$ , dan gugus fungsi C-O pada  $1264,52 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1101,99 \text{ cm}^{-1}$ . Berdasarkan analisis pada keempat spektrum FTIR masing masing sampel, diketahui terdapat pergeseran bilangan gelombang pada spektrum multikomponen

kristal febuxostat-asam siringat dibandingkan komponen penyusunnya yang disebabkan proses penggerusan saat pembuatan multikomponen kristal febuxostat.

#### 4.3.4 Analisis dengan Scanning Electron Microscopy (SEM)

Analisis SEM bertujuan untuk melihat secara mikroskopis morfologi permukaan febuxostat, asam siringat, multikomponen kristal, dan campuran fisik yang terdapat pada Gambar 4.5



Gambar 4. 5 (A) febuxostat, (B) asam siringat, (C) multikomponen kristal febuxostat-asam siringat, dan (D) campuran fisik

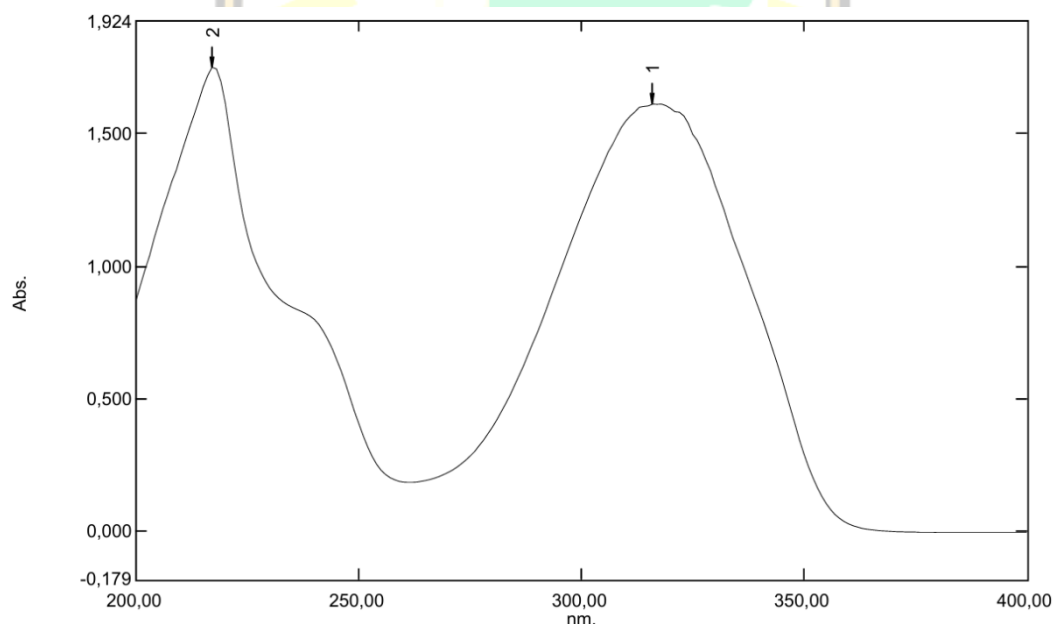
Berdasarkan gambar di atas, febuxostat mempunyai bentuk tidak beraturan, yang tampak seperti agregat atau kristal berlapis sementara itu asam siringat memiliki bentuk kristalin tidak beraturan. Bentuk morfologi dari campuran fisik terlihat seperti gabungan antara febuxostat dan asam siringat karena terlihat bentuk dari masing-masing zat penyusunnya. Pada multikomponen kristal terlihat bentuk yang cukup berbeda dari zat-zat penyusunnya karena terlihat lebih beragam dengan ukuran lebih kecil dan tidak beraturan. Perubahan ini kemungkinan dikarenakan adanya penggerusan dengan penggilingan basah saat proses pembuatan multikomponen kristal. Penggilingan akan menurunkan ukuran partikel kristal yang

menyebabkan peningkatan luas permukaan, sehingga memperbesar interaksi dengan pelarut dan berpotensi meningkatkan kelarutan (70).

#### 4.4 Optimasi Sistem KCKT

##### 4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan karena panjang gelombang suatu senyawa dapat bervariasi tergantung pada instrumen yang digunakan. Panjang gelombang serapan maksimum merupakan panjang gelombang di mana suatu senyawa menyerap cahaya paling kuat (menunjukkan nilai absorbansi tertinggi). Pengukuran panjang gelombang maksimum febuxostat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometri UV-Visibel adalah teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi. Metode ini mengukur jumlah radiasi ultraviolet atau cahaya tampak yang diserap oleh suatu zat dalam larutan (65). Berdasarkan Gambar 4.6, panjang gelombang maksimum untuk febuxostat dalam metanol terdeteksi pada 316 nm.

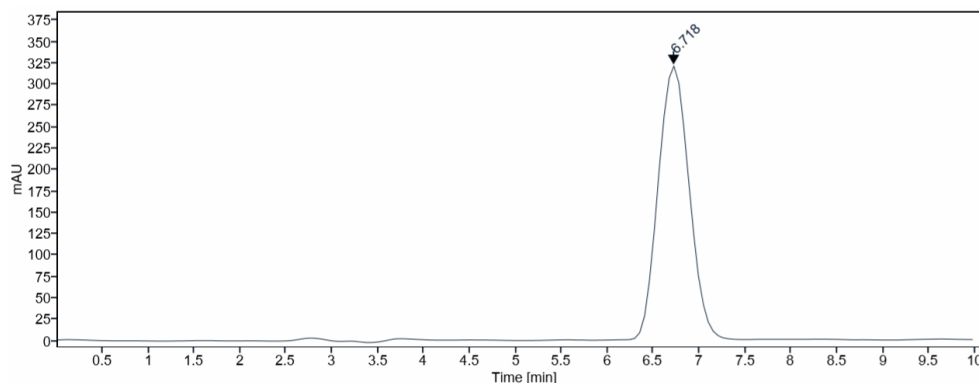


Gambar 4. 6 Spektrum febuxostat dalam metanol pada konsentrasi 6 µg/mL

##### 4.4.2 Penentuan Kondisi Optimum KCKT

Fase diam yang digunakan memiliki Panjang kolom 250 mm, dengan diameter kolom 4,6 mm dan ukuran partikel 10 µm. Perbandingan fase gerak ini

telah disesuaikan dengan *Japanese Pharmacopoeia 18<sup>th</sup> edition*. Kromatogram febuxostat dalam kondisi yang sudah dijelaskan diatas dapat dilihat pada Gambar 4.7



Gambar 4. 7 Kromatogram febuxostat 500 µg/mL dalam metanol

Kondisi sistem KCKT yang sesuai penting untuk memperoleh hasil yang optimal, analisis yang akurat dan sensitivitas yang tinggi. Pada kromatogram KCKT, parameter penting yang perlu diperhatikan adalah waktu retensi, selektivitas, factor retensi ( $k'$ ), dan tailing factor. Sedangkan parameter lain seperti HETP dan jumlah plat teoritis (N) merupakan parameter untuk efisiensi kolom. (64). Data optimasi sistem KCKT dengan fase gerak asetonitril dan asam asetat dapat dilihat pada Tabel 4. 7 dan Tabel 4. 8.

Tabel 4. 7 Data optimasi kondisi KCKT

| Fase Gerak                               | Waktu Retensi (menit) | Jumlah Pelat Teoritis (N) | HETP (mm) | Tailing Factor (TF) |
|------------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------|---------------------|
| Asetonitril : Asam asetat (0,2%) 75 : 25 | 6,718                 | 2229,907                  | 0,112     | 1,044               |

Waktu retensi dari larutan standar febuxostat diperoleh pada menit 6,718 yang sudah memenuhi syarat karena waktu retensi yang baik adalah  $< 10$  menit. Jumlah plat teoritis (N) yang diperoleh adalah 2229,907 dan nilai tailing factor adalah 1,044. Parameter N dan TF sudah memenuhi syarat dari *Japanese Pharmacopoeia 18<sup>th</sup> Edition* untuk febuxostat, yaitu  $N > 2000$  dan  $TF < 2,0$  (21). Nilai N menunjukkan efisiensi kolom dalam sistem KCKT, semakin besar nilai N



maka semakin baik pemisahan yang terjadi dalam kolom. *Tailing factor* (TF) menunjukkan kesimetrisan bentuk puncak pada kromatogram. Umumnya TF=1 dapat diartikan puncak benar-benar simetris, sedangkan TF <1 berarti kromatogram memiliki fronting dan TF >1 adanya *tailing*. Nilai TF febuxostat yaitu 1,044 yang menunjukkan kromatogram mengalami sedikit pengekoran, namun nilainya masih dekat dengan 1. *High Equivalent of the Theoretical Plate* (HETP) adalah panjang kolom yang dibutuhkan untuk mendapatkan pemisahan yang baik atau mengalami keseimbangan dinamis antara sampel dengan fase diam maupun fase gerak KCKT. HETP yang didapatkan dari perhitungan adalah 0,112 mm yang sudah memenuhi persyaratan untuk efisiensi kolom yaitu berada pada rentang 0,01-1,0 mm (64).

Dari penjelasan diatas, semua parameter untuk efisiensi kolom telah sesuai dengan persyaratan dan dapat ditarik kesimpulan bahwa kondisi KCKT seperti Tabel 4. 8 sudah optimal dan bisa digunakan untuk pengujian.

Tabel 4. 8 Kondisi analisis KCKT febuxostat

| Parameter      | Kondisi                      |
|----------------|------------------------------|
| Fase gerak     | Asetonitril:Asam asetat 0,2% |
| Laju Alir      | 1 mL/min                     |
| Teknik         | isokratik                    |
| Kolom          | C18                          |
| Volume injeksi | 20 µL                        |
| Waktu akuisisi | 10 menit                     |

## 4.5 Validasi Metode Analisis

### 4.5.1 Uji Linearitas

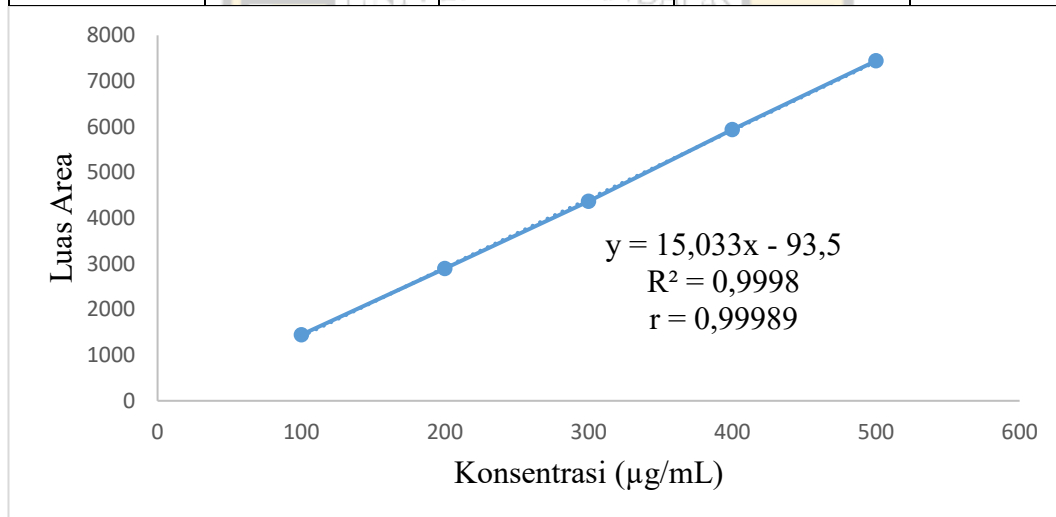
Linearitas merupakan kemampuan metode analisis dalam menghasilkan pengujian yang baik, yaitu proporsional terhadap konsentrasi analit dalam suatu sampel pada rentang tertentu dengan minimal lima konsentrasi berbeda (71). Linearitas dapat ditentukan dengan pembuatan kurva kalibrasi dengan persamaan  $y = bx+a$ . Linearitas antara dua variabel dinyatakan dalam koefisien relasi ( $r$ ),



dimana semakin baik jika nilai  $r$  mendekati satu. Hasil uji linearitas dan kurva kalibrasi dimuat pada Tabel 4. 9 dan Gambar 4. 8.

Tabel 4. 9 Hasil luas area kurva kalibrasi febuxostat

| Konsentrasi<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Luas Area     |               |               | Rata-rata |
|-------------------------------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
|                                     | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Pengulangan 3 |           |
| 100                                 | 1470,856      | 1436,797      | 1428,119      | 1445      |
| 200                                 | 2901,799      | 2895,841      | 2887,382      | 2895      |
| 300                                 | 4372,052      | 4353,843      | 4369,497      | 4365      |
| 400                                 | 5930,978      | 5923,331      | 5953,404      | 5936      |
| 500                                 | 7396,728      | 7442,571      | 7483,423      | 7441      |



Gambar 4. 8 Kurva kalibrasi febuxostat dalam metanol

Berdasarkan Tabel 4. 8 dan Gambar 4. 8 larutan febuxostat dalam metanol dengan seri konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500  $\mu\text{g/mL}$  didapatkan persamaan regresi  $y = 15,033x - 93,5$  dan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,999 yang berarti metode ini memiliki hubungan yang linear dimana semakin meningkat konsentrasi sebanding dengan meningkatnya luas area yang dihasilkan.

#### 4.5.2 Uji Akurasi

Akurasi adalah tingkat kedekatan antara hasil analisis yang didapat dengan analit yang sebenarnya yang dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*recovery*). Umumnya senyawa obat, memiliki persen akurasi dalam rentang 98-102%. Pengujian akurasi febuxostat (Tabel 4. 10) dengan konsentrasi 100, 300, dan

500 µg/mL sebanyak 3 kali pengulangan. Diperoleh hasil persen akurasi yang masih masuk dalam rentang akurasi yang baik dan akurat.

Tabel 4. 10 Hasil perolehan kembali febuxostat

| Konsentrasi<br>(µg/mL) | Luas<br>Area | Konsentrasi<br>terukur | Recovery<br>(%) | Rata-rata<br>recovery ± SD |
|------------------------|--------------|------------------------|-----------------|----------------------------|
| 100                    | 1470,856     | 104,063434             | 104,0634        | 102,3593 ±<br>1,503        |
|                        | 1436,797     | 101,795909             | 101,7959        |                            |
|                        | 1428,119     | 101,218606             | 101,2186        |                            |
| 300                    | 4372,052     | 297,050003             | 99,01667        | 98,86319 ±<br>0,218593     |
|                        | 4353,843     | 295,838741             | 98,61291        |                            |
|                        | 4369,497     | 296,880004             | 98,96           |                            |
| 500                    | 7936,728     | 498,252378             | 99,65048        | 100,2382 ±<br>0,577019     |
|                        | 7442,517     | 501,301922             | 100,2604        |                            |
|                        | 7483,423     | 504,019377             | 100,8039        |                            |

Akurasi adalah tingkat kedekatan antara hasil analisis yang didapat dengan analit yang sebenarnya yang dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*recovery*). Umumnya senyawa obat, memiliki persen akurasi dalam rentang 98-102%. Pengujian akurasi febuxostat (Tabel 4.10) dengan konsentrasi 100 µg/mL ; 300 µg/mL ; 500 µg/mL sebanyak 3 kali pengulangan. Diperoleh hasil persen akurasi yang masih masuk dalam rentang akurasi yang baik dan akurat.

#### 4.5.3 Uji Presisi

Presisi menyarakan kedekatan antara masing masing hasil analisis dari beberapa kali pengukuran sampel yang dengan metode dan kondisi analisis yang sama. Syarat dari hasil presisi ini ditentukan dengan nilai koefisien variasi < 2% untuk bahan baku obat. Uji presisi yang dilakukan yaitu presisi keterulangan dengan 6 kali pengukuran sampel pada konsentrasi yang sama yaitu 300 µg/mL. Semakin kecil nilai koefisien variasi (KV) maka semakin presisi analisis yang kita lakukan.

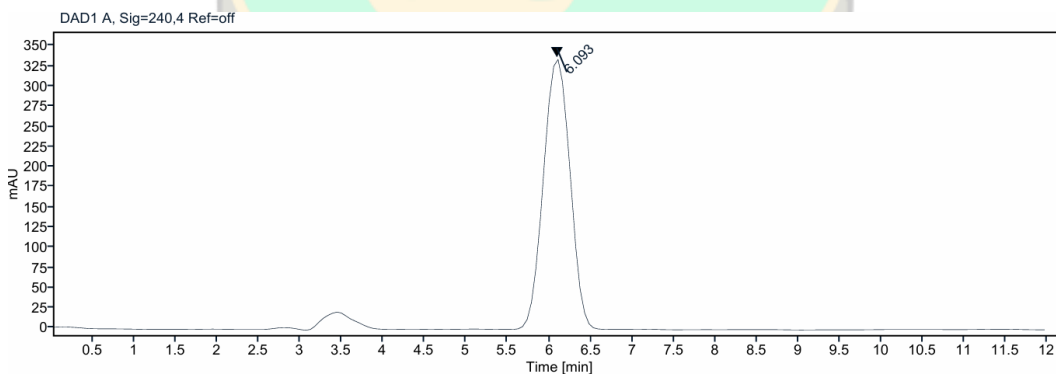
Tabel 4. 11 Hasil uji presisi

| Pengulangan | Luas Area |
|-------------|-----------|
| 1           | 4,372     |
| 2           | 4,354     |
| 3           | 4,369     |
| 4           | 4,373     |
| 5           | 4,362     |
| 6           | 4,374     |
| Rata-rata   | 4,367     |
| SD          | 7,266     |
| KV(%)       | 0,166     |

Dari Tabel 4. 11 diperoleh nilai koefisien variasi (KV) yaitu 0,166% yang telah memenuhi syarat untuk uji presisi bahan baku obat yang baik yakni  $< 2\%$  dan memiliki keterulangan yang baik dan sesuai dengan yang disyaratkan.

#### 4.5.4 Uji Selektivitas

Selektivitas merupakan kemampuan untuk mengukur zat secara akurat dengan adanya komponen lain dalam sampel yang ditentukan berdasarkan daya resolusi. Selektivitas dalam penelitian ini, dilakukan pengujian terhadap multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dengan konsentrasi 500 ( $\mu\text{g/mL}$ ). Hasil kromatogram dapat dilihat seperti Gambar 4. 9.



Gambar 4. 9 Kromatogram multikomponen kristal febuxostat-asam siringat

Berdasarkan hasil kromatogram pada Gambar 4. 9 diketahui waktu retensi untuk asam siringat pada 3,455 menit dan febuxostat 6,093 menit. Dari perhitungan didapatkan nilai resolusi sebesar 4,8. Dalam pengujian selektivitas, nilai resolusi ( $R_s$ ) yang lebih besar dari 1,5 menunjukkan bahwa pemisahan antar senyawa

berlangsung dengan baik (64). Artinya, sampel multikomponen kristal febuxostat-asam siringat telah memenuhi kriteria selektivitas yang dipersyaratkan. Begitu pula, nilai resolusi yang memadai ( $R_s > 1,5$ ) menandakan bahwa pemisahan komponen dalam sampel multikomponen kristal febuxostat-asam siringat juga memenuhi syarat selektivitas yang ditetapkan.

#### 4.5.5 Uji Penentuan Limit of Detection (LoD) dan Limit of Quantitation (LoQ)

LoD menyatakan konsentrasi terendah dari analit yang bisa dideteksi dalam sampel dan memberikan respon yang signifikan. Sementara itu, LoQ menyatakan konsentrasi terendah dari analit yang memenuhi parameter akurasi dan presisi. Sampel dengan seri konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ( $\mu\text{g/mL}$ ) sebanyak 3 kali pengulangan diuji dengan KCKT untuk mengetahui luas area dan diolah untuk mendapatkan nilai LoD dan LoQ. Untuk menghitung LoD dan LoQ, simpangan baku ( $S(y/x)$ ) dibandingkan dengan koefisien ( $b$ ) dalam persamaan regresi, yang dinyatakan sebagai  $y = a + bx$ . Selanjutnya, nilai ini dikalikan dengan konstanta ( $k$ ), di mana  $k$  bernilai 3 untuk LoD dan 10 untuk LoQ. Data hasil penentuan LoD dan LoQ disajikan pada Tabel 4. 11

Tabel 4. 11 Data LoQ dan LoQ febuxostat

| Konsentrasi<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) (x) | AUC (y) | AUC Regresi ( $y_i$ ) | $(y-y_i)^2$ |
|-----------------------------------------|---------|-----------------------|-------------|
| 100                                     | 1445    | 1409,8                | 1239,04     |
| 200                                     | 2895    | 2913,1                | 327,61      |
| 300                                     | 4365    | 4416,4                | 2641,96     |
| 400                                     | 5936    | 5919,7                | 265,69      |
| 500                                     | 7441    | 7423                  | 324         |
| $\Sigma(y-y_i)^2$                       |         |                       | 4798,30     |
| $S(y/x)$                                |         |                       | 39,99291    |
| LoD ( $\mu\text{g/mL}$ )                |         |                       | 7,98102     |
| LoQ ( $\mu\text{g/mL}$ )                |         |                       | 26,60341    |

Dari Tabel 4. 11 diketahui, LoD yang diperoleh sebesar 7,98102 ( $\mu\text{g/mL}$ ) yang menunjukkan konsentrasi terkecil febuxostat yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan ketika dibandingkan blanko. Sedangkan LoQ diperoleh sebesar 26,60341  $\mu\text{g/mL}$  yang diartikan sebagai jumlah terkecil febuxostat yang memenuhi syarat akurasi dan presisi.

#### 4.6 Penetapan Kadar Febuxostat dalam Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam Siringat

Penetapan kadar febuxostat dalam multikomponen kristal febuxostat-asam siringat dilakukan dengan mengukur luas area dari sampel yang telah dilarutkan dalam metanol. Perhitungan kadar dilakukan menggunakan persamaan linear dari kurva kalibrasi dengan memasukkan nilai luas area sampel, yang dianalisis sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil kadar yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan massa awal sampel yang ditimbang.

Tabel 4. 12 Hasil penetapan kadar febuxostat dalam multikomponen kristal febuxostat-asam siringat

| Sampel                                         | Luas Area | Konsentrasi Terukur ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Penetapan kadar (%) | Rata-rata penetapan kadar % $\pm\text{SD}$ |
|------------------------------------------------|-----------|------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------|
| Multikomponen kristal febuxostat-asam siringat | 7439,683  | 501,110                                  | 100,222             | 100,222 $\pm 0,005237$                     |
|                                                | 7439,252  | 501,081                                  | 100,216             |                                            |
|                                                | 7440,215  | 501,145                                  | 100,229             |                                            |

Dari Tabel 4. 12 diketahui multikomponen febuxostat-asam siringat memiliki kadar rata-rata 100,222  $\pm 0,005\%$ . Berdasarkan *Japanese Pharmacopoeia 18<sup>th</sup> Edition*, kadar febuxostat yang memenuhi syarat yaitu 98-102% yang menandakan bahwa multikomponen kristal febuxostat-asam siringat yang dibuat telah memenuhi syarat.

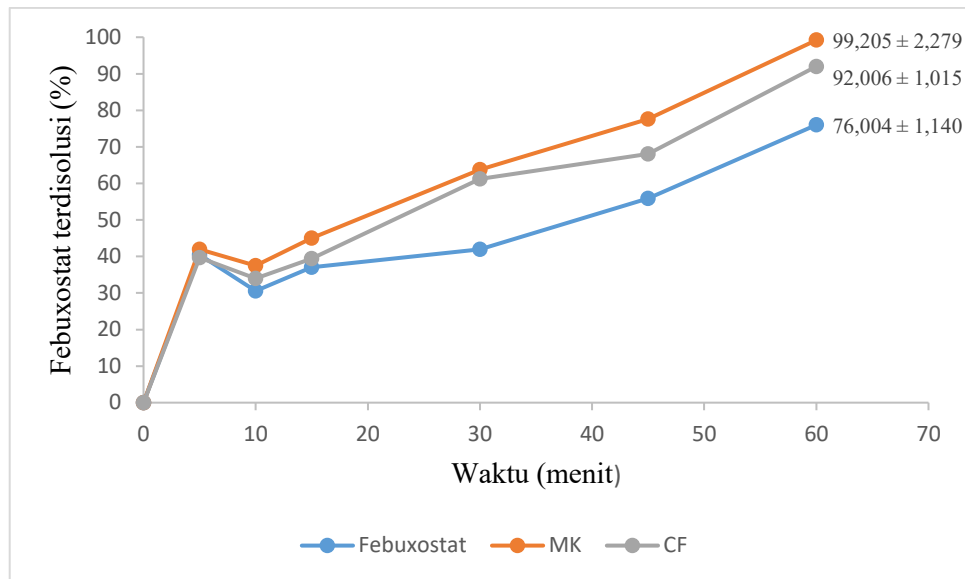
#### 4.7 Uji Disolusi

Hasil uji disolusi dievaluasi menggunakan parameter jumlah febuxostat yang terdisolusi selama 60 menit. Pengujian disolusi febuxostat, multikomponen

febuxostat- asam siringat dan campuran fisik dilakukan dalam medium dapar fosfat- sitrat + SLS 1% pH 5,5 selama 60 menit dengan suhu  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  dan kecepatan 50 rpm dalam volume medium 900 mL. Penggunaan dapar fosfat pH 5,5 sesuai dengan *Japanese Pharmacopoeia 18<sup>th</sup> Edition*. SLS ditambahkan ke dalam medium untuk menurunkan tegangan permukaan dan membentuk misel sehingga akan membantu obat terdisolusi lebih maksimal di dalam medium disolusi.

Tabel 4. 13 Jumlah febuxostat terdisolusi (%) dalam febuxostat murni, multikomponen febuxostat- asam siringat dan campuran fisik

| Waktu | Rata-rata febuxostat terdisolusi (%) $\pm$ SD |                                         |                                         |
|-------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
|       | Febuxostat                                    | Multikomponen febuxostat- asam siringat | Campuran fisik febuxostat-asam siringat |
| 0     | 0                                             | 0                                       | 0                                       |
| 5     | $40,492 \pm 2,556$                            | $41,950 \pm 0,660$                      | $39,642 \pm 0,829$                      |
| 10    | $30,561 \pm 0,684$                            | $37,464 \pm 1,451$                      | $34,000 \pm 2,570$                      |
| 15    | $37,063 \pm 3,283$                            | $45,047 \pm 2,049$                      | $39,376 \pm 1,225$                      |
| 30    | $41,925 \pm 1,584$                            | $63,780 \pm 2,257$                      | $61,201 \pm 3,396$                      |
| 45    | $55,891 \pm 0,865$                            | $77,606 \pm 1,221$                      | $68,081 \pm 1,902$                      |
| 60    | $76,004 \pm 1,140$                            | $99,205 \pm 2,279$                      | $92,006 \pm 1,015$                      |



Gambar 4. 10 Kurva jumlah febuxostat terdisolusi (%) febuxostat, multikomponen dan campuran fisik

Berdasarkan jumlah febuxostat terdisolusi pada Tabel 4.13 dan Gambar 4.10, Multikomponen dan campuran fisik dapat meningkatkan jumlah febuxostat yang terdisolusi dibandingkan dengan bentuk febuxostat murni pada medium disolusi. Rata-rata persentase febuxostat yang terdisolusi pada febuxostat murni, multikomponen dan campuran fisik yang terdisolusi pada menit ke-60 adalah 76,00%, 99,20%, dan 92,00%. Namun terdapat fenomena *burst effect* pada menit ke-5. *Burst effect* merupakan pelepasan obat yang terjadi secara cepat pada tahap awal, biasanya terjadi sebelum pelepasan obat berlanjut secara lebih lambat dan stabil (72). Pada menit ke-10 terlihat sebagai penurunan sementara, sebelum seluruh sistem larut dengan sempurna dan kembali stabil. *Burst release* terjadi dalam waktu yang sangat singkat dibandingkan dengan seluruh proses pelepasan obat.

Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor peningkatan keterbasahan obat akibat adanya surfaktan dan pH. Peningkatan keterbasahan (*wettability*) obat akibat adanya surfaktan SLS meningkatkan kemampuan medium untuk membasahi permukaan partikel obat yang mengurangi tegangan antar muka antara obat dan medium disolusi sehingga mempercepat pelepasan obat (73). Febuxostat yang praktis tidak larut dalam air, memiliki kepekaan terhadap kondisi pH, pada pH 5,5 sebagian febuxostat terionisasi yang memicu *burst release* dan kondisi



supersaturasi. *Burst release* pada sampel menyebabkan supersaturasi, karena kondisi yang tidak stabil, obat bisa mengendap kembali yang menyebabkan penurunan konsentrasi sementara setelah beberapa waktu yang terlihat pada menit ke-10 (74).

Konsentrasi SLS dalam medium juga sangat mempengaruhi hasil disolusi obat. Jika SLS digunakan dalam konsentrasi rendah, biasanya belum cukup untuk membentuk misel. Namun, ketika konsentrasi SLS ditingkatkan ke tingkat yang sesuai, biasanya antara 0,1% sampai 1%, maka kelarutan dan kecepatan larut obat bisa meningkat secara signifikan yang juga bisa memicu kondisi *non sink condition* atau supersaturasi. Supersaturasi akan membuat laju disolusi meningkat drastis, akan tetapi memiliki risiko pengendapan dikarenakan melebihi kapasitas zat yang bisa larut secara stabil (75).

Peningkatan kadar terdisolusi pada multikomponen kristal jika dibandingkan dengan febuxostat murni didukung dengan adanya penurunan titik lebur dan derajat kristalinitas yang terlihat dari hasil karakterisasi DSC dan XRD. Penurunan intensitas puncak difraksi pada multikomponen lebih rendah dibandingkan dengan febuxostat murni, sehingga kadar terdisolusi dalam bentuk multikomponen kristal lebih banyak dibandingkan dengan febuxostat murni. Selain XPRD, hasil DSC menunjukkan penurunan puncak endotermik yang menandakan penurunan kristalinitas.

Hasil disolusi febuxostat, multikomponen dan campuran fisik selanjutnya diolah secara statistik dengan ANOVA satu arah menggunakan aplikasi SPSS 27. Pada uji normalitas dan uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi ( $\text{sig}$ )  $> 0,05$  yang menandakan data yang diuji terdistribusi secara normal dan homogen. Selanjutnya dilakukan analisis terhadap jumlah febuxostat yang terdisolusi (%) menggunakan ANOVA satu arah, didapatkan nilai signifikansi = 0,000 ( $\text{sig} < 0,05$ ). Hal ini menandakan bahwa pembentukan multikomponen kristal febuxostat-asam siringat memiliki pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan kadar terdisolusi selama 60 menit.

## **BAB V**

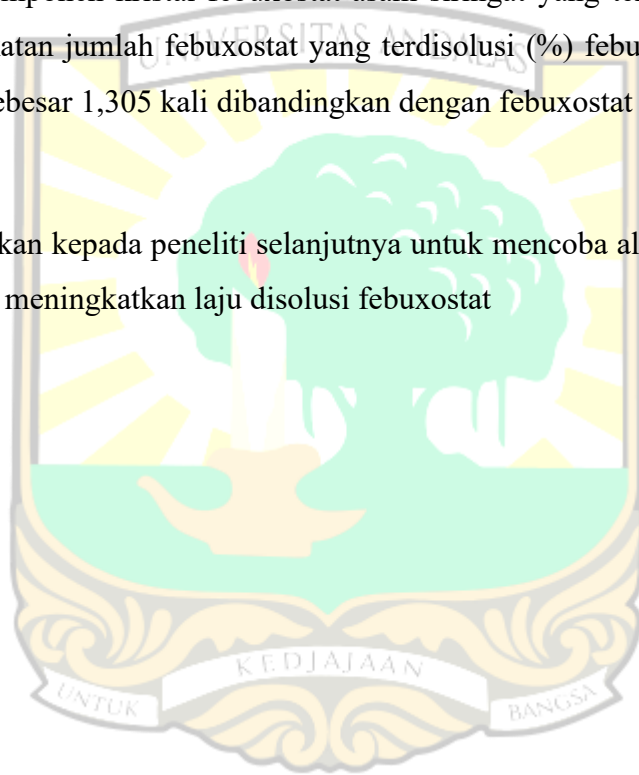
### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Asam siringat dapat dijadikan sebagai koformer dalam pembentukan multikomponen kristal febuxostat, hal ini terbukti dari hasil karakterisasi DSC, XRD, FTIR dan SEM yang menandakan terbentuknya multikomponen kristal.
2. Multikomponen kristal febuxostat-asam siringat yang terbentuk memiliki peningkatan jumlah febuxostat yang terdisolusi (%) febuxostat selama 60 menit sebesar 1,305 kali dibandingkan dengan febuxostat murni.

#### **5.2 Saran**

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk mencoba alternatif koformer lain yang dapat meningkatkan laju disolusi febuxostat



## DAFTAR PUSTAKA

1. Ghallab DS, Shawky E, Metwally AM, Celik I, Ibrahim RS, Mohyeldin MM. Integrated: In silico - In vitro strategy for the discovery of potential xanthine oxidase inhibitors from Egyptian propolis and their synergistic effect with allopurinol and febuxostat. *RSC Adv.* 2022;12(5):2843–72.
2. Khosravan R, Grabowski B, Wu JT, Joseph-Ridge N, Vernillet L. Effect of food or antacid on pharmacokinetics and pharmacodynamics of febuxostat in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;65(3):355–63.
3. Kumar Bandaru R, Rout SR, Kenguva G, Gorain B, Alhakamy NA, Kesharwani P, et al. Recent Advances in Pharmaceutical Cocrystals: From Bench to Market. *Front Pharmacol.* 2021;12(November):1–16.
4. Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharm.* 2012;2012(100 mL):1–10.
5. Deshpande MN, Dessai SS, Dighe P. Solid Dispersion Systems of Poorly Water Soluble Drug Febuxostat: Preparation, Characterization and Optimization. *Indian Drugs.* 2023;60(10):40–7.
6. Jagia M, Kale DP, Bansal AK, Patel S. Novel Co-crystals and Eutectics of Febuxostat: Characterization, Mechanism of Formation, and Improved Dissolution. *AAPS PharmSciTech.* 2022;23(1):1–17.
7. Ungur DT, Santiso-Quinones G, Pop MM, Tamas TL, Guguta C, Stam D, et al. Febuxostat-p-Toluenesulfonic Acid Multi-Component Crystal: Characterization, Crystal Growth and Elucidation of the Salt/Co-Crystal Nature. *Crystals.* 2023;13(5).
8. Pandi P, Bulusu R, Kommineni N, Khan W, Singh M. Amorphous solid dispersions: An update for preparation, characterization, mechanism on bioavailability, stability, regulatory considerations and marketed products. *Int J Pharm.* 2020;586:1–28.
9. Yu D, Xue Z, Mu T. Eutectics: Formation, properties, and applications. *Chem Soc Rev.* 2021;50(15):8596–638.
10. Berry DJ, Steed JW. Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;117:3–24.
11. Triyana R, Nurhabibah N, Sopyan I. Artikel Review : Kokristal Ibuprofen dengan Berbagai Koformer, Virtual Screening Tools. *Maj Farmasetika.* 2020;6(1):23.
12. Ragnar M, Lindgren CT. Journal of Wood Chemistry and pK a -Values of Guaiacyl and Syringyl Phenols Related to Lignin. 2008;(March 2013):277–305.
13. Srinivasulu C, Ramgopal M, Ramanjaneyulu G, Anuradha CM, Suresh Kumar C. Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis,

- Pharmacological and Industrial Importance. *Biomed Pharmacother.* 2018;108(September):547–57.
14. Cvetkovski A, Ferretti V, Bertolasi V. New pharmaceutical salts containing pyridoxine. *Acta Crystallogr Sect C Struct Chem.* 2017;73(12):1064–70.
  15. Yadav B, Balasubramanian S, Chavan RB, Thipparaboina R, Naidu VGM, Shastri NR. Hepatoprotective Cocrystals and Salts of Riluzole: Prediction, Synthesis, Solid State Characterization, and Evaluation. *Cryst Growth Des.* 2018;18(2):1047–61.
  16. Ying P, Yu J, Su W. Liquid-Assisted Grinding Mechanochemistry in the Synthesis of Pharmaceuticals. *Adv Synth Catal.* 2021;363(5):1246–71.
  17. Guo M, Sun X, Chen J, Cai T. Pharmaceutical cocrystals: A review of preparations, physicochemical properties and applications. *Acta Pharm Sin B.* 2021;11(8):2537–64.
  18. Pawar N, Saha A, Nandan N, Parambil J V. Solution cocrystallization: A scalable approach for cocrystal production. *Crystals.* 2021;11(3).
  19. Rodrigues M, Baptista B, Lopes JA, Sarraguça MC. Pharmaceutical cocrystallization techniques. Advances and challenges. *Int J Pharm.* 2018;547(1–2):404–20.
  20. Sultan M, Wu J, Haq IU, Imran M, Yang L, Wu JJ, et al. Recent Progress on Synthesis, Characterization, and Performance of Energetic Cocrystals: A Review. *Molecules.* 2022;27(15).
  21. Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW), 2021. *The Japanese Pharmacopoeia, 18th Edition.* Tokyo: Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA).
  22. Kang Y, Gu J, Hu X. Syntheses, structure characterization and dissolution of two novel cocrystals of febuxostat. *J Mol Struct [Internet].* 2017;1130:480–6.
  23. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 134018, Febuxostat.
  24. Robinson PC, Dalbeth N. Febuxostat for the treatment of hyperuricaemia in gout. *Expert Opin Pharmacother [Internet].* 2018;19(11):1289–99.
  25. Kamel B, Graham GG, Williams KM, Pile KD, Day RO. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Febuxostat. *Clin Pharmacokinet.* 2017;56(5):459–75.
  26. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 10742, Syringic acid. accessed on 2024 October 2. from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Syringic-acid>
  27. Shimsa S, Mondal S, Mini S. Syringic Acid: A Promising Phenolic Phytochemical with Extensive Therapeutic Applications. *R&D Funct Food Prod.* 2024;1(5):1–14.

28. Ogut E, Armagan K, Gül Z. The role of syringic acid as a neuroprotective agent for neurodegenerative disorders and future expectations. *Metab Brain Dis.* 2022;37(4):859–80.
29. Zaini E, Afriyani, Fitriani L, Ismed F, Horikawa A, Uekusa H. Improved solubility and dissolution rates in novel multicomponent crystals of piperine with succinic acid. *Sci Pharm.* 2020;88.
30. Huang S, Xu J, Peng Y, Guo M, Cai T. Facile Tuning of the Photoluminescence and Dissolution Properties of Phloretin through Cocrystallization. *Cryst Growth Des.* 2019;19(12):6837–44.
31. Nurismi E, Rosaini H, Octavia D. Review : Effect of Different Methods on the Multicomponents Crystal Formation from Medicinal Natural Ingredient Compounds. 2021;6:32–9.
32. Kumar S, Nanda A. Pharmaceutical cocrystals: An overview. *Indian J Pharm Sci.* 2017;79(6):858–71.
33. Healy AM, Worku ZA, Kumar D, Madi AM. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;117:25–46.
34. Samineni R, Chimakurthy J, Konidala S. Emerging Role of Biopharmaceutical Classification and Biopharmaceutical Drug Disposition System in Dosage form Development: A Systematic Review. *Turkish J Pharm Sci.* 2022;19(6):706–13.
35. Sedghiniya S, Soleimannejad J, Janczak J. The salt–cocrystal spectrum in salicylic acid–adenine: the influence of crystal structure on proton-transfer balance. *Acta Crystallogr Sect C Struct Chem.* 2019;75(4):412–21.
36. Gupta D, Bhatia D, Dave V, Sutariya V, Gupta SV. Salts of therapeutic agents: Chemical, physicochemical, and biological considerations. *Molecules.* 2018;23(7).
37. Vemuri VD, Lankalapalli S. Insight into concept and progress on pharmaceutical co-crystals: An overview. *Indian J Pharm Educ Res.* 2019;53(4):s522–38.
38. Wang Y, Wang L, Zhang F, Wang N, Gao Y, Xiao Y, et al. Structure Analysis and Insight into Hydrogen Bond and van der Waals Interactions of Etoricoxib Cocrystals and Cocrystal Solvate. *J Mol Struct.* 2022;1258:132665.
39. Singh M, Barua H, Jyothi VGSS, Dhondale MR, Nambiar AG, Agrawal AK, et al. Cocrystals by Design: A Rational Coformer Selection Approach for Tackling the API Problems. *Pharmaceutics.* 2023;15(4).
40. Rachmaniar R, Tristiyanti D, Sari DY. [Review] Pengaruh Koformer Nikotinamid Dan Metode Pembentukan Kokristal Terhadap Kelarutan Zat Aktif Tidak Larut Air. *J Sains dan Teknol Farm Indones.* 2020;9(1).
41. Wathoni N, Sari WA, Elamin KM, Mohammed AFA, Suharyani I. A Review

- of Coformer Utilization in Multicomponent Crystal Formation. *Molecules*. 2022;27(24).
42. Thayyil AR, Juturu T, Nayak S, Kamath S. Pharmaceutical Cocrystallization: Regulatory aspects, design, characterization, and applications. *Adv Pharm Bull* [Internet]. 2020;10(2):203–12.
  43. Lange L, Heisel S, Sadowski G. Predicting the solubility of pharmaceutical cocrystals in solvent/anti-solvent mixtures. *Molecules*. 2016;21(5).
  44. Wang IC, Lee MJ, Sim SJ, Kim WS, Chun NH, Choi GJ. Anti-solvent cocrystallization of carbamazepine and saccharin. *Int J Pharm* [Internet]. 2013;450(1–2):311–22.
  45. Grossjohann C, Serrano DR, Paluch KJ, O’Connell P, Vella-Zarb L, Manesiotis P, et al. Polymorphism in Sulfadimidine/4-Aminosalicylic Acid Cocrystals: Solid-State Characterization and Physicochemical Properties. *J Pharm Sci*. 2015;104(4):1385–98.
  46. Karagianni A, Malamataris M, Kachrimanis K. Pharmaceutical cocrystals: New solid phase modification approaches for the formulation of APIs. *Pharmaceutics*. 2018;10(1):1–30.
  47. Buddhadev SS, Garala KC. Pharmaceutical Cocrystals—A Review. 2021;14.
  48. Patil H, Tiwari R V., Repka MA. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation. *AAPS PharmSciTech*. 2016;17(1):20–42.
  49. Nugrahani I, Jessica MA. Amino acids as the potential co-former for cocrystal development: A review. *Molecules*. 2021;26(11).
  50. Marquez J, Novikov E, Rigin S, Fonari MS, Castañeda R, Kornilova T, et al. Exploiting Supramolecular Synthons in Cocrystals of Two Racetams with 4-Hydroxybenzoic Acid and 4-Hydroxybenzamide Coformers. *Chem*. 2023;5(2).
  51. Chettri A, Subba A, Singh GP, Bag PP. Pharmaceutical co-crystals: A green way to enhance drug stability and solubility for improved therapeutic efficacy. *J Pharm Pharmacol*. 2024;76(1):1–12.
  52. Patel VP, Patel AP, Shah A. Optimization of Amorphous Solid Dispersion Techniques to Enhance Solubility of Febuxostat. *Folia Med (Plovdiv)*. 2021;63(4):557–68.
  53. Gonon M. Case Studies in the X-ray Diffraction of Ceramics. In: Pomeroy M, editor. *Encyclopedia of Materials: Technical Ceramics and Glasses* Oxford: Elsevier; 2021. p. 560–77.
  54. Martin FASDP. European Patent Application. EP Pat 0879946A2 [Internet]. 1998;1(19):1–14.
  55. Chauhan A. Powder XRD Technique and its Applications in Science and



- Technology. *J Anal Bioanal Tech*. 2014;5(6).
56. Tripura Sundari P, Lad K. Physico-chemical characterization and in vitro evaluation of biopharmaceutics classification system class II drug febuxostat. *Asian J Pharm*. 2016;10(2):S162–9.
  57. Ramadhan SA, Musfiroh I. Review Artikel: Verifikasi Metode Analisis Obat. *Farmaka*. 2021;19:87–92.
  58. Abdullah A, Sangkal A, Ismail R. UV-Vis Spectrophotometric Method Validation of Cefixime in Phosphate Buffer. *J Ilmu Kefarmasian*. 2022;3(2):144–7.
  59. Sharma SK, Verma DS, Khan LU, Kumar S, Khan SB. Handbook of Materials Characterization. *Handb Mater Charact*. 2018;1–613.
  60. Davies TE, Li H, Bessette S, Gauvin R, Patience GS, Dummer NF. Experimental methods in chemical engineering: Scanning electron microscopy and X-ray ultra-microscopy—SEM and XuM. *Can J Chem Eng*. 2022;100(11):3145–59.
  61. Hattori Y, Haruna Y, Otsuka M. Dissolution process analysis using model-free Noyes-Whitney integral equation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2013;102:227–31.
  62. Shargel L, Yu ABC. *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*. In: 7th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2016
  63. Profile SEE. A Review : HPLC Method Development and Validation ISSN-2231-5012 Review Article A Review : HPLC Method Development and Validation. 2016.
  64. Susanti M, Dachriyanus. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: Carano Pustaka Universitas Andalas; 2017
  65. Pratiwi RA, Nandiyanto ABD. How to Read and Interpret UV-VIS Spectrophotometric Results in Determining the Structure of Chemical Compounds. *Indones J Educ Res Technol*. 2022;2(1):1–20.
  66. Aulia SS, Sopyan I, Muchtaridi. Penetapan Kadar Simvastatin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Farmaka*. 2016;14(4):70–8.
  67. Stauffer MT. Introductory Chapter: The Many Faces of Calibration and Validation in Analytical Methodology in the Present Day. In: Stauffer MT, editor. *Calibration and Validation of Analytical Methods*. Rijeka: IntechOpen; 2018
  68. Garbacz P, Wesolowski M. DSC, FTIR and raman spectroscopy coupled with multivariate analysis in a study of co-crystals of pharmaceutical interest. *Molecules*. 2018;23(9).
  69. Fatimah S, Ragadhita R, Al Husaeni DF, Nandiyanto ABD. How to Calculate Crystallite Size from X-Ray Diffraction (XRD) using Scherrer Method. *ASEAN J Sci Eng*. 2022;2(1):65–76.



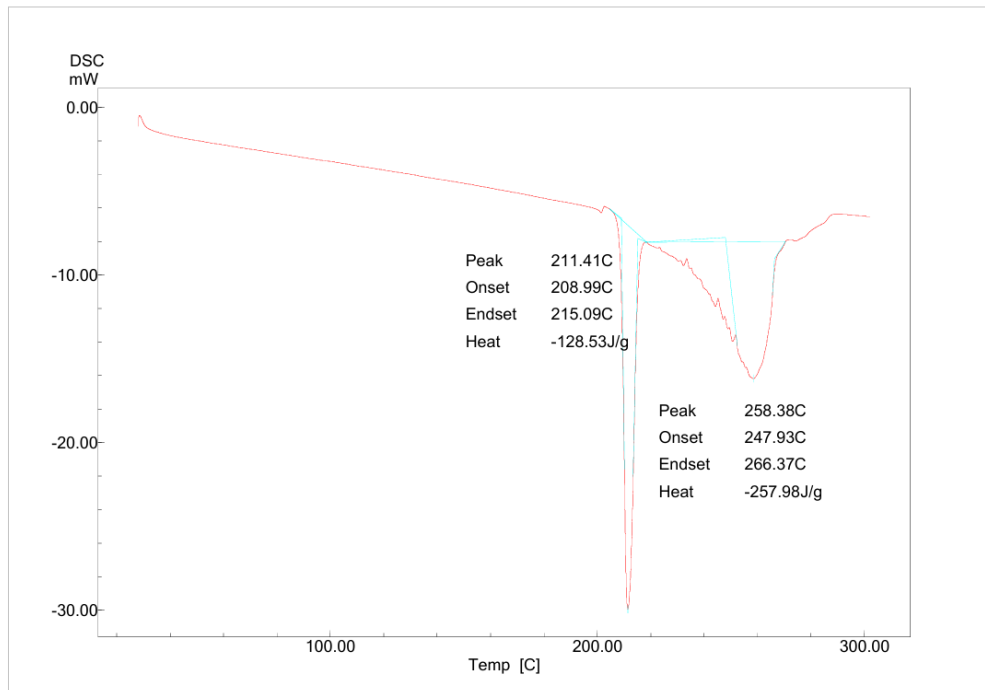
70. Mannava MKC, Gunnam A, Lodagekar A, Shastri NR, Nangia AK, Solomon KA. Enhanced solubility, permeability, and tabletability of nicorandil by salt and cocrystal formation. *CrystEngComm*. 2021;23(1):227–37.
71. Segneanu AE, Orbeci C, Lazau C, Sfirloaga P, Vlazan P, Bandas C, et al. Methods Validation. *Web Sci*. 2013;29.
72. Huang X, Brazel CS. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. *J Control Release*. 2001;73(2–3):121–36.
73. Yang B, Wei C, Qian F, Li S. Surface Wettability Modulated by Surfactant and Its Effects on the Drug Release and Absorption of Fenofibrate Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(6).
74. Sohn JS, Choi JS. Development and evaluation of febuxostat solid dispersion through screening method. *Saudi Pharm J*. 2023;31(9):101724.
75. Rahman SMH, Telny TC, Ravi TK, Kuppusamy S. Role of surfactant and pH in dissolution of curcumin. *Indian J Pharm Sci*. 2009;71(2):139–42.



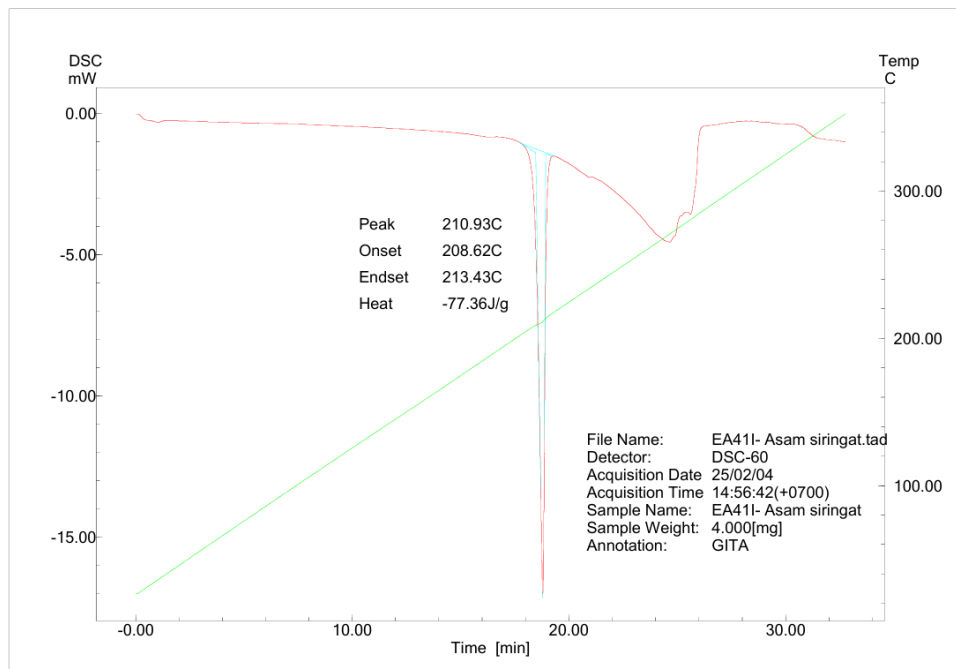
## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data penelitian mentah/pengulangan

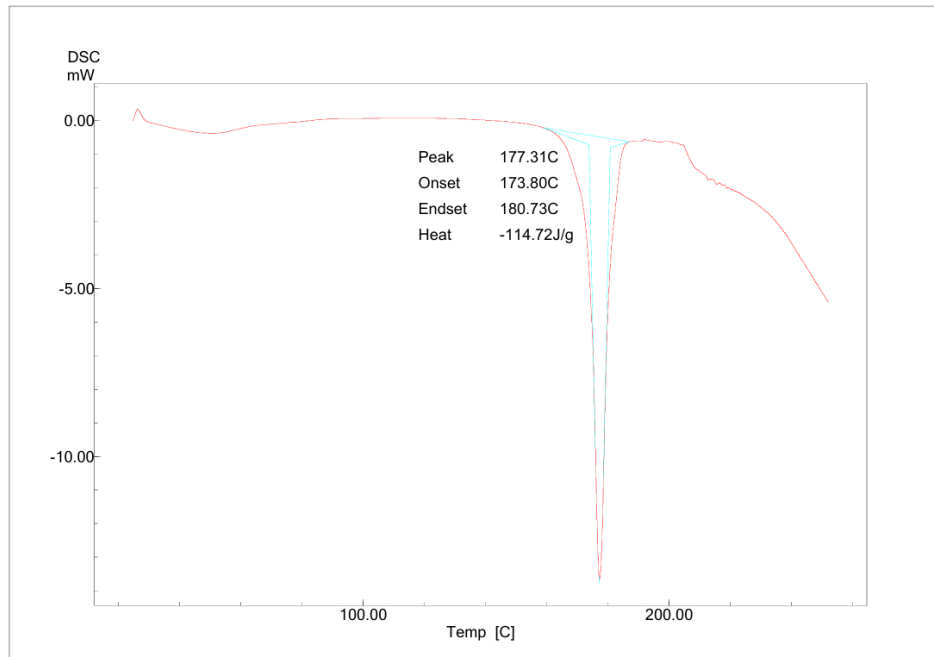
Lampiran 1. 1 Data karakterisasi sampel



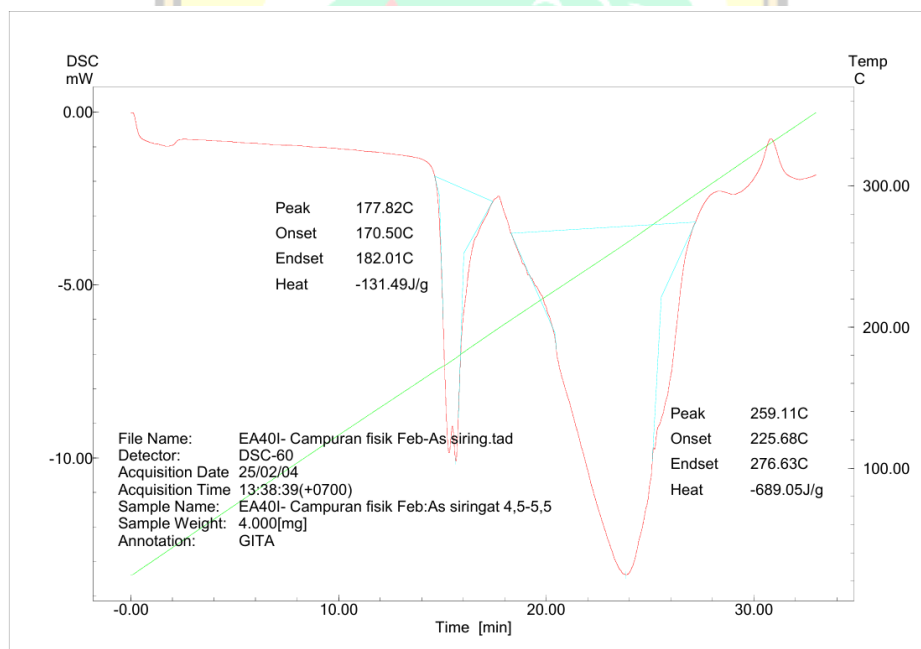
Gambar 6. 1 Termogram DSC febuxostat



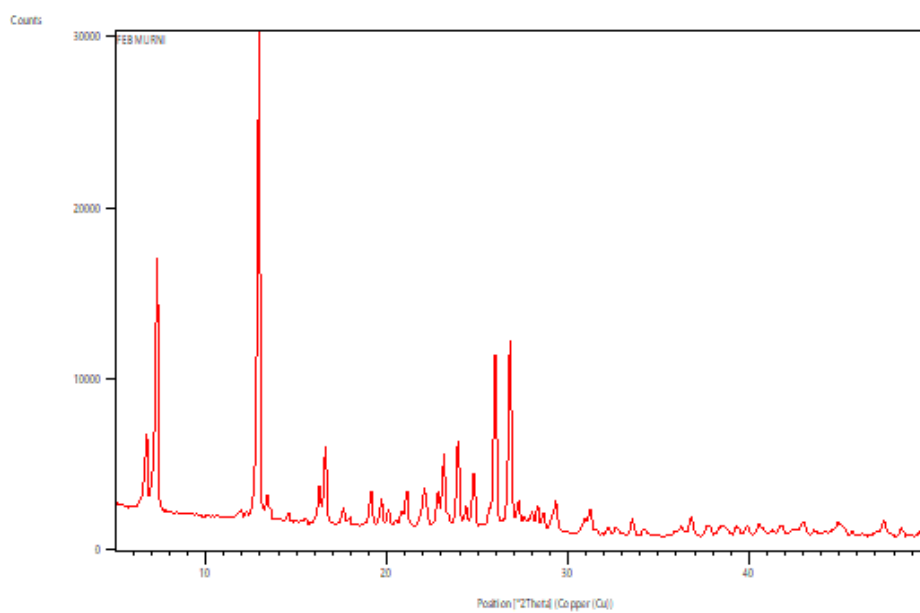
Gambar 6. 2 Termogram DSC asam siringat



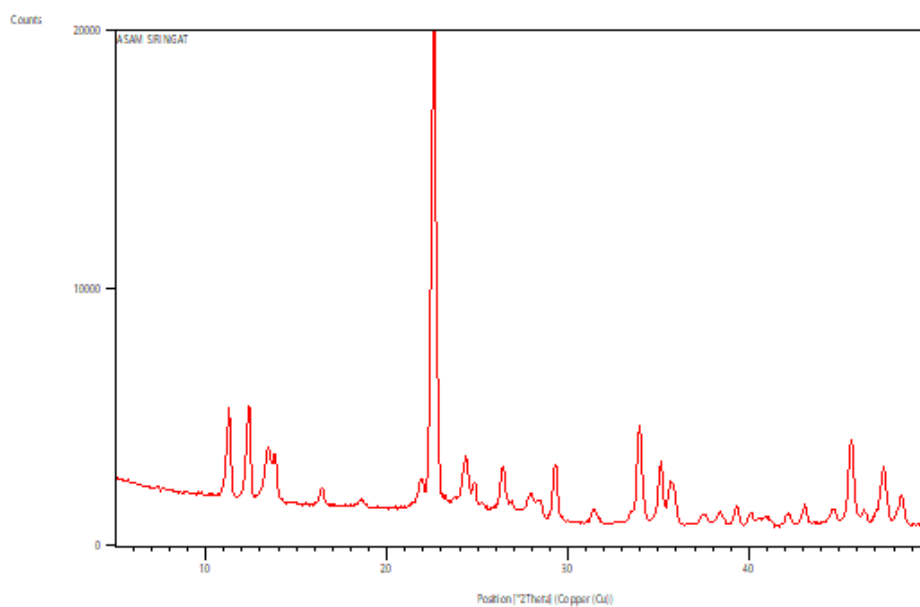
Gambar 6. 3 Termogram DSC multikomponen kristal febuxostat-asam siringat



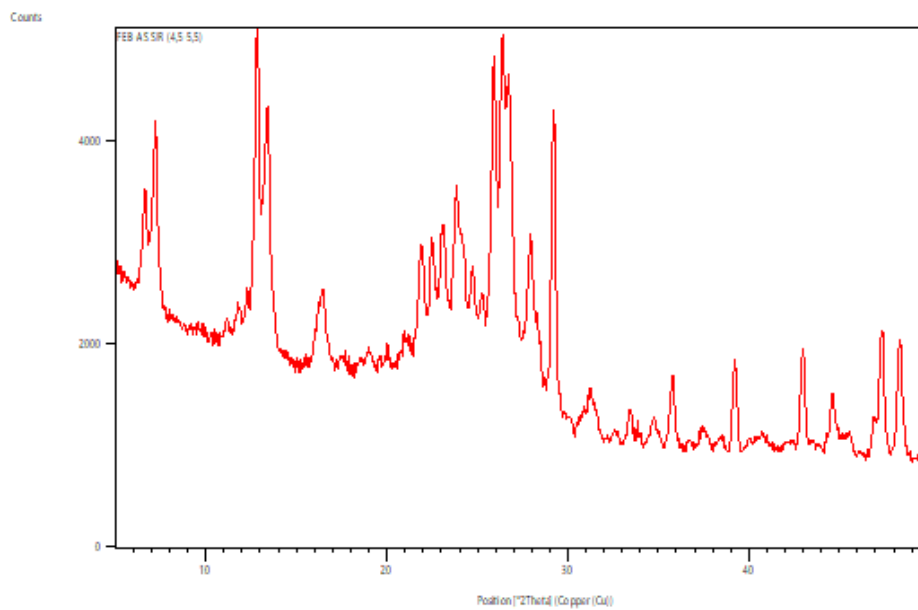
Gambar 6. 4 Termogram DSC campuran fisik febuxostat asam siringat



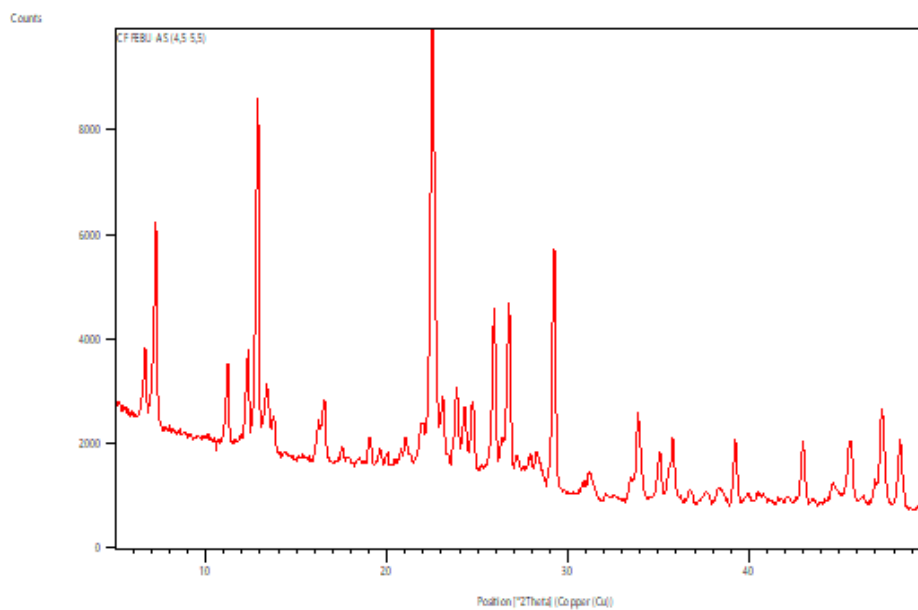
Gambar 6. 5 Difraktogram XRD febuxostat



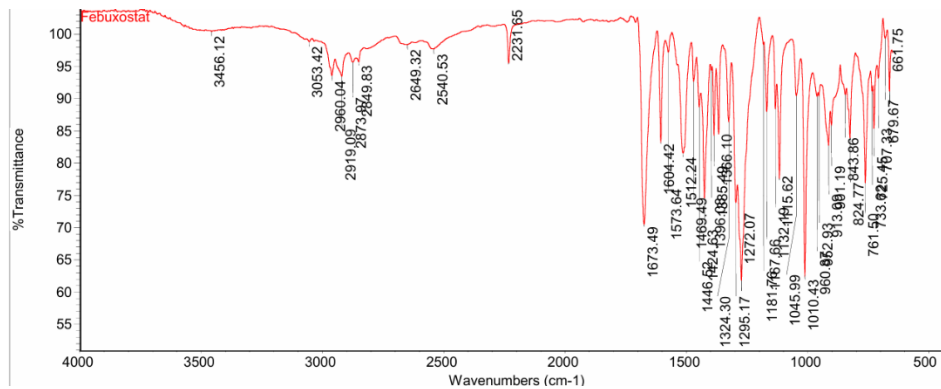
Gambar 6. 6 Difraktogram XRD asam siringat



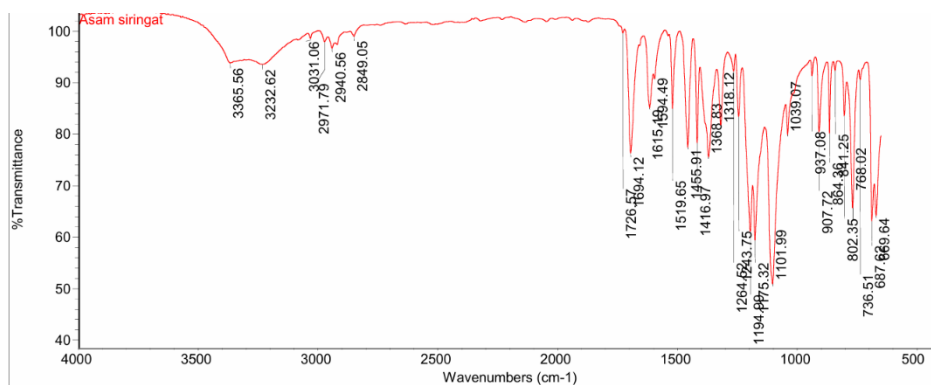
Gambar 6. 7 Difraktogram XRD multikomponen kristal febuxostat-asam siringat



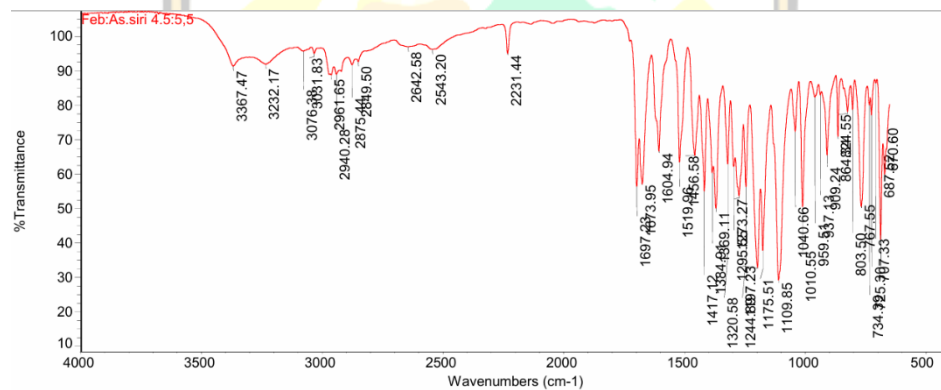
Gambar 6. 8 Difraktogram XRD campuran fisik febuxostat-asam siringat



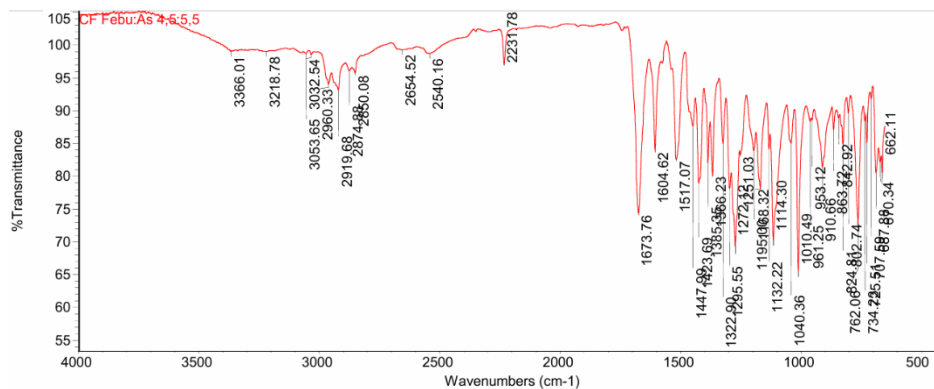
Gambar 6. 9 Spektrum FTIR febuxostat



Gambar 6. 10 Spektrum FTIR asam siringat



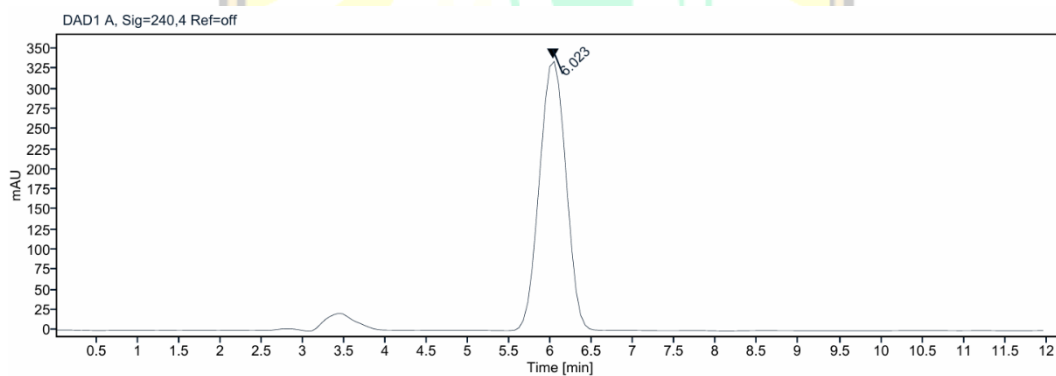
Gambar 6. 11 Spektrum FTIR multikomponen kristal febuxostat-asam siringat



Gambar 6. 12 Spektrum FTIR campuran fisik febuxostat-asam siringat

Lampiran 1. 2 Data penetapan kadar multikomponen kristal febuxostat-asam siringat

| Konsentrasi Terukur (µg/mL) | Bobot (mg) | Bobot rata-rata | Penetapan kadar (%) | Rata-rata penetapan kadar |
|-----------------------------|------------|-----------------|---------------------|---------------------------|
| 501,110                     | 25,055     | 25,056          | 100,222             | 100,22                    |
| 501,081                     | 25,054     |                 | 100,216             |                           |
| 501,145                     | 25,057     |                 | 100,229             |                           |



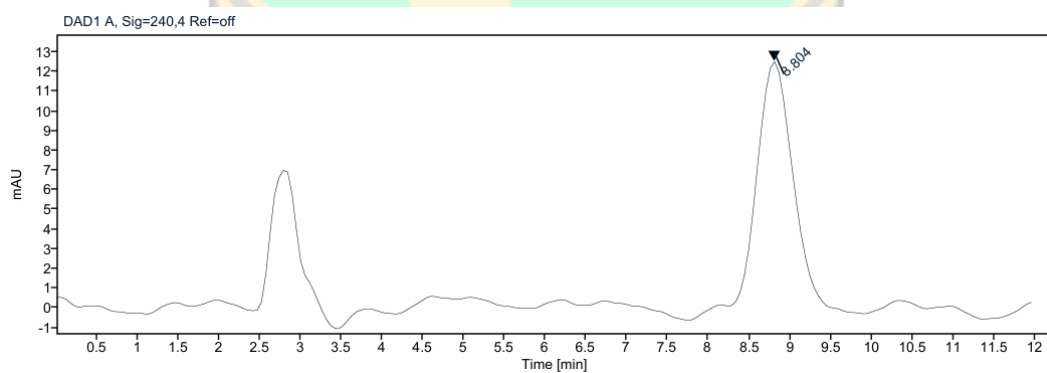
Gambar 6. 13 Kromatogram multikomponen kristal febuxostat asam siringat untuk penetapan kadar

Lampiran 1. 3 Data disolusi febuxostat

| Waktu | Luas Area | Konsentrasi | Massa  | FK    | Kadar  | % terdisolusi | Rata - rata ± SD |
|-------|-----------|-------------|--------|-------|--------|---------------|------------------|
| 0     | 0,000     | 0,000       | 0,000  | 0,000 | 0,000  | 0,000         | 0,000            |
| 5     | 226,283   | 18,934      | 17,041 | 0,000 | 17,041 | 42,602        | 40,492           |



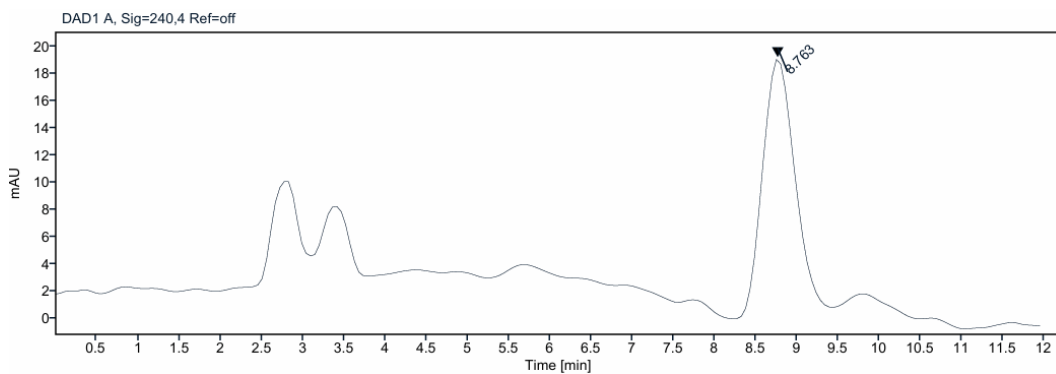
|    |         |        |        |       |        |        |                   |
|----|---------|--------|--------|-------|--------|--------|-------------------|
|    | 223,604 | 18,657 | 16,792 | 0,000 | 16,792 | 41,979 | ± 2,556           |
|    | 201,730 | 16,398 | 14,758 | 0,000 | 14,758 | 36,895 |                   |
| 10 | 169,893 | 13,109 | 11,798 | 0,095 | 11,893 | 29,732 | 30,561<br>± 0,684 |
|    | 177,110 | 13,855 | 12,469 | 0,093 | 12,562 | 31,406 |                   |
|    | 173,525 | 13,484 | 12,136 | 0,082 | 12,218 | 30,544 |                   |
| 15 | 214,185 | 17,684 | 15,916 | 0,066 | 15,981 | 39,954 | 37,063<br>± 3,283 |
|    | 209,024 | 17,151 | 15,436 | 0,069 | 15,505 | 38,764 |                   |
|    | 181,970 | 14,357 | 12,921 | 0,067 | 12,988 | 32,471 |                   |
| 30 | 218,386 | 18,118 | 16,306 | 0,088 | 16,395 | 40,987 | 41,925<br>± 1,584 |
|    | 232,048 | 19,530 | 17,577 | 0,086 | 17,662 | 44,156 |                   |
|    | 217,037 | 17,979 | 16,181 | 0,072 | 16,253 | 40,632 |                   |
| 45 | 277,446 | 24,219 | 21,797 | 0,091 | 21,888 | 54,720 | 55,891<br>± 0,865 |
|    | 286,240 | 25,128 | 22,615 | 0,098 | 22,713 | 56,782 |                   |
|    | 283,702 | 24,866 | 22,379 | 0,090 | 22,469 | 56,172 |                   |
| 60 | 370,551 | 33,837 | 30,453 | 0,121 | 30,575 | 76,436 | 76,004<br>± 1,140 |
|    | 373,496 | 34,141 | 30,727 | 0,126 | 30,853 | 77,132 |                   |
|    | 361,935 | 32,947 | 29,652 | 0,124 | 29,777 | 74,442 |                   |



Gambar 6. 14 Kromatogram febuxostat untuk uji disolusi

Lampiran 1. 4 Data disolusi multikomponen kristal febuxostat-asam siringat

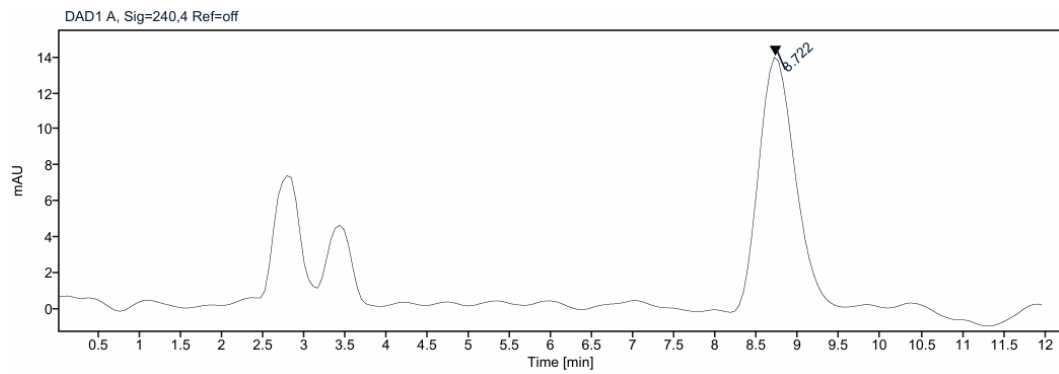
| Waktu | Luas Area | Konsentrasi | Massa  | FK    | Kadar terkoreksi | % terdisolusi | Rata - rata $\pm$ SD  |
|-------|-----------|-------------|--------|-------|------------------|---------------|-----------------------|
| 0     | 0,000     | 0,000       | 0,000  | 0,000 | 0,000            | 0,000         | 0,000                 |
| 5     | 221,4517  | 18,435      | 16,592 | 0,000 | 16,592           | 41,479        | 41,950<br>$\pm$ 0,660 |
|       | 227,491   | 19,059      | 17,153 | 0,000 | 17,153           | 42,883        |                       |
|       | 221,4903  | 18,439      | 16,595 | 0,000 | 16,595           | 41,488        |                       |
| 10    | 210,823   | 17,337      | 15,603 | 0,092 | 15,696           | 39,239        | 37,464<br>$\pm$ 1,451 |
|       | 195,499   | 15,754      | 14,179 | 0,095 | 14,274           | 35,685        |                       |
|       | 203,1994  | 16,550      | 14,895 | 0,092 | 14,987           | 37,467        |                       |
| 15    | 226,476   | 18,954      | 17,059 | 0,087 | 17,145           | 42,863        | 45,047<br>$\pm$ 2,049 |
|       | 233,553   | 19,685      | 17,717 | 0,079 | 17,795           | 44,488        |                       |
|       | 247,707   | 21,147      | 19,033 | 0,083 | 19,115           | 47,788        |                       |
| 30    | 302,656   | 26,824      | 24,141 | 0,095 | 24,236           | 60,590        | 63,780<br>$\pm$ 2,257 |
|       | 322,855   | 28,910      | 26,019 | 0,098 | 26,118           | 65,294        |                       |
|       | 323,473   | 28,974      | 26,077 | 0,106 | 26,182           | 65,456        |                       |
| 45    | 375,034   | 34,300      | 30,870 | 0,134 | 31,004           | 77,511        | 77,606<br>$\pm$ 1,221 |
|       | 381,956   | 35,015      | 31,514 | 0,145 | 31,658           | 79,146        |                       |
|       | 369,104   | 33,688      | 30,319 | 0,145 | 30,464           | 76,160        |                       |
| 60    | 466,443   | 43,743      | 39,369 | 0,172 | 39,540           | 98,851        | 99,205<br>$\pm$ 2,279 |
|       | 480,627   | 45,208      | 40,687 | 0,175 | 40,862           | 102,156       |                       |
|       | 456,829   | 42,750      | 38,475 | 0,168 | 38,643           | 96,608        |                       |



Gambar 6. 15 Kromatogram multikomponen kristal febuxostat-asam siringat untuk uji disolusi

Lampiran 1. 5 Data disolusi campuran fisik febuxostat-asam siringat

| Waktu | Luas Area | Konsentrasi | Massa  | FK    | Kadar terkoreksi | % terdisolusi | Rata - rata $\pm$ SD |
|-------|-----------|-------------|--------|-------|------------------|---------------|----------------------|
| 0     | 0,000     | 0,000       | 0,000  | 0,000 | 0,000            | 0,000         | 0,000                |
| 5     | 213,886   | 17,654      | 15,888 | 0,000 | 15,888           | 39,720        | 39,642 $\pm$ 0,829   |
|       | 217,739   | 18,051      | 16,246 | 0,000 | 16,246           | 40,616        |                      |
|       | 209,024   | 17,151      | 15,436 | 0,000 | 15,436           | 38,590        |                      |
| 10    | 201,873   | 16,413      | 14,771 | 0,088 | 14,860           | 37,149        | 34,000 $\pm$ 2,570   |
|       | 174,765   | 13,612      | 12,251 | 0,090 | 12,341           | 30,853        |                      |
|       | 188,340   | 15,015      | 13,513 | 0,086 | 13,599           | 33,997        |                      |
| 15    | 218,973   | 18,179      | 16,361 | 0,082 | 16,443           | 41,108        | 39,376 $\pm$ 1,225   |
|       | 208,012   | 17,047      | 15,342 | 0,068 | 15,410           | 38,525        |                      |
|       | 207,802   | 17,025      | 15,323 | 0,075 | 15,398           | 38,494        |                      |
| 30    | 284,914   | 24,991      | 22,492 | 0,091 | 22,583           | 56,457        | 61,201 $\pm$ 3,396   |
|       | 312,820   | 27,874      | 25,086 | 0,085 | 25,171           | 62,929        |                      |
|       | 318,371   | 28,447      | 25,602 | 0,085 | 25,687           | 64,218        |                      |
| 45    | 331,641   | 29,818      | 26,836 | 0,125 | 26,961           | 67,402        | 68,081 $\pm$ 1,902   |
|       | 345,561   | 31,256      | 28,130 | 0,139 | 28,270           | 70,674        |                      |
|       | 326,136   | 29,249      | 26,324 | 0,142 | 26,466           | 66,166        |                      |
| 60    | 437,618   | 40,765      | 36,689 | 0,149 | 36,838           | 92,095        | 92,006 $\pm$ 1,015   |
|       | 431,630   | 40,147      | 36,132 | 0,156 | 36,288           | 90,721        |                      |
|       | 442,410   | 41,260      | 37,134 | 0,146 | 37,281           | 93,201        |                      |



Gambar 6. 16 Kromatogram campuran fisik febuxostat-asam siringat untuk uji disolusi



## Lampiran 2 hasil analisis

### Lampiran 2. 1 Perhitungan validasi metode analisis

#### a. Perhitungan Nilai Resolusi

Diketahui  $tR1 = 3,455$  menit

$tR2 = 6,093$  menit

$W1 = 0,503$  menit

$W2 = 0,587$  menit

$$R_s = \frac{(tR2 - tR1)}{0,5 (W2 + W1)}$$

$$= \frac{(6,093 - 3,455)}{0,5 (0,587 + 0,503)}$$

$$= 4,84$$

#### b. Perhitungan LoD dan LoQ

| Konsentrasi<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) (x) | AUC (y) | AUC Regresi ( $y_i$ ) | $(y - y_i)^2$ |
|-----------------------------------------|---------|-----------------------|---------------|
| 100                                     | 1445    | 1409,8                | 1239,04       |
| 200                                     | 2895    | 2913,1                | 327,61        |
| 300                                     | 4365    | 4416,4                | 2641,96       |
| 400                                     | 5936    | 5919,7                | 265,69        |
| 500                                     | 7441    | 7423                  | 324           |
| $\sum (y - y_i)^2$                      |         |                       | 4798,30       |
| $S(y/x)$                                |         |                       | 39,99291      |
| LoD ( $\mu\text{g/mL}$ )                |         |                       | 7,98102       |
| LoQ ( $\mu\text{g/mL}$ )                |         |                       | 26,60341      |

Persamaan regresi linier :  $y = 15,033x - 93,5$

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{n - 2}}$$

$$= \sqrt{\frac{4798,30}{3}}$$

$$= 39,99291$$

$$\text{LoD} = \frac{3 \times s \left( \frac{y}{x} \right)}{b}$$

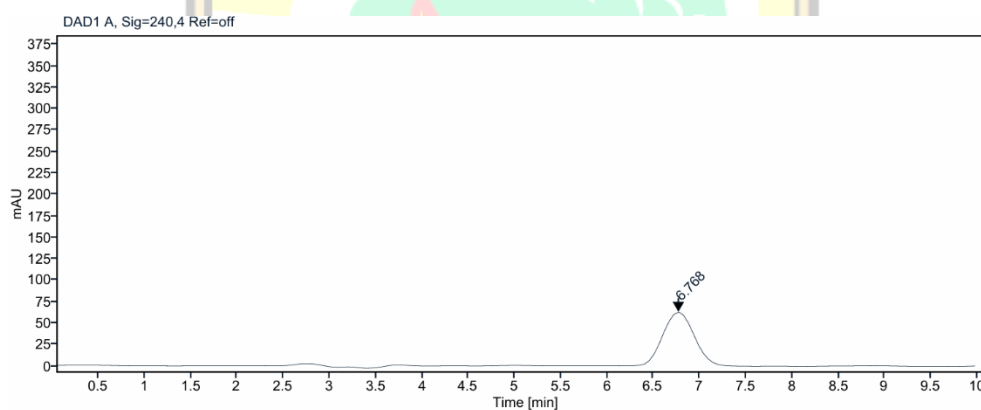
$$= \frac{3 \times 39,99291}{15,033}$$

$$= 7,98102 \mu\text{g/mL}$$

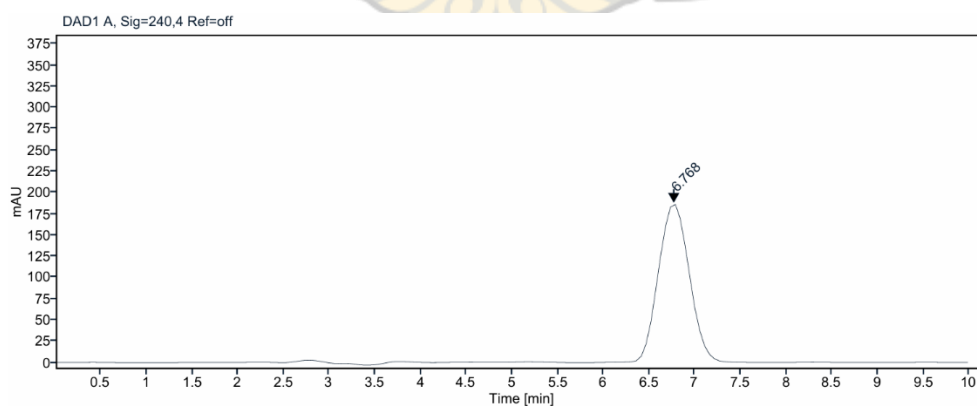
$$\begin{aligned}\text{LoQ} &= \frac{10 \times s \left( \frac{y}{x} \right)}{b} \\ &= \frac{10 \times 39,99291}{15,033} \\ &= 26,60341 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

c. Perhitungan persen *recovery* febuxostat

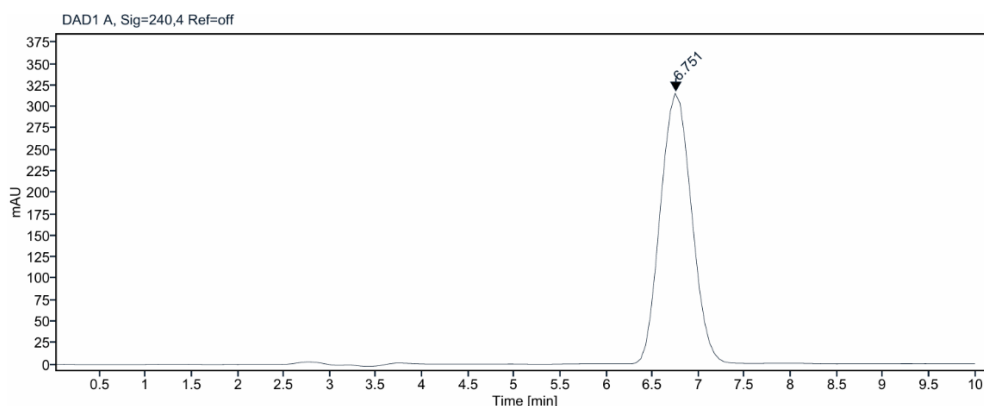
| Konsentrasi (μg/mL) | Luas Area | Konsentrasi terukur | Recovery (%) | Rata-rata recovery ± SD |
|---------------------|-----------|---------------------|--------------|-------------------------|
| 100                 | 1470,8566 | 104,063434          | 104,0634     | 102,3593 ± 1,503        |
|                     | 1436,7979 | 101,795909          | 101,7959     |                         |
|                     | 1428,1193 | 101,218606          | 101,2186     |                         |
| 300                 | 4372,0527 | 297,050003          | 99,01667     | 98,86319 ± 0,218593     |
|                     | 4353,8438 | 295,838741          | 98,61291     |                         |
|                     | 4369,4971 | 296,880004          | 98,96        |                         |
| 500                 | 7936,728  | 498,252378          | 99,65048     | 100,2382 ± 0,577019     |
|                     | 7442,5178 | 501,301922          | 100,2604     |                         |
|                     | 7483,4233 | 504,019377          | 100,8039     |                         |



Gambar 6. 17 Kromatogram febuxostat 100 μg/mL dalam metanol



Gambar 6. 18 Kromatogram febuxostat 300 μg/mL dalam metanol



Gambar 6. 19 Kromatogram febuxostat 500 µg/mL dalam metanol

Didapatkan nilai luas area = 4372,0527 lalu masukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi

$$y = 15,033x - 93,5$$

$$4372,0527 = 15,033x - 93,5$$

$$x = 297,050003$$

$$\begin{aligned} \% \text{ recovery} &= \frac{\text{konsentrasi terukur}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\% \\ &= \frac{297,050003 \mu\text{g/mL}}{300 \mu\text{g/mL}} \times 100\% \\ &= 99,016 \% \end{aligned}$$

Lampiran 2. 2 Perhitungan sampel yang mengandung febuxostat

BM febuxostat (zat aktif) = 316,37 g/mol

BM asam siringat (koformer) = 198,17 g/mol

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sampel setara 25 mg} &= \frac{\text{BM zat aktif} + \text{BM koformer}}{\text{BM zat aktif}} \times 25 \text{ mg} \\ &= \frac{316,37 + 198,17}{316,37} \times 25 \text{ mg} \\ &= 40.65 \text{ mg} \end{aligned}$$

Perhitungan sampel setara 40 mg febuxostat

BM febuxostat (zat aktif) = 316,37 g/mol

BM asam siringat (koformer) = 198,17 g/mol

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sampel setara 25 mg} &= \frac{\text{BM zat aktif} + \text{BM koformer}}{\text{BM zat aktif}} \times 40 \text{ mg} \\ &= \frac{316,37 + 198,17}{316,37} \times 40 \text{ mg} \end{aligned}$$



$$= 65,05 \text{ mg}$$

Lampiran 2. 3 Perhitungan penetapan kadar multikomponen febuxostat-asam siringat

| Luas Area | Konsentrasi Terukur ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Kadar (mg) | Kadar rata-rata | Penetapan kadar (%) | Rata-rata penetapan kadar |
|-----------|------------------------------------------|------------|-----------------|---------------------|---------------------------|
| 7439,683  | 501,110                                  | 25,055     | 25,056          | 100,222             | 100,222                   |
| 7439,252  | 501,081                                  | 25,054     |                 | 100,216             |                           |
| 7440,215  | 501,145                                  | 25,057     |                 | 100,229             |                           |

Luas area, dimasukkan ke dalam persamaan regresi

$$y = 15,033x - 93,5$$

$$7439,683 = 15,033x - 93,5$$

$$x = 501,109 \mu\text{g/mL}$$

a. Kadar febuxostat

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar} &= \text{konsentrasi } (\mu\text{g/mL}) \times \text{jumlah larutan induk} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= 501,109 \times 25 \times 2 \\
 &= 25055,487 \mu\text{g} \\
 &= 25,055 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

b. Penetapan kadar febuxostat (%)

$$\begin{aligned}
 \text{Penetapan kadar} &= \frac{\text{kadar sampel}}{\text{kadar sampel diketahui}} \times 100\% \\
 &= \frac{25,055}{25} \times 100\% \\
 &= 100,22\%
 \end{aligned}$$

c. Rata-rata penetapan kadar

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata penetapan kadar} &= \frac{\Sigma 100,22 + 100,216 + 100,229}{3} \\
 &= 100,221\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 2. 4 Perhitungan Uji disolusi

| Waktu | Luas Area | Konsentrasi | Massa  | FK    | Kadar  | % terdisolusi | Rata - rata $\pm$ SD  |
|-------|-----------|-------------|--------|-------|--------|---------------|-----------------------|
| 0     | 0,000     | 0,000       | 0,000  | 0,000 | 0,000  | 0,000         | 0,000                 |
| 5     | 226,283   | 18,934      | 17,041 | 0,000 | 17,041 | 42,602        | 40,492<br>$\pm$ 2,556 |
|       | 223,604   | 18,657      | 16,792 | 0,000 | 16,792 | 41,979        |                       |
|       | 201,730   | 16,398      | 14,758 | 0,000 | 14,758 | 36,895        |                       |
| 10    | 169,893   | 13,109      | 11,798 | 0,095 | 11,893 | 29,732        | 30,561<br>$\pm$ 0,684 |
|       | 177,110   | 13,855      | 12,469 | 0,093 | 12,562 | 31,406        |                       |
|       | 173,525   | 13,484      | 12,136 | 0,082 | 12,218 | 30,544        |                       |
| 15    | 214,185   | 17,684      | 15,916 | 0,066 | 15,981 | 39,954        | 37,063<br>$\pm$ 3,283 |
|       | 209,024   | 17,151      | 15,436 | 0,069 | 15,505 | 38,764        |                       |
|       | 181,970   | 14,357      | 12,921 | 0,067 | 12,988 | 32,471        |                       |
| 30    | 218,386   | 18,118      | 16,306 | 0,088 | 16,395 | 40,987        | 41,925<br>$\pm$ 1,584 |
|       | 232,048   | 19,530      | 17,577 | 0,086 | 17,662 | 44,156        |                       |
|       | 217,037   | 17,979      | 16,181 | 0,072 | 16,253 | 40,632        |                       |
| 45    | 277,446   | 24,219      | 21,797 | 0,091 | 21,888 | 54,720        | 55,891<br>$\pm$ 0,865 |
|       | 286,240   | 25,128      | 22,615 | 0,098 | 22,713 | 56,782        |                       |
|       | 283,702   | 24,866      | 22,379 | 0,090 | 22,469 | 56,172        |                       |
| 60    | 370,551   | 33,837      | 30,453 | 0,121 | 30,575 | 76,436        | 76,004<br>$\pm$ 1,140 |
|       | 373,496   | 34,141      | 30,727 | 0,126 | 30,853 | 77,132        |                       |
|       | 361,935   | 32,947      | 29,652 | 0,124 | 29,777 | 74,442        |                       |

Data uji disolusi multikomponen kristal febuxostat-asam siringat

| Waktu | Luas Area | Konsentrasi | Massa  | FK    | Kadar terkoreksi | % terdisolusi | Rata - rata $\pm$ SD |
|-------|-----------|-------------|--------|-------|------------------|---------------|----------------------|
| 0     | 0,000     | 0,000       | 0,000  | 0,000 | 0,000            | 0,000         | 0,000                |
| 5     | 221,451   | 18,435      | 16,592 | 0,000 | 16,592           | 41,479        | 41,950 $\pm$ 0,660   |
|       | 227,491   | 19,059      | 17,153 | 0,000 | 17,153           | 42,883        |                      |
|       | 221,490   | 18,439      | 16,595 | 0,000 | 16,595           | 41,488        |                      |

|    |         |        |        |       |        |         |                |
|----|---------|--------|--------|-------|--------|---------|----------------|
| 10 | 210,823 | 17,337 | 15,603 | 0,092 | 15,696 | 39,239  | 37,464 ± 1,451 |
|    | 195,499 | 15,754 | 14,179 | 0,095 | 14,274 | 35,685  |                |
|    | 203,199 | 16,550 | 14,895 | 0,092 | 14,987 | 37,467  |                |
| 15 | 226,476 | 18,954 | 17,059 | 0,087 | 17,145 | 42,863  | 45,047 ± 2,049 |
|    | 233,553 | 19,685 | 17,717 | 0,079 | 17,795 | 44,488  |                |
|    | 247,707 | 21,147 | 19,033 | 0,083 | 19,115 | 47,788  |                |
| 30 | 302,656 | 26,824 | 24,141 | 0,095 | 24,236 | 60,590  | 63,780 ± 2,257 |
|    | 322,855 | 28,910 | 26,019 | 0,098 | 26,118 | 65,294  |                |
|    | 323,473 | 28,974 | 26,077 | 0,106 | 26,182 | 65,456  |                |
| 45 | 375,034 | 34,300 | 30,870 | 0,134 | 31,004 | 77,511  | 77,606 ± 1,221 |
|    | 381,956 | 35,015 | 31,514 | 0,145 | 31,658 | 79,146  |                |
|    | 369,104 | 33,688 | 30,319 | 0,145 | 30,464 | 76,160  |                |
| 60 | 466,443 | 43,743 | 39,369 | 0,172 | 39,540 | 98,851  | 99,205 ± 2,279 |
|    | 480,627 | 45,208 | 40,687 | 0,175 | 40,862 | 102,156 |                |
|    | 456,829 | 42,750 | 38,475 | 0,168 | 38,643 | 96,608  |                |

Data uji disolusi campuran fisik febuxostat-asam siringat

| Waktu | Luas Area | Konsentrasi | Massa  | FK    | Kadar terkoreksi | % terdisolusi | Rata - rata ± SD |
|-------|-----------|-------------|--------|-------|------------------|---------------|------------------|
| 0     | 0,000     | 0,000       | 0,000  | 0,000 | 0,000            | 0,000         | 0,000            |
| 5     | 213,886   | 17,654      | 15,888 | 0,000 | 15,888           | 39,720        | 39,642 ± 0,829   |
|       | 217,739   | 18,051      | 16,246 | 0,000 | 16,246           | 40,616        |                  |
|       | 209,024   | 17,151      | 15,436 | 0,000 | 15,436           | 38,590        |                  |
| 10    | 201,873   | 16,413      | 14,771 | 0,088 | 14,860           | 37,149        | 34,000 ± 2,570   |
|       | 174,765   | 13,612      | 12,251 | 0,090 | 12,341           | 30,853        |                  |
|       | 188,340   | 15,015      | 13,513 | 0,086 | 13,599           | 33,997        |                  |
| 15    | 218,973   | 18,179      | 16,361 | 0,082 | 16,443           | 41,108        | 39,376 ± 1,225   |
|       | 208,012   | 17,047      | 15,342 | 0,068 | 15,410           | 38,525        |                  |
|       | 207,802   | 17,025      | 15,323 | 0,075 | 15,398           | 38,494        |                  |
| 30    | 284,914   | 24,991      | 22,492 | 0,091 | 22,583           | 56,457        |                  |

|    |         |        |        |       |        |        |                      |
|----|---------|--------|--------|-------|--------|--------|----------------------|
|    | 312,820 | 27,874 | 25,086 | 0,085 | 25,171 | 62,929 | 61,201<br>±<br>3,396 |
|    | 318,371 | 28,447 | 25,602 | 0,085 | 25,687 | 64,218 |                      |
| 45 | 331,641 | 29,818 | 26,836 | 0,125 | 26,961 | 67,402 | 68,081<br>±<br>1,902 |
|    | 345,561 | 31,256 | 28,130 | 0,139 | 28,270 | 70,674 |                      |
|    | 326,136 | 29,249 | 26,324 | 0,142 | 26,466 | 66,166 |                      |
| 60 | 437,618 | 40,765 | 36,689 | 0,149 | 36,838 | 92,095 | 92,006<br>±<br>1,015 |
|    | 431,630 | 40,147 | 36,132 | 0,156 | 36,288 | 90,721 |                      |
|    | 442,410 | 41,260 | 37,134 | 0,146 | 37,281 | 93,201 |                      |

a. Konsentrasi febuxostat terdisolusi ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$y = 9,6804x + 42,993$$

x = konsentrasi febuxostat terdisolusi ( $\mu\text{g/mL}$ )

Contoh : konsentrasi febuxostat yang terdisolusi dalam multikomponen pada menit ke-15

$$247,707 = 9,6804x + 42,993$$

$$x = 21,147 (\mu\text{g/mL})$$

b. Kadar febuxostat terdisolusi (mg)

Kadar = konsentrasi sampel ( $\mu\text{g/mL}$ ) x jumlah larutan induk (mL)

Contoh : kadar febuxostat pada menit ke 15

$$= 21,147 \mu\text{g/mL} \times 900 \text{ mL}$$

$$= 19,033 \text{ mg}$$

c. Faktor koreksi

$$= \left( \frac{\text{jumlah sampel diambil} \times \text{kadar sebelumnya}}{\text{volume media disolusi}} \right)$$

$$= \left( \frac{5 \text{ mL} \times 14,895}{900 \text{ mL}} \right)$$

$$= 0,083$$

$$\text{d. Persen terdisolusi} = \frac{\text{massa terdisolusi} + \text{faktor koreksi}}{\text{massa sampel}}$$

$$= \frac{19,033 \text{ mg} + 0,083 \text{ mg}}{40 \text{ mg}}$$

$$= 47,788\%$$

Lampiran 2. 5 Hasil analisis SPSS uji normalitas terdisolusi

| Tests of Normality |                |                                 |    |      |              |    |      |
|--------------------|----------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                    | Kelompok       | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|                    |                | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| Terdisolusi        | Febuxostat     | .288                            | 3  | .    | .928         | 3  | .481 |
|                    | Multikomponen  | .217                            | 3  | .    | .988         | 3  | .790 |
|                    | Campuran Fisik | .195                            | 3  | .    | .996         | 3  | .881 |

a. Lilliefors Significance Correction

Gambar 6. 20 Hasil analisis uji normalitas

Lampiran 2. 6 Hasil analisis SPSS uji homogenitas terdisolusi

| Tests of Homogeneity of Variances |                                      |           |     |       |      |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-----------|-----|-------|------|
|                                   |                                      | Levene    | df1 | df2   | Sig. |
|                                   |                                      | Statistic |     |       |      |
| Terdisolusi                       | Based on Mean                        | 1.159     | 2   | 6     | .375 |
|                                   | Based on Median                      | .667      | 2   | 6     | .547 |
|                                   | Based on Median and with adjusted df | .667      | 2   | 4.107 | .561 |
|                                   | Based on trimmed mean                | 1.125     | 2   | 6     | .385 |

Gambar 6. 21 Hasil analisis uji homogenitas

Lampiran 2. 7 Hasil analisis SPSS uji ANOVA

| ANOVA          |                |    |             |         |       |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|-------|
| Terdisolusi    |                |    |             |         |       |
|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig.  |
| Between Groups | 846.222        | 2  | 423.111     | 112.509 | <.001 |
| Within Groups  | 22.564         | 6  | 3.761       |         |       |
| Total          | 868.787        | 8  |             |         |       |

Gambar 6. 22 Hasil analisis SPSS uji ANOVA

Lampiran 3 Data penunjang

Lampiran 3. 1 Sertifikat analisis febuxostat



QUALITY ASSURANCE DEPARTMENT  
CERTIFICATE OF ANALYSIS

416745668

( Page 1 of 3 )

Product : FEBUXOSTAT (MICRONIZED)  
Batch No. : D3900617  
Mfg. Date : 08.08.2023  
Date of Release : 23.08.2023  
Specification No. : FPA.FEBUM.022-03  
Storage Condition : STORE IN AIRTIGHT CONTAINER, PROTECTED FROM LIGHT,  
AT A TEMPERATURE BELOW 25°C.

Q.C.Ref.No : 40001668926  
Retest Date : 24.01.2026 /  
Batch Size : 63.81 KG

| TESTS                                   | OBSERVATIONS                                                                                                                                                                             | SPECIFICATIONS                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Description                             | White crystalline powder                                                                                                                                                                 | White to off-white crystalline powder.                                                                                                                                                      |
| Solubility                              | Soluble in Dimethyl sulfoxide and in N,N-Dimethylformamide                                                                                                                               | Soluble in Dimethyl sulfoxide and in N,N-Dimethylformamide                                                                                                                                  |
| Identification                          | .                                                                                                                                                                                        | .                                                                                                                                                                                           |
| A. By IR                                | IR spectrum of the test exhibits intense peaks at 2962.37 cm <sup>-1</sup> , 2232.22 cm <sup>-1</sup> and 1677.55 cm <sup>-1</sup> .                                                     | A. IR spectrum of the test exhibits intense peaks at about 2960, 2231 and 1678cm <sup>-1</sup> (± 5 cm <sup>-1</sup> ).                                                                     |
| B. BY HPLC                              | The retention time of the major peak in the chromatogram of test preparation corresponds to that in the chromatogram of the standard preparation as obtained under assay by HPLC method. | B. The retention time of the major peak in the chromatogram of test preparation corresponds to that in the chromatogram of the standard preparation as obtained under assay by HPLC method. |
| X-Ray Diffraction                       | X-ray diffractogram of the test exhibit 2 theta values at 7.3° and 12.9°.                                                                                                                | X-ray diffractogram of the test should exhibit 2 theta values at 7.2° and 12.9° ± 0.2°.                                                                                                     |
| Loss on drying                          | 0.12% w/w                                                                                                                                                                                | Not more than 0.5% w/w                                                                                                                                                                      |
| Residue on ignition                     | 0.02 w/w                                                                                                                                                                                 | Not more than 0.1% w/w                                                                                                                                                                      |
| Assay [By HPLC method] (On dried basis) | 100.9%w/w                                                                                                                                                                                | Between 98.0% to 102.0% w/w                                                                                                                                                                 |
| Organic impurities [By HPLC method]     | .                                                                                                                                                                                        | .                                                                                                                                                                                           |
| Method-I:                               | .                                                                                                                                                                                        | .                                                                                                                                                                                           |
| Each specified identified impurity:     | .                                                                                                                                                                                        | .                                                                                                                                                                                           |

Remarks: Exhibit batch is approved, not for commercial usage. To be used only for trial/development & exhibit batch.

COMPILED BY  
Shripal Solanki

APPROVED BY  
Aachuttrao Himmat Jadhav

This is Computer generated document hence signature not required.

Printed on 23.08.2023 at 12:38:59 hrs

Lupin Limited

Works :Block 21, AT & Post , Dabhaha , Taluka : Padra , Vadodara , Gujarat, 391440, India. Tel : +91-2662-306306/326  
Registered Office :Kalpataru Inspire,3rd FLR,Santacruz (E), Mumbai-400055.(Maharashtra) India. Tel.: (91-22) 6640 2222, (91-22) 6640 2323. Fax : (91-22) 6640 2299. Website : www.lupin.com

Gambar 6. 23 Certificate of Analysis Febuxostat

### Lampiran 3. 2 Sertifikat analisis asam siringat



#### Certificate of Analysis

2025-05-26(JST)

TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO.,LTD.  
T-PLUS Nihonbashi-Kodemmacho  
16-12 Nihonbashi-kodemmacho, Chuo-ku, Tokyo 103-0001, Japan

| Chemical Name: Syringic Acid              |              |                                                         |
|-------------------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------|
| Product Number: G0014<br>CAS RN: 530-57-4 | Lot: FGM02   |                                                         |
| Tests                                     | Results      | Specifications                                          |
| Appearance                                | White powder | White to Light yellow to Light orange powder to crystal |
| Purity(HPLC)                              | 98.6 area%   | min. 95.0 area%                                         |
| Purity(Neutralization titration)          | 99.0 %       | min. 97.0 %                                             |
| Melting point                             | 209.7 °C     | 204.0 to 212.0 °C                                       |
| Solubility in Methanol                    | transparency | almost transparency                                     |

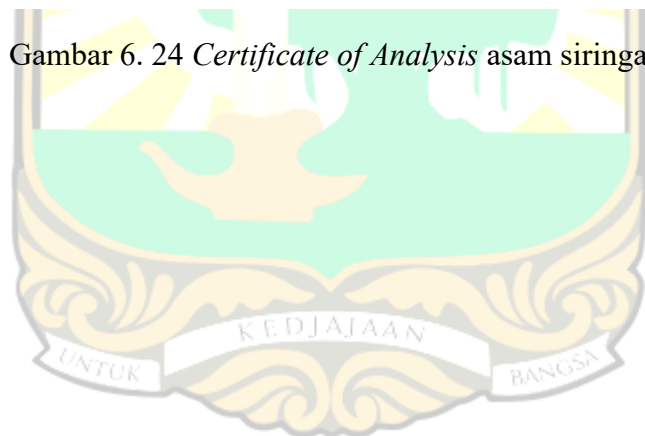
TCI Lot numbers are 4-5 characters in length. Characters listed after the first 4-5 characters are control numbers for internal purpose only.  
The contents of the specifications are subject to change without advance notice. The specification values displayed here are the most up to date values. There may be cases where the product labels display a different specification, however, the product quality still meets the latest specification.

#### Customer Service:

TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD  
E-mail: globalbusiness@TCIchemicals.com

*Takuya Nishioka*

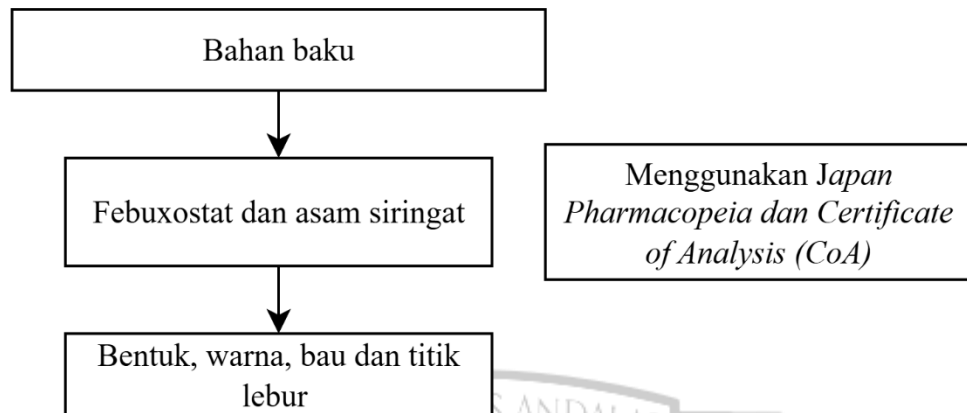
Takuya Nishioka  
Quality Assurance Department Manager



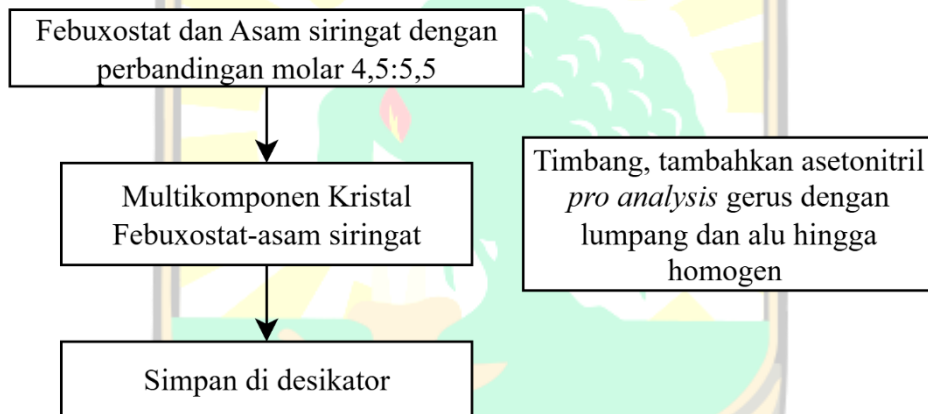
Gambar 6. 24 *Certificate of Analysis* asam siringat

### Lampiran 3. 3 Skema Kerja

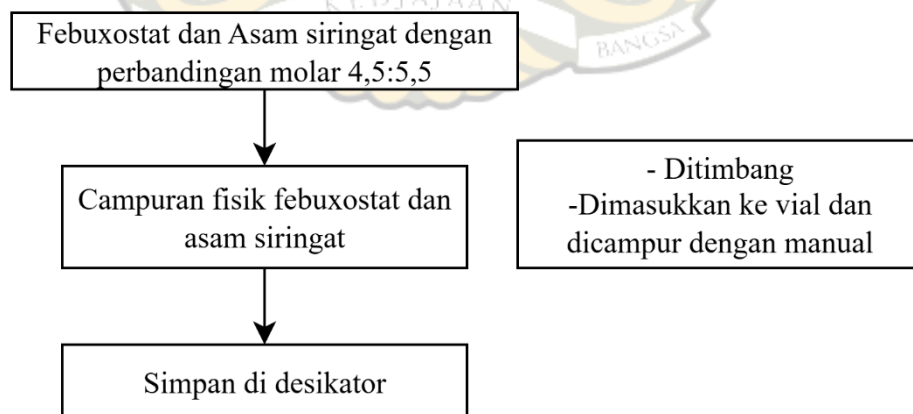
#### 1. Pemeriksaan Bahan Baku



#### 2. Pembuatan Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam siringat

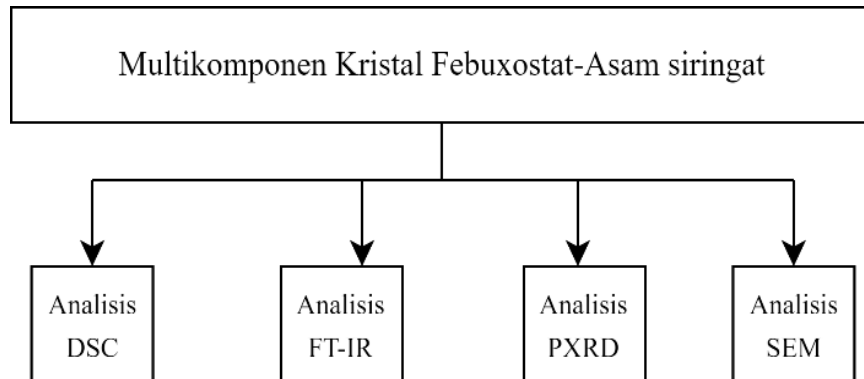


#### 3. Pembuatan Campuran Fisik Febuxostat-Asam siringat

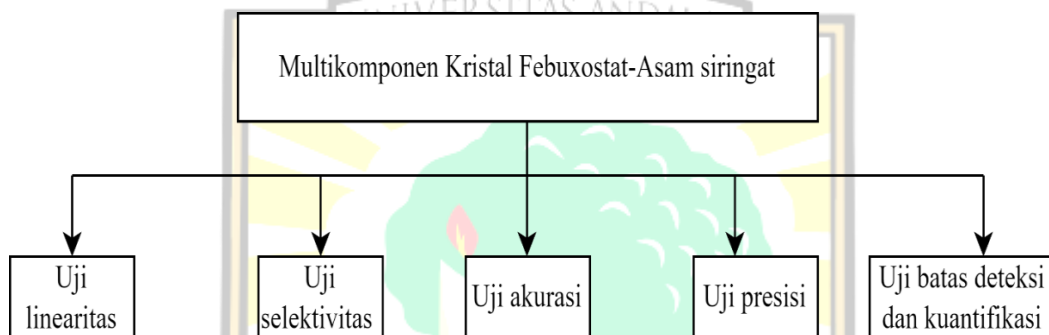




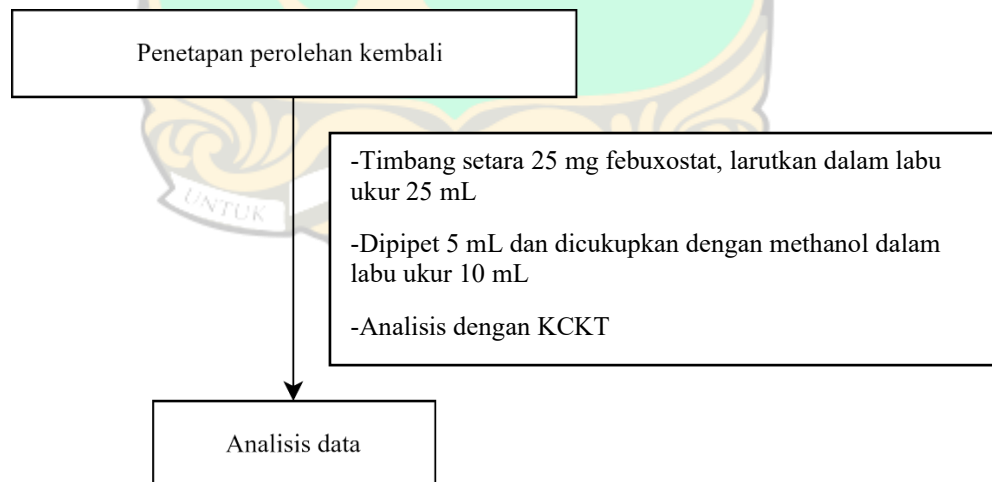
4. Karakterisasi Febuxostat, Asam siringat, Campuran Fisik, dan Multikomponen Kristal Febuxostat-Asam siringat



5. Validasi Metode Analisis



6. Penetapan Kadar Perolehan Kembali



## 7. Uji Disolusi

