

**APLIKASI *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* PADA OPTIMASI
PARAMETER REAKSI GABAPENTIN DENGAN 1- FLUORO-2,4-
DINITROBENZEN**

Citra Sari Dewi

Fakultas Farmasi Universitas Surabaya

citrasari02@gmail.com

Abstrak : Gabapentin merupakan salah satu obat anti epilepsi yang strukturnya analog dengan GABA. Gabapentin memiliki kromofor lemah sehingga gabapentin perlu diderivatisai dengan 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (FDNB) untuk mendapatkan absorptivitas yang lebih tinggi. Produk reaksi gabapentin terderivatisasi FDNB disebut Gabpentin-DNB. Pada reaksi gabapentin dengan FDNB parameter yang berpengaruh adalah pH, suhu, waktu reaksi, dan waktu pemanasan. Penelitian ini membandingkan hasil optimasi reaksi tanpa perhitungan statistik yang dilakukan oleh Marselim yaitu kondisi optimum pada pH 10,5, suhu 65°C, waktu reaksi 20 menit dengan kondisi optimum hasil perhitungan dengan cara statistik yaitu menggunakan *Response Surface Metghodology* (RSM) dan didapatkan kondisi optimum pada pH 10,33 dengan waktu reaksi 18,48 menit dan dilakukan pada suhu pemanasan (oven) 65°C selama 9,14 menit. Hasil pada RSM tidak berbeda jauh dengan penelitian Marselim (2015).

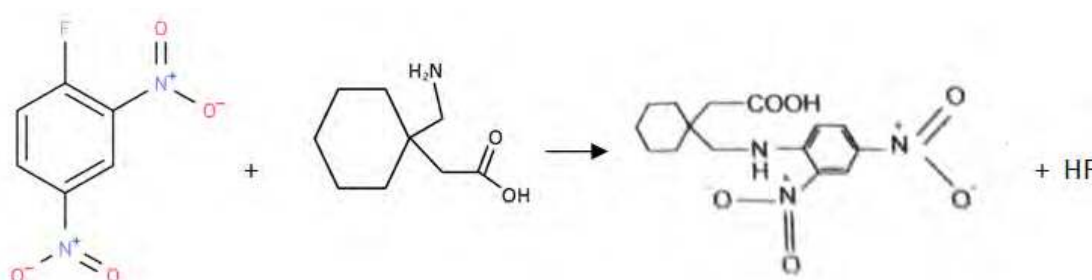
Kata kunci : Gabapentin, derivatisasi, FDNB,RSM, Spektrofotometer.

Abstract : Gabapentin is one anti-epileptic drugs that are structurally analogous to GABA. Gabapentin has a weak chromophore so that gabapentin need to be derivatized with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (FDNB) to obtain a h igher absorptivity. The reaction product G abapentin derivatized with FDNB called Gabpentin-DNB. In the reaction of gabapentin with FDNB influencing parameters are pH, temperature, reaction time, and the heating time. This study compares the results of the optimization reaction without statistical calculations performed by Marselim is optimum at pH 10.5, the temperature of 65°C, reaction time 20 minutes with the optimum condition calculation results with statistic that is using *Response Surface Statistical Metghodology* (RSM) and result optimum condition pH 10.33 with a reaction time of 18.48 minutes and is performed at a temperature of heating (oven) 65 ° C for 9.14 minutes. The yield on the RSM not much different with the research Marselim (2015).

Keyword : Gabapentin, derivatisation, FDNB, RSM,Spectrophotometer

PENDAHULUAN

Epilepsi merupakan salah satu penyakit kronis yang disebabkan karena gangguan pada susunan saraf pusat (SSP) dimana terjadi aktivitas berlebihan dari sel yang ada di sel saraf otak sehingga menyebabkan berbagai reaksi pada tubuh manusia salah satunya adalah kejang-kejang. Penderita epilepsi memberikan respon pengobatan sekitar 70% dari waktu yang dibutuhkan, artinya pengobatan untuk epilepsi membutuhkan waktu jangka panjang sehingga penelitian-penelitian lebih lanjut mengenai pengobatan epilepsi sangat dibutuhkan. Salah satu pengobatan untuk menangani epilepsi ialah gabapentin. (WHO, 2015). Gabapentin adalah obat antiepilepsi yang digunakan dalam pengobatan kejang tonik-klonik parsial dan umum. Nama kimia gabapentin ialah 1- (aminomethyl) asam asetat sikloheksana yang dimana memiliki struktur analog dengan γ -amino butyric acid (GABA). (Wyllie E dkk, 2012). Dilihat dari struktur tersebut menunjukkan bahwa gabapentin memiliki kromofor minim sehingga menunjukkan absorptivitas yang rendah. Oleh karena itu, pada analisis secara spektrofotometer gabapentin perlu diderivatisasi dengan FDNB (Jalalizadeh,2007). Reaksi derivatisasi dipengaruhi oleh beberapa parameter yaitu pH, suhu, dan waktu reaksi sehingga dilakukan penelitian mengenai optimasi parameter yang mempengaruhi derivatisasi tersebut.



Gambar 1 reaksi derivatisasi Gabapentin dengan FDNB

Penelitian mengenai optimasi reaksi derivatisasi gabapentin telah dilakukan oleh Marselim (2015) dengan menggunakan spektrofotometer. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil optimum pada pH 10,0, waktu reaksi 20 menit, dan suhu pada 65°C serta dibutuhkan waktu pemanasan 10 menit. Optimasi pada pH, waktu reaksi, dan suhu pada penelitian Marselim (2015) dilakukan secara bertahap

artinya pada saat mengoptimasi pH, parameter lain seperti suhu dan waktu reaksi di buat dalam keadaan tetap. Dengan demikian pada penelitian tersebut, kemungkinan hasil optimasinya masih kurang valid karena interaksi antar parameter tidak dipertimbangkan sehingga peneliti ingin mempertimbangkan interaksi antar parameter yang mungkin terjadi apabila antar parameter dibuat dalam keadaan bergerak. Jumlah penelitian yang dilakukan apabila dibuat interaksi antar parameter dan bila dilakukan semua akan membutuhkan waktu dan biaya yang sangat banyak. oleh karena itu, perlu di cari cara yang lebih praktis dan efisiensi.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengetahui adanya interaksi antar parameter yang dioptimasi ialah menggunakan metode matematis dan statistik yaitu *response surface methodology* (RSM). RSM adalah kumpulan teknik statistik dan matematika yang berguna untuk mengoptimalkan suatu respon. RSM pertama kali di perkenalkan oleh G.E.P. Box dan Wilson (1951). Analisis Menggunakan RSM diawali dengan melakukan pengolahan data pada aplikasi dari RSM yaitu minitab yang dimana data yang diolah ialah menggunakan data hasil optimasi pada penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini, di dasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Marselim (2015).

METODE PENELITIAN

Alat : Spektrofotometer (Shimadzu UV 1800) , Kuvet, pH meter (SCHOOT), Mikropipet ukuran 20-200 μ l (Socorex Acura 821) , Mikropipet ukuran 100-1000 μ l (Socorex Acura 821) , Mikropipet ukuran 0,5-5,0 ml (*Brand Transferpette*), Timbangan analitik (AND GR-202) , Ultrasonik Bath (BRANSON 1200 E 2), Alat-alat gelas (beaker glass, gelas ukur, corong glass, pipet tetes, pengaduk kaca, labu ukur) , Kertas lensa, Perangkat komputer, Program analisis statistik.

Bahan : Gabapentin pro derivatisasi GC (Fluka), FDNB (1-Fluoro-2,4-dinitrobenzena) p.a (Fluka), Asam borat p.a, KCl p.a, NaOH p.a, HCl p.a, Asetonitril pro HPLC (E.Merck), Metanol pro HPLC, Aquadem pro analisis (Universitas Surabaya Fakultas Farmasi).

Metode Kerja :

Pengolahan data pada Response Surface Methodology

Tabel 1. Pengolahan data pada *Response Surface Methodology*

StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	A	B	C	D
12	1	1	1	1	1	-1	1
17	2	-1	1	-2	0	0	0
27	3	0	1	0	0	0	0
25	4	0	1	0	0	0	0
11	5	1	1	-1	1	-1	1
30	6	0	1	0	0	0	0
26	7	0	1	0	0	0	0
31	8	0	1	0	0	0	0
2	9	1	1	1	-1	-1	-1
5	10	1	1	-1	-1	1	-1
9	11	1	1	-1	-1	-1	1
14	12	1	1	1	-1	1	1
28	13	0	1	0	0	0	0
4	14	1	1	1	1	-1	-1
15	15	1	1	-1	1	1	1
21	16	-1	1	0	0	-2	0
8	17	1	1	1	1	1	-1
6	18	1	1	1	-1	1	-1
29	19	0	1	0	0	0	0
22	20	-1	1	0	0	2	0
3	21	1	1	-1	1	-1	-1
16	22	1	1	1	1	1	1
7	23	1	1	-1	1	1	-1
20	24	-1	1	0	2	0	0
23	25	-1	1	0	0	0	-2
18	26	-1	1	2	0	0	0
1	27	1	1	-1	-1	-1	-1
19	28	-1	1	0	-2	0	0
10	29	1	1	1	-1	-1	1
24	30	-1	1	0	0	0	2
13	31	1	1	-1	-1	1	1

Tabel 2 Kode dan nilai eksperimen RSM

KODE	-2	-1	0	+1	2
pH	9,5	10	10,5	11	11,5
Suhu(°C)	60	60	65	70	75
Waktu Reaksi (menit)	10	15	20	25	30
Waktu Pemanasan (menit)	5	7,5	10	12,5	15

Persiapan larutan baku gabapentin

Ditimbang kurang lebih 50,0 mg baku gabapentin, dilarutkan dalam metanol sampai selama 50,0 ml dan diperoleh konsentrasi 1000 bpj.

1. Pembuatan larutan borat dan KCl 0,125 M

Ditimbang 0,7729 g a sam borat dan 0,9319 g kalium klorida, kemudian dilarutkan dengan aquadem dan diencerkan sampai 100,0 ml.

2. Pembuatan dapar borat

Dicampurkan 75,0 ml larutan asam borat dan kalium klorida (0,125 M) dengan sejumlah natrium hidroksida 1 N, lalu ukur pH-nya dengan pH-meter hingga pH-nya mencapai pH 10,5 kemudian volume dicukupkan dengan aquadem hingga 100 mL. Dapar borat juga dibuat pH 9,5,10,11,11,5.

Pembuatan pereaksi FDNB

Ditimbang 55,8 mg 1-fluoro-2,4-dinitrobenzen, dilarutkan dalam asetonitril hingga volume 10,0 ml dan diperoleh konsentrasi 0,03 M. Pereaksi ini harus ditangani dengan menggunakan sarung tangan karena dapat mengiritasi kulit.

Penentuan panjang gelombang maksimum gabapentin – FDNB

Larutan baku gabapentin 1000 bpj dipipet 50,0 µl ke dalam tabung reaksi 5,0 ml. Kemudian ditambahkan 500,0 µl dapar borat 0,125 M pH 10,5 dan 40,0 µl 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzen (0,03 M) lalu ditambah 3,0 ml asetonitril. Setelah

tabung ditutup rapat, larutan direaksikan dengan ultrasonik selama 20 menit, selanjutnya direaksikan pada temperatur 65°C (oven) selama 10 menit. Setelah didinginkan pada temperatur kamar, larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml lalu ditambahkan HCl 1 N sebanyak 150 µl dan asetonitril sampai 5,0 ml kemudian larutan diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 200-400 nm. Diperoleh kurva absorbansi terhadap panjang gelombang.

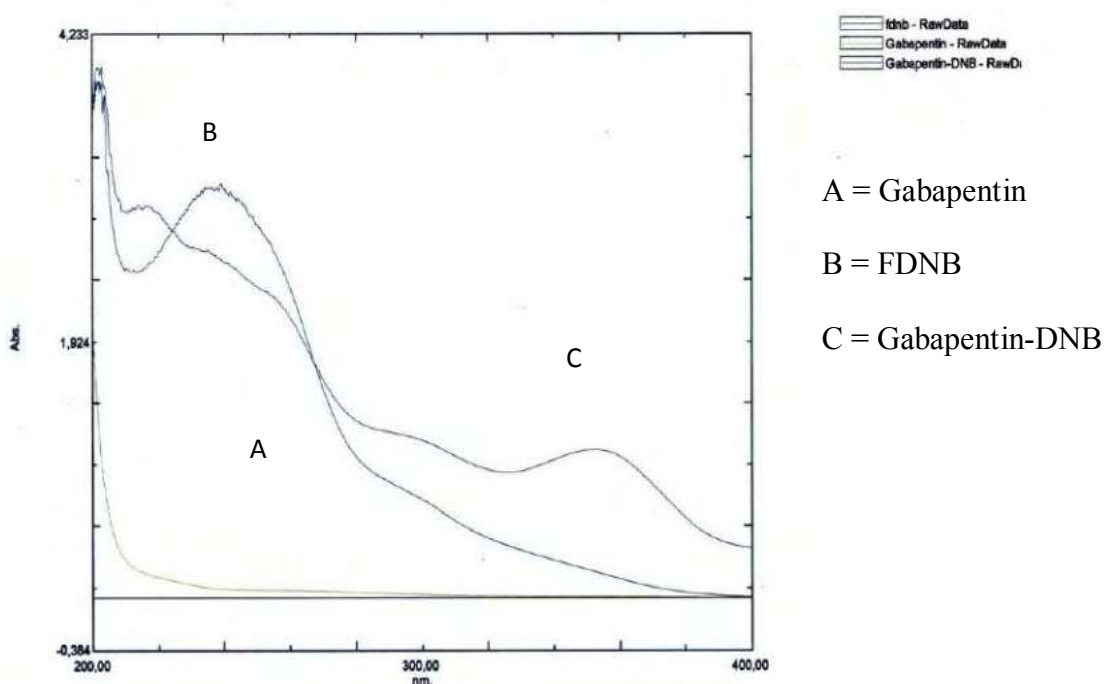
Optimasi pH, waktu reaksi, waktu pemanasan, dan suhu terhadap pembentukan senyawa derivat

Larutan baku gabapentin 1000 bpj dipipet 50,0 µl ke dalam tabung reaksi, kemudian masing-masing ditambahkan 500,0 µl dapar borat 0,125 M dengan pH tertentu lalu ditambahkan 40,0 µl FDNB (0,03 M) dan ditambah 3,0 ml asetonitril. Tabung ditutup rapat, masing-masing tabung direaksikan dengan ultrasonik pada waktu reaksi tertentu, selanjutnya direaksikan pada suhu tertentu dan selama waktu pemanasan tertentu kemudian larutan didinginkan pada suhu kamar. Setelah didinginkan pada temperatur kamar, larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml lalu ditambahkan HCl 1 N sebanyak 150 µl dan asetonitril sampai 5,0 ml kemudian larutan diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 200-400 nm. Diperoleh kurva absorbansi terhadap panjang gelombang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pembuktian terjadinya reaksi derivatisasi dapat dilakukan dengan cara mengukur panjang gelombang pada gabapentin, FDNB, dan gabapentin -DNB. Gabapentin-DNB adalah hasil reaksi derivatisasi antara gabapentin dan 1-fluoro-2,4-dinitrobenzen (FDNB). Pengukuran panjang gelombang dilakukan pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Berdasarkan spektrum diperoleh panjang gelombang maksimum dari Gabapentin-DNB adalah 353 nm. Dari hasil pengukuran tersebut, dapat

disimpulkan bahwa terjadi reaksi derivatisasi antara gabapentin dan 1-fluoro-2,4-dinitrobenzen (FDNB) yang dibuktikan dengan adanya pergeseran panjang gelombang karena panjang gelombang maksimum pada senyawa derivat gabapentin-DNB yang lebih besar dibanding panjang gelombang maksimum 1-fluoro-2,4-dinitrobenzen (FDNB) yaitu 239 nm, sedangkan gabapentin menunjukkan profil yang datar.



Gambar 2 Spektrum Gabapentin, FDNB, dan Gabapentin-DNB pada Panjang gelombang 200-400 nm

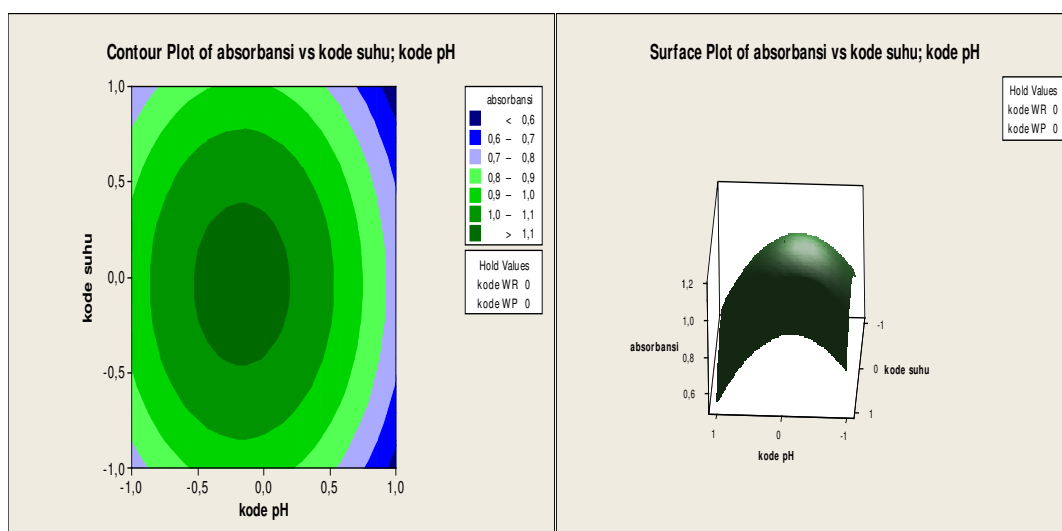
Pemilihan pH, waktu reaksi, waktu pemasan, dan suhu yang digunakan untuk optimasi pada penelitian ini didasarkan pada hasil optimum pada masing-masing parameter yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya dan setelah itu dilakukan penentuan titik parameter yang dipilih menggunakan aplikasi minitab 16 sehingga optimasi yang dilakukan berdasarkan pengkodean dari aplikasi tersebut.

Tabel 3 Hasil uji optimasi pH, Waktu reaksi, Waktu Pemanasan, dan suhu terhadap pembentukan senyawa Gabapentin-DNB

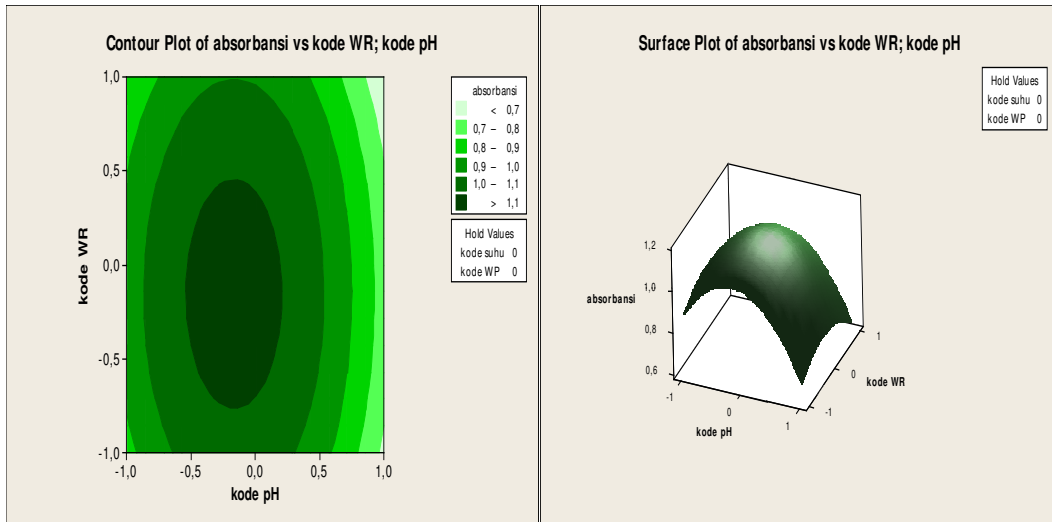
Std order	pH (X1)	Suhu (X2)	Waktu Reaksi (X3)	Waktu Pemanasan (X4)	Absorbansi (y)
1	-1	-1	-1	-1	1,028
2	1	-1	-1	-1	0,973
3	-1	1	-1	-1	1,003
4	1	1	-1	-1	0,995
5	-1	-1	1	-1	1,040
6	1	-1	1	-1	0,985
7	-1	1	1	-1	1,071
8	1	1	1	-1	0,833
9	-1	-1	-1	1	0,993
10	1	-1	-1	1	0,926
11	-1	1	-1	1	1,077
12	1	1	-1	1	1,012
13	-1	-1	1	1	1,012
14	1	-1	1	1	0,863
15	-1	1	1	1	0,903
16	1	1	1	1	0,842
17	-2	0	0	0	0,941
18	+2	0	0	0	0,715
19	0	-2	0	0	0,926
20	0	+2	0	0	0,876
21	0	0	-2	0	0,989

22	0	0	+2	0	1,019
23	0	0	0	-2	1,041
24	0	0	0	+2	1,050
25	0	0	0	0	1,129
26	0	0	0	0	1,176
27	0	0	0	0	1,164
28	0	0	0	0	1,114
29	0	0	0	0	1,154
30	0	0	0	0	1,083
31	0	0	0	0	1,083

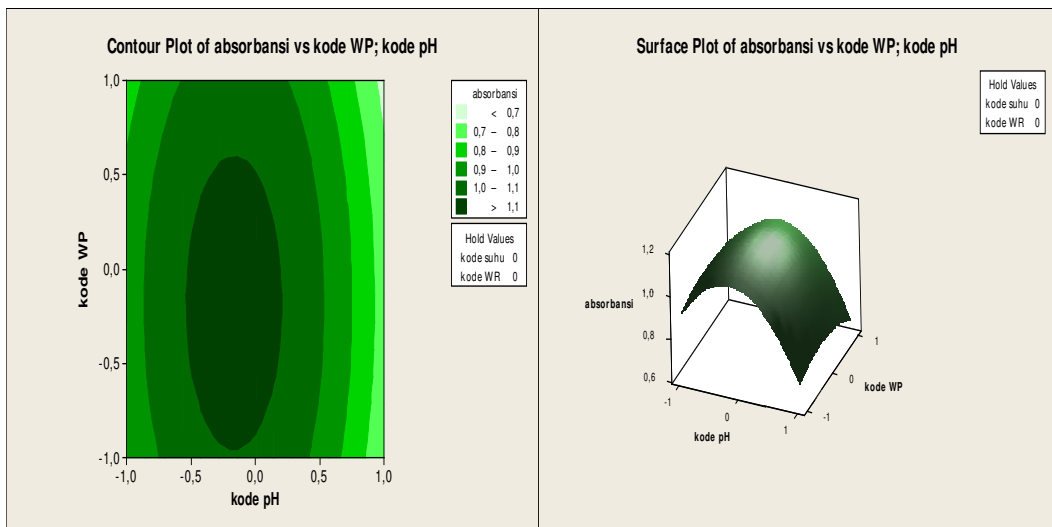
Setelah dilakukan semua optimasi terhadap parameter-parameter reaksi dan didapatkan nilai absorbansi. Selanjutnya dilakukan pengolahan data absorbansi yang didapatkan ke dalam pengolahan data RSM yang telah dibuat sebelumnya dan dilanjutkan dengan pembuatan contour plot dan surface plot.



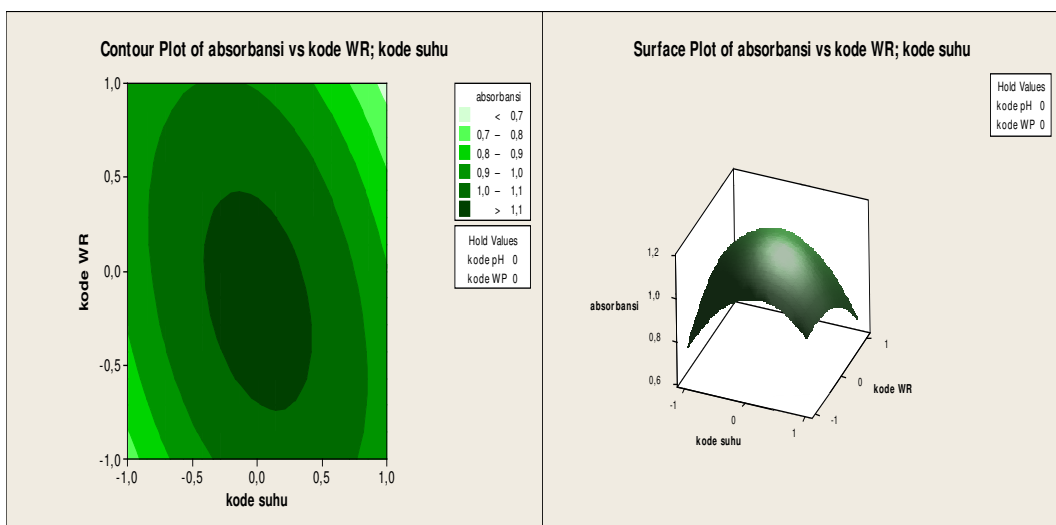
Gambar 3 contour plot dan surface plot pH vs suhu



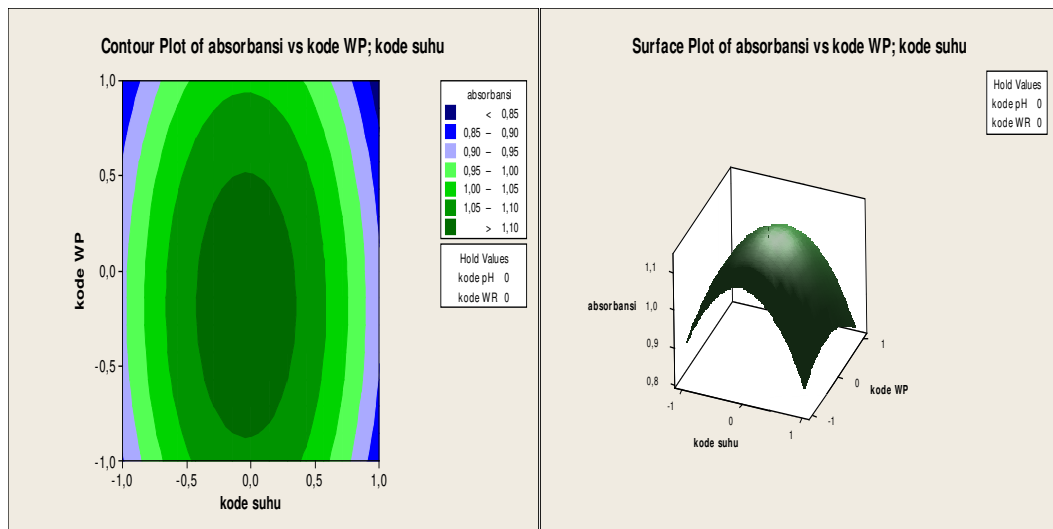
Gambar 4 contour plot dan surface plot pH vs waktu reaksi



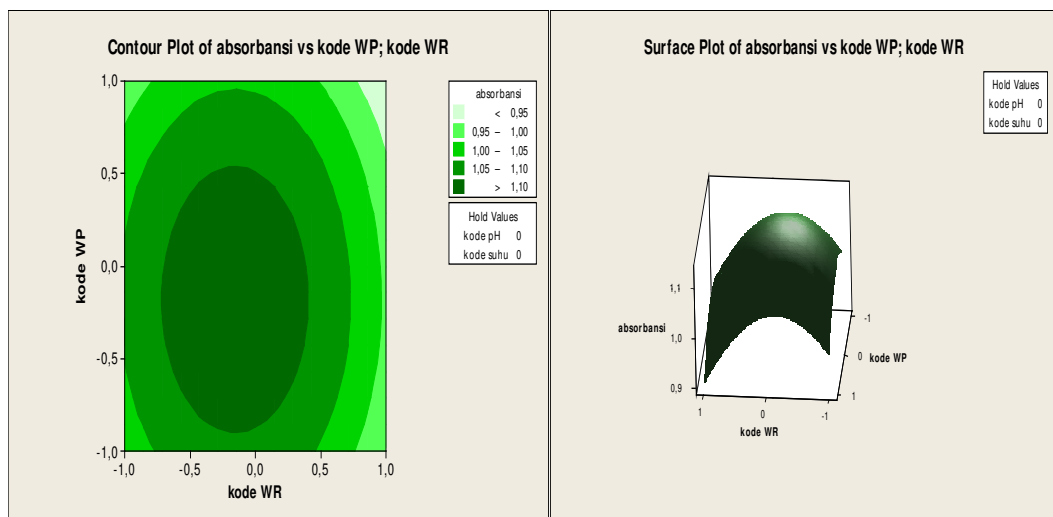
Gambar 5 Contour plot dan surface plot pH vs waktu pemanasan



Gambar 6 contour plot dan surface plot suhu vs waktu reaksi



Gambar 7 contour plot dan surface plot suhu vs waktu pemanasan



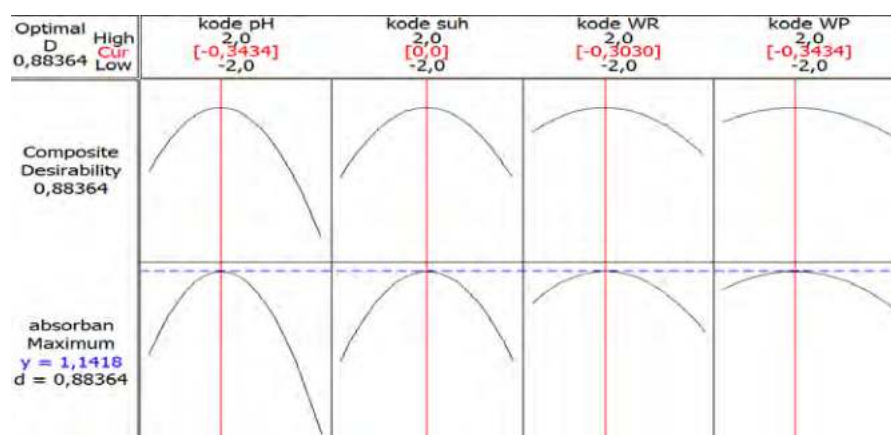
Gambar 8 contour plot dan surface plot waktu reaksi vs waktu pemanasan

Hasil kurva antara pH vs suhu menunjukkan bahwa pH lebih berpengaruh dibandingkan suhu terlihat dari bentuk lengkungan yang ditunjukkan oleh pH lebih terlihat dibandingkan lengkungan suhu. Hal ini menunjukkan bahwa titik optimum lebih terlihat pada pH. Begitu pula yang ditunjukkan oleh kurva antara pH vs waktu reaksi serta kurva antara pH vs waktu pemanasan yang dimana pH menunjukkan lengkungan yang lebih tajam dibandingkan waktu reaksi. Untuk kurva antara suhu vs waktu reaksi menunjukkan bahwa terjadi lengkungan yang tidak terlalu tajam diantara keduanya begitu pula pada kurva antara waktu reaksi dan waktu pemanasan lengkungan yang dihasilkan sama-sama tidak begitu terlalu tajam, hal ini menunjukkan bahwa ketiganya tidak begitu berpengaruh.

Sedangkan untuk kurva antara suhu dan waktu pemanasan menunjukkan bahwa suhu lebih berpengaruh dibandingkan waktu pemanasan dikarenakan kurva dari waktu pemanasan tidak begitu menunjukkan lengkungan yang tajam. Dari hasil masing-masing kurva yang dihasilkan menunjukkan bahwa pH paling berpengaruh terhadap absorbansi yang dihasilkan dibandingkan parameter lainnya meskipun parameter lainnya juga memiliki pengaruh namun tidak begitu signifikan. Hal ini juga lebih diperkuat dengan hasil nilai p yang dimana nilai p untuk pH 0,000 ($p < 5\%$), nilai p untuk suhu 0,456, nilai p untuk waktu reaksi ialah 0,115, sedangkan nilai p untuk waktu pemanasan 0,258. Dari nilai p masing-masing parameter hanya pH yang menunjukkan $p < 5\%$ (berbeda signifikan) sedangkan untuk suhu, waktu reaksi dan waktu pemanasan $p > 5\%$ (tidak berbeda signifikan).

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	1,12900	0,01870	60,388	0,000
kode pH	-0,09583	0,02019	-4,746	0,000
kode suhu	-0,01533	0,02019	-0,759	0,456
kode WR	-0,03317	0,02019	-1,642	0,115
kode WP	-0,02350	0,02019	-1,164	0,258
kode pH*kode pH	-0,28258	0,03700	-7,637	0,000
kode suhu*kode suhu	-0,20958	0,03700	-5,664	0,000
kode WR*kode WR	-0,10658	0,03700	-2,881	0,009
kode WP*kode WP	-0,06508	0,03700	-1,759	0,093
kode suhu*kode WR	-0,10450	0,04946	-2,113	0,047

Gambar 9 nilai p dari masing-masing parameter



Gambar 10 kurva response optimiser

Dari hasil kurva response optimizer diatas, dilakukan perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut:

X_i = Melambangkan nilai variabel ke-i dalam bentuk kode (coded variabel)

ξ_i = Melambangkan nilai variabel ke-i yang sebenarnya (natural variabel)

a = nilai natural kode 0

b = selisih antar nilai natural dari kode

- **pH optimum**

a = 10,5; b = 0,5; $X_i = -0,3434$

$$X_i = \frac{\xi_i - 10,5}{0,5}$$

$$-0,3434 = \frac{\xi_i - 10,5}{0,5}$$

$$\begin{aligned} \xi_i &= -0,1717 + 10,5 \\ &= 10,33 \end{aligned}$$

pH optimum yang didapatkan ialah 10,33

- **Suhu optimum**

a = 65°C.; b = 5; $X_i = 0$

Tidak perlu dilakukan perhitungan karena X menunjukkan kode 0 yaitu suhu optimum pada suhu 65°C.

- **Waktu reaksi optimum**

a = 20; b = 5; $X_i = -0,3030$

$$X_i = \frac{\xi_i - 20}{5}$$

$$-0,3030 = \frac{\xi_i - 20}{5}$$

$$\begin{aligned}\xi_i &= -1,515 + 20 \\ &= 18,48 \text{ menit}\end{aligned}$$

Waktu reaksi optimum yang didapatkan ialah 18,48 menit

- **Waktu pemanasan optimum**

$$a = 10; b = 2,5; X_i = -0,3434$$

$$X_i = \frac{\xi_i - 10}{2,5}$$

$$-0,3434 = \frac{\xi_i - 10}{2,5}$$

$$\begin{aligned}\xi_i &= -0,8585 + 10 \\ &= 9,14 \text{ menit}\end{aligned}$$

Waktu pemanasan optimum yang didapatkan ialah 9,14 menit

KESIMPULAN

Hasil kondisi optimum percobaan terdahulu ialah pada pH 10,50, suhu 65°C, waktu reaksi 20 menit, dan waktu pemanasan 10 menit, sedangkan kondisi optimum pada *response surface methodology* yaitu pada pH 10,33, suhu 65°C, waktu reaksi 18,48 menit, dan waktu pemanasan 9,14 menit.

SARAN

Dilakukan optimasi reaksi gabapentin dengan FDNB pada parameter-parameter lain seperti fraksi mol FDNB secara HPLC menggunakan *response surface methodology*.

DAFTAR PUSTAKA

- Connors KA, 1982, *A Textbook of Pharmaceutical Analysis*, 3rd edition, John Wiley & Sons, New York, 484-486.
- Coppex J, 2000, *Derivatives for HPLC Analysis*, Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Genf.

- Day RA, Underwood AL, 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi 6, Terjemahan oleh Iis Sopyan, Penerbit Erlangga, Jakarta, 388,396-404,415.
- Effendi N, 2011, *Validasi Metode Penetapan Kadar Gabapentin Terderivatisasi secara High Performance Liquid Chromatography dan Aplikasinya dalam sediaan kapsul*, Thesis, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Effendi N, Rachmata K, Akbara P, Naid Tadjuddin, 2013. *Validated UV-Vis Spectrophotometric Method for Determination of Gabapentin using Acetyl Acetone and Formaldehyde Reagents*, Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences.
- Epilepsy Society, 2016, Epilepsi, (online) (<http://www.epilepsysociety.org.uk/medication-epilepsy> diakses 4-01-2016).
- Gandjar IG dan Rohman A, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 222-223,229-235,240,252-255,262.
- Gandjar IG dan Rohman A, 2009. *Kimia Farmasi Analisis*, Penerbit Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 230-236, 404.
- Gurinder Singh, Roopa S. Pai, V. Kusum Devi, 2012, *Response surface methodology and process optimization of sustained release pellets using Taguchi orthogonal array design and central composite design*, Journal Advanced Pharmaceutical Technology and Research.
- Hadiyat MA dan Wahyudi RD, 2013, *Integrating Steepest Ascent for The Taguchi Experiment a Stimulation Study*, International Journal of Technology, Faculty of Engineering, University of Surabaya, Surabaya.
- Hadiyat MA, 2012, *Sebuah alternatif atau kompetisi dalam optimasi secara praktis*, International Journal of Technology, Faculty of Engineering, University of Surabaya, Surabaya.
- Harsono, 2007. *Epilepsi*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1-25, 193-203,224-226.
- Ikawati Z, 2012. *Farmakoterapi Penyakit Sistem Saraf Pusat*, Bursa Ilmu, Yogyakarta, 85-102.
- Iriawan N dan Astuti, S.P. 2006. *Mengolah Data Statistik dengan Mudah Menggunakan Minitab 14*. Yogyakarta. Penerbit ANDI..
- Karpinska J, 2012, *Basic Principles and Analytical Application of Derivative Spectrophotometry*. Institute of Chemistry, University of Bialystok, Bialystok Poland.
- Loveymi BD, Jelvehgari M Milani PZ, Hadi Valizadeh, 2012, *Statistical Optimization of Oral Vancomycin-Eudragit RS Nanoparticles Using Response Surface Methodology*, Iranian Journal of Pharmaceutical, Iran.
- Marselim C, 2015, *Optimasi pH, Waktu Reaksi dan Suhu pada Reaksi Gabapentin Terlarut Metanol dengan 1-Fluoro-2,4-Dinitrobenzen yang Dianalisis secara Spektrofotometri*, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya.
- Medlineplus, 2016, Gabapentin, (online) (<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a694007.html> diakses 4-01-2016)

- Moghal MR, Hussain MM, Shahid-Ud Daula AFM, Ahmed JU, Islam MR, 2012, *In Vitro Release Kinetics Study of Optimization of Ambroxol HCl 75 Mg Matrix Tablets Using Response Surface Methodology*, Departement of Pharmacy, Bangladesh.
- Nurmiah S, Syarief R, Sukarno, Peranginangin R, Nurtama B, 2012, *Aplikasi Response Surface Methodology pada Optimalisasi Kondisi Proses Pengolahan Alkali Treated Cottonii (ATC)*, IPB, Bogor.
- Nuryanti dan Salimy DH, 2008, *Metode Permukaan Respon dan Aplikasinya pada Optimasi Eksperimen Kimia*, Lokakarya Komputasi dalam Sains dan Teknologi Nuklir.
- Paraskevas G, J. Atta-Politou, M.Koupparis, 2002, *Spectrophotometric Determination of Lisinoprilin Tablets Using 1 fluoro-2,4-dinitrobenzene Reagent*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis.
- Sigma-Aldrich, 2016, 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzen, (online), (https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/d1529pis.pdf diakses 28-01-2016)
- Singh R, Singh D, Saraf Swarnlata, 2011, *Formulation Optimization of Controlled Delivery System for Antihypertensive Peptide using Response Surface Methodology*, American Journal of Drug Discovery and Development.
- Sitorus M, 2009, *Spektroskopi: Eludasi Struktur Molekul Organik*. Yogyakarta, Graha Ilmu, 4,15,-17,25-26.
- Sweetman SC, 2011, *Martindale: The Complete Drug References, 37th edition*, The Pharmaceutical Press, London, 525-526.
- Wibowo S dan Gofir A, 2001, *Farmakoterapi dalam Neurologi*, edisi pertama, Salemba Medika, Jakarta, 25, 45-46
- World Health Organization, 2012, *Epilepsy*, Januari 2016, (online), (<http://www.who.int/topics/epilepsy/en/> diakses 3-01-2016).
- Wyllie E, 2011, *Treatment of epilepsy*, fifth edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 690
- Zhao L, Su Chang, Zhu B, Jia Y, 2014, *Development and Optimization of Insulin-Chitosan Nanoparticles*, College of Pharmacy, College of Veterinary Medicine, Liaoning Medical University, Liaoning Province, China
- Zhen HE, Xu-Thao Zhang, Gui-qing X, 2013, *Product Quality Improvement Through Response Surface Methodology*, TIIM, Thailand.