

Identifikasi interaksi fisika antara trimetoprim dan sulfametoksazol dengan metode kontak *kofler* dan reaksi kristalisasi

Identification of physical interaction between trimethoprim and sulfamethoxazole by contact method *kofler* and crystallization reaction

Erizal Zaini^{1*}, Yeyet C. Sumirtapura¹, Sundani N. Soewandhi¹ dan Auzal Halim²

¹ Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha 10 Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Limau Manis, Indonesia

Abstrak

Telah dilakukan identifikasi interaksi fisika padatan antara trimetoprim (TMP) dan sulfametoksazol (SMZ) dengan metode kontak panas *Kofler* dan reaksi kristalisasi. Hasil metode kontak panas menunjukkan pembentukan habit kristal baru berbentuk jarum memanjang pada zona kontak antara SMZ dan TMP, yang memiliki jarak lebur yang berbeda dari titik lebur kedua komponennya. Reaksi kristalisasi kedua larutan jenuh komponen dalam pelarut metanol juga menunjukkan pertumbuhan habit kristal yang sama dengan metode kontak panas *Kofler*. Hasil interaksi dikonfirmasi dengan metode mikroskopik SEM Analisa difraksi sinar-X serbuk, termal DSC. Analisis mikrofoto SEM secara nyata menunjukkan perubahan habit dan morfologi kristal hasil interaksi berupa habit jarum (*needle shaped habit*). Pola difraksi sinar-X serbuk senyawa hasil interaksi SMZ dan TMP menunjukkan difraktogram yang berbeda dari kedua komponen penyusun, yang mengindikasikan terbentuknya fase kokristalin. Termogram DSC memperlihatkan adanya puncak endotermik baru yang sama sekali berbeda dari kedua komponen, yang merupakan titik lebur fase kokristalin pada temperatur 178,82 °C.

Kata kunci : trimetoprim, sulfametoksazol, interaksi fisika, fase kokristalin

Abstract

Identification of solid state interaction between TMP and SMZ by hot contact method *Kofler* and crystallization reaction had been carried out. The results of hot contact method *Kofler* shown formation a new crystalline habit as long and thin needle shaped on contact zone (mixing zone) between Solid TMP and SMZ. It had a different melting point in compared to its single component. Crystallization reaction between two of supersaturated solution of component TMP and SMZ in methanol solvent also indicated the growth of crystal habit as similar as hot contact method *Kofler*. Solid state interaction between TMP and SMZ was confirmed by microscopic SEM, powder X-ray diffraction, and thermal DSC. Microscopic analysis by SEM showed significantly the change of habit and morphology of crystal as long and thin needle shaped. New powder X-ray diffraction (PXRD) interferences peaks were observed in addition to PXRD interference peaks of each component that proved formation of cocrystalline phase. Thermogram DSC indicated a new endothermic peak corresponding to melting point of a new cocrystalline phase at temperature 178,82 °C.

Key words : trimethoprim, sulfamethoxazole, physical interaction, cocrystalline phase

Pendahuluan

Secara umum sediaan farmasi mengandung dua atau lebih bahan obat dan eksipien, kombinasi dua bahan aktif atau lebih dan juga dengan eksipien dapat menyebabkan terjadinya transformasi dan interaksi padat-padat secara fisika maupun kimiawi (Adeyeye dan Brittain, 2008; Dooren, 1983; Byrn *et al.*, 2001). Interaksi antar bahan dalam sediaan obat dapat menyebabkan terbentuknya hasil urai baru (*new impurities*), masalah dalam sediaan dan proses manufaktur, perubahan sifat – sifat fisikokimia bahan obat (seperti stabilitas, kelarutan, profil laju disolusi, derajat kristalinitas dan higroskopisitas) (Chadra *et al.*, 2004; Zalac *et al.*, 1999; Dooren, 1983 ; Bhutani *et al.*, 2005 dan Sakata *et al.*, 2007).

Interaksi fisika sistem biner memiliki kemungkinan besar terjadi pada dua materi yang bermiripan. Kemiripan tersebut umumnya berbasis pada rumus molekul dan struktur internal atau tingkat kesimetrian kisi kristalinnya. Interaksi yang sering ditemukan dalam teknologi farmasi antara lain: campuran eutektik, larutan padat (kristal campuran) dan senyawa molekular (fase kokristal) yang umumnya menunjukkan fenomena perubahan sifat termodinamika (Davis *et al.*, 2004; Sjuib dan Soewandhi, 1987).

TMP dan senyawa turunan sulfonamida seringkali dikombinasi dalam bentuk sediaan padat, suspensi, larutan injeksi untuk mendapatkan aktivitas antibakteri yang sinergis. Salah satu kombinasi antara TMP dan sulfonamida adalah kombinasi antara TMP dan SMZ yang dikenal dengan Co-trimoxazole (Hardman dan Limbird, 2001). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengungkap interaksi fisika antar dua komponen secara sederhana dan akurat dengan dua metode yaitu metode kontak panas *Kofler* dan metode reaksi kristalisasi. Hasil interaksi yang terjadi diverifikasi dengan analisa PXRD, termal DSC dan mikroskopik SEM.

Metodologi

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan: TMP (Shouguang Fukang Pharm Co. Ltd, China) No. batch 200703342, SMZ (Virchow Lab, India) No. batch 09150307 diperoleh dari P.T Pyridam dan metanol p.a (Merck, Germany).

Alat

Alat-alat yang digunakan: mikroskop polarisasi (Olympus tipe BX50, Japan) dilengkapi kamera (Sony DSC-05, Japan) dan meja pemanas (*hot stage*), difraktometer sinar-X serbuk (Rigaku tipe RINT-2500, Japan), differential scanning calorimetry (Shimadzu tipe DSC-05, Japan) dan mikroskop Elektron (Jeol tipe JSM-6360LA, Japan).

Jalannya penelitian

Metode Kontak Panas

Metode kontak dilakukan dibawah mikroskop polarisasi yang dilengkapi meja pemanas elektrik (*Hot Stage*). Sejumlah tertentu TMP (suhu lebur 201 °C) diletakkan pada kaca objek dan ditutup, kemudian dipanaskan sampai melebur, dan dibiarkan mengkristal kembali. Letakkan serbuk SMZ tepat pada batas sisi gelas penutup. Sistem dipanaskan kembali sampai seluruh SMZ melebur dan leburannya akan bergerak dan berkontak dengan permukaan kristal TMP. Daerah kontak (*contact zone*) yang terjadi antara padatan TMP dan leburan SMZ diamati terjadinya pertumbuhan kristal baru dibawah mikroskop polarisasi pada perbesaran 200x dan direkam dengan kamera digital (Davies, 2004).

Metode Reaksi Kristalisasi

Sejumlah SMZ (1,266 g) dan TMP (1,451 g) masing-masing ekimolar dilarutkan dalam pelarut metanol sampai mendekati jenuh. Larutan SMZ dan TMP ditetaskan pada kaca objek, kemudian dibiarkan berkontak dan pelarut metanol akan menguap (keadaan super saturasi) (Hornedo *et al.*, 2006). Padatan hasil interaksi yang terbentuk diamati dibawah mikroskop polarisasi dan habitnya dikarakterisasi dengan mikrofoto SEM, mikroskop polarisasi, sedangkan fase padat yang terbentuk dikarakterisasi dengan analisis difraksi sinar-X serbuk.

Analisis Scanning Electron Microscopy (SEM)

Sampel serbuk diletakkan pada sampel holder aluminium dan dilapisi dengan emas dengan ketebalan 10 nm. Sampel kemudian diamati berbagai perbesaran alat SEM (Jeol, Japan). Voltase diatur pada 20 kV dan arus 12 mA.

Analisis Difraksi Sinar-X Serbuk

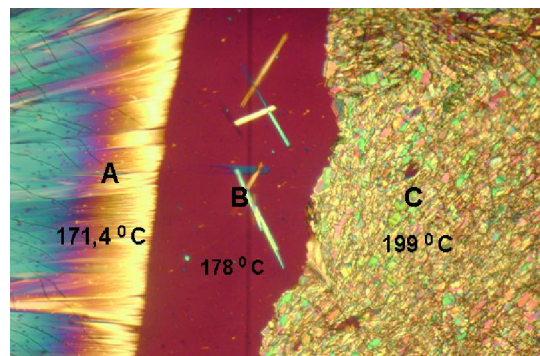
Analisis difraksi sinar-X serbuk sampel dilakukan pada suhu ruang dengan menggunakan alat tipe difraktometer Rigaku tipe RINT-2500. Kondisi pengukuran sebagai berikut : target tlogam Cu, filter K α , voltase 40 kV, arus 40 mA, analisis dilakukan pada rentang 2 theta 5 - 35°. Sampel diletakkan pada sampel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

Analisis Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Analisis termal sampel dilakukan dengan menggunakan alat DSC yang dikalibrasi suhunya dengan Indium. Sampel sejumlah 5-7 mg diletakkan pada pan aluminium yang tertutup. Alat DSC diprogram pada rentang suhu 30 sampai 220 °C dengan kecepatan pemanasan 10 °C per menit.

Hasil dan Pembahasan

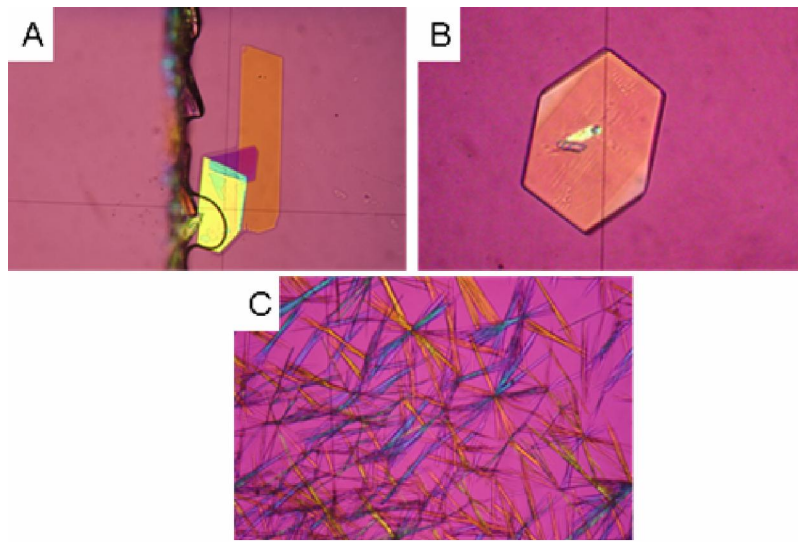
Identifikasi awal untuk mengungkap interaksi fisika antar dua komponen dilakukan dengan dua metode yaitu metode kontak panas Kofler dan metode reaksi kristalisasi (Berry *et al.*, 2008; Davis *et al.*, 2004; Soewandhi dan Fuhrer 1983; dan Hornedo *et al.*, 2006). Metode kontak panas pertama kali diperkenalkan oleh Lehman dan Kofler (Berry *et al.*, 2008). Metode ini merupakan teknik yang sederhana untuk mengidentifikasi perilaku fase dalam suatu sistem biner (dua komponen). Pada metode ini, salah satu komponen (yang memiliki titik lebur yang lebih tinggi yaitu TMP) dilebur, lalu dibiarkan memadat kembali (rekristalisasi), komponen kedua SMZ (titik lebur lebih rendah) ditempatkan pada sisi lainnya pada gelas objek, dipanaskan dengan menggunakan alat pemanas (*hot stage*) yang dihubungkan dengan mikroskop polarisasi. Pada saat komponen kedua SMZ melebur, fase leburan komponen SMZ akan berdifusi ke dalam komponen padatan TMP dan melarutkan sebagian padatan TMP pada zona



Gambar 1. Mikrofoto polarisasi metode kontak panas Kofler antara A) SMZ, B) zona kontak antara TMP dan SMZ dan C) TMP.

kontak antara sistem biner TMP dan SMZ. Davis *et al.*, 2004), menyebutnya sebagai zona pencampuran (*mixing zone*), yang paling menarik untuk diamati. Sampel dibiarkan memadat (rekristalisasi) pada temperatur ruang. Setelah kedua komponen (TMP dan SMZ) memadat, zona kontak diamati kembali pada mikroskop polarisasi.

Pada Gambar 1., sisi A merupakan hasil rekristalisasi leburan SMZ dan sisi C adalah rekristalisasi leburan TMP. Kedua komponen menunjukkan habit kristal yang khas. Zona C adalah zona kontak antara padatan TMP dan SMZ. Pada awal pembentukan zona kontak, belum teramati adanya habit kristal baru, melainkan masih dalam keadaan fase cair (amorf). Setelah didiamkan selama lebih kurang 24 jam, mulai terbentuk pertumbuhan habit kristal baru pada zona C, berbentuk jarum (*needle shaped habit*). Preparat sampel metode kontak dipanaskan kembali, fase padatan SMZ melebur pada 171,4 °C, zona kontak 178 °C dan padatan TMP 199 °C. Perbedaan habit kristal dan perilaku termal, mengindikasikan adanya interaksi padatan antara kedua komponen SMZ dan TMP (Berry *et al.*, 2008; Davis *et al.*, 2004 dan Soewandhi dan Fuhrer, 1983). Ada tiga jenis interaksi padatan yang terbentuk jika diamati dari perilaku termal antara campuran fase leburan kedua komponen yaitu ;

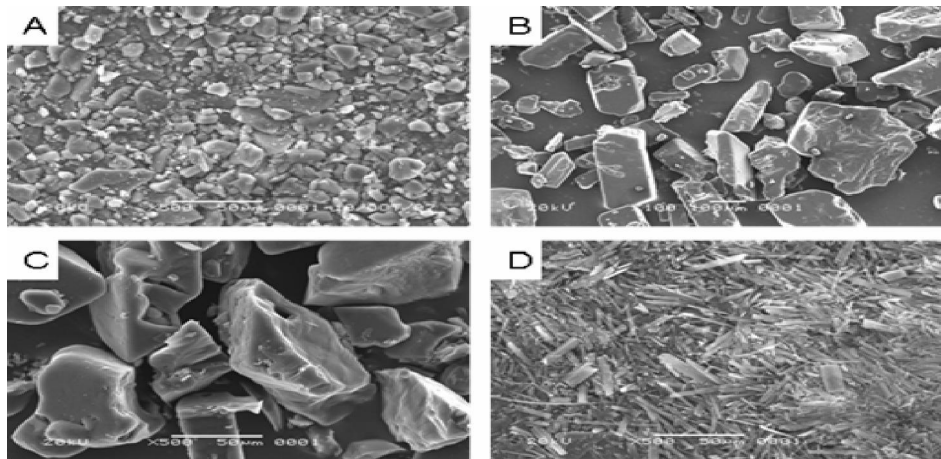


Gambar 2. Mikrofoto polarisasi reaksi kristalisasi antara larutan jenuh A) SMZ dan B) TMP dalam pelarut metanol, yang menghasilkan kristal C) hasil interaksi TMP- SMZ dengan habit jarum.

- i) konglomerat (eutektik) dimana kedua komponen tetap eksis pada zona kristalin yang terpisah,
- ii) larutan padat (*solid solution*) dimana kedua komponen bercampur dalam fase padat yang homogen,
- iii) kokristal atau senyawa molekular dimana pada zona pencampuran terbentuk fase padat yang mempunyai sifat-sifat yang berbeda dari kedua komponen pembentuk (Davis *et al.*, 2004).

Metode reaksi kristalisasi juga merupakan metode yang sederhana untuk mengamati identifikasi antara kedua komponen, terutama senyawa-senyawa obat yang tidak stabil pada pemanasan (Hornedo *et al.*, 2006). Masing-masing komponen (TMP dan SMZ) mempunyai kelarutan yang baik dalam

pelarut metanol. Sehingga pada metode reaksi kristalisasi ini, masing-masing komponen dilarutkan dalam pelarut metanol, sampai mencapai keadaan lewat jenuh. Komponen TMP dan SMZ tunggal ditetaskan pada gelas objek dan dibiarkan mengalami rekristalisasi dan diamati habit kristal dalam keadaan tunggal dengan alat mikroskop polarisasi yang dilengkapi kamera digital. Untuk mengamati adanya interaksi antara sistem biner TMP dan SMZ, larutan super jenuh kedua komponen ditetaskan pada dua sisi gelas objek, kemudian kedua larutan akan berkontak satu sama lain, dan dibiarkan beberapa saat pada temperatur ruang. Pertumbuhan kristal baru diamati dibawah mikroskop polarisasi. Gambar 2. terlihat habit kristal TMP dan SMZ hasil rekristalisasi dari pelarut metanol dan habit kristal hasil ko-kristalisasi kedua komponen TMP-SMZ dari pelarut yang sama.



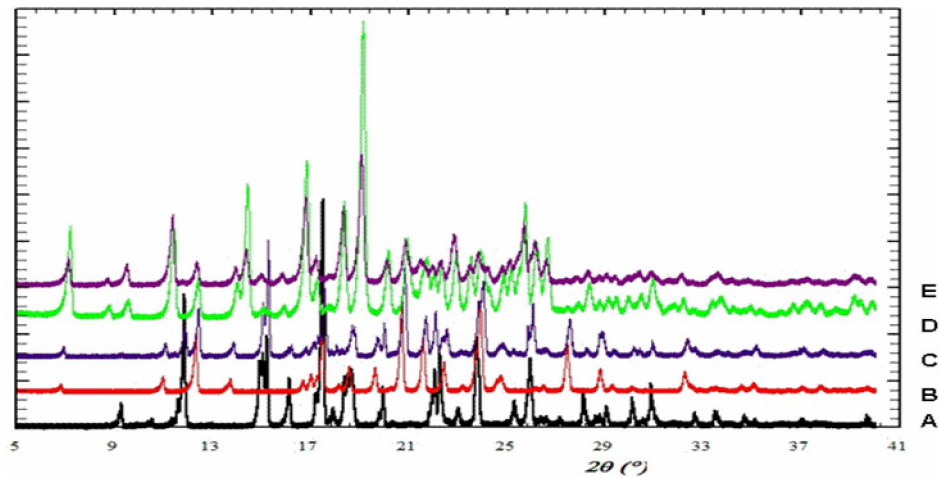
Gambar 3. Mikrofotograf SEM A) SMZ bahan baku (perbesaran 500x), B) TMP bahan baku (100x), C) TMP bahan baku (500x) D). Padatan hasil interaksi dengan metode reaksi ko-kristalisasi TMP-SMZ ekimolar (1:1 molar) dari pelarut metanol (500x).

Beberapa faktor yang menentukan transformasi fase padatan adalah laju nukleasi, laju pertumbuhan kristal dan distribusi lokasi nukleasi (*nucleation sites*). Nukleasi fase dan laju pertumbuhan akan tergantung pada keadaan superjenuh yang menjadi gaya penggerak (*driving force*) untuk proses ko-kristalisasi kedua komponen padatan TMP dan SMZ baik dari fase leburan maupun fase terlarut (Jayasankar *et al.*, 2007 dan Hornedo *et al.*, 2006).

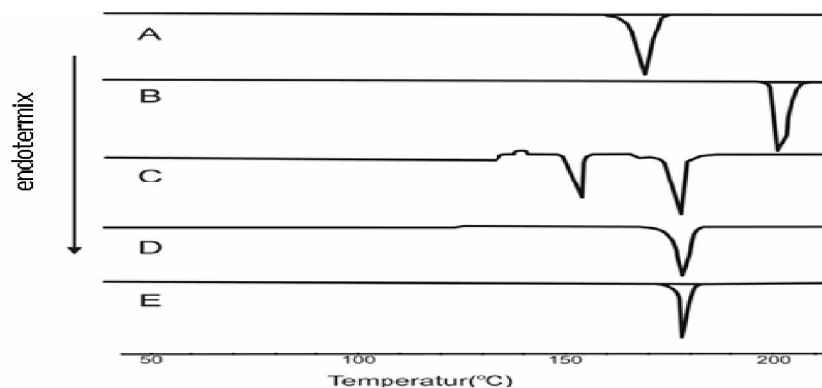
Gambar 3. menunjukkan analisis mikroskopik dengan *scanning electron microscope* bahan baku TMP, SMZ dan padatan hasil interaksi TMP-SMZ dengan metode reaksi kokristalisasi dari pelarut metanol. Padatan

hasil reaksi menunjukkan habit kristal dan ukuran partikel yang berbeda dari kedua komponen pembentuknya. Padatan hasil interaksi menunjukkan habit kristal berbentuk jarum (*needle shaped habit*).

Untuk verifikasi interaksi padatan antara kedua komponen TMP dan SMZ, maka dilakukan analisis difraksi sinar-X serbuk dan analisis termal *differential scanning calorimetry* (DSC). Difraktogram sinar-X dan termogram DSC padatan hasil interaksi kedua komponen dengan metode kontak, dibandingkan dengan komponen tunggal kedua komponen dan campuran fisika kedua komponen tanpa perlakuan (Gambar. 4. dan 5).



Gambar 4. Difraktogram sinar-X serbuk A) TMP, B) SMZ, C) campuran fisika TMP-SMZ ekimolar (1:1 molar), D) hasil reaksi kokristalisasi antara TMP-SMZ dan E) hasil rekristalisasi leburan antara TMP-SMZ.



Gambar 5. Termogram DSC A) SMZ, B) TMP, C) campuran fisika TMP-SMZ ekimolar, D) hasil reaksi kokristalisasi antara TMP-SMZ dan E) hasil rekristalisasi leburan antara TMP-SMZ.

Difraksi sinar-X serbuk merupakan metode yang handal untuk karakterisasi interaksi padatan antara dua komponen padat (*solid state interaction*) (Trask dan Jones, 2005), apakah terbentuk fase kristalin baru atau tidak. Jika terbentuk fase kristalin baru dari hasil interaksi antar kedua komponen maka akan teramati secara nyata dari difraktogram sinar-X yang berbeda dari campuran fisika kedua komponen. Gambar 4. menunjukkan difraktogram sinar-X serbuk padatan hasil interaksi kedua komponen dengan metode reaksi kristalisasi pelarut dan rekristalisasi

leburan, dibandingkan dengan komponen tunggal kedua komponen dan campuran fisika kedua komponen tanpa perlakuan. Pola difraksi sinar-X serbuk hasil reaksi kokristalisasi pelarut dan rekristalisasi leburan TMP dan SMZ (Gambar 4.D dan E) secara nyata berbeda dengan pola difraksi SMZ, TMP dan campuran fisika SMZ dan TMP. Pola difraksi masing-masing komponen menunjukkan sifat padatan kristalin. Sedangkan pola difraksi campuran fisika SMZ-TMP menunjukkan semua puncak interferensi khas dari SMZ dan TMP, jadi hanya terjadi superimposisi dari

kedua komponen. Pola difraksi Kokristal SMZ-TMP menunjukkan beberapa puncak interferensi yang baru dan khas pada $2\theta = 7,32; 11,5; 16,90; 19,15$ dan 24 dan hanya berbeda dalam intensitas puncak interferensi, yang disebabkan perbedaan derajat kristalinitas. Hal ini mengindikasikan terjadinya interaksi fisika antara SMZ dan TMP serta mengakibatkan terbentuknya fase kristalin baru yang lazim disebut fase kokristalin (senyawa molekular atau kompleks molekular) dalam ilmu material (*material sciences*).

Analisis termal DSC juga merupakan instrumen analitik yang sangat bermanfaat dalam karakterisasi interaksi keadaan padat (*solid state interaction*) antara dua atau lebih material obat. Analisis DSC digunakan untuk mengevaluasi perubahan-perubahan sifat termodinamik yang terjadi pada saat materi diberikan energi panas, berupa rekristalisasi, peleburan, desolvasi dan transformasi fase padat, yang ditunjukkan oleh puncak endotermik atau eksotermik pada termogram DSC.

Perubahan perilaku termal interaksi padatan antara TMP dan SMZ ditunjukkan pada Gambar 5. Padatan TMP dan SMZ menunjukkan puncak endotermik tunggal pada 201 dan $169,8$ °C, yang berturut-turut merupakan titik lebur kedua komponen

(Gambar 5A dan B). Termogram DSC campuran fisika (Gambar 5.C) menunjukkan empat puncak endotermik pada $138; 156,94; 177$ °C (titik lebur campuran eutektik) dan $179,62$ °C yang merupakan titik lebur padatan hasil interaksi yang terbentuk dari kedua komponen. Puncak eksotermik (140 °C) pada termogram campuran fisika menunjukkan rekristalisasi campuran eutektik. Termogram DSC padatan yang diperoleh dari metode reaksi kristalisasi larutan dan rekristalisasi leburan hanya menunjukkan satu puncak endotermik pada $178,82$ °C (Gambar 5.D dan E). Hal ini mengindikasikan bahwa kedua komponen materi padat mengalami transformasi secara sempurna menjadi fase kristalin baru antara TMP-SMZ, yang disebut dengan fase kokristal atau senyawa molekular, hal ini diperkuat oleh analisis difraksi sinar-X serbuk yang menunjukkan perbentukan interferensi baru, yang sama sekali berbeda dengan campuran fisika kedua komponen.

Kesimpulan

Metode kontak panas *Kofler* dan reaksi kristalisasi dapat digunakan untuk identifikasi interaksi fisika padatan antara TMP dan SMZ.

Verifikasi hasil interaksi fisika mengindikasikan terbentuknya fase kokristalin antara padatan TMP dan SMZ.

Daftar Pustaka

- Adeyeye, M. C., 2008, *Drug-Excipient Interaction Occurrences During Solid Dosage Form Development*, 361-430 dalam Adeyeye, M.C., dan Brittain, H.G., Eds., *Preformulation in Solid Dosage Form Development*, Informa Healthcare, USA, Inc.
- Berry, D. J., Seaton, C. C., Clegg, W., Harrington, R. W., Coles S. J., Horton, P. N., Hursthouse, M. B., Storey, R., Jones, W., Friscic, T., and Blagden, N., 2008, Applying Hot-Stage Microscopy to Cocrystal Screening: A Study of Nicotinamide with Seven Active Pharmaceutical Ingredients, *Crystal Growth and Design*, 85, 1697-1712.
- Bhutani, H., and Singh, S., 2005, Drug-Drug interaction Studies on First Line Anti-tuberculosis Drugs, *Pharmaceutical Development and Technology*, 10, 517-524.
- Byrn, S. R., Pfeiffer, R. R., and Stowell, J. G. 1999, *Solid-State Chemistry of Drugs*, SSCI, West Lafayette, IN.
- Chadha, R., Kashid, N., and Jain, D. V. S., 2004, Microcalorimetric Evaluation of the in Vitro Compatibility of Amoxicilin/clavulanic Acid and Ampicillin/sulbactam with Ciprofloxacin, *Journal of Pharmaceutical Biomedical and Analysis*, 36, 295-307.
- Davis, R. E., Lorimer, K. A., Wilkowski, M. A., and Rivers, J. H., 2004, Studies of Relationship in Cocrystal Systems, *ACA Transactions*, 39, 41-61.
- Dooren, A. A. V., 1983, Design for Drug-Excipient Interaction Studies, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 9, 43-55.

- Hardman, J. G., and Limbird, L. E., (eds) 2001, *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*, diterjemahkan oleh Tim alih bahasa sekolah farmasi ITB, Penerbit EGC, Jakarta. Halaman 1136-1138.
- Hornedo, N. R., Sarah J. Nehm, Kurt F. Seefeldt, Yomaira Paga'n-Torres, and Christopher J. Falkiewicz., 2006. Reaction Crystallization of Pharmaceutical Molecular Complexes, *Molecular Pharmaceutics*, 3,3, 362-367.
- Jayasankar, A., Good, D. J., and Rodriguez-Hornedo, N., 2007, Mechanism by Which Moisture Generates Cocrystal, *Molecular Pharmaceutics*, 4, 360-372.
- Sakata, Y., Tanabe, E., Sumikawa, T., Shiraishi, S., Tokudome, Y., and Otsuka, M., 2007, Effect of Solid-State Reaction between Paracetamol and Cloperastine Hydrochloride on the Pharmaceutical Properties of Their Preparations, *International Journal of Pharmaceutics*, 335, 12-19.
- Sjuib, F., and Soewandhi, S. N, 1987, *Kimia Fisika Kristal dan Kepentingannya dalam Farmasi*, Departemen Farmasi ITB.
- Soewandhi, N. S., and Führer, C., 1983, Beitrag zur Aufklärung Kristallographischer Veränderungen von Arzneistoffen bei Mechanischer Bearbeitung, *Dissertation*, TU Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig.
- Trask, A. V., and Jones, W., 2005, Crystal Engineering of Organic Cocrystals by The Solid State Grinding Approach, *Topic on Current Chemistry*, 254, 41-70.
- Zalac, S., Khan, M. Z., Gabelica, V., Tudja, M., Mestrovic, E., and Romih, M., 1999, Paracetamol-Propyphenazone Interaction and Formulation Difficulties Associated with Eutectic Formation in Combination Solid Dosage Forms, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 47,3, 302-307.

^{*)} korespondensi : Erizal Zaini
Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung,
e-mail: erizal_faua@yahoo.co.id