



ORIGINAL ARTICLE

Sains Farm Klin 7(1):23-30 (April 2020) | DOI: 10.25077/jsfk.7.1.23-30.2020

Pembentukan Kokristal Asam Usnat - N-Methyl-D-Glucamine dengan Metode Penguapan Pelarut dan Pengaruhnya terhadap Penurunan Interleukin-8 pada Tikus Inflamasi

(Cocrystal of usnic acid- n-methyl-d-glucamine using solvent evaporation technique and the effect on decreasing interleukin-8 levels in inflamed rat)

Muthia Fadhila, Salman Umar, & Erizal Zaini*

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Jl. Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat 25163

ABSTRACT: The objective of the research was to prepare the cocrystal of usnic acid-N-methyl-D-glucamine in order to increase solubility, dissolution rate, and decrease IL-8 levels in rats with inflammation. Cocrystal was prepared with a ratio of 1:1 equimolar by a solvent evaporation method using ethanol. Characterizations were conducted using Powder X-ray diffraction (PXRD), Differential Scanning Calorimetry (DSC), infrared spectroscopy (FT-IR), and Scanning Electron Microscopy (SEM). The solubility test, dissolution rate test, and determination of interleukin-8 (IL-8) levels in rats were also performed. CO₂ free distilled water was used as a media in the solubility test. Meanwhile, CO₂ free distilled water with 0.25 % w/v Sodium Lauryl Sulphate (SLS) were used as the media for dissolution rate studies. Both tests were conducted using a UV-Vis spectrophotometer. The determination of IL-8 levels in rat was performed by using an ELISA method. Powder X-ray Diffraction (PXRD) diffractogram showed a new peak compared to diffusion peaks of each component and physical mixture that confirmed the formation of cocrystal, and peak intensity decreased that shown formation of eutectic mixture. The appearance of the DSC thermogram from cocrystal showed different endothermic peaks for both constituent components. The FT-IR spectrum of cocrystal showed a shift of the wave number spectrum compared to pure usnic acid and N-methyl-D-glucamine. Microscopic analysis by SEM showed a change of crystal morphology. The solubility and dissolution rate of cocrystal increased significantly ($p<0.05$) by 24 and 23 times compared to the pure usnic acid. Cocrystal could reduce IL-8 levels in rats with inflammation equivalent to acetosal ($P<0.05$). This study concludes, that cocrystal of usnic acid-N-methyl-D-glucamine can enhance solubility and dissolution rate, and decrease IL-8 levels in rats with inflammation.

Keywords: usnic acid; N-methyl-D-glucamine; cocrystal; solubility; dissolution rate; interleukin-8.

ABSTRAK: Pada penelitian ini pembentukan kokristal asam usnat-N-methyl-D-glucamine bertujuan untuk meningkatkan kelarutan dan laju disolusi asam usnat serta uji efektivitasnya dalam kadar IL-8 pada tikus inflamasi. Kokristal asam usnat-N-methyl-D-glucamine dibuat dengan perbandingan 1:1 ekuiyola dengan metode penguapan pelarut menggunakan etanol. Karakterisasi sampel dilakukan dengan difraksi sinar-X, Differential Scanning Calorimetry (DSC), Fourier Transform Infrared (FTIR), dan Scanning Electron Microscopy (SEM). Evaluasi kokristal yang dilakukan mencakup uji kelarutan, uji laju disolusi, dan penentuan kadar interleukin-8 (IL-8) pada tikus inflamasi. Uji kelarutan dilakukan menggunakan pelarut air suling bebas CO₂ sedangkan uji laju disolusi menggunakan media air suling bebas CO₂ 0.25% (b/v) sodium lauryl sulfat (SLS), kedua larutan uji dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pemeriksaan IL-8 tikus inflamasi menggunakan metode ELISA. Hasil karakterisasi difraksi sinar-X menunjukkan profil difraktogram yang berbeda dari komponen penyusun yang mengindikasikan terbentuknya fase kokristal. Hasil termogram DSC menunjukkan adanya puncak endotermik baru yang berbeda dengan kedua komponen penyusun. Spektrum FT-IR menunjukkan terjadinya pergeseran bilangan gelombang pada spektrum kokristal dibandingkan spektrum asam usnat dan N-methyl-D-glucamine. Analisis SEM menunjukkan perubahan morfologi partikel. Kelarutan dan laju disolusi kokristal meningkat secara signifikan ($P<0.05$) sebanyak 24 kali dan 23 kali dibandingkan dengan senyawa asam usnat murni. Kokristal dapat menurunkan kadar IL-8 pada tikus inflamasi yang setara dengan aktivitas antiinflamasi asetosal ($P<0.05$). Disimpulkan bahwa koristal asam usnat - N-methyl-D-glucamine dapat meningkatkan kelarutan, laju disolusi, dan menurunkan kadar IL-8 tikus inflamasi.

Kata kunci: asam usnat; N-methyl-D-glucamine; kokristal; kelarutan; laju disolusi; interleukin-8.

Pendahuluan

Asam usnat adalah metabolit sekunder dari *Usnea* sp yang merupakan turunan dibenzofuran. Sejak isolasi pertama dilakukan pada tahun 1844 asam usnat(*2,6-diacyetyl-7,9-dihydroxy-8,9b-dimethyl-1,3(2H,9bH)-dibenzo-furandione*)

menjadi metabolit lichen yang paling banyak diteliti dan tersedia secara komersial [1,2]. Asam usnat secara organoleptis berbentuk kristal kuning padat [3,4] yang memiliki nilai koefisien partisi (\log

Article history

Received: 19 Jan 2019

Accepted: 05 April 2020

Published: 30 April 2020

Access this article



*Corresponding Author: Erizal Zaini

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Jl. Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat 25163 | Email: erizal@phar.unand.ac.id

P) 2,88 [5]. Kelarutan asam usnat pada suhu 25°C yang dilarutkan dalam pelarut air tergolong rendah yaitu < 0,01 g/100 mL [3]. Senyawa ini dikategorikan kelas dua berdasarkan *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) dengan kelarutan rendah namun permeabilitas yang tinggi [6].

Ada sejumlah metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan obat seperti pengurangan ukuran partikel, pembentukan garam, kompleks inklusi dengan siklodestrin, liposom, amorfisasi, pembentukan kokristal, dan dispersi padat [7]. Salah satu metode yang menarik dan sederhana yang akhir-akhir ini sering dikembangkan untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas obat yang rendah adalah teknik kokristalisasi. Kokristal merupakan suatu kompleks kristal yang terdiri dari dua atau lebih konstituen molekul netral yang terikat bersama dalam kisi kristal melalui interaksi nonkovalen (yang sering digunakan adalah ikatan hidrogen). Metode kokristalisasi dibagi menjadi dua yaitu metode penggilingan dan metode pelarutan [8].

Peningkatan kelarutan obat dengan metode kokristalisasi telah banyak dilakukan dan telah terbukti keberhasilannya. Salah satu diantaranya yaitu kokristal ibuprofen – nikotinamida yang dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi ibuprofen [9]. Penelitian kokristalisasi asam usnat dengan koformer yang berbeda yaitu 4-Aminopiridin dan Piperazin mendapatkan hasil positif yang meningkatkan kelarutan asam usnat [10,11].

Pada penelitian ini N-methyl-D-glucamine digunakan sebagai koformer untuk membentuk kokristal asam usnat. N-methyl-D-glucamine mempunyai nama kimia *1-deoxy-1-(methylamino)-D-glucitol* merupakan basa organik yang digunakan sebagai agen pengatur pH dan meningkat kelarutan. N-methyl-D-glucamine sering digunakan pada formulasi sediaan parenteral dan tergolong tidak toksik sebagai eksipien [12].

Penelitian kokristalisasi asam usnat dengan koformer N-methyl-D-glucamine telah pernah dilakukan menggunakan metode grinding [13], namun belum berhasil membentuk fase kristalin baru. Karenanya, penelitian ini merupakan lanjutan dan modifikasi penelitian tersebut dengan menggunakan metode penguapan pelarut. Tujuannya

adalah untuk meningkatkan kelarutan dan laju disolusi asam usnat dilanjutkan dengan penentuan kadar IL-8 pada tikus yang mengalami inflamasi.

Metode Penelitian

Bahan

Asam usnat (Laboratorium Kimia Bahan Alam Universitas Andalas, Indonesia), N-methyl-D-glucamine (Sigma-aldrich, USA), kloroform *pro analysis* (Merck, USA), metanol *pro analysis* (Merck, USA), etanol *pro analysis* (Merck, USA), sodium lauryl sulfate (Bratachem, Indonesia), air suling bebas CO₂, rat IL-8 ELISA kit (fine test), karagen, etanol 70 %, Na-CMC 1%, NaCl 0,9%, NaOH 0,1 N, dan asetosal.

Pembuatan Kokristal Asam Usnat - N-methyl-D-glucamine dengan Metode Pelarutan

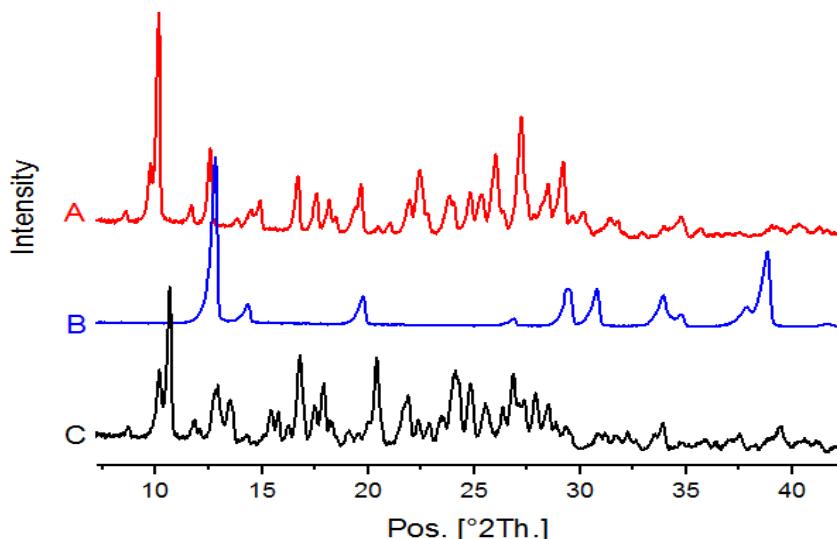
Asam usnat dan N-methyl-D-glucamine (yang telah dibasahi air) dicampur dengan perbandingan 1:1 ekuimolar (0,861 g : 0,488 g). Campuran kedua zat ditambahkan 200 mL etanol sampai kedua zat terlarut sempurna. Campuran diaduk selama 1 jam dengan bantuan *stirrer*, kemudian didiamkan hingga kering selama 3 hari pada suhu kamar (27°C±0,5°C). Kokristal yang terbentuk disimpan dalam wadah tertutup rapat dan dimasukkan ke dalam desikator.

Analisis Difraksi Sinar – X

Analisis difraksi sinar-X serbuk sampel dilakukan pada suhu ruang dengan menggunakan difraktometer tipe RINT-2500 (Rigaku, Jepang). Kondisi pengukuran sebagai berikut: target logam Cu, filter K α , voltase 45 kV, arus 40 mA, analisis dilakukan pada rentang 2 theta 5° – 35°. Sampel diletakkan pada sampel holder (kaca) dan diratakan untuk mencegah orientasi partikel selama penyiapan sampel. Analisis dilakukan untuk asam usnat, N-methyl-D-glucamine, dan kokristal asam usnat - N-methyl-D-glucamine.

Tabel 1. Pengelompokan hewan uji

No	Kelompok	Jumlah	Perlakuan oral
1.	Kontrol positif	5	Diberikan suspensi Na-CMC 1%
2.	Pembanding	5	Diberikan suspensi asetosal 9 mg/200g BB
3.	Asam usnat murni 50 mg/kg p.o	5	Diberikan suspensi asam usnat murni 50 mg/kg p.o
4.	Kokristal asam usnat- N-Methyl-D-glucamine 50 mg/kg p.o	5	Diberikan suspensi kokristal asam usnat setara 50 mg/kg p.o



Gambar 1. Difraktogram sinar-X gabungan (a) asam usnat, (b) N-methyl-D-glucamine, (c) kokristal

Analisis Differential Scanning Colurimetry (DSC)

Analisis termal sampel dilakukan dengan menggunakan alat DSC Setaram. Alat DSC diprogram pada rentang suhu 30°C sampai 250°C dengan kecepatan pemanasan 10°C per menit. Analisis dilakukan pada sampel asam usnat, N-methyl-D-glucamine, dan kokristal asam usnat-N-methyl-D-glucamine.

Analisis Scanning Electron Microscopy (SEM)

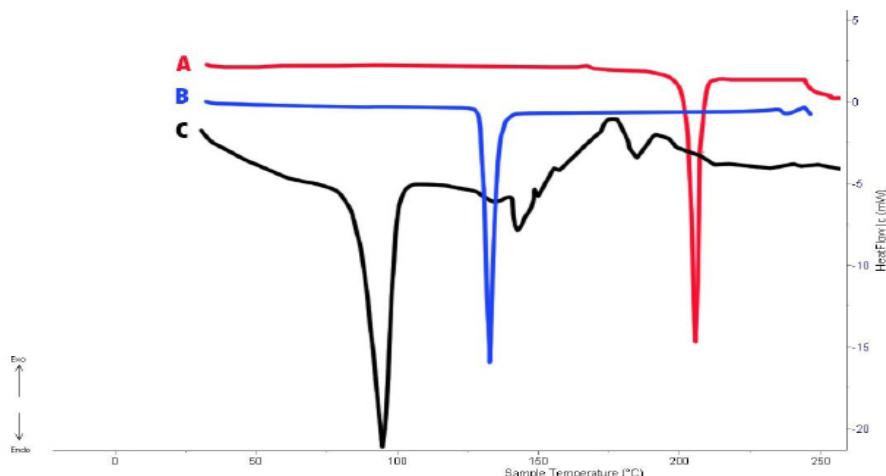
Sampel serbuk diletakkan pada *sample holder* alumunium dan dilapisi dengan emas. Sampel kemudian diamati pada berbagai perbesaran alat SEM Jeol tipe JSM-6360LA. Voltase diatur pada 20 kV dan arus 12 mA. Analisis dilakukan untuk asam usnat, N-methyl-D-glucamine, dan kokristal asam usnat - N-methyl-D-glucamine.

Analisis Fourier Transform Infrared (FTIR)

Sampel diukur dengan alat spektroskopi inframerah tipe Thermo Scientific yang dilakukan dengan mendispersikan sampel pada plat KBr yang dikempa dengan tekanan tinggi (penekan hidrolik). Sampel yang dianalisis adalah asam usnat, N-methyl-D-glucamine, dan kokristal asam usnat - N-methyl-D-glucamine. Spektrum serapan direkam pada bilangan gelombang 400-500 cm⁻¹. Dari analisis ini diharapkan masing-masing formula menunjukkan puncak transmitan pada bilangan gelombang yang sama dengan asam usnat murni, dan hasil perbandingan dapat terlihat dari hasil spektrum IR yang menunjukkan hubungan bilangan gelombang (cm⁻¹) dengan % transmittan.

Tabel 2. Intensitas puncak spesifik kokristal pada difraktogram sinar-X

Posisi (2 ^o e)	Intensitas puncak		
	Asam usnat	N-methyl-D-glucamine	Kokristal
8,86	1011	20817	778
10,13	9468	1257	2144
12,55	3197	1137	1052
12,91	-	-	1900
22,45	2556	764	982



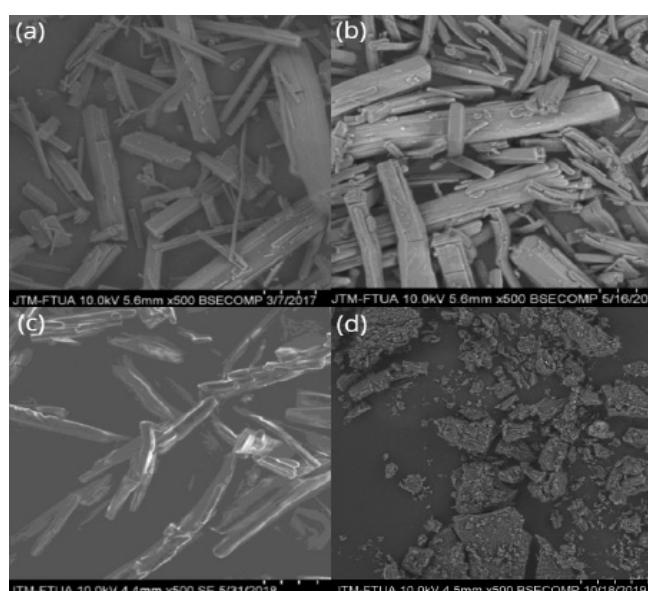
Gambar 2. Termogram DSC gabungan (a) asam usnat, (b) N-methyl-D-glucamine, dan (c) kokristal

Uji Kelarutan

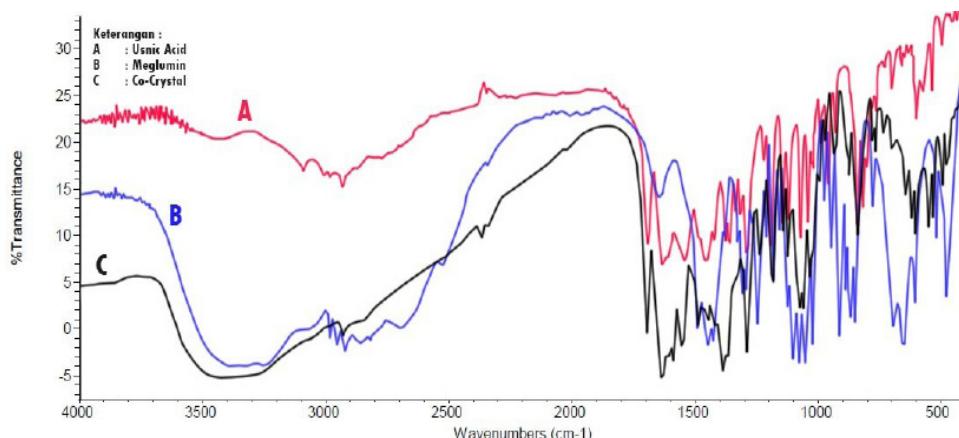
Uji kelarutan dilakukan pada asam usnat dan kokristal asam usnat - N-methyl-D-glucamine yang dibuat menjadi larutan jenuh dengan menggunakan air suling bebas CO₂ sebanyak 100 mL. Sampel yang setara dengan 15 mg asam usnat dilarutkan dalam erlemeyer 100 mL, kemudian dikocok dengan *orbital shaker* selama 24 jam pada suhu 25°C. Selanjutnya sampel disaring dengan saringan 0,45 µm (*Whatman filter paper*) lalu dihitung kadar asam usnat terlarut dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis tipe Shimadzu UV-1700 pada panjang gelombang serapan maksimum.

Uji Laju Disolusi

Penetapan profil disolusi dilakukan terhadap asam usnat dan kokristal asam usnat - N-methyl-D-glucamine dengan menggunakan alat uji disolusi SR8 Plus Dissolution Test Station Hanson Virtual Instrument, tipe dayung dengan kecepatan 50 rpm. Labu diisi dengan media disolusi air suling bebas CO₂ ditambah 0,25 % b/v sodium lauril sulfat (SLS) sebanyak 900 mL dan diatur suhu pada 37±0,5 °C. Serbuk sampel setara dengan 10 mg asam usnat dimasukkan ke dalam cangkang kapsul. Setelah suhu tersebut dicapai, kapsul dimasukkan ke dalam labu dan alat diputar dengan kecepatan 50 rpm. Larutan di dalam labu dipipet sebanyak 5 mL pada menit ke-5, 10, 15, 30, 45,



Gambar 3. Morfologi (SEM) (a) asam usnat, (b) N-Methyl-D-Glucamine, (c) campuran fisik, (d) kokristal



Gambar 4. Spektrum FT-IR gabungan (a) asam usnat, (b) N-Methyl-D-Glucamine, (c) kokristal

dan 60. Pada setiap pemipetan, media yang diambil diganti dengan media disolusi dengan volume dan suhu yang sama saat pemipetan. Masing-masing larutan yang dipipet dimasukkan dalam labu ukur dan diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan blangko air suling bebas CO₂ dengan 0,25% w/v SLS pada panjang gelombang serapan maksimum.

Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan ± 200 gram. Semua prosedur sudah mendapat persetujuan dari komite etik penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan nomor 554/KEP/FK/2019.

Penentuan Kadar Interleukin-8

Hewan uji dipuaskan selama 18 jam sebelum perlakuan dan air minum tetap diberikan selama pengamatan. Hewan uji ditimbang bobotnya, dikelompokkan secara acak (n=5) ([Tabel 1](#)). Lutut tikus diusap dengan etanol 70% lalu injeksikan 0,2 mL larutan karagenan 1%. Larutan suspensi yang sudah disiapkan diberikan kepada hewan uji secara oral (1 jam setelah induksi). Pengambilan darah

tikus inflamasi pada vena mata sebanyak 2-2,5 mL pada menit ke 60. Darah didiamkan 5 menit dan dilakukan pemisahan dengan sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit, selanjutnya dilakukan pemisahan serum dari komponen darah lainnya. Kadar IL-8 diukur dengan menggunakan metode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) pada panjang gelombang 450 nm.

Analisis Statistik

Data hasil uji kelarutan, efisiensi disolusi, persentase terdisolusi pada menit ke 60, dan kadar IL-8 pada tikus inflamasi dianalisis secara statistik dengan ANOVA satu arah dengan menggunakan SPSS versi 22 (IBM, USA).

Hasil dan Diskusi

Berdasarkan hasil analisis difraksi sinar-X ([Gambar 1](#)), difraktogram padatan kokristal asam usnat-N-methyl-D-glucamine memiliki fase kristalin baru ([Tabel 2](#)) yaitu pada posisi 2θ 12,91 dengan intensitas puncak 1900 unit. Hasil intensitas puncak interferensi difraksi sinar-X menunjukkan penurunan derajat kristalinitas pada posisi 2θ 8,86 dengan intensitas puncak asam usnat 1011 unit,

Tabel 3. Perbandingan bilangan gelombang asam usnat, N-Methyl-D-Glucamine, dan kokristal

No	Sampel	Bilangan gelombang (cm⁻¹)		
		N-H	C-H	C=O
1	Asam usnat	-	2931,65	1691,60
2	N-methyl-D-glucamine	3331,80	2919,05	-
3	Kokristal	3424,00	2927,10	1697,90

Tabel 4. Hasil uji kelarutan asam usnat dalam air suling bebas CO₂, (n=3)

Sampel	Kadar terlarut rata-rata (mg/100 mL) ± standar deviasi (SD)	Peningkatan kelarutan
Asam usnat murni	0,256 ± 0,002	-
Campuran fisik	3,654 ± 0,210	14,291
Kokristal	6,338 ± 0,101	24,792

N-methyl-D-glucamine 20817 unit, dan kokristal 778 unit, ini menunjukkan konglomerasi kedua fase kristal dalam keadaan padat atau disebut sebagai campuran eutektik sederhana [14]. Pada penelitian sebelumnya, kokristal asam usnat memiliki pola difraksi yang sama dengan zat penyusunnya sehingga dapat disimpulkan kokristal tidak menghasilkan fase kristalin baru [13].

Analisis DSC dilakukan untuk mengetahui efek termal dari proses fisik dan kimia. Berdasarkan penelitian asam usnat memiliki satu puncak endotermik tajam pada 205,637°C (menurut literatur 204,8°C) dan N-methyl-D-glucamine memiliki titik lebur 132,280°C (menurut literatur 128-132°C). [Gambar 2](#) menunjukkan termogram hasil kokristalisasi asam usnat -N-methyl-D-glucamine yang memiliki puncak lebur baru pada suhu lebih rendah yakni 94,139°C. Hal ini diduga merupakan akibat terbentuknya campuran eutektik antara asam usnat dan N-methyl-D-glucamine. Pembentukan campuran ini dapat disebabkan oleh penurunan energi kisi kristal dan perubahan periodisitas kristal karena adanya interaksi fisika yang terjadi antara asam usnat dan N-methyl-D-glucamine. Analisis DSC pada penelitian ini menunjukkan hasil sama dengan penelitian kokristal asam usnat sebelumnya yang menggunakan metode *grinding*, yakni pada 176,5°C [13].

Morfologi kristal yang didapatkan dari hasil SEM

([Gambar 3](#)) asam usnat berupa kristal berbentuk jarum, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa asam usnat berbentuk kristal jarum dan berwarna kuning [15]. Sedangkan N-methyl-D-glucamine menunjukkan morfologi berbentuk serbuk kristalin sebagaimana dinyatakan dalam penelitian sebelumnya bahwa N-methyl-D-glucamine berbentuk serbuk kristalin berwarna putih-kuningan [12]. Secara morfologi kokristal menunjukkan adanya perubahan bentuk (prisma) dan ukuran dibandingkan dengan zat penyusunnya. Hasil SEM ini menunjukkan bahwa terjadinya interaksi antara kedua zat yang mempengaruhi morfologi kristal masing-masing zat [16].

Analisis kualitatif dengan Spektroskopi FT-IR dilakukan untuk memperoleh informasi struktur dari senyawa. Spektroskopi IR sering digunakan untuk mengetahui adanya interaksi antara obat dengan koformer di dalam kokristal. Spektroskopi inframerah dapat mendeteksi formasi kokristal, hal ini terlihat dengan adanya ikatan hidrogen [17]. Terjadinya pergeseran bilangan gelombang diduga karena terjadinya ikatan hidrogen antara dua komponen. Ikatan hidrogen terjadi karena adanya gugus karbonil dari asam usnat berikatan dengan amina sekunder pada N-methyl-D-glucamine [18]. Hasil dari analisis FT-IR dapat dilihat pada [Gambar 4](#) dan [Tabel 3](#).

Tabel 5. Hasil uji disolusi asam usnat dalam media air suling bebas CO₂ 0,25% b/v SLS, (n = 3)

Waktu (menit)	% Rata-rata terdisolusi		
	Asam usnat murni	Campuran fisik	Kokristal
5	1,832 ± 0,364	4,437 ± 0,504	56,370 ± 0,454
10	2,430 ± 0,335	13,705 ± 0,761	75,212 ± 1,733
15	2,780 ± 0,446	19,580 ± 1,150	80,502 ± 2,003
30	3,299 ± 0,586	29,226 ± 2,395	83,383 ± 2,441
45	4,074 ± 0,639	31,740 ± 0,983	85,352 ± 2,294
60	5,399 ± 0,678	33,007 ± 0,179	88,926 ± 0,207

Tabel 6. Efisiensi disolusi asam usnat, campuran fisik dan kokristal

	Efisiensi disolusi (%), N=3		
	Asam usnat	Campuran fisik	Kokristal
Rata-rata efisiensi disolusi	3,337±0,465	24,142±0,672	77,682±1,510
Peningkatan efisiensi disolusi	-	7,235	23,279

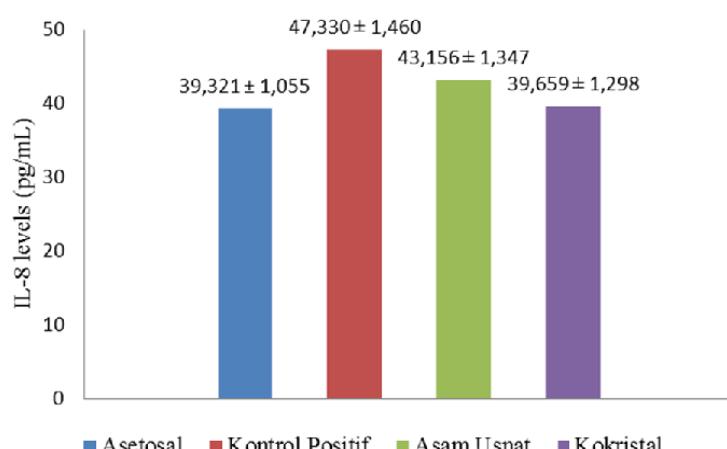
Data ini mendukung hasil analisis difraksi sinar-X, DSC, dan SEM bahwa pada kokristal terdapat pergeseran pita absorpsi yang menunjukkan terjadi perubahan struktur kristal asam usnat.

Uji kelarutan dilakukan menggunakan pelarut air suling bebas CO₂. Panjang gelombang serapan maksimum asam usnat dalam air suling bebas CO₂ diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan didapatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 288 nm. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi dan serapan asam usnat dalam pelarut dengan persamaan regresi $y = 0,0714x + 0,0028$ dengan nilai R² adalah 0,998. Pengujian kelarutan dilakukan selama 24 jam pada suhu 25°C sesuai dengan standar yang sering digunakan [19]. Rata-rata kelarutan asam usnat murni, campuran fisik dan kokristal (mg/100 mL) yang diperoleh adalah 0,256±0,002, 3,654±0,210, dan 6,338±0,101 ([Tabel 4](#)).

Uji disolusi dilakukan terhadap asam usnat murni, campuran fisik, dan kokristal. Panjang gelombang serapan maksimum asam usnat dalam air suling bebas CO₂ 0,25% (b/v) SLS diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan didapatkan serapan maksimum pada panjang

gelombang 289 nm. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi dan serapan asam usnat dalam pelarut dengan persamaan regresi $y = 0,0714x + 0,0268$ dengan nilai R² adalah 0,999. Berdasarkan hasil uji disolusi pada [Tabel 5](#) didapatkan rata-rata % asam usnat yang terdisolusi pada menit ke-60 dalam asam usnat murni, campuran fisik, dan kokristal berturut-turut adalah 5,399±0,678, 33,007±0,179, dan 88,926±0,207. Peningkatan laju disolusi senyawa obat sukar larut dalam air merupakan pendekatan yang sangat tepat untuk memperbaiki absorpsi senyawa obat tersebut dalam saluran pencernaan melalui rute pemberian secara oral [20].

Perhitungan rata-rata efisiensi disolusi asam usnat ([Tabel 6](#)) diperoleh dari luas daerah di bawah kurva adalah asam usnat murni = 3,337±0,465 %, campuran fisik = 24,142±0,672 %, dan kokristal = 77,682±1,510 %. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah asam usnat terdisolusi dari pembentukan campuran fisik sebesar 7 kali dan kokristal sebesar 23 kali dibandingkan asam usnat murni. Peningkatan disolusi kokristal diduga terjadi karena terbentuknya energi kisi yang lebih rendah seperti yang terjadi pada proses peningkatan kelarutan. Kokristalisasi dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi karena

**Gambar 5.** Diagram perbandingan kadar IL-8 tikus inflamasi (N=5)

kokristal memiliki profil fisikokimia yang berbeda. Asam usnat-N-methyl-D-glucamine terikat bersama dalam kisi kristal melalui interaksi nonkovalen yaitu ikatan hidrogen [8].

Kadar rata-rata IL-8 yang diperoleh menunjukkan bahwa kokristal asam usnat dapat menurunkan kadar IL-8 tikus inflamasi jika dibandingkan dengan kontrol positif. Berbeda dengan kokristalnya asam usnat murni hanya menunjukkan sedikit penurunan kadar IL-8 (Gambar 5). Aktivitas kokristal asam usnat yang lebih baik dalam menekan kadar IL-8, ini mendukung hasil uji kelarutan dan uji disolusi kokristal asam usnat- N-methyl-D-glucamine yang dilakukan sebelumnya. Pada saat proses terjadinya radang, konsentrasi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 mengalami peningkatan. Kokristal asam usnat yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dapat menekan sitokin proinflamasi sehingga peradangan berkurang.

Kesimpulan

Hasil karakterisasi dengan difraksi sinar-X menunjukkan terbentuknya fase kristalin baru atau kokristal dari asam usnat-N-methyl-D-glucamine dengan metode penguapan pelarut yang didukung oleh hasil DSC, FT-IR, dan SEM. Fase kristalin baru yang terbentuk dari asam usnat dan N-methyl-D-glucamine dapat meningkatkan kelarutan dari asam usnat yaitu sebesar 24 kali dan efisiensi disolusi asam usnat sebesar 23 kali. Kokristal asam usnat dan N-methyl-D-glucamine dapat menurunkan kadar IL-8 pada tikus inflamasi yang setara dengan aktivitas antiinflamasi asetosal ($P<0,05$).

Referensi

- [1]. Fitriani L, Afriyanti I, Afriyani A, Ismed F, Zaini E. Solid Dispersion of Usnic acid–HPMC 2910 Prepared by Spray drying and Freeze drying Techniques. Orient J Chem. 2018;34(4):2083–8. <https://doi.org/10.13005/ojc/3404048>
- [2]. Araújo AAS, de Melo MGD, Rabelo TK, Nunes PS, Santos SL, Serafini MR, et al. Review of the biological properties and toxicity of usnic acid. Nat Prod Res. 2015;29(23):2167–80. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1007455>
- [3]. O'Neil MJ. The Merck Index- An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals (Vol. 13th Edition) . Whitehouse Station (NJ): Merck and Co; 2001.
- [4]. Cochietto M, Skert N, Nimis P, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. Naturwissenschaften. 2002. <https://doi.org/10.1007/s00114-002-0305-3>
- [5]. Sangster J. LogKow Databank. Canada, Sangster Res. Lab; 1993.
- [6]. Baćkor M, Hudá J, Repčák M, Ziegler Š W, Baćkorová M. The Influence of pH and Lichen Metabolites (Vulpinic Acid and (+) Usnic Acid) on the Growth of the Lichen Photobiont Trebouxia Irregularis. Lichenol. 1992;30(6):577–82. <https://doi.org/10.1006/lich.1998.0166>
- [7]. Song Y, Wang L, Yang P, Wenslow RM, Tan B, Zhang H, et al. Physicochemical Characterization of Felodipine-Kollidon VA64 Amorphous Solid Dispersions Prepared by Hot-Melt Extrusion. J Pharm Sci. 2013;102(6):1915–23. <https://doi.org/10.1002/jps.23538>
- [8]. Jones W, Motherwell WDS, Trask A V. Pharmaceutical Cocrystals: An Emerging Approach to Physical Property Enhancement. MRS Bull. 2006;31(11):875–9. <https://doi.org/10.1557/mrs2006.206>
- [9]. Pratiwi W. Preparasi Tablet Kokristal Ibuprofen - Nikotinamida dan Evaluasi Laju Disolusinya [skripsi]. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas; 2013.
- [10]. Utami RD. Pembentukan Kokristal Asam Usnat dan 4- Aminopiridin dengan Metode Solvent Drop Grinding [skripsi]. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas; 2017.
- [11]. Nisak RK. Pengaruh Pembentukan Kokristal Asam Usnat-Piperazin dengan Metode Solvent Drop Grinding terhadap Kelarutan dan Profil Disolusi [skripsi]. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas; 2017
- [12]. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of pharmaceutical excipient, (6nd Ed). London: The Pharmaceutical Press; 2009.
- [13]. Lailaturrahmi. Pembentukan Kokristal Asam Usnat dan N-methyl-D-glucamine dengan Metode Solvent Drop Grinding [skripsi]. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas; 2018.
- [14]. Davis RE, Lorimer KA, Wilkowski MA, Rivers JH, Wheeler KA, Bowers J. Studies of phase relationships in cocrystal systems. Cryst Supramol Chem. 2004;17:39:41–61.
- [15]. Fanun M. Colloids in Drug Delivery. CRC Press: USA; 2010.
- [16]. Alatas F, Soewandhi SN, Sasongko L, Ismunandar, Uekusa H. Cocrystal formation between didanosine and two aromatic acids. Int J Pharm Pharm Sci. 2013;5(Suppl 3):275–80.
- [17]. Schultheiss N, Newman A. Pharmaceutical Cocrystals and Their Physicochemical Properties. Cryst Growth Des. 2009;9(6):2950–67. <https://doi.org/10.1021/cg900129f>
- [18]. Mirza S, Miroshnyk I, Heinämäki J, Yliruusi J. Co-crystals: An emerging approach for enhancing properties of pharmaceutical solids. Dosis. 2008;24(2):90–6.
- [19]. Glomme A, März J, Dressman JB. Comparison of a Miniaturized Shake-Flask Solubility Method with Automated Potentiometric Acid/Base Titrations and Calculated Solubilities. J Pharm Sci. 2005;94(1):1–16. <https://doi.org/10.1002/jps.20212>
- [20]. Chono S, Takeda E, Seki T, Morimoto K. Enhancement of the dissolution rate and gastrointestinal absorption of pranlukast as a model poorly water-soluble drug by grinding with gelatin. Int J Pharm. 2008;347(1–2):71–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.06.037>



Copyright © 2020 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any media or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)