

PENGARUH PEMBENTUKAN KO-KRISTAL PIRIMETAMIN-ASAM FUMARAT TERHADAP KELARUTAN DAN LAJU DISOLUSINYA

**Riskia Putri Peratiwi, Fikri Alatas, Fani Wahyuni, Rani Sugandi, Hestiary Ratih,
Faizal Hermanto**

Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Jl. Terusan Sudirman, Cimahi
Corresponding author email: fikrifaza@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pirimetamin (PIR) adalah suatu obat antimalaria dengan kelarutan yang buruk di dalam air, sehingga ketersediaan hayatinya rendah. Pembentukan ko-kristal dapat mempengaruhi kelarutan dan laju disolusi bahan aktif farmasi tanpa mengubah aktivitas farmakologinya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pembentukan ko-kristal pirimetamin (PIR) dengan asam fumarat(FUM) terhadap kelarutan dan laju disolusi pirimetamin. Ko-kristal PIR-FUM dibuat dalam perbandingan stoikiometri ekuimolar menggunakan metode penggilingan basah dengan menggunakan campuran pelarut aseton:air(1:1). Karakterisasi ko-kristal dilakukan dengan metode difraksi sinar-X serbuk, spektrofotometri infra merah, dan mikroskopik. Uji kelarutan dan uji laju disolusi dilakukan di dalam media air dan larutan dapar pH 1,2; 4,5; dan 6,8. Pola difraksi sinar-X serbuk hasil penggilingan basah berbeda dengan pola difraksi komponen-komponen murninya yang mengindikasikan terbentuknya ko-kristal PIR-FUM. Ko-kristal PIR-FUM mempunyai kelarutan dan laju disolusi lebih tinggi daripada pirimetamin murni.

Kata kunci : Pirimetamin, asam fumarat, penggilingan basah, ko-kristal.

ABSTRACT

Pyrimethamine (PIR) is an antimalaria drug with poor solubility in water, so its bioavailability is low. Co-crystal formation can affects solubility and dissolution rate of active pharmaceutical ingredient without altering its pharmacological activity. The aim of this study was to investigate the influence of co-crystal formation between pyrimethamine (PIR) and fumaric acid (FUM) on the solubility and dissolution rate of pyrimethamine. PIR-FUM co-crystal was prepared in equimolar stoichiometric ratio by a solvent-drop grinding method. Characterization of co-crystal was conducted by powder X-ray diffractometry, infrared spectroscopy, and microscopy methods. X-ray powder diffraction pattern of the solvent-drop grinding result was different from diffraction pattern of pure components that indicate the formation of PIR-FUM co-crystal. PIR-FUM co-crystal has solubility and dissolution rate higher than pure pyrimethamine.

Keywords: *Pyrimethamine, fumaric acid, solvent drop grinding, co-crystal.*

PENDAHULUAN

Kelarutan merupakan salah satu sifat fisikokimia senyawa obat yang penting dalam meramalkan absorpsi obat dalam saluran cerna (Erizal dkk, 2011). Obat-obat yang mempunyai kelarutan kecil dalam air seringkali menunjukkan ketersediaan hayati rendah dan kecepatan disolusi merupakan tahap penentu pada proses absorpsi obat. Salah satu obat yang memiliki kelarutan kecil dalam air adalah pirimetamin.

Pirimetamin (PIR) merupakan obat esensial pada penyembuhan penyakit malaria *falciparum* yang telah resisten terhadap klorokuin. Baru-baru ini diketahui bahwa PIR juga bisa digunakan

sebagai anti-HIV dan toksoplasmosis. PIR memiliki sifat fisikokimia: serbuk hablur putih, tidak berbau, melebur pada suhu antara 238°C dan 242°C. Pirimetamin tidak larut dalam air; sukar larut dalam aseton, dalam etanol, dan dalam kloroform (Depkes RI, 1995).

Salah satu metode menarik dan sederhana yang baru-baru ini dikembangkan dalam bidang ilmu bahan dan rekayasa kristal yang berguna untuk meningkatkan laju pelarutan dan ketersediaan hayati obat-obat yang sukar larut adalah teknik ko-kristalisasi yang menghasilkan ko-kristal dengan sifat-sifat fisikokimia yang lebih unggul (Erizal dkk, 2011). Perubahan susunan molekul dalam kristal seperti modifikasi

bentuk kristal dan penggabungan dengan senyawa lain dalam kisi kristal yang sama (ko-kristal) telah terbukti mampu mengubah suatu sifat fisika kimia suatu senyawa (Karki dkk., 2009). Ko-kristal adalah suatu kompleks kristalin dimana dua atau lebih molekul netral berada pada perbandingan stoikiometrik tertentu (Qiao dkk, 2011).

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ko-kristal Pirimetamin-Asam Fumarat Menggunakan Metode Solvent-drop Grinding. Pembuatan ko-kristal dilakukan dengan menggerus PIR dan FUM dalam perbandingan ekuimolar di dalam mortir. Penggerusan dilakukan selama 5 menit dengan penambahan beberapa tetes campuran pelarut aseton:air (1:1) dan dikeringkan. Karakterisasi awal terbentuknya ko-kristal dilakukan dengan metode difraksi sinar-X serbuk.

Uji Kelarutan Fasa Pirimetamin. Dibuat satu seri larutan standar FUM dengan konsentrasi berturut-turut 0,01; 0,02; 0,03; 0,035; 0,04; 0,05 M. Sebanyak 5 mL masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam vial 10 mL. Ke dalam masing-masing vial yang telah berisi variasi larutan FUM ditambahkan PIR sebanyak 50 mg. Vial dikocok dengan *orbital shaker* pada kecepatan 250 ppm (putaran per menit) dan dikondisikan pada suhu kamar ($20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Setelah 24 jam sampel disaring. Kadar pirimetamin terlarut dianalisis dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 272 nm.

Uji Kelarutan Fasa Ko-kristal PIR-FUM. Dibuat satu seri larutan standar FUM dengan konsentrasi berturut-turut 0,01; 0,02; 0,03; 0,035; 0,04; 0,05 M. Sebanyak 5 mL masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam vial 10 mL. Ke dalam masing-masing vial yang telah berisi variasi larutan FUM ditambahkan ko-kristal PIR-FUM hasil penggilingan sebanyak 50 mg. Vial dikocok dengan *orbital shaker* pada kecepatan 250 ppm (putaran per menit) dan dikondisikan pada suhu ruang ($20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Setelah 24 jam sampel disaring. Kadar pirimetamin terlarut dianalisis dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 272 nm.

Uji morfologi kristal dengan mikroskop polarisasi. Serbuk PIR murni, FUM murni dan campuran fisik PIR-FUM (1:1) diamati secara mikroskopik menggunakan mikroskop polarisasi. Uji dilakukan dengan meletakkan kurang lebih 3

mg sampel di atas gelas objek, ditetesi campuran aseton:air (1:1), dan morfologi kristal yang terbentuk diamati dengan mikroskop polarisasi yang dilengkapi dengan kamera digital.

Karakterisasi dengan difraksi sinar-X serbuk. Penetapan pola difraksi sinar-X serbuk dilakukan untuk PIR murni, FUM murni dan ko-kristal PIR-FUM. Kondisi pengukuran menggunakan anode Cu, voltase dan arus generator adalah 40 kV dan 30 mA pada rentang sudut 2θ $5-35^{\circ}$ dan kecepatan pemindaian $2^{\circ}/\text{menit}$ (Basavoju dkk., 2007).

Analisis spektrum FTIR. Analisis spektrum FTIR dilakukan untuk PIR murni, FUM murni dan ko-kristal PIR-FUM dengan cara mendispersikan 1% sampel di dalam KBr. Dispersi sampel dalam KBR diukur dengan instrumen FTIR Shimadzu Affinity-1 pada rentang bilangan gelombang $400-4000\text{ cm}^{-1}$ (Fabian dkk., 2006).

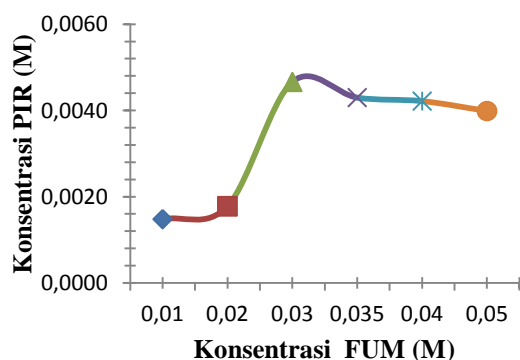
Uji kelarutan. PIR murni ditimbang sebanyak 50 mg dan ko-kristal PIR-FUM ditimbang setara dengan 50,0 mg PIR, kemudian dimasukkan ke dalam vial yang berisi 5,0 ml pelarut, disimpan pada *orbital shaker* dengan kecepatan 250 ppm (putaran per menit) dan dikondisikan pada suhu kamar ($20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Pelarut yang digunakan adalah air, larutan dapar HCl pH 1,2, larutan dapar asetat pH 4,5 dan larutan dapar fosfat pH 6,8. Setelah 24 jam sampel disaring. Filtrat dianalisis dengan spektrofotometer uv sinar tampak pada panjang gelombang PIR dalam pelarut. Konsentrasi PIR yang terlarut ditentukan dengan persamaan dari kurva kalibrasi PIR dalam masing-masing pelarut.

Uji disolusi. Uji disolusi dilakukan terhadap PIR murni dan ko-kristal PIR-FUM. Pengujian menggunakan alat disolusi tipe 2 (dayung) dengan kecepatan pengadukan 100 ppm (putaran per menit) pada suhu $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ dengan volume media 900 ml. Media disolusi yang digunakan adalah larutan dapar asam hidroklorida pH 1,2, larutan dapar asetat pH 4,5 dan larutan dapar fosfat pH 6,8. Pengambilan cuplikan 10 ml dilakukan pada menit ke- 10, 15, 20, 30, 45 dan 60. Konsentrasi PIR terdisolusi dalam setiap sampel dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang PIR dalam masing-masing media dan dihitung persentase PIR yang terdisolusi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

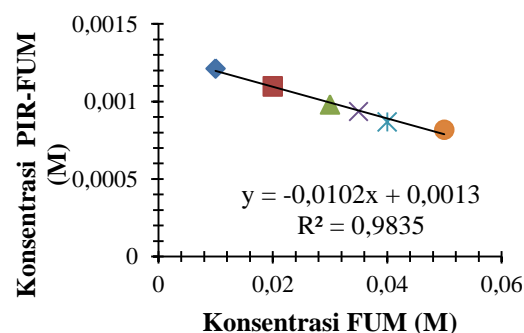
Ko-kristal dibuat dengan metode penggilingan basah, penggilingan basah memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan penggilingan kering dan metode lainnya seperti besarnya peluang pembentukan ko-kristal, kemampuan untuk mengontrol produksi polimorf dan kristalinitas produk yang lebih baik (Trask dkk, 2004). Penggilingan basah tidak memerlukan banyak pelarut sehingga metode ini ramah lingkungan (Alatas dkk, 2014a). Ko-kristal piritamin-asam fumarat (PIR-FUM) dibuat dengan perbandingan stoikiometri 1:1.

Uji Kelarutan Fasa PIR dalam Air Suling. Kurva kelarutan fasa merupakan kurva yang dapat menggambarkan konsentrasi zat terlarut didalam variasi konsentrasi larutan zat lain (Higuchi dan Connors, 1965; Alatas dkk., 2014b). Uji kelarutan fasa dilakukan untuk mengetahui perbandingan atau jumlah ko-former yang tepat untuk dapat membentuk ko-kristal dengan PIR sehingga diharapkan dapat meningkatkan kelarutan dari PIR. Kurva kelarutan fasa PIR dalam variasi konsentrasi FUM dalam pelarut air seperti ditampilkan pada Gambar 1 menunjukkan terjadinya peningkatan kelarutan PIR hingga konsentrasi FUM 0,03 M dan mulai menurun pada konsentrasi FUM lebih tinggi dari 0,003 M. Tipe kelarutan fasa ini sesuai dengan tipe Bs, yang memungkinkan terbentuknya ko-kristal. Pada konsentrasi 0,03-0,05 M mulai terbentuk padatan ko-kristal yang mengendap pada dasar vial akibat tercapainya hasil kali kelarutan (K_{sp}) antara PIR dan FUM. Semakin besar konsentrasi FUM di atas konsentrasi 0,03 M, maka semakin banyak padatan ko-kristal yang diperoleh.



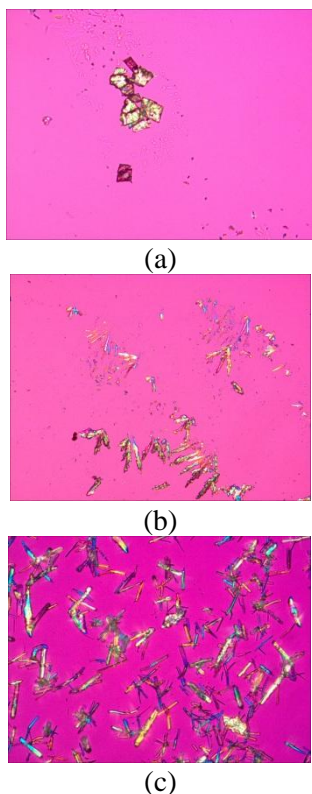
Gambar 1. Grafik hasil uji kelarutan fasa PIR

Uji Kelarutan Fasa Ko-kristal PIR-FUM dalam Campuran Aseton:Air (1:1). Kurva kelarutan fasa ko-kristal PIR-FUM di dalam variasi konsentrasi FUM yang ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan terjadinya penurunan kelarutan ko-kristal. Pada dasarnya kurva ini hampir sama dengan kurva kelarutan fasa PIR di dalam variasi konsentrasi larutan FUM setelah terbentuk ko-kristal ($C > 0,03M$). Hasil uji kelarutan fasa ko-kristal menunjukkan bahwa setiap bertambahnya konsentrasi FUM menghasilkan penurunan kelarutan. Hal ini disebabkan karena makin besar konsentrasi FUM maka semakin banyak pula padatan ko-kristal yang mengendap, sehingga menurunkan kelarutan ko-kristal.



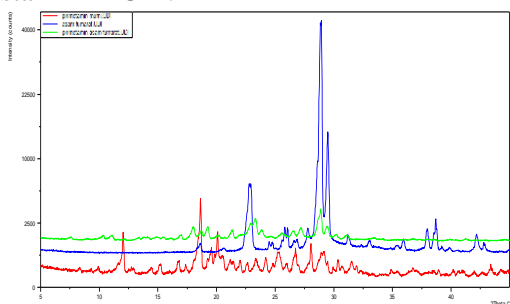
Gambar 2. Grafik hasil uji kelarutan fasa ko-kristal PIR-FUM (1:1)

Foto Mikroskop Polarisasi. Gambar 3 menunjukkan morfologi atau habit kristal campuran fisik PIR-FUM setelah ditetesi campuran aseton-air (1:1) berbentuk batang dan berbeda dengan habit dari masing-masing komponen pembentuknya setelah ditetesi dengan pelarut yang sama. Perubahan habit Kristal ini dapat mengindikasikan terbentuk struktur kristal baru, yaitu ko-kristal PIR-FUM.



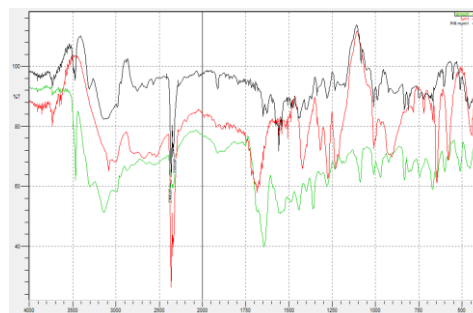
Gambar 3. Morfologi kristal (a) PIR (b) FUM (c) PIR-FUM dibawah mikroskop polarisasi dengan kontak dingin.

Difraktogram Sinar-X Ko-kristal. Pola difraksi sinar-X digunakan sebagai karakterisasi terbentuknya ko-kristal. Perbedaan pola difraksi sinar-X serbuk hasil penggilingan dengan pola difraksi sinar-X serbuk masing-masing komponen murninya dapat menunjukkan terbentuknya ko-kristal (Shanpui dkk., 2011). Gambar 4 menunjukkan pola difraksi sinar-X serbuk hasil penggilingan basah PIR-PUM (1:1) berbeda dengan pola difraksi PIR dan FUM murni. Hilangnya puncak PIR pada sudut 2θ 11,99°; 18,58°; 19,54°; dan 20,05° dan hilangnya puncak FUM pada sudut 2θ 29,485°; 37,93°; dan 38,69°, serta munculnya puncak-puncak baru pada sudut 2θ menunjukkan terbentuknya ko-kristal PIR-FUM.



Gambar4. Pola difraksi sinar-X serbuk(---) PIR, (--) FUM,dan (---) ko-kristal PIR-FUM

Spektrum infra merah. Karakterisasi ko-kristal dengan spektrofotometri infra merah digunakan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam struktur ko-kristal dan melihat adanya interaksi kimia dalam ko-kristal PIR-FUM (Schultheiss dkk, 2009). Spektrum infra merah pada Gambar 5 menunjukkan adanya puncak khas pada PIR yaitu pada bilangan gelombang 3467 dan 3149 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya vibrasi gugus N-H dan cincin aromatic C-H, bilangan gelombang antara 1400 dan 1649 cm^{-1} mengindikasikan adanya vibrasi lentur dari C=C dan C=N pada cincin aromatik PIR, serta vibrasi ikatan C-H dari vibrasi lentur CH₃ dan C-N pada bilangan gelombang 1394 dan 1280 cm^{-1} (Onyeji dkk, 2009). Sedangkan FUM mempunyai puncak khas pada bilangan gelombang 1685 cm^{-1} yang merupakan gugus C=O. Pada hasil spektrum infra merah ko-kristal PIR-FUM menunjukkan adanya sedikit pergeseran gugus C=O FUM menjadi bilangan gelombang 1643 cm^{-1} .



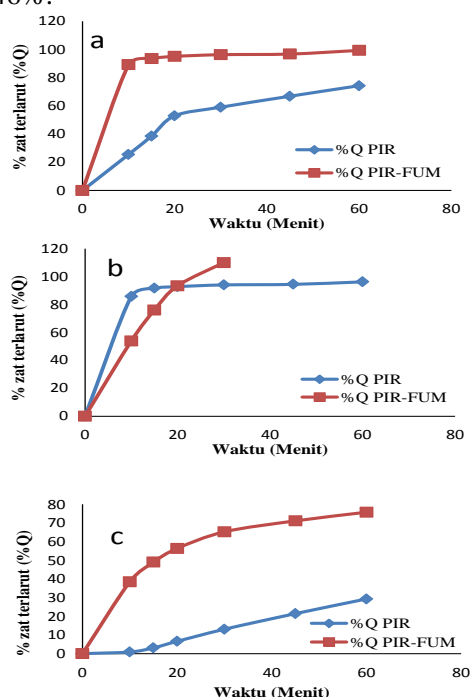
Gambar 5. Spektrum infra merah (---) PIR, (---) FUM, dan (---) ko-kristal PIR-FUM

Uji Kelarutan. Ko-kristal dapat mengubah sifat fisiko kimia bahan aktif farmasi, termasuk kelarutannya. Tabel 1 menunjukkan bahwa pembentukan ko-kristal PIR-FUM dapat meningkatkan kelarutan pirimetamin pada media air dan pH 6,8 berturut-turut sebanyak 21 dan 14 kali lipat daripada kelarutan pirimetamin murni. Peningkatan kelarutan ini diduga akibat terbentuknya ikatan hidrogen antara pirimetamin dan asam fumarat yang bersifat polar.

Tabel 1. Kelarutan Pirimetamin dan Ko-Kristal PIR-FUM

| Pelarut | Kelarutan Pirimetamin (mg/mL) | Kelarutan Ko-kristal PIR-FUM (mg/mL) |
|--------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| Air | 0,045 ± 0,00190 | 0,945 ± 0,0153 |
| Dapar pH 1,2 | 0,978 ± 0,03892 | 1,014 ± 0,0011 |
| Dapar pH 4,5 | 2,187 ± 0,06313 | 0,636 ± 0,0188 |
| Dapar pH 6,8 | 0,063 ± 0,00109 | 0,904 ± 0,122 |

Uji Disolusi. Uji disolusi merupakan faktor penting dalam pengendalian mutu obat (Stippler dkk., 2015; Kun dkk., 2015). Setelah dilakukan uji kelarutan, ko-kristal PIR-FUM diuji secara *in vitro* dengan uji disolusi partikulat menggunakan metode dayung pada suhu 37°C dengan kecepatan 10 ppm (putaran per menit) dalam tiga media yang berbeda, yaitu larutan dapar HCl pH 1,2, larutan dapar asetat pH 4,5, dan larutan dapar fosfat pH 6,8. Penggunaan ketiga media disolusi ini untuk menggambarkan pelepasan ko-kristal PIR-FUM dalam saluran cerna. Berdasarkan hasil pengujian disolusi dalam tiga media pH, terdapat peningkatan profil disolusi antara PIR dengan ko-kristal PIR-FUM. Peningkatan signifikan terlihat pada pH 6,8 dimana jumlah terdisolusi pada menit ke 60 mengalami kenaikan sebesar 46,46%.

**Gambar 6.** Profil disolusi PIR dan ko-kristal PIR-FUM pada (a) pH 1,2, (b) pH 4,5, dan (c) pH 6,8

KESIMPULAN

Karakterisasi dengan difraksi sinar-X serbuk, spektrum infra merah, mikroskop polarisasi, dan uji kelarutan fasa menunjukkan terbentuknya ko-kristal antara pirimetamin dengan asam fumarat. Pembentukan ko-kristal PIR-FUM (1:1) dapat meningkatkan kelarutan pirimetamin dalam air dan dapar pH 6,8 berturut-turut 14 kali dan 21 kali lipat dari pirimetamin murni. Laju disolusi ko-kristal PIR-FUM lebih tinggi daripada laju disolusi pirimetamin murni.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Kementerian Ristek dan Dikti yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alatas, F., Soewandhi S.N., Sasongko, L., Ismunandar, Uekusa, H. 2014. *Cocrystal Formation Between Didanosine And Two Aromatic Acids. Int J Pharm Pharm Sci*, Vol 5, Suppl 3: 275-280.
- Alatas, F., Soewandhi S.N., Sasongko, L., Ismunandar. 2011. Pengaruh Penggilingan Terhadap Karakteristik Padatan Didanosin. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. Vol 13 (No 1): ISSN 1411-1098 hal 67-71.
- Alatas, F., Soewandhi S.N., Sasongko, L., Ismunandar. 2014. Kelarutan dan stabilitas Kimia Kompleks Didanosin Dengan Nikotinamid Atau L-Arginin. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. Vol. 15 (No. 2): hal, 94-102.
- Basavoju, S., Dan Bostrom, Sitaram P. Velaga. 2007. Indomethacin Saccharin Cocrystal : Design, Synthesis and Preliminary Pharmaceutical Ingredients. *Pharmaceutical Research*. Vol.25 (No.3): 530-540.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995 halaman 725. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan. 2010. *Riset Kesehatan Daerah*. Balitbangkes Kemenkes RI. Jakarta.
- Erizal Z., dkk. 2011. Peningkatan Laju Pelarutan Trimetoprim Melalui Metode Ko-Kristalisasi Dengan Nikotinamida. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 5 (No. 4): 205 -212.

- Fabian, Laszlo, et al. 2006. Cocrystals of Fenamic Acids with Nicotinamide. *Crystal Growth & Design*: 3522-3527.
- Karki, S., T. Friscic, L. Fabian, P. R. Laity, G. M. Day, and W. Jones. 2009. Improving Mechanical Properties of Crystalline Solids by Cocrystal Formation: New Compressible Forms of Paracetamol. *J. Adv. Material*. Vol. 21: 3905-3909.
- Kun, N., e et al., Monitoring Ambroxol Hydrochloride Sustain Release Tablet Release by Fiber-Optic Drug Dissolution In Situ Test System, diperoleh dari <http://www.pharmainfo.net>, 09 Juni 2015.
- Onyeji, Cyprian O., Sharon I, Omoruyi., Francis A. Oladimeji., Julius O. Soyinka. 2009. Physicochemical Characterization a Dissolution Properties of Binary System of Pyrimethamine and 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin. *African Journal of Biotechnology*. Vol 8;1651-1659.
- Qiao, N., et al. 2011. Pharmaceutical cocrystals: An overview. *International Journal of Pharmaceutics*. 419: 1– 11.
- Schultheiss N, Newman A. 2009. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. *Cryst Growth*; 9(6):2950-67.
- Shanpui P, Goud NR, Khandavilli UBR, Nangia A. 2011. Fast dissolving curcumin cocrystals, *Cryst Growth*. 11:4135-45.
- Stippler E., *Predictive Dissolution Methods*, diperoleh dari <http://rmedia.server.aapspharmaceutica.com/rmeetings/webinars/apq3/dissolution.pdf>, 09 Juni 2015.
- Trask AV., Motherwell WDS., Jones W. 2004. Solvent-drop Grinding: Green Polymorph Control of Cocrystallisation. *Chem Commun*; 890-891.