

615.43
Yul
p

**PENETAPAN KADAR KOFEIN, PARASETAMOL, DAN SALISILAMIDA
DALAM SEDIAAN TABLET SECARA SERENTAK DENGAN
SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET DERIVATIF
DAN PERSAMAAN SIMULTAN**

FRANKY YULYANTO

038905018B

C2-994/279



Universitas Indonesia
Perpustakaan

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS INDONESIA

DEPOK

1994

**PENETAPAN KADAR KOFEIN, PARASETAMOL, DAN SALISILAMIDA
DALAM SEDIAAN TABLET SECARA SERENTAK DENGAN
SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET DERIVATIF
DAN PERSAMAAN SIMULTAN**

TUGAS AKHIR

**Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Farmasi pada Jurusan Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indonesia**

1994

oleh

Franky Yulyanto

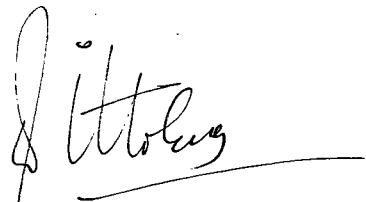
038905018B

Menyetujui



DR. Nelly D. Leswara

PEMBIMBING I



Dra. Sabarijah WittoEng, SKM

PEMBIMBING II

KATA PENGANTAR

Pertama - tama saya memanjatkan puji dan syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Skripsi dengan judul Penetapan Kadar Kofein, Parasetamol, dan Salisilamida dalam Sediaan Tablet secara Serentak dengan Spektrofotometri Ultraviolet Derivatif dan Persamaan Simultan ini disusun dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Penelitian dalam rangka penyusunan skripsi ini dilakukan di laboratorium Jurusan Farmasi FMIPA UI, Depok, Jawa Barat.

Pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih serta penghargaan yang sebesar - besarnya kepada :

1. Ibu DR. Nelly D. Leswara dan Ibu Dra. Sabarijah WittoEng, SKM dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan serta pengarahan yang bermanfaat selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak DR. Hasan Rahmat ketua Jurusan Farmasi yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam melakukan penelitian ini.
3. Bapak Drs. Umar Mansur, MSc ketua Jurusan Farmasi periode 1990 - 1994 yang telah memberikan dorongan moril.

4. Ketua Laboratorium Penelitian, Ketua Laboratorium Kimia Analisis Kuantitatif, Ketua Laboratorium Kimia Instrumen, dan Ketua Laboratorium Mikrobiologi atas fasilitas yang diberikan.
5. Ibu Dra. Atiek Soemiati, MS Penasehat Akademik yang telah memberikan dorongan moril dalam penyelesaian tugas akhir ini.
6. Para dosen Jurusan Farmasi FMIPA UI.
7. PT Mecosin Indonesia.
8. Bapak, ibu, saudara - saudara, dan rekan - rekan mahasiswa yang telah banyak membantu baik moril maupun materiil sehingga skripsi ini dapat saya selesaikan.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, khususnya bagi pengembangan ilmu farmasi.

Depok, 1994

Penyusun,

ABSTRAK

Telah dilakukan pemeriksaan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam sediaan tablet secara serentak tanpa proses pemisahan. Metoda yang digunakan adalah spektrofotometri derivatif pertama dan persamaan simultan dalam cairan pembawa buffer pH 10,0.

Pada metoda spektrofotometri persamaan simultan dilakukan pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 327,7 ; 272,3 ; dan 250,9 nm. Sedangkan pada spektrofotometri derivatif pertama dilakukan pengukuran nilai ordinat pada panjang gelombang 344,7 ; 286,4 ; dan 272,5 nm.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua tablet yang diuji memenuhi persyaratan kadar menurut British Pharmacopoeia 1988.

ABSTRACT

Simultaneous methods without prior separation were developed to determine caffeine, paracetamol, and salicylamide contents in tablets available commercially. They were simultaneous equations and first derivative spectrophotometric methods using pH 10,0 buffer as solvent.

In the simultaneous equations spectrophotometry, absorbance values were measured at wavelengths of 327,7 ; 272,3 ; and 250,9 nm. While in the first derivative spectrophotometry, ordinate values were measured at wavelengths of 344,7 ; 286,4 ; and 272,5 nm.

The results showed that all tablets being assayed fulfilled British Pharmacopoeia 1988 requirements for active substance content.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 PENGENALAN BAHAN OBAT	4
II.2 DASAR SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET	8
II.3 SPEKTROFOTOMETRI PERSAMAAN SIMULTAN	15
II.4 SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF	17
BAB III BAHAN DAN ALAT	22
BAB IV PERCOBAAN DAN HASIL PERCOBAAN	23
BAB V PEMBAHASAN	34
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Tabel 1. Hasil analisis kofein spesifikasi BP 1988..	45
2. Tabel 2. Hasil analisis parasetamol spesifikasi BP 1988/USP edisi XXII.....	46
3. Tabel 3. Hasil analisis salisilamida spesifikasi FI edisi III.....	47
4. Tabel 4. Nilai absorbansi dan ordinat bahan baku tunggal dan campuran dalam buffer pH 10,0..	48
5. Tabel 5. Hasil uji stabilitas kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam air, etanol, dan buffer pH 10,0.....	49
6. Tabel 6. Nilai absorbansi dan ordinat kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 10,0 pada panjang gelombang analisis.....	50
7. Tabel 7. Kadar bahan tiap tablet simulasi A, B, dan C.....	51
8. Tabel 8. Nilai absorbansi dan ordinat tablet simulasi dalam buffer pH 10,0.....	52
9. Tabel 9. Hasil uji perolehan kembali kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam tablet simulasi A, B, dan C.....	53
10. Tabel 10. Komposisi bahan berkhasiat tiap tablet paten P, Q, R, dan S sesuai label.....	53

11.Tabel 11. Nilai absorbansi dan ordinat tablet paten P dalam buffer pH 10,0.....	54
12.Tabel 12. Nilai absorbansi dan ordinat tablet paten Q dalam buffer pH 10,0.....	55
13.Tabel 13. Nilai absorbansi dan ordinat tablet paten R dalam buffer pH 10,0.....	56
14.Tabel 14. Nilai absorbansi dan ordinat tablet paten S dalam buffer pH 10,0.....	57
15.Tabel 15. Hasil penetapan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam sediaan tablet paten P, Q, R, dan S.....	58

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Gambar 1. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 6,0.....59
2. Gambar 2. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 10,0.....60
3. Gambar 3. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kofein berbagai konsentrasi dalam buffer pH 10,0.....61
4. Gambar 4. Kurva kalibrasi kofein dalam buffer pH 10,0.....62
5. Gambar 5. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama parasetamol berbagai konsentrasi dalam buffer pH 10,0.....63
6. Gambar 6. Kurva kalibrasi parasetamol dalam buffer pH 10,0.....64
7. Gambar 7. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama salisilamida berbagai konsentrasi dalam buffer pH 10,0.....65
8. Gambar 8. Kurva kalibrasi salisilamida dalam buffer pH 10,0.....66

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Dewasa ini banyak beredar sediaan farmasi yang cenderung terdiri dari campuran beberapa bahan obat. Untuk mendapatkan efek analgetik dan antipiretik misalnya, lazim digunakan campuran kofein, parasetamol, salisilamida, dan beberapa bahan obat lain. Obat analgetik dan antipiretik tersebut merupakan kelompok obat mirip aspirin (1).

Kofein merupakan obat derivat xantin, dan berkhasiat sebagai perangsang susunan saraf pusat (1). Dalam Farmakope Indonesia (FI) edisi III disebutkan bahwa penetapan kadarnya menggunakan metoda titrasi bebas air (2).

Parasetamol merupakan derivat para aminofenol. Efek analgetiknya adalah menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Parasetamol juga memiliki efek antipiretik (1). Dalam FI edisi III disebutkan bahwa penetapan kadar parasetamol dalam sediaan tablet dan elixir menggunakan metoda spektrofotometri (2).

Salisilamida adalah amida asam salisilat, yang memperlihatkan efek analgetik dan antipiretik. Salisilamida menghambat glukuronidasi parasetamol, sehingga penggunaan bersama parasetamol dapat meningkatkan efek terapi (1). Dalam FI edisi III disebutkan bahwa penetapan kadar salisilamida dalam sediaan tablet menggunakan metoda

titrasi bebas air (2).

Beberapa nama paten sediaan farmasi yang mengandung kombinasi kofein, parasetamol, dan salisilamida antara lain : Acepheco-I, Anaflu, Cold, Colfin, Contraflu, Corexin, Dusal, Flugan, Fludexin, Influhust, Koldex, Refagan. Bahan lain yang juga sering digunakan sebagai campuran untuk obat analgetik dan antipiretik, misalnya klorpheniramin maleat, mebhidrolina napadisilat, thiamin HCl, dan vitamin C (3).

Berbagai metoda telah dilakukan untuk menetapkan kadar bahan berkhasiat tersebut. Kadar kofein, parasetamol, dan bahan lain dapat ditetapkan dengan metoda kromatografi cair kinerja tinggi (4,5). Dengan metoda kromatografi gas cair, kadar kofein, salisilamida, dan beberapa zat lain dapat ditetapkan (6).

Kadar salisilamida dalam tablet analgetik yang mengandung beberapa bahan lain dapat ditetapkan dengan mudah dan cepat secara spektrofotometri (7). Kadar parasetamol, salisilamida, dan bahan lain dapat ditetapkan dengan memanfaatkan titik isobestik (8).

Kadar kofein, salisilamida, dan beberapa senyawa analgetik lain dapat ditetapkan secara tidak langsung dengan metoda spektrofotometri yang dilakukan dalam berbagai pH (9). Kadar asetosal, kofein, parasetamol, dan salisilamida dapat ditetapkan secara tidak langsung dengan metoda spektrofotometri diferensial dan potensiometri, setelah dilakukan proses ekstraksi terlebih dahulu (10).

Dengan mengukur serapan larutan zat tunggal, kadar zat dapat langsung ditetapkan. Pada sediaan campuran, total serapan cahaya merupakan penjumlahan serapan tiap zat pada panjang gelombang yang sama. Dengan memperhitungkan nilai serapan setiap zat, sediaan campuran kofein, parasetamol, dan salisilamida diharapkan dapat ditetapkan kadarnya secara serentak (tanpa proses pemisahan) dengan metoda spektrofotometri. Metoda spektrofotometri yang akan dicoba adalah spektrofotometri ultraviolet derivatif dan persamaan simultan dengan parameter jenis dan pH cairan pembawa. Analisis kuantitatif spektrofotometri merupakan analisis yang praktis dan umumnya memberikan hasil yang baik.

II.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mencari kondisi metoda spektrofotometri ultraviolet derivatif dan persamaan simultan yang dapat dipakai untuk menetapkan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida secara serentak dalam beberapa tablet paten yang beredar. Hasil yang diperoleh dievaluasi apakah memenuhi persyaratan kadar menurut British Pharmacopoeia 1988.

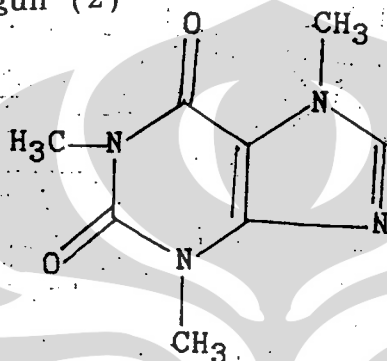
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 PENGENALAN BAHAN OBAT

II.1.1 Kofein

Rumus bangun (2)



Rumus molekul (2)



Nama kimia (11,12)

1,3,7-Trimetilxantin.

3,7-Dihidro-1,3,7-trimetilpurin-2,6(1H)-dion.

Pemerian (2)

Serbuk atau hablur bentuk jarum mengkilat biasanya menggumpal; putih; tidak berbau; rasa pahit.

Kelarutan (13)

Larut dalam 60 bagian air, dalam 130 bagian etanol(95%), dalam 7 bagian kloroform; sukar larut dalam eter.

Jarak lebur.(2)

Antara 235° dan 237,5°C.

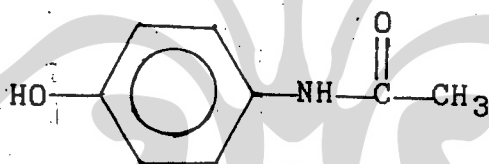
Penetapan kadar (2)

Titrasi Bebas Air. Larutkan ± 400 mg zat yang ditimbang seksama dalam 40 ml anhidrat asetat P, yang sebelumnya telah dinetralkan dengan asam perklorat 0,1N menggunakan indikator kristal violet, panaskan, dinginkan; tambahkan 80 ml benzen P. Titrasi dengan asam perklorat 0,1N hingga terjadi perubahan warna.

1 ml HClO_4 0,1N setara dengan 19,42 mg $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$.

II.1.2 Parasetamol

Rumus bangun (2)



Rumus molekul (2)

$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$.

Nama kimia (2,11)

N-asetil-p-amino fenol.

4'-Hidroksiasetanilida.

N-(4-hidroksifenil)asetamida.

Pemerian (2)

Hablur atau serbuk hablur putih; tidak berbau; rasa pahit.

Kelarutan (2,13)

Larut dalam 70 bagian air, dalam 7 bagian

etanol(95%), dalam 13 bagian aseton, dalam 40 bagian gliserol, dan dalam 9 bagian propilen-glikol; larut dalam larutan alkali hidroksida.

Suhu lebur (2)

169° sampai 172°C.

Penetapan kadar (2,14)

Kjeldahl. Cara penetapan kadar nitrogen pada Farmakope Indonesia edisi III menggunakan ± 300 mg zat yang ditimbang seksama dan 8 ml asam sulfat bebas nitrogen P.

1 ml H_2SO_4 0,1N setara dengan 15,116 mg $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$.

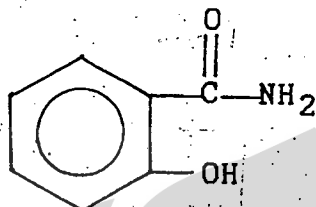
Spektrofotometri. Larutkan ± 120 mg zat yang ditimbang seksama dalam 10 ml metanol, tambahkan air secukupnya hingga 500,0 ml, dan campur. Pipet 5,0 ml larutan ini dan tambahkan air secukupnya hingga 100,0 ml. Ukur serapan larutan ini dan standar dalam media yang sama, dengan konsentrasi ± 12 ppm, dalam sel 1 cm pada panjang gelombang maksimum ± 240 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung kadar $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ dalam mg parasetamol yang ditimbang dengan rumus:

$$10C(A_v/A_s),$$

dengan C adalah konsentrasi larutan standar (ppm), A_v dan A_s berturut - turut adalah nilai absorbansi larutan uji dan standar.

II.1.3 Salisilamida

Rumus bangun (2)



Rumus molekul (2)

$C_7H_7NO_2$.

Nama kimia (2,11)

2-Hidroksibenzamida.

o-Hidroksibenzamida.

Pemerian (2)

Serbuk hablur; putih; tidak berbau.

Kelarutan (13)

Larut dalam 500 bagian air, dalam 15 bagian etanol(95%), dalam 20 bagian propilenglikol, dalam 100 bagian kloroform, dalam 35 bagian eter; mudah larut dalam alkali.

Jarak lebur (2)

Antara 139° dan $142^\circ C$.

Penetapan kadar (2)

Titrasasi Bebas Air. Timbang seksama ± 500 mg zat, masukkan ke dalam gelas kimia 100 ml yang dilengkapi dengan pengaduk mekanik dan diberi lubang untuk buret. Tambahkan 30 ml dimetilformamida P

yang baru dinetralkan yang mengandung beberapa tetes larutan biru timol P. Titrasi dengan natrium metoksida 0,1N hingga warna biru. Lakukan penetapan blangko.

1 ml natrium metoksida 0,1N setara dengan 13,71 mg $C_7H_7NO_2$.

II.2 DASAR SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET

Prinsip analisis spektrofotometri adalah spektroskopi, yaitu interaksi antara suatu gelombang elektromagnetik dengan zat. Gelombang elektromagnetik dapat berupa radiasi ultraviolet, sinar tampak, radiasi inframerah, dan lain - lain. Panjang gelombang radiasi ultraviolet $\pm 185 - 400$ nm.

Sifat - sifat radiasi elektromagnetik dijelaskan dengan dua teori yang saling melengkapi, yaitu teori gelombang dan teori korpuskuler. Teori gelombang menjelaskan beberapa parameter radiasi elektromagnetik berupa kecepatan, frekuensi, panjang gelombang, dan amplitudo. Teori gelombang tidak dapat menjelaskan fenomena - fenomena yang berkaitan dengan serapan atau emisi dari energi radiasi. Teori korpuskuler menyatakan bahwa radiasi elektromagnetik sebagai partikel berenergi yang disebut *foton*(15,16).

Interaksi radiasi elektromagnetik dengan zat dijelaskan dengan pemikiran radiasi elektromagnetik sebagai foton. Energi foton berbanding langsung dengan frekuensi

radiasi. Hal ini dinyatakan dalam persamaan (13,15,16) :

$$E = hf = hc/n\lambda$$

dengan, E = energi foton

h = tetapan Planck

f = frekuensi

c = kecepatan cahaya

n = indeks bias

λ = panjang gelombang

Bila radiasi elektromagnetik jatuh pada suatu senyawa, maka sebagian dari radiasi akan diserap oleh molekul sesuai dengan strukturnya. Bila radiasi yang jatuh pada senyawa mempunyai energi sama dengan perbedaan energi antara tingkat dasar dengan energi tingkat tereksitasi, maka elektron - elektron pada tingkat dasar dieksitasikan ke tingkat tereksitasi, dan sebagian energi radiasi akan diserap. Setiap senyawa mempunyai tingkat energi yang spesifik, sesuai dengan struktur molekulnya. Tingkat energi yang spesifik menyebabkan frekuensi yang diserap juga tertentu. Gambar hubungan intensitas radiasi (absorbansi atau transmitansi) sebagai fungsi panjang gelombang atau frekuensi dikenal sebagai *spektrum serapan* atau kurva orde 0 (15).

Selain terjadi penyerapan oleh molekul, sebagian radiasi juga direfleksikan dan ditransmisikan. Bila intensitas radiasi yang jatuh pada benda dinyatakan sebagai I_0 , intensitas radiasi yang diserap sebagai I_a , intensitas radiasi yang direfleksikan sebagai I_r , dan

intensitas radiasi yang ditransmisikan sebagai I_t , maka :

$$I_o = I_a + I_r + I_t$$

Dengan menggunakan blangko, intensitas radiasi yang direfleksikan sama pada benda dan blangko, sehingga :

$$I_o = I_a + I_t$$

Pada analisis kuantitatif serapan radiasi elektromagnetik, diperhatikan berkas radiasi yang dikenakan pada benda dan intensitas radiasi yang ditransmisikan. Radiasi yang diserap oleh benda ditentukan dengan membandingkan intensitas berkas radiasi yang ditransmisikan bila tidak ada bahan penyerap dengan intensitas radiasi yang ditransmisikan bila ada bahan penyerap.

Alat yang diperlukan untuk analisis spektrofotometri adalah spektrofotometer. Alat ini terdiri dari dua bagian utama, yaitu spektrometer dan fotometer. Spektrometer optik adalah alat proses optik yang dapat menghasilkan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang terbatas yang hampir monokromatis. Fotometer adalah bagian untuk mengukur intensitas radiasi yang ditransmisikan. Bila digabungkan, dapat digunakan untuk menghasilkan sinyal yang berhubungan dengan perbedaan radiasi yang ditransmisikan bahan blangko dan bahan sampel pada panjang gelombang terpilih (15,17).

Banyak penghargaan diberikan kepada Lambert atas penemuannya tentang perubahan dari penyerapan cahaya oleh ketebalan media. Beer kemudian menggunakan percobaan serupa pada larutan yang berbeda konsentrasi. Dua hukum

terpisah tentang serapan umumnya dikenal sebagai Hukum Lambert dan Hukum Beer. Dalam bentuk kombinasi disebut sebagai Hukum Beer - Lambert (17).

Hukum Lambert

Hukum ini menyatakan bahwa ketika cahaya monokromatis melewati media transparan, laju penurunan intensitas terhadap ketebalan media sebanding dengan intensitas cahaya semula. Ini sama dengan pernyataan bahwa intensitas cahaya emisi menurun eksponensial terhadap kenaikan aritmatika ketebalan media penyerap. Atau semua lapisan ketebalan media menyerap fraksi yang sama dari cahaya yang jatuh padanya. Hukum ini ditunjukkan dengan persamaan diferensial :

$$-\frac{dI}{dl} = k I \dots\dots\dots (i)$$

dengan, I adalah intensitas cahaya pada suatu panjang gelombang, l adalah ketebalan media, dan k adalah faktor pembanding. Integrasi pertama persamaan tadi dengan $I = I_0$ pada $l = 0$, didapat :

$$\ln (I_0/I_t) = k l \dots\dots\dots (ii)$$

atau sama dengan :

$$I_t = I_0 e^{-kl}$$

Dengan perubahan menjadi logaritma bilangan pokok 10, didapat :

$$I_t = I_0 10^{-0.4343 kl} = I_0 10^{-Kl} \dots\dots\dots (iii)$$

dengan $K = k/2,3026$ dan biasanya disebut *koefisien serapan*, umumnya didefinisikan sebagai ketebalan (l) yang diperlukan untuk mengurangi intensitas cahaya menjadi $1/10$. Dari perubahan persamaan tadi didapat :

$$I_t/I_o = 0,1 = 10^{-Kl} \text{ atau } Kl = 1 \text{ dan } K = 1/l$$

Perbandingan I_t/I_o adalah fraksi intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh media dengan ketebalan l dan disebut Transmittansi T , sedangkan Absorbansi A , dirumuskan sebagai:

$$A = \log I_o/I_t \dots\dots\dots (iv)$$

Dengan demikian, media dengan nilai absorbansi = 1 pada suatu panjang gelombang akan mentransmisikan 10 persen dari intensitas cahaya semula.

Hukum Beer

Sejauh ini diasumsikan bahwa penyerapan dan transmisi cahaya monokromatis sebagai fungsi dari ketebalan lapisan penyerap saja. Pada analisis kuantitatif, pengukuran dilakukan terhadap larutan. Beer mempelajari pengaruh konsentrasi konstituen berwarna dalam larutan terhadap transmisi dan absorpsi cahaya. Ditemukan hubungan yang sama antara transmisi dan konsentrasi, seperti yang telah ditemukan Lambert antara transmisi dan ketebalan lapisan. Dengan kata lain, intensitas cahaya monokromatis menurun eksponensial terhadap kenaikan aritmatika konsentrasi bahan penyerap. Dalam bentuk persamaan ditulis :

$$I_t = I_o e^{-k'c}$$

$$= I_0 10^{-0,4343 k'c} = I_0 10^{K'c} \dots\dots (v)$$

dengan c adalah konsentrasi, k' dan K' adalah konstanta.

Penggabungan persamaan (iv) dan (v) didapat :

$$I_t = I_0 10^{-acl}$$

$$\text{atau } \log I_0/I_t = a c l$$

Persamaan ini merupakan dasar pada spektrofotometri, dan sering disebut sebagai *Hukum Beer - Lambert*. Nilai a tergantung dari cara menyatakan konsentrasi. Jika c dinyatakan dalam mol/dm^3 dan l dalam cm , maka a diberi lambang ϵ dan disebut *koefisien serapan molar* atau *koefisien ekstingsi molar*. Harga ϵ karakteristik untuk molekul dan ion penyerap dalam pelarut dan pada panjang gelombang tertentu. Harga ϵ tidak tergantung pada konsentrasi dan panjang lintasan.

Jika c dinyatakan dalam g/100ml , maka a menyatakan koefisien serapan spesifik dan diberi lambang $A(1\%, 1\text{cm})$. Koefisien serapan spesifik didefinisikan sebagai serapan tiap satuan ketebalan dan satuan konsentrasi. Dengan demikian, jika ditulis :

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} 1\% \\ A \\ 1\text{cm} \end{array} & \begin{array}{c} 325 \text{ nm atau } E \\ \\ \end{array} & \begin{array}{c} 1\% \\ E \\ 1\text{cm} \end{array} \quad 325 \text{ nm} = 40 \end{array}$$

berarti, pada panjang gelombang 325 nm, larutan dengan tebal 1 cm, dan konsentrasi 1 prosen b/v akan mempunyai nilai absorbansi $A = 40$.

Dalam menurunkan Hukum Beer - Lambert dianggap bahwa:

a. radiasi yang jatuh adalah monokromatis,

- b. bahan penyerap tak tergantung satu sama lain dalam proses penyerapan,
- c. penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai luas penampang yang sama,
- d. energi radiasi cepat (tidak terjadi fluoresensi),
- e. indeks bias tak tergantung pada konsentrasi (15,17).

Penggunaan Hukum Beer - Lambert

Suatu larutan zat X dengan konsentrasi yang telah diketahui, diukur serapannya dengan spektrofotometer. Dengan ketebalan kuvet yang diketahui, maka koefisien serapan molar ϵ dapat dihitung :

$$\epsilon_1 = A/cl$$

Nilai ϵ spesifik untuk tiap zat pada kondisi tertentu. Bila digunakan kuvet (l) yang sama, maka dengan mengukur serapan larutan zat X yang berbeda konsentrasi (c), konsentrasinya dapat dihitung dengan persamaan :

$$\frac{C_2}{A_2} = \frac{C_1}{A_1} \text{ atau } C_2 = C_1 \times (A_2/A_1)$$

Koefisien serapan molar ϵ tergantung pada panjang gelombang cahaya, suhu, dan pelarut yang digunakan. Umumnya sangat baik bekerja pada panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum terpilih (atau transmitansi minimum terpilih), sehingga didapat sensitivitas yang maksimum.

Untuk ketebalan kuvet yang tetap, Hukum Beer -

Lambert dapat ditulis :

c setara dengan $\log I_0/I_t$

c setara dengan $\log 1/T$ atau

c setara dengan A

Dengan membuat kurva A (atau $\log 1/T$) sebagai ordinat terhadap konsentrasi c sebagai absis, akan dihasilkan garis lurus dan melewati titik $c = 0, A = 0$ ($T=100\%$). Garis kalibrasi ini kemudian dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi larutan dari zat yang sama setelah mengukur serapannya (17).

II.3 SPEKTROFOTOMETRI PERSAMAAN SIMULTAN

Dalam sistem yang mengandung lebih dari satu komponen penyerap, proses penyerapan masing - masing bahan tidak tergantung satu sama lain. Nilai absorbansinya merupakan gabungan absorbansi setiap komponen. Untuk menganalisisnya, pertama dibuat spektrum serapan dari setiap komponen. Kemudian dipilih panjang gelombang tertentu (λ_1) dengan serapan yang cukup besar dan komponen lain tidak memberikan serapan yang berarti, maka kadar komponen tersebut (A) dapat ditetapkan.

Misalnya komponen lain (B) memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang kedua (λ_2), dan komponen pertama (A) memberikan serapan pada panjang gelombang ini. Setelah menetapkan kadar komponen pertama, maka absorbansinya pada panjang gelombang lain (λ_2) dapat diketahui. Dengan mengurangkan absorbansi komponen pertama dari

absorbansi total, maka absorbansi dan kadar komponen kedua dapat dihitung. Pada keadaan ini, kadar masing - masing komponen dapat diketahui dengan perhitungan yang sederhana(15)..

Apabila tidak ditemukan panjang gelombang dimana hanya satu komponen yang memberikan serapan, maka kadarnya dalam campuran dapat ditetapkan dengan mengukur absorbansi pada beberapa panjang gelombang. Misalnya, campuran yang mengandung dua komponen. Dua kromofor yang tidak sama tentu mempunyai perbedaan serapan cahaya pada beberapa panjang gelombang.

Seperti pada analisis komponen tunggal, panjang gelombang analisis yang digunakan pada analisis campuran adalah panjang gelombang maksimum, sehingga absorbansinya akan sebanding dengan konsentrasi. Selanjutnya menentukan koefisien serapan molar pada tiap komponen menggunakan serangkaian larutan zat tunggal yang telah diketahui konsentrasinya. Bila nilai absorbansi sebanding dengan koefisien serapan molar dan konsentrasi, dengan panjang lintasan radiasi tetap, akan diperoleh dua persamaan simultan (13,15) :

$$C_1(\epsilon_1)_{\lambda 1} + C_2(\epsilon_2)_{\lambda 1} = A_{\lambda 1}$$

$$C_1(\epsilon_1)_{\lambda 2} + C_2(\epsilon_2)_{\lambda 2} = A_{\lambda 2}$$

Konsentrasi masing - masing komponen ditetapkan dengan persamaan :

$$C_1 = \frac{(\epsilon_2)_{\lambda 2} A_{\lambda 1} - (\epsilon_2)_{\lambda 1} A_{\lambda 2}}{(\epsilon_1)_{\lambda 1} (\epsilon_2)_{\lambda 2} - (\epsilon_2)_{\lambda 1} (\epsilon_1)_{\lambda 2}}$$

$$C_2 = \frac{(\epsilon_1)_{\lambda 1} A_{\lambda 2} - (\epsilon_1)_{\lambda 2} A_{\lambda 1}}{(\epsilon_1)_{\lambda 1} (\epsilon_2)_{\lambda 2} - (\epsilon_2)_{\lambda 1} (\epsilon_1)_{\lambda 2}}$$

Prosedur yang sama dapat dilakukan untuk sistem yang mengandung banyak komponen. Tetapi hasilnya kurang teliti, kecuali dengan spektrum yang agak terpisah. Persamaan simultan berdasarkan asumsi bahwa setiap komponen memberikan nilai absorbansi secara aditif pada absorbansi total panjang gelombang analisis. Asumsi ini seharusnya diuji terlebih dahulu dengan campuran yang telah diketahui komposisinya (15,18,19).

II.4 SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF

Cara penetapan kadar pada spektrofotometri persamaan simultan menggunakan data dari spektrum normal secara langsung. Pada kasus tertentu, cara tersebut akan mengalami kesulitan atau bahkan tidak dapat dipakai untuk analisis kuantitatif. Bila hal ini terjadi, analisis masih dapat dilakukan terhadap kurva derivatnya. Metoda ini dikenal sebagai *spektrofotometri derivatif* (20).

Pada metoda ini, transmitansi atau lebih tepatnya absorbansi sampel dalam larutan didiferensial terhadap panjang gelombang untuk menghasilkan kurva derivat pertama, kedua, atau derivat yang lebih tinggi :

$$A = f(\lambda)$$

$$dA/d\lambda = f'(\lambda)$$

$$d^2A/d\lambda^2 = f''(\lambda)$$

Bentuk kurva derivat sering lebih spesifik, dengan perubahan gradien yang lebih kecil pada spektrum normal dapat teramati sebagai bentuk yang terpisah pada kurva derivatnya.

Kurva derivat pertama atau kurva orde 1 merupakan gradien semua titik pada spektrum normal. Kurva ini sering digunakan untuk mengetahui letak serapan maksimum yang tersembunyi dan merupakan pola yang spesifik untuk identifikasi. Selain itu dapat dipakai untuk analisis kuantitatif (21,22).

Umumnya metoda untuk menghasilkan kurva derivat dibagi menjadi dua : *Metoda Optik* yang bekerja pada cahaya spektrometer; dan *Metoda Elektronik* atau *Digital* yang bekerja pada keluaran detektor fotometer. Dasar Metoda Optik adalah hasil dari teknik modulasi panjang gelombang. Panjang gelombang radiasi cahaya segera dimodulasi dengan beda panjang gelombang ($\Delta\lambda$) yang sempit oleh peralatan elektromekanik. Teknik lain adalah *Dual - Wavelength Spectrometer*. Teknik ini telah digunakan untuk menghasilkan kurva derivat pertama dengan merunut spektrum normal dengan monokromator terpisah oleh beda panjang gelombang yang kecil dan tetap.

Metoda kedua adalah Metoda Elektronik atau Digital. Termasuk dalam metoda ini antara lain : diferensial

elektronik, diferensial mekanik, dan takometer mekanik. Peralatan elektronik menghasilkan kurva derivat sebagai fungsi terhadap waktu ketika spektrum dirunut pada kecepatan tetap ($d\lambda/dt$) :

$$dA/dt = dA/d\lambda \times d\lambda/dt$$

$$d^2A/dt^2 = (d^2A/d\lambda^2) \times (d\lambda/dt)^2$$

Dengan demikian nilai ordinat pada kurva derivat tergantung kondisi alat saat pengujian, dengan ketetapan alat, k :

$$d^n A/d\lambda^n = k (d^n A/dt^n)$$

Kurva derivat pertama atau derivat yang lebih tinggi dapat dihasilkan dengan metoda ini (19,20,21).

Nilai ordinat pada kurva derivat tidak sebanding dengan absorbansi, melainkan terhadap kemiringan spektrum semula. Karena kemiringan spektrum normal dapat menaik dan menurun, maka kurva derivat juga akan menunjukkan nilai positif dan negatif, atau maksimum dan minimum tergantung bentuk kemiringan. Untuk analisis kuantitatif diperhatikan nilai maksimum dan minimum. Jika kurva derivat menunjukkan beberapa nilai maksimum dan minimum, maka dipilih maksimum dan minimum berdampingan dengan jarak ordinat terjauh. Tetapi ini sulit didapat pada analisis kadar campuran, karena sering mendapat gangguan kurva dari komponen lain.

Aplikasi yang berguna dari prinsip kurva derivat adalah penetapan kadar zat dengan spektrum serapan yang relatif sempit dan tumpang tindih oleh spektrum serapan dari komponen kedua. Zat yang akan ditetapkan hanya dapat

dikenali dari serapan maksimum kedua yang kecil atau bahu pada spektrum normal campuran. Dengan metoda konvensional, serapan maksimum yang tersembunyi seperti ini dianalisis dengan kesalahan sistematika yang besar. Sedangkan dalam keadaan tertentu, pada kurva derivat dari spektrum normal campuran, dapat terlihat kurva tiap komponen yang terpisah satu sama lain. Keadaan ini memungkinkan penetapan kadar dengan kesalahan sistematika yang lebih kecil atau dapat diabaikan.

Ketepatan penetapan kadar dalam sistem yang mengandung dua komponen ditentukan oleh parameter berikut :

1. Hubungan nilai ordinat kurva pengganggu dengan nilai ordinat zat yang akan ditetapkan.
2. Hubungan lebar kurva pengganggu dengan lebar kurva zat yang akan ditetapkan.
3. Jarak antara nilai ekstrim kedua komponen.

Pengertian - pengertian tersebut berlaku juga untuk analisis banyak komponen (20).

Hingga saat ini, penelitian tentang pemanfaatan spektrofotometri dalam analisis kuantitatif terus dikembangkan. Melalui laporan penelitian yang telah dipublikasikan dapat dilihat arah pengembangannya pada spektrofotometri derivatif (23,24,25,26). Pengembangan ini diawali dengan pengenalan prinsip diferensial elektronik yang dapat menghasilkan derivat pertama, kedua, atau derivat yang lebih tinggi.

Banyak keuntungan yang didapatkan dari spektrofotometri

tometri derivatif. Untuk menentukan panjang gelombang maksimum dapat memanfaatkan kurva derivat pertama. Pola pada spektrum normal adalah melebar, sehingga posisi panjang gelombang maksimum ditentukan dengan perkiraan. Pada kurva derivat pertama, nilai ordinat serapan maksimum adalah 0, ini dikenal sebagai titik zero - crossing.

Suatu keuntungan yang mendasar dari spektrofotometri derivatif adalah hasil resolusi yang lebih baik dari pola spektrum normal. Untuk praktek analisis umum, pengenalan pola yang baik, penting untuk identifikasi, uji kemurnian, atau pengendalian mutu.

Aplikasi lain yang penting dari spektrofotometri derivatif adalah penetapan kadar bahan penyerap terlarut dengan adanya kekeruhan oleh bahan lain. Pada spektrum normal, kekeruhan menyebabkan absorbansi naik secara tetap pada rentang panjang gelombang yang diukur. Karena absorbansinya datar, maka pola pada kurva derivat adalah garis lurus pada ordinat 0. Dengan demikian, bila bahan penyerap dengan adanya kekeruhan diukur, absorbansi yang disebabkan oleh kekeruhan dapat dieliminasi (20).

Keuntungan metoda tersebut sangat diperlukan pada analisis kuantitatif bahan campuran. Metoda penetapan kadar bahan campuran sering memerlukan tahap pemisahan menggunakan kromatografi atau ekstraksi (4,5,6,8). Adanya tahap ini akan memperpanjang waktu analisis. Metoda spektrofotometri dapat menghemat waktu dan tahap kerja.

BAB III

BAHAN DAN ALAT

III.1 BAHAN YANG DIGUNAKAN

- Bahan baku obat :
Kofein, parasetamol, dan salisilamida baku dari PT Mecosin Indonesia.
- Tablet paten P, Q, R, dan S.
- Etanol, KCl, KH_2PO_4 , NaOH, laktosa, dan amilum dari Merck.
- H_3BO_3 dan silika gel dari Wako Pure Industries, Ltd.

III.2 ALAT YANG DIGUNAKAN

- Spektrofotometer, SHIMADZU UV-265
- Sentrifugator, KUBOTA 6800
- Ultrasound, BRANSON 3200
- Neraca analitik, O'HAUS
- pH-meter, SCHOTT GERATE TS 165
- Lemari pengering, WTB BINDER
- Pemanas listrik, LAB-LINE
- Desikator
- Labu takar, pipet volume, gelas piala, gelas ukur, dan alat gelas lain.

BAB IV

PERCOBAAN DAN HASIL PERCOBAAN

IV.1 PERCOBAAN

IV.1.1 Pemeriksaan kemurnian bahan baku

Bahan baku kofein, parasetamol, dan salisilamida diperoleh dari PT Mecosin Indonesia. Kofein mempunyai sertifikat analisis dari Tundra Trading Company, sesuai spesifikasi British Pharmacopoeia (BP) 1988. Parasetamol mempunyai sertifikat analisis dari Napro Pasific Trading Co. Ltd., sesuai spesifikasi BP 1988/United States Pharmacopeia (USP) 1990. Salisilamida mempunyai sertifikat analisis dari PT Riasima Abadi, sesuai spesifikasi FI edisi III.

IV.1.2 Pemilihan cairan pembawa dan panjang gelombang

a. Pembuatan cairan pembawa.

a.1 Air bebas CO₂.

Didihkan air kuat - kuat selama beberapa menit. Selama pendinginan dan penyimpanan harus terlindung dari udara (2).

a.2 Larutan buffer pH 6,0.

Pindahkan 250 ml larutan KH₂PO₄ 0,2M dan 28 ml larutan NaOH 0,2M ke dalam gelas piala dan tambahkan air bebas CO₂ sampai 1000 ml. Atur pH larutan dengan pH-meter sampai pH 6,0 dengan menambahkan larutan NaOH 0,5M tetes demi tetes (10).

a.3 Larutan buffer pH 10,0.

Pindahkan 250 ml larutan H_3BO_3 0,2M, 250 ml larutan KCl 0,2M, dan 220 ml larutan NaOH 0,2M ke dalam gelas piala dan tambahkan air bebas CO_2 sampai 1000 ml. Atur pH larutan dengan pH-meter sampai pH 10,0 dengan menambahkan larutan NaOH 5M tetes demi tetes (10).

b. Pemilihan cairan pembawa dan panjang gelombang.

Timbang bahan baku dan larutkan dalam air bebas CO_2 sehingga didapat konsentrasi ± 1000 ppm. Untuk membuat larutan salisilamida, terlebih dahulu tambahkan etanol secukupnya hingga larut. Encerkan larutan dengan berbagai macam cairan pembawa sampai konsentrasi ± 10 ppm. Buat spektrum serapan dan kurva derivat pertama setiap larutan. Spektrum maupun kurva derivat pada cairan pembawa yang sama ditumpangtindihkan. Dipilih cairan pembawa yang menghasilkan kurva yang baik. Kurva yang baik adalah bila nilai ekstrim (nilai maksimum atau nilai minimum) cukup besar dan tidak ada gangguan kurva dari zat lain. Untuk analisis dipilih panjang gelombang maksimum pada spektrum serapan dan nilai ekstrim pada kurva derivat.

c. Pengujian panjang gelombang analisis.

Ukur serapan dan catat nilai absorbansi atau ordinat larutan yang mengandung bahan baku tunggal dan campuran dengan konsentrasi yang telah dike-

tahui. Nilai ordinat dari spektrum serapan berupa absorbansi, sedangkan ordinat dari kurva derivat pertama berupa $dA/d\lambda$. Panjang gelombang terpilih bisa dipakai untuk analisis bila nilai ordinat larutan campuran merupakan penjumlahan ordinat bahan baku tunggalnya.

IV.1.3 Uji stabilitas bahan baku

a. Uji stabilitas bahan baku dalam air.

Timbang bahan baku dan larutkan dalam air bebas CO_2 sehingga didapat konsentrasi ± 1000 ppm dan encerkan sampai konsentrasi ± 10 ppm. Ukur dan catat nilai ordinat yang cukup besar pada dua panjang gelombang kurva derivat pertama setiap 3 menit selama ± 20 menit. Diperlukan dua panjang gelombang, karena kestabilan nilai ordinat pada satu panjang gelombang saja belum dapat menyatakan kestabilan bahan. Bahan baku harus stabil selama persiapan larutan sampai selesai pengukuran (± 20 menit). Bahan baku dinyatakan stabil bila perubahan nilai ordinat kurang dari 1%.

b. Uji stabilitas bahan baku dalam etanol.

Prosedur sama seperti percobaan IV.1.3 bagian a.

c. Uji stabilitas bahan baku dalam buffer pH 10,0.

Timbang bahan baku dan larutkan dalam air bebas CO_2 sehingga didapat konsentrasi ± 1000 ppm dan encerkan dengan buffer pH 10,0 sampai konsentrasi

± 10 ppm. Ukur dan catat nilai ordinat kurva derivat pertama pada dua panjang gelombang setiap 3 menit selama ± 20 menit.

IV.1.4 Pembuatan kurva kalibrasi

a. Kurva kalibrasi kofein.

Panaskan kofein dalam oven 80°C selama 4 jam dan dinginkan dalam desikator. Timbang seksama kofein, masukkan dalam labu takar dan larutkan dalam air bebas CO_2 dengan bantuan ultrasound sehingga didapat konsentrasi ± 1000 ppm. Pipet dan encerkan dengan buffer pH 10,0 sampai konsentrasi ± 2 ppm. Buat spektrum serapan dan catat nilai absorbansi spektrum serapan pada panjang gelombang 272,3 dan 250,9 nm. Buat kurva derivat pertama dan catat nilai ordinat pada panjang gelombang 286,4 nm. Ulangi percobaan dengan konsentrasi 3; 4; 5; dan 6 ppm.

b. Kurva kalibrasi parasetamol.

Keringkan parasetamol dalam desikator berisi silika gel selama 18 jam. Timbang seksama parasetamol, masukkan dalam labu takar dan larutkan dalam air bebas CO_2 dengan bantuan ultrasound sehingga didapat konsentrasi ± 1000 ppm. Pipet larutan dan encerkan dengan buffer pH 10,0 sampai konsentrasi ± 10 ppm. Buat spektrum serapan dan catat nilai absorbansi spektrum serapan pada

panjang gelombang 327,7 ; 272,3 ; dan 250,9 nm. Buat kurva derivat pertama dan catat nilai ordinat pada panjang gelombang 286,4 dan 272,5 nm. Ulangi percobaan dengan konsentrasi 15; 17; 20; dan 22 ppm.

c. Kurva kalibrasi salisilamida.

Keringkan salisilamida dalam desikator berisi silika gel selama 18 jam. Timbang seksama salisilamida, masukkan dalam labu takar dan larutkan dalam etanol secukupnya dengan bantuan ultrasound, lalu tambahkan air bebas CO₂ sehingga didapat konsentrasi $\pm$ 1000 ppm. Pipet larutan dan encerkan dengan buffer pH 10,0 sampai konsentrasi $\pm$ 15 ppm. Buat spektrum serapan dan catat nilai absorbansi spektrum serapan pada panjang gelombang 327,7 ; 272,3 ; dan 250,9 nm. Buat kurva derivat pertama dan catat nilai ordinat pada panjang gelombang 344,7 ; 286,4 ; dan 272,5 nm. Ulangi percobaan dengan konsentrasi 20; 25; 30; dan 35 ppm.

IV.1.5 Pengujian metoda

a. Pembuatan serbuk tablet simulasi.

Campurkan laktosa dan amilum (4:1) untuk membuat bahan pembantu tablet. Timbang seksama bahan baku dan bahan pembantu dengan komposisi sesuai sediaan tablet paten. Campur dan gerus semua bahan sampai

homogen. Catat komposisi dan sebut sebagai serbuk tablet simulasi A, B, dan C.

b. Uji perolehan kembali.

Serbuk tablet simulasi terdiri dari A, B, dan C. Timbang seksama ± 70 mg serbuk tablet simulasi A, masukkan dalam labu takar 100,0 ml, lalu tambahkan 2,5 ml etanol. Masukkan labu dalam ultrasound selama ± 2 menit, kemudian tambahkan air bebas CO_2 sampai batas labu dan masukkan lagi dalam ultrasound selama ± 2 menit. Masukkan campuran dalam tabung sentrifuse dan pisahkan dengan alat sentrifugator kecepatan 2000 rotasi per menit selama ± 1 menit. Pipet 0,1 ml larutan, lalu masukkan dalam labu 25,0 ml dan tambahkan buffer pH 10,0 sampai batas labu. Buat spektrum serapan dan catat nilai absorbansi pada panjang gelombang 327,7 ; 272,3 ; dan 250,9 nm. Buat kurva derivat pertama dan catat nilai ordinat pada panjang gelombang 344,7 ; 286,4 ; dan 272,5 nm. Ulangi percobaan sebanyak 5 kali. Lakukan percobaan yang sama pada serbuk tablet simulasi B dan C.

IV.1.6 Pengujian keseragaman bobot dan penetapan kadar

a. Pengujian keseragaman bobot.

Timbang bobot 10 tablet dan hitung bobot rata-rata tiap tablet. Kemudian timbang tablet satu persatu. Tablet memenuhi persyaratan keseragaman

bobot jika tidak satu tablet pun yang bobotnya menyimpang lebih besar 5% dari bobot rata - rata(2).

b. Penetapan kadar.

Tetapkan kadar kafein, parasetamol, dan salisilamida dalam tablet paten yang telah memenuhi persyaratan keseragaman bobot. Masukkan kesepuluh tablet paten P dalam mortir dan gerus sampai homogen. Timbang seksama ± 70 mg serbuk tablet. Prosedur selanjutnya sama seperti pada percobaan IV.1.5 bagian b. Ulangi percobaan sebanyak 10 kali. Lakukan percobaan yang sama pada tablet paten Q, R, dan S.

IV.2 HASIL PERCOBAAN

IV.2.1 Pemeriksaan kemurnian bahan baku

Hasil pemeriksaan kemurnian bahan baku dapat dilihat pada Tabel 1 sampai dengan Tabel 3. Ketiga bahan baku memenuhi persyaratan kemurnian bahan sesuai spesifikasi masing - masing.

IV.2.2 Pemilihan cairan pembawa dan panjang gelombang

a. Pemilihan cairan pembawa.

Spektrum serapan dan kurva derivat pertama ketiga larutan bahan baku dalam buffer pH 6,0 dan buffer pH 10,0 dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Dalam buffer pH 10,0 , kafein tidak memberikan

serapan pada panjang gelombang maksimum salisilamida (327,7 nm) dan serapan parasetamol relatif sangat kecil. Sedangkan dalam buffer pH 6,0, kafein dan parasetamol memberikan serapan yang relatif besar. Pada kurva derivat, nilai minimum salisilamida dalam buffer pH 10,0 relatif lebih besar dibandingkan dalam buffer pH 6,0. Nilai ordinat parasetamol dan salisilamida pada nilai minimum kafein dalam buffer pH 10,0 lebih mudah diperhitungkan dibandingkan dalam buffer pH 6,0. Dengan demikian, buffer pH 10,0 dipilih sebagai cairan pembawa.

b. Pemilihan panjang gelombang.

Panjang gelombang analisis spektrum serapan adalah 327,7 ; 272,3 ; dan 250,9 nm. Panjang gelombang tersebut berturut - turut merupakan panjang gelombang maksimum salisilamida, kafein, dan parasetamol. Sedangkan untuk analisis kurva derivat dipilih panjang gelombang 344,7 ; 286,4 ; dan 272,5 nm. Panjang gelombang tersebut berturut - turut merupakan nilai ekstrim salisilamida, kafein, dan parasetamol.

c. Pengujian panjang gelombang analisis.

Data pengukuran nilai absorbansi dan ordinat bahan baku tunggal dan campuran dapat dilihat pada Tabel 4. Pada spektrum serapan, nilai absorbansi larutan campuran merupakan penjumlahan absorbansi

bahan baku tunggalnya. Dengan demikian panjang gelombang tersebut dapat dipakai untuk analisis. Pada kurva derivat pertama, penyimpangan nilai ordinat pada panjang gelombang 286,4 nm (nilai maksimum kofein) mencapai 2%. Nilai ordinat pada panjang gelombang 344,7 dan 272,5 nm merupakan penjumlahan ordinat bahan tunggalnya.

IV.2.3 Uji stabilitas bahan baku

Pelarut yang dipakai adalah air, etanol, dan buffer pH 10,0. Kestabilan setiap bahan baku dalam air, etanol, dan buffer pH 10,0 dapat dilihat pada Tabel 5. Kofein dan parasetamol stabil dalam semua pelarut. Sedangkan salisilamida stabil dalam air dan etanol, tapi tidak stabil dalam buffer, karena perubahan nilai ordinat mencapai 8%.

IV.2.4 Pembuatan kurva kalibrasi

a. Kurva kalibrasi kofein.

Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kofein berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 3. Kurva kalibrasinya pada Gambar 4, sedangkan data nilai absorbansi dan ordinatnya pada Tabel 6.

b. Kurva kalibrasi parasetamol.

Spektrum serapan dan kurva derivat pertama parasetamol berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 5. Kurva kalibrasinya pada Gambar 6, sedangkan data nilai absorbansi dan ordinatnya pada Tabel 6.

c. Kurva kalibrasi salisilamida.

Spektrum serapan dan kurva derivat pertama salisilamida berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 7. Kurva kalibrasinya pada Gambar 8, sedangkan data nilai absorbansi dan ordinatnya pada Tabel 6.

IV.2.5 Pengujian metoda

a. Pembuatan serbuk tablet simulasi.

Data kadar bahan tiap tablet simulasi A, B, dan C dapat dilihat pada Tabel 7.

b. Uji perolehan kembali.

Hasil pengukuran nilai absorbansi dan ordinat tablet simulasi A, B, dan C dapat dilihat pada Tabel 8. Hasil uji perolehan kembali kadar ketiga bahan berkhasiat dalam tablet simulasi dapat dilihat pada Tabel 9. Metoda spektrofotometri persamaan simultan memberikan hasil uji perolehan kembali kadar ketiga bahan berkhasiat 98,2 - 100,7% dari kadar sesungguhnya. Dengan metoda spektrofotometri derivatif pertama, kadar parasetamol dan salisilamida yang diperoleh kembali adalah 97,5 - 100,3% dari kadar sesungguhnya. Sedangkan kadar kafein yang diperoleh kembali adalah 93,9 - 96,3% dari kadar sesungguhnya.

IV.2.6 Pengujian keseragaman bobot dan penetapan kadar

a. Pengujian keseragaman bobot.

Data komposisi bahan berkhasiat keempat tablet paten dapat dilihat pada Tabel 10. Bobot rata - rata tablet paten P, Q, R, dan S berturut - turut adalah 591,17 ; 492,23 ; 702,74 ; dan 655,32 mg. Semua tablet memenuhi persyaratan keseragaman bobot menurut FI edisi III, karena tidak satu tabletpun yang bobotnya menyimpang lebih besar 5% dari bobot rata - rata.

b. Penetapan kadar.

Hasil pengukuran nilai absorbansi dan ordinat larutan tablet paten P, Q, R, dan S dapat dilihat pada Tabel 11 sampai dengan Tabel 14. Hasil penetapan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam sediaan tablet paten dapat dilihat pada Tabel 15. Dengan metoda spektrofotometri persamaan simultan, kadar ketiga bahan baku berkisar 95,7 - 102,2%. Dengan metoda spektrofotometri derivatif pertama, kadar parasetamol dan salisilamida berkisar 96,6 - 102,2%, sedangkan kadar kofein yang diperoleh berkisar 90,9 - 98,7%. Kadar ketiga bahan berkhasiat dalam semua tablet paten tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% terhadap kadar yang tercantum dalam label. Dengan demikian semua tablet paten memenuhi persyaratan kadar menurut BP 1988(22).

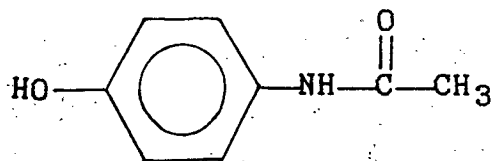
BAB V

PEMBAHASAN

Pada analisis kuantitatif bahan campuran secara spektrofotometri, bahan tunggalnya diperlukan dalam keadaan murni. Kadar bahan dalam campuran dapat ditetapkan dengan membandingkan nilai absorbansi atau ordinat campuran dengan bahan tunggal yang sesuai. Tahap pertama pada penelitian ini adalah uji kemurnian bahan baku (Tabel 1 sampai dengan Tabel 3).

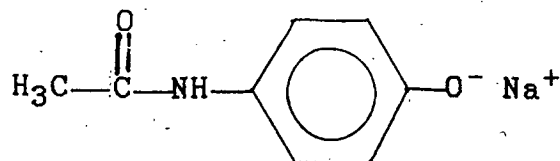
Pelarut yang digunakan adalah air suling. Sifat baik yang ikut mempengaruhi pertimbangan penggunaannya, antara lain : murah, mudah diperoleh, tidak toksik, dan tidak mudah menguap. Sifat tidak mudah menguap ini penting untuk menjaga konsentrasi zat terlarut konstan selama pengukuran. Air suling yang digunakan harus dibebaskan dari CO_2 , karena gas CO_2 terlarut mempengaruhi pH larutan.

Kofein dengan $\text{pK}_a = 14,0$ (13) akan mempunyai bentuk struktur yang sama pada pH 6,0 dan pH 10,0, yaitu bentuk molekul. Dengan demikian, spektrum serapan larutan kofein pada kedua pH juga akan sama. Sedangkan salisilamida $\text{pK}_a = 8,2$ (13) dan parasetamol $\text{pK}_a = 9,5$ (13) mempunyai bentuk struktur berbeda pada kedua pH. Dalam buffer pH 6,0 dan pH 10,0, parasetamol berada dalam bentuk sebagai berikut :



parasetamol

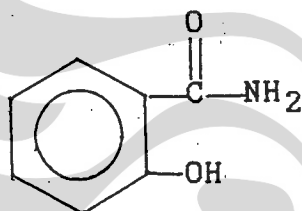
bentuk molekul(pH 6,0)



parasetamol

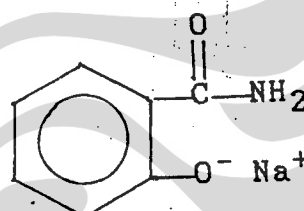
bentuk ion(pH 10,0)

Demikian juga salisilamida dalam buffer pH 6,0 dan buffer pH 10,0 berada dalam bentuk sebagai berikut :



salisilamida

bentuk molekul(pH 6,0)



salisilamida

bentuk ion(pH 10,0)

Dengan demikian, spektrum serapan parasetamol dan salisilamida pada kedua pH juga akan berbeda (10).

Spektrum serapan dan kurva derivat pertama larutan kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 10,0 merupakan kurva yang baik untuk analisis kuantitatif. Dengan demikian, buffer pH 10,0 dipilih sebagai cairan pembawa (Gambar 1 dan Gambar 2).

Pada analisis kuantitatif, hanya nilai ekstrim yang diperhatikan. Nilai ekstrim pada spektrum serapan berupa

serapan maksimum. Sedangkan nilai ekstrim kurva derivat berupa nilai maksimum dan nilai minimum. Titik zero - crossing juga diperhatikan pada analisis kurva derivat. Pada analisis spektrum serapan, serapan maksimum sebaiknya cukup besar (0,6 - 1,2 satuan absorbansi)(13) dan tidak mendapat gangguan serapan dari zat lain. Bila gangguan tetap ada dan dapat diperhitungkan, maka analisis campuran ini masih dapat dilaksanakan dengan memilih panjang gelombang maksimum sebagai panjang gelombang analisis. Hal yang sama juga dilakukan pada analisis kurva derivat.

Pada analisis spektrum serapan bahan campuran, sulit menemukan serapan maksimum suatu zat yang tidak diganggu oleh serapan dari zat lain. Oleh karena itu, diperlukan beberapa persamaan untuk menentukan serapan setiap bahan (spektrofotometri persamaan simultan). Sedangkan pada kurva derivat, setiap bahan akan menunjukkan titik zero - crossing. Dengan memilih titik ini sebagai panjang gelombang analisis, maka jumlah persamaan dapat dikurangi dan perhitungan dapat dipermudah.

Sebelum panjang gelombang terpilih dapat dipakai, perlu dilakukan pengujian kuantitatif terlebih dahulu. Bila nilai ordinat larutan campuran merupakan penjumlahan ordinat bahan baku tunggalnya, maka panjang gelombang tersebut dapat dipakai untuk analisis kuantitatif. Penyimpangan yang terjadi disebabkan oleh kesalahan pengenceran dan sensitivitas alat.

Pada spektrum serapan, nilai absorbansi larutan

campuran merupakan penjumlahan absorbansi bahan tunggalnya. Dengan demikian, panjang gelombang tersebut dapat dipakai untuk analisis. Pada kurva derivat pertama, panjang gelombang 286,4 nm (nilai maksimum kofein) menunjukkan hasil yang kurang baik, karena penyimpangan nilai ordinat mencapai 2%. Nilai ordinat larutan campuran pada panjang gelombang 344,7 dan 272,5 nm merupakan penjumlahan ordinat larutan bahan tunggalnya (Tabel 4).

Bahan baku harus stabil selama persiapan larutan sampai selesai pengukuran untuk mendapatkan hasil yang teliti pada pengukuran ulang. Stabilitas ketiga bahan baku diuji dalam pelarut yang digunakan, yaitu air, etanol, dan buffer pH 10,0. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga bahan baku stabil dalam air dan etanol. Kestabilan mutlak diperlukan terutama dalam air dan etanol, karena ketiga bahan baku cukup lama berada dalam cairan ini. Sedangkan dalam buffer pH 10,0, hanya diperlukan kestabilan ± 2 menit, karena penambahan buffer dilakukan pada pengenceran terakhir. Dengan demikian, walaupun kestabilan salisilamida hanya bertahan ± 3 menit, buffer pH 10,0 masih bisa dipakai (Tabel 5).

Selain terhadap kestabilan bahan baku, juga diperiksa pengaruh serapan etanol terhadap serapan bahan uji. Hasil pengujian menunjukkan bahwa serapan etanol tidak berarti pada kadar yang digunakan. Beberapa bahan yang juga diperiksa pengaruh serapannya terhadap serapan bahan uji adalah massa tablet, klorpheniramin maleat, dan mebhidro-

lina napadisilat. Massa tablet tidak berpengaruh terhadap pengukuran serapan bahan uji. Serapan akibat kekeruhan massa tablet dapat dieliminasi dengan sentrifugasi campuran sebelum dilakukan pengukuran. Sebaiknya pemeriksaan pengaruh bahan pembantu dilakukan terhadap semua bahan pembantu yang mungkin terdapat dalam tablet paten. Seperti halnya etanol, serapan klorpheniramin maleat tidak berarti ($<0,15\%$ absorbansi total) pada kadar yang lazim digunakan dalam tablet (1 - 4 mg). Mebidrolina napadisilat praktis tidak larut dalam air (12), sehingga serapannya terlalu kecil untuk mempengaruhi serapan bahan uji.

Dasar analisis kuantitatif metoda spektrofotometri adalah perbandingan serapan bahan uji dengan serapan bahan yang sesuai. Dasar yang sama juga digunakan pada spektrofotometri derivatif. Kurva perubahan absorbansi (A) atau $dA/d\lambda$ terhadap konsentrasinya disebut *kurva kalibrasi*. Dari kurva kalibrasi dapat diketahui konsentrasi maksimum larutan yang masih memenuhi hukum Beer - Lambert.

Untuk membuat kurva kalibrasi diperlukan sekurang - kurangnya lima larutan yang berbeda konsentrasi (13). Pada penelitian ini, besarnya konsentrasi larutan disesuaikan dengan konsentrasi yang akan dijumpai pada penetapan kadar bahan campuran. Oleh sebab itu, dari 8 konsentrasi kofein yang dibuat, hanya 5 konsentrasi saja yang dipakai untuk membuat kurva kalibrasi (Gambar 3).

Kurva kalibrasi yang dihasilkan relatif baik, karena koefisien korelasi r mendekati -1 atau 1. Koefisien

korelasi kurva kalibrasi salisilamida panjang gelombang 272,5 nm pada spektrum serapan adalah 0,97720. Koefisien korelasi kurva kalibrasi parasetamol panjang gelombang 327,7 nm pada kurva derivat pertama adalah 0,90276. Kekurangan ini disebabkan oleh kemiringan (slope) garis yang relatif kecil ($2,37 \cdot 10^{-4}$ dan $2,81 \cdot 10^{-4}$). (Gambar 3 sampai dengan Gambar 8 dan Tabel 6)

Sebelum metoda analisis bisa dipakai, perlu dilakukan pengujian terlebih dahulu. Cara pengujian metoda pada penelitian ini adalah dengan menguji kembali kadar campuran yang telah diketahui komposisinya (uji perolehan kembali).

Ketiga kadar bahan yang diperoleh kembali dengan metoda spektrofotometri persamaan simultan relatif tepat (98,2 - 100,7%) dan cukup teliti dengan simpangan baku 0,5 - 1,6%. Metoda spektrofotometri derivatif pertama baik digunakan pada penetapan kadar parasetamol dan salisilamida (97,5 - 100,3%), sedangkan kofein yang diperoleh kembali relatif rendah (93,9 - 96,3%). Hasil yang kurang baik ini disebabkan oleh kadar kofein yang rendah dalam campuran. Selain itu, nilai ordinat parasetamol dan ordinat salisilamida relatif besar pada nilai ekstrim kofein. Dengan demikian, metoda spektrofotometri derivatif pertama dan persamaan simultan dalam buffer pH 10,0 dapat dipakai untuk menetapkan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam tablet (Tabel 7 sampai dengan Tabel 9).

Metoda ini selanjutnya dipakai untuk menetapkan kadar

kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam beberapa tablet paten. Tablet paten yang akan ditetapkan kadarnya terlebih dahulu diuji keseragaman bobotnya. Pengujian ini bertujuan untuk mendapat tablet yang baik (yang memenuhi persyaratan) dan bobot rata - rata tablet.

Menurut FI edisi III, kadar salisilamida dalam tablet adalah 95,0 - 105,0% dari kadar yang tertera. Menurut FI edisi III dan BP 1988, kadar parasetamol dalam tablet adalah 95,0 - 105,0%. Menurut USP edisi XXII, kadar kofein dalam tablet adalah 90,0 - 110,0%. Dalam BP 1988 disebutkan bahwa persyaratan kadar dalam tablet adalah 90,0 - 110,0%.

Dengan metoda spektrofotometri persamaan simultan, kadar parasetamol dan salisilamida dalam tablet paten P relatif rendah (95,8% dan 95,7%) dibandingkan tablet paten lain (99,5 - 100,5%). Hasil yang sama juga diperoleh dari metoda spektrofotometri derivatif pertama (97,6 - 96,6%). Simpangan baku penetapan kadar parasetamol dan salisilamida dengan kedua metoda relatif rendah (0,359 - 1,067%). Dengan metoda spektrofotometri persamaan simultan, kadar kofein yang diperoleh dari keempat tablet paten berkisar 97,9 - 102,2% dengan simpangan baku 1,002 - 1,539%. Dengan metoda spektrofotometri derivatif kadar kofein yang diperoleh berkisar 90,9 - 98,7% (rata - rata $95,07 \pm 3,59\%$). Jika hasil ini dibandingkan dengan uji perolehan kembali kofein (rata - rata $95,36 \pm 1,06\%$), maka diperoleh rata - rata $99,69 \pm 3,76\%$. Dengan demikian, kadar ketiga bahan

berkhasiat dalam keempat tablet paten yang diuji memenuhi batasan kadar menurut BP 1988, FI edisi III, dan USP edisi XXII (Tabel 11 sampai dengan Tabel 15).



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan :

Metoda spektrofotometri ultraviolet derivatif I dan persamaan simultan dalam buffer pH 10,0 dapat dipakai untuk menetapkan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam sediaan tablet secara serentak. Hasil penetapan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam semua tablet paten yang diuji memenuhi persyaratan kadar menurut British Pharmacopoeia 1988 (90,0 - 110,0%).

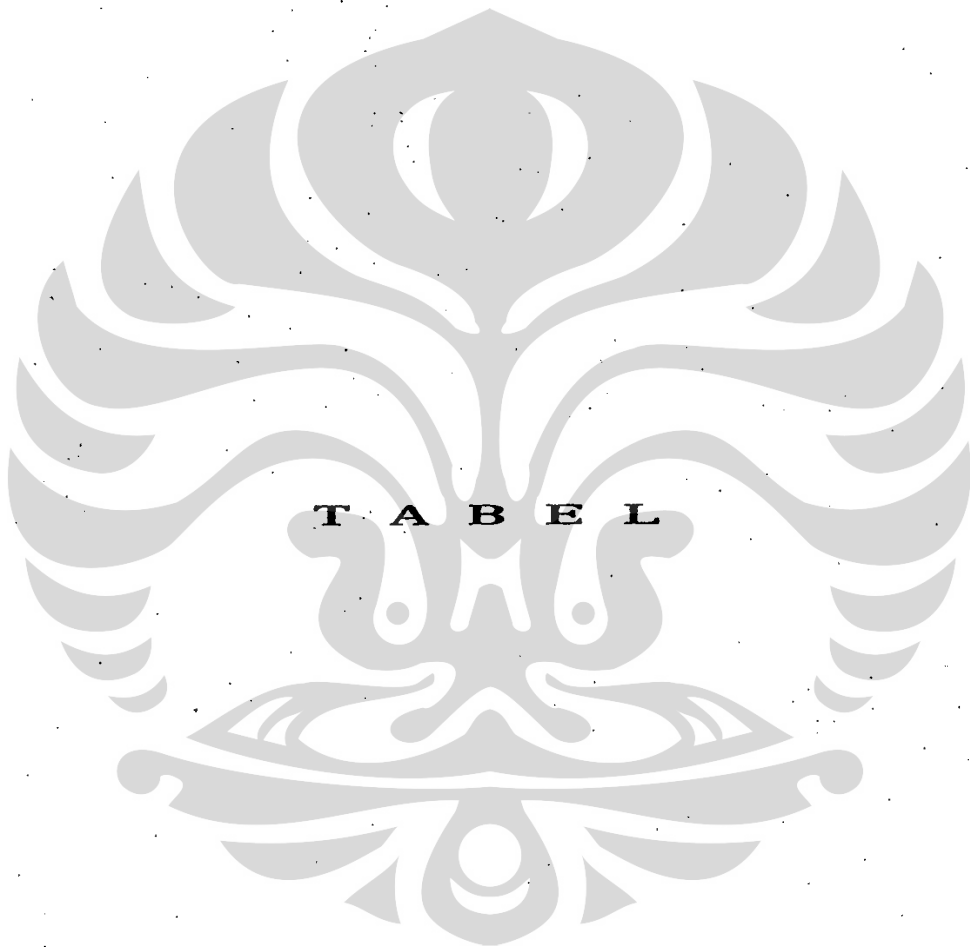
Saran :

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari metoda yang dapat menetapkan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dengan adanya thiamin HCl, vitamin C, asetosal, atau bahan lain yang lazim terdapat dalam tablet analgetik - antipiretik.

DAFTAR PUSTAKA

1., *Farmakologi dan Terapi*, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1987, 183 - 186; 189; 190 - 191; 201 - 207.
2., *Farmakope Indonesia*, edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, 7; 37 - 38; 175; 563 - 564.
3., *Informasi Spesialite Obat Indonesia*, Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, Volume XXII, Jakarta, 1989, 161; 268 - 280.
4. Verma, Krishna K., et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76(7), 1987, 551 - 553.
5. Gupta, V. Das, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(1), 1980, 110 - 112.
6. Fabrizio, de Fabrizio, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(7), 1980, 854 - 855.
7. Soliman, A. Sobhi, Ali Salaheldin, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(11), 1976, 1627 - 1630.
8. Elsayed, M. Abdel-Hady, et al., *Analyst*, 104, 1979, 620 - 625.
9. Clayton, A. W., R. E. Thiers, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(4), 1966, 404 - 406.
10. Shane, Norman, Marie Kowblansky, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 59(7), 1968, 1218 - 1223.
11., *Martindale*, 28th edition, The Pharmaceutical Press, London, 1982, 268 - 271; 277; 340 - 341.
12. Windolz, Martha, et al., editors, *The Merck Index*, 10th edition, Merck & Co. Inc., Rahway, New York, 1983, 225 - 226; 822.
13., *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd edition, The Pharmaceutical Press, London, 1982, 221 - 236; 420 - 422; 849 - 850; 964 - 965.
14., *The United States Pharmacopeia*, 22nd edition, Mc. Publ. Co., Easton, Pennsylvania, 1990, 12 - 21; 204 - 205; 1235 - 1236.

15. Sastroamidjojo, Hardjono, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta, 1965, 1 - 44.
16. Fessenden, Ralph J., Joan S. Fessenden, terj., *Kimia Organik*, edisi III, jilid 2, Erlangga, Jakarta, 1989, 436 - 450.
17., *Vogel's Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*, 4th edition, The English Language Book Society and Longman, London, 1978, 693 - 699.
18. Willard, Hobart H. , Lynne L. Merritt, Jr., John A. Dean, *Instrumental Methods of Analysis*, 4th edition, Affiliated East-west Press PVT.LTD, New Delhi, 1965, 89 - 100.
19. Munson, James W., editor, *Pharmaceutical Analysis : Modern Methods*, part B, Mardel Dekker Inc., New York, 1984, 456 - 482.
20. Schmitt, A., *Derivative Spectroscopy : An Introduction with Practical Examples*, Laporan Ilmiah Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta.
21. Knowless, A., and C. Burgess, editor, *Practical Absorption Spectrometry*, Chapman and Hall, London, 1984, 178 - 184.
22. Elsayed, M. Abdel-Hadey, et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(6), 1979, 739 - 741.
23., *British Pharmacopoeia*, Her Majesty's Stationary Office, London, 1988, 84 - 84; 895; 414 - 415.
24. Davidson, A. G., and H. Elsheikh, *Analyst*, 107, 1982, 879 - 884.
25. Morelli, Basilio, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77(12), 1988, 1042 - 1046.
26. Morelli, Basilio, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(3), 1990, 261 - 265.



T A B E L

Tabel 1.

Hasil analisis kafein
spesifikasi BP 1988.

No.	Pemeriksaan	Syarat	Hasil
1	Suhu lebur	234–239°C	236–237°C
2	Keasaman/ kebasaan	Larutkan 0,5 g dalam 50 ml air bebas karbon dioksida dengan pemanasan dan dinginkan (larutan A). Dalam 10 ml larutan tambahkan 0,05 ml larutan biru bromtimol 0,4%. Larutan berwarna hijau atau kuning dan diperlukan tidak lebih dari 0,2 ml larutan NaOH 0,01M untuk merubah larutan menjadi berwarna biru.	< 0,1 ml NaOH 0,02N
3	Kejernihan dan warna larutan	Larutan A jernih dan tak berwarna	Sesuai
4	Susut pengeringan	< 0,5%	0,13%
5	Sisa pemijaran	< 0,1%	0,02%
6	Penetapan kadar	98,5-101,5%	99,40%

Pemeriksaan dilakukan oleh Tundra Trading Co.

Tabel 2.

Hasil analisis parasetamol
spesifikasi BP 1988/USP edisi XXII.

No.	Pemeriksaan	Syarat	Hasil
1	Pemerian	Serbuk hablur putih; tidak berbau	serbuk hablur halus; putih
2	Identifikasi	A. Spektrum serapan infra merah dalam KBr, yang terlebih dahulu dikeringkan, menghasilkan maksimum hanya pada panjang gelombang yang sama dengan preparat serupa dari Acetaminophen baku B. Spektrum serapan ultra violet larutan 5 ppm dalam larutan 1% HCl 0,1 N/metanol menghasilkan maksimum dan minimum pada panjang gelombang yang sama dengan larutan serupa dari Acetaminophen C. Dalam 10 ml larutan 1% tambahkan 1 tetes larutan 9% besi(III) klorida : warna biru violet akan dihasilkan D. Reaksi karakteristik dari gugus acetil.	Sesuai Sesuai Sesuai
3	Suhu lebur	168–172°C	169,6–171,2°C
4	Logam berat	< 0,001%	< 10 ppm
5	Susut pengeringan	< 0,5%	0,08%
6	Sisa pemijaran	< 0,1%	0,04%
7	Penetapan kadar	98,0-101,0%	99,62%

Pemeriksaan dilakukan oleh Napro Pacific Trading Co. Ltd.

Tabel 3.

Hasil analisis salisilamida
spesifikasi FI edisi III.

No.	Pemeriksaan	Syarat	Hasil
1	Pemerian	Serbuk hablur; warna putih hampir tidak berbau	Hablur putih tidak berbau
2	Kelarutan	Sukar larut dalam air; larut dalam etanol (95%)P dan dalam propilenglikol P; agak sukar larut dalam kloroform P dan dalam eter P; mudah larut dalam larutan alkali	Sesuai
3	Identifikasi	A. Larutkan lebih kurang 100 mg dalam 5 ml etanol(95%) P, tambahkan beberapa tetes larutan besi(III) klorida P; terjadi warna violet.	Sesuai
		B. Larutkan lebih kurang 200 mg dalam 5 ml etanol(95%) P, encerkan dengan air secukupnya hingga 20,0 ml, tambahkan larutan brom P perlahan - lahan sambil dikocok hingga warna kuning mantap, biarkan pada suhu kamar selama 30 menit. Kumpulkan endapan di atas kertas saring, cuci dengan air, hablurkan kembali dengan etanol(95%) P, saring, keringkan dalam hampa udara di atas fosforpentoksida P; suhu lebur hablur, 3,5-dibromosalisilamida 183-185°C	Sesuai
			Sesuai
4	Jarak lebur	139-142°C	140,0°C
5	Kadar air	< 0,5%	0,132%
6	Sisa pemijaran	< 0,05%	0,009%
7	Penetapan kadar	98,0-102,0%	99,7%

Pemeriksaan dilakukan oleh PT Riasima Abadi.

Tabel 4.

Nilai absorbansi dan ordinat bahan baku tunggal dan campuran dalam buffer pH 10,0.

Bahan baku	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
kof.	4	0	0,211	0,073	0	-0,065	0
par.	20	0,005	0,869	1,338	0	-0,097	-0,148
sal.	20	0,862	0,030	0,602	-0,187	0,046	0,004
kof. + par.	4+20	0,005	1,079	1,418	0	-0,162	-0,151
kof. + sal.	4+20	0,861	0,238	0,671	-0,187	-0,020	0,003
par. + sal.	20+20	0,868	0,898	1,952	-0,188	-0,050	-0,144
kof. + par. + sal.	4 + 20 + 20	0,861	1,107	2,011	-0,189	-0,113	-0,143

kof. = kofein

par. = parasetamol

sal. = salisilamida

Tabel 5.

Hasil uji stabilitas kofein, parasetamol, dan salisilamida
dalam air, etanol, dan buffer pH 10,0.

Pelarut	Kestabilan bahan baku		
	kofein	parasetamol	salisilamida
air	stabil	stabil	stabil
etanol	stabil	stabil	stabil
buffer	stabil	stabil	tidak stabil

Kestabilan diuji selama ± 20 menit.

Stabil = perubahan Absorbansi / $dA/d\lambda$ kurang dari 1%.

Tidak stabil = perubahan Absorbansi / $dA/d\lambda$ lebih dari 1%.

Tabel 6.

Nilai absorbansi dan ordinat kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 10,0 pada panjang gelombang analisa.

Bahan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
kofein	2,0640	0	0,109	0,037	0	-0,032	0
	2,9952	0	0,157	0,055	0	-0,048	0
	4,0128	0	0,213	0,074	0	-0,065	0
	5,0000	0	0,263	0,095	0	-0,081	0
	6,0000	0	0,314	0,113	0	-0,097	0
parasetamol	10,0320	0,004	0,441	0,682	0	-0,048	-0,078
	15,0400	0,005	0,642	0,990	0	-0,071	-0,110
	17,6000	0,005	0,753	1,170	0	-0,084	-0,132
	20,3200	0,006	0,873	1,340	0	-0,098	-0,151
	22,5600	0,008	0,970	1,494	0	-0,108	-0,168
salisilamida	15,0800	0,640	0,022	0,454	-0,137	0,033	0,002
	20,0400	0,852	0,029	0,594	-0,185	0,044	0,003
	22,7200	0,958	0,031	0,672	-0,206	0,051	0,005
	29,9200	1,261	0,041	0,889	-0,274	0,065	0,006
	34,9600	1,473	0,052	1,041	-0,319	0,077	0,007

Tabel 7.

Kadar bahan tiap tablet simulasi A, B, dan C.

Tablet	Kadar bahan (%)			
	kofein	parasetamol	salisilamida	massa tablet*
A	6,018	23,985	50,015	19,984
B	9,083	36,409	36,331	18,183
C	7,156	35,738	35,666	21,440

*Massa tablet terdiri dari laktosa dan amilum (4:1).

Berat tiap tablet A = 500 mg

B = 550 mg

C = 700 mg.

Tabel 8.

Nilai absorbansi dan ordinat
tablet simulasi dalam buffer pH 10,0.

Tablet	Penim- bangan* mg/50,0ml	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
A	75,1	1,271	0,846	1,902	-0,274	-0,057	-0,101
	75,3	1,285	0,845	1,909	-0,273	-0,057	-0,100
	75,3	1,264	0,852	1,909	-0,272	-0,058	-0,100
	74,4	1,271	0,851	1,920	-0,275	-0,057	-0,101
	74,4	1,258	0,832	1,880	-0,271	-0,055	-0,097
B	66,9	0,830	1,120	1,960	-0,180	-0,127	-0,142
	67,0	0,837	1,111	1,951	-0,178	-0,125	-0,140
	67,1	0,837	1,120	1,969	-0,178	-0,125	-0,141
	67,0	0,816	1,130	1,971	-0,177	-0,128	-0,143
	64,5	0,811	1,061	1,870	-0,174	-0,118	-0,137
C	66,6	0,794	1,059	1,913	-0,169	-0,10	-0,141
	60,0	0,729	0,922	1,683	-0,157	-0,095	-0,123
	56,4	0,682	0,888	1,612	-0,147	-0,089	-0,119
	55,0	0,668	0,876	1,588	-0,145	-0,090	-0,116
	56,4	0,681	0,888	1,610	-0,147	-0,090	-0,119

* Larutan diencerkan 25 kali.

Tabel 9.

Hasil uji perolehan kembali kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam tablet simulasi A, B, dan C.

Tablet	Kadar (%)	Persamaan simultan			Spektrofotometri derivatif I		
		K	P	S	K	P	S
A	r	99,822	98,762	100,542	96,338	97,524	100,348
	SD	1,502	1,379	0,660	0,629	1,347	0,794
B	r	99,246	99,712	100,052	95,852	99,752	100,310
	SD	0,765	1,319	1,103	1,948	0,768	0,824
C	r	98,180	100,690	98,594	93,890	100,210	99,230
	SD	0,507	1,634	0,557	2,477	1,201	1,156

Cara perolehan kembali kadar ketiga bahan berkhasiat adalah tanpa proses pemisahan dalam buffer pH 10,0 menggunakan metoda spektrofotometri ultraviolet derivatif I dan persamaan simultan.

r = rata - rata
SD = simpangan baku
K = kofein
P = parasetamol
S = salisilamida.

Tabel 10.

Komposisi bahan berkhasiat tiap tablet paten P, Q, R, dan S sesuai label.

Bahan berkhasiat	Berat dalam tiap tablet (mg)			
	P	Q	R	S
kofein	50	30	50	50
parasetamol	200	120	250	200
salisilamida	200	250	250	200
CTM	1	2	-	-
mebhidrolina	-	-	-	15

Tabel 11.

Nilai absorbansi dan ordinat
tablet paten P dalam buffer pH 10,0.

No.	Penim- bangan* mg/50,0ml	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
1	65,1	0,7285	0,9877	1,7162	-0,1591	-0,1099	-0,1254
2	61,5	0,6795	0,9249	1,6047	-0,1466	-0,1029	-0,1189
3	65,8	0,7258	1,0037	1,7372	-0,1570	-0,1122	-0,1295
4	66,5	0,7320	1,0000	1,7417	-0,1583	-0,1119	-0,1265
5	67,3	0,7544	1,0094	1,7615	-0,1642	-0,1126	-0,1296
6	68,2	0,7638	1,0130	1,7726	-0,1643	-0,1140	-0,1331
7	67,1	0,7489	1,0055	1,7569	-0,1605	-0,1123	-0,1286
8	65,0	0,7155	0,9783	1,7048	-0,1552	-0,1091	-0,1256
9	66,5	0,7400	0,9953	1,7371	-0,1582	-0,1102	-0,1296
10	66,2	0,7359	0,9969	1,7375	-0,1580	-0,1124	-0,1289

* Larutan diencerkan 25 kali.

Tabel 12.

Nilai absorbansi dan ordinat
tablet paten Q dalam buffer pH 10,0.

No.	Penim- bangan*	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
1	70,0	1,1990	0,8284	1,8338	-0,2594	-0,0581	-0,0993
2	68,8	1,1874	0,8131	1,8073	-0,2567	-0,0571	-0,0975
3	68,9	1,1787	0,7985	1,7847	-0,2550	-0,0546	-0,0956
4	69,6	1,1960	0,8112	1,8127	-0,2579	-0,0559	-0,0968
5	69,3	1,1907	0,8091	1,8049	-0,2561	-0,0562	-0,0969
6	67,9	1,1612	0,7870	1,7617	-0,2528	-0,0557	-0,0956
7	68,2	1,1752	0,7924	1,7768	-0,2536	-0,0552	-0,0963
8	68,4	1,1771	0,7963	1,7834	-0,2539	-0,0557	-0,0953
9	69,3	1,1914	0,8043	1,7999	-0,2594	-0,0549	-0,0961
10	68,5	1,1686	0,8042	1,7832	-0,2527	-0,0559	-0,0960

* Larutan diencerkan 25 kali.

Tabel 13.

Nilai absorbansi dan ordinat
tablet paten R dalam buffer pH 10,0.

No.	Penim- bangan* mg/50,0ml	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
1	68,4	0,8392	1,0696	1,9421	-0,1807	-0,1095	-0,1461
2	67,9	0,8304	1,0587	1,9259	-0,1793	-0,1085	-0,1415
3	67,7	0,8272	1,0593	1,9266	-0,1775	-0,1080	-0,1431
4	68,4	0,8345	1,0643	1,9370	-0,1792	-0,1101	-0,1472
5	68,2	0,8313	1,0632	1,9285	-0,1781	-0,1078	-0,1437
6	68,1	0,8240	1,0531	1,9130	-0,1785	-0,1104	-0,1421
7	67,3	0,8215	1,0441	1,8992	-0,1749	-0,1076	-0,1409
8	67,9	0,8282	1,0569	1,9208	-0,1801	-0,1093	-0,1448
9	66,8	0,8180	1,0449	1,8961	-0,1744	-0,1068	-0,1417
10	68,0	0,8241	1,0516	1,9124	-0,1779	-0,1095	-0,1427

* Larutan diencerkan 25 kali.

Tabel 14.

Nilai absorbansi dan ordinat
tablet paten S dalam buffer pH 10,0.

No.	Penim- bangan* mg/50,0ml	Absorbansi pada λ spektrum serapan (nm)			Ordinat pada λ kurva derivat I (nm)		
		327,7	272,3	250,9	344,7	286,4	272,5
1	71,3	0,7560	0,9938	1,7551	-0,1646	-0,1100	-0,1248
2	72,3	0,7543	1,0228	1,7912	-	-	-
3	73,3	0,7687	1,0178	1,7922	-0,1682	-0,1150	-0,1292
4	71,6	0,7453	0,9867	1,7413	-0,1622	-0,1107	-0,1255
5	71,2	0,7381	0,9908	1,7394	-0,1602	-0,1129	-0,1249
6	72,0	0,7486	1,0123	1,7752	-0,1636	-0,1163	-0,1283
7	71,8	0,7573	0,9904	1,7568	-0,1651	-0,1112	-0,1265
8	72,7	0,7607	1,0173	1,7900	-0,1654	-0,1151	-0,1276
9	73,0	0,7617	1,0202	1,7915	-0,1665	-0,1155	-0,1295
10	72,7	0,7586	1,0170	1,7887	-0,1660	-0,1161	-0,1272

* Larutan diencerkan 25 kali.

Tabel 15.

Hasil penetapan kadar kofein, parasetamol, dan salisilamida dalam sediaan tablet paten P, Q, R, dan S.

Tablet	Kadar (%)	Persamaan simultan			Spektrofotometri derivatif I		
		K	P	S	K	P	S
P	r	99,134	95,815	95,793	90,853	97,756	96,590
	SD	1,365	0,764	0,727	1,552	0,938	0,965
Q	r	102,225	100,543	100,022	98,716	100,476	100,544
	SD	1,539	0,639	0,359	0,922	0,808	0,433
R	r	101,177	99,489	100,457	92,168	102,162	100,886
	SD	1,002	0,438	0,416	1,901	1,067	0,624
S	r	97,904	99,869	100,130	98,522	98,702	101,917
	SD	1,305	0,739	0,849	1,898	0,610	0,784

Cara penetapan kadar ketiga bahan berkhasiat adalah tanpa proses pemisahan dalam buffer pH 10,0 menggunakan metoda spektrofotometri ultraviolet derivatif I dan persamaan simultan.

r = rata - rata

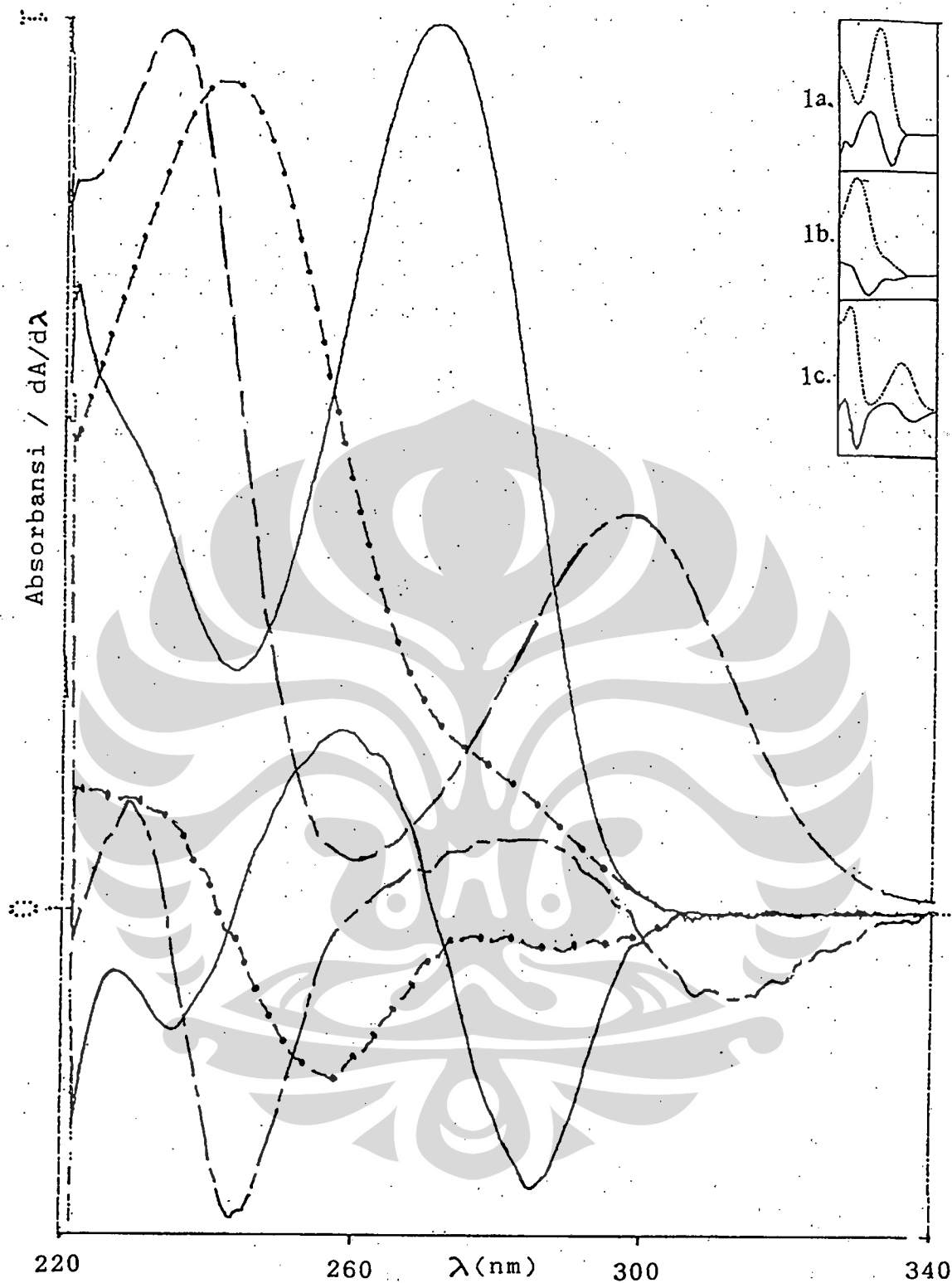
SD = simpangan baku

K = kofein

P = parasetamol

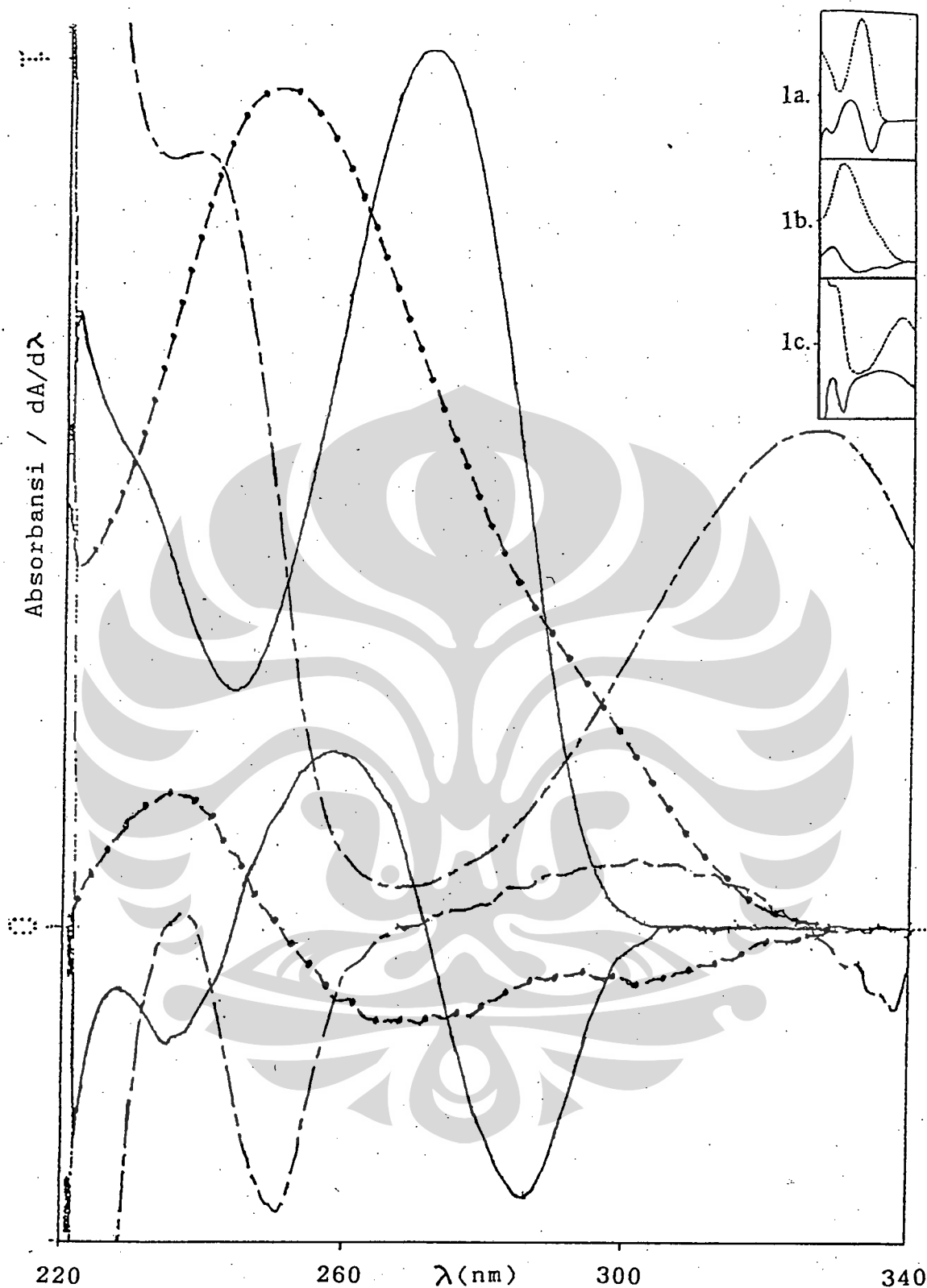
S = salisilamida.





Gambar 1. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kafein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 6,0.

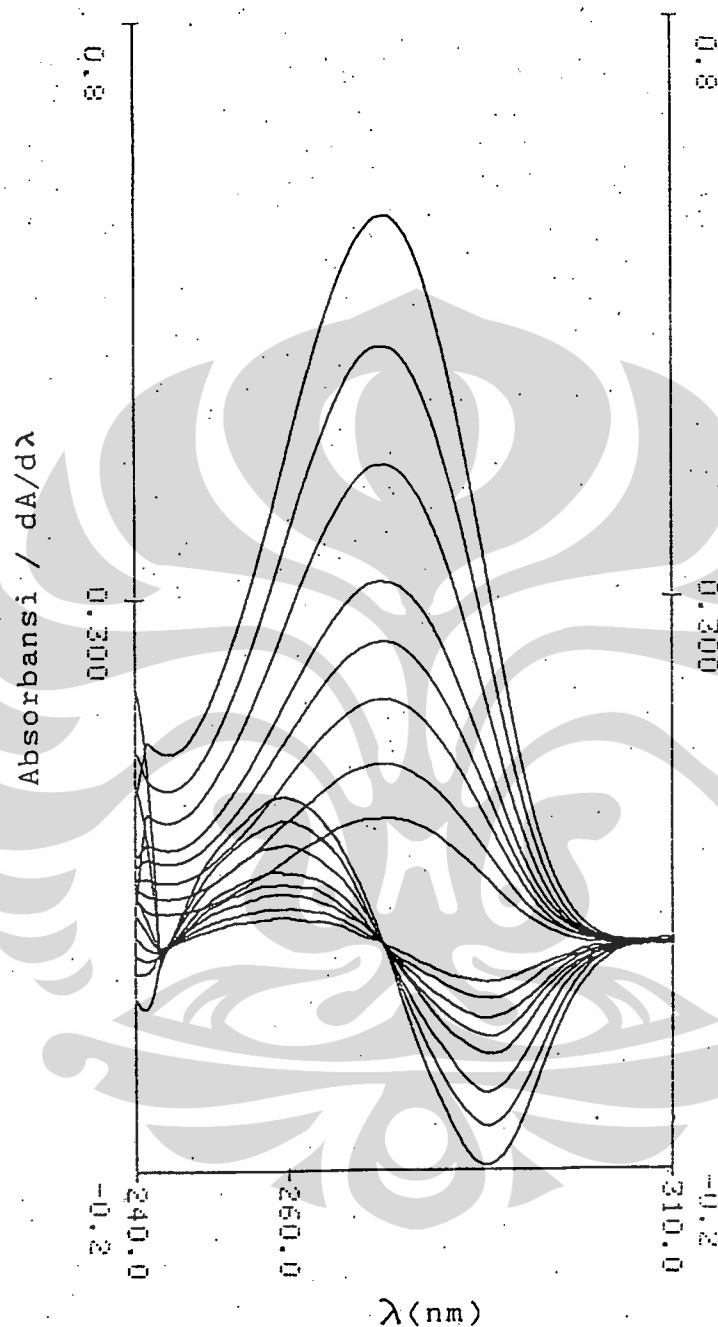
- 1a. — kafein
 1b. - - - parasetamol
 1c. — · — salisilamida
 λ = panjang gelombang



Gambar 2. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kafein, parasetamol, dan salisilamida dalam buffer pH 10,0.

1a. — kafein
 1b. —•— parasetamol
 1c. - - - salisilamida

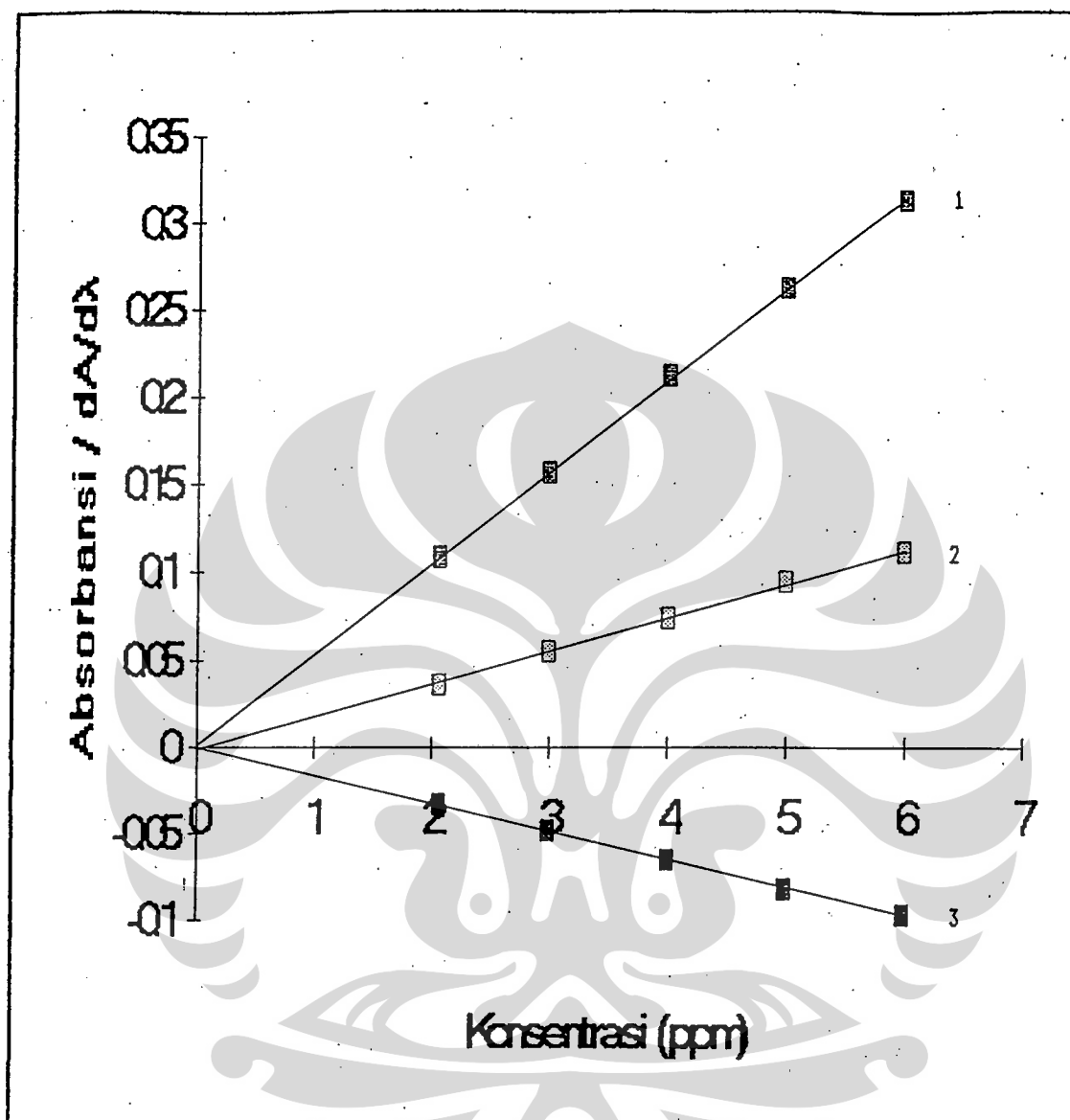
λ = panjang gelombang



Gambar 3. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama kofein berbagai konsentrasi dalam buffer pH 10,0.

Konsentrasi (ppm): 2,0640; 2,9952; 4,0128; 5,0000;
6,0000; 8,0160; 10,0480; 12,0000.

λ = panjang gelombang



Gambar 4. Kurva kalibrasi kofein dalam buffer pH 10,0.

1. λ 272,3 nm pada spektrum serapan

$$Y = 0,052245X + 0,001469 \quad r = 0,99987$$

2. λ 250,9 nm pada spektrum serapan

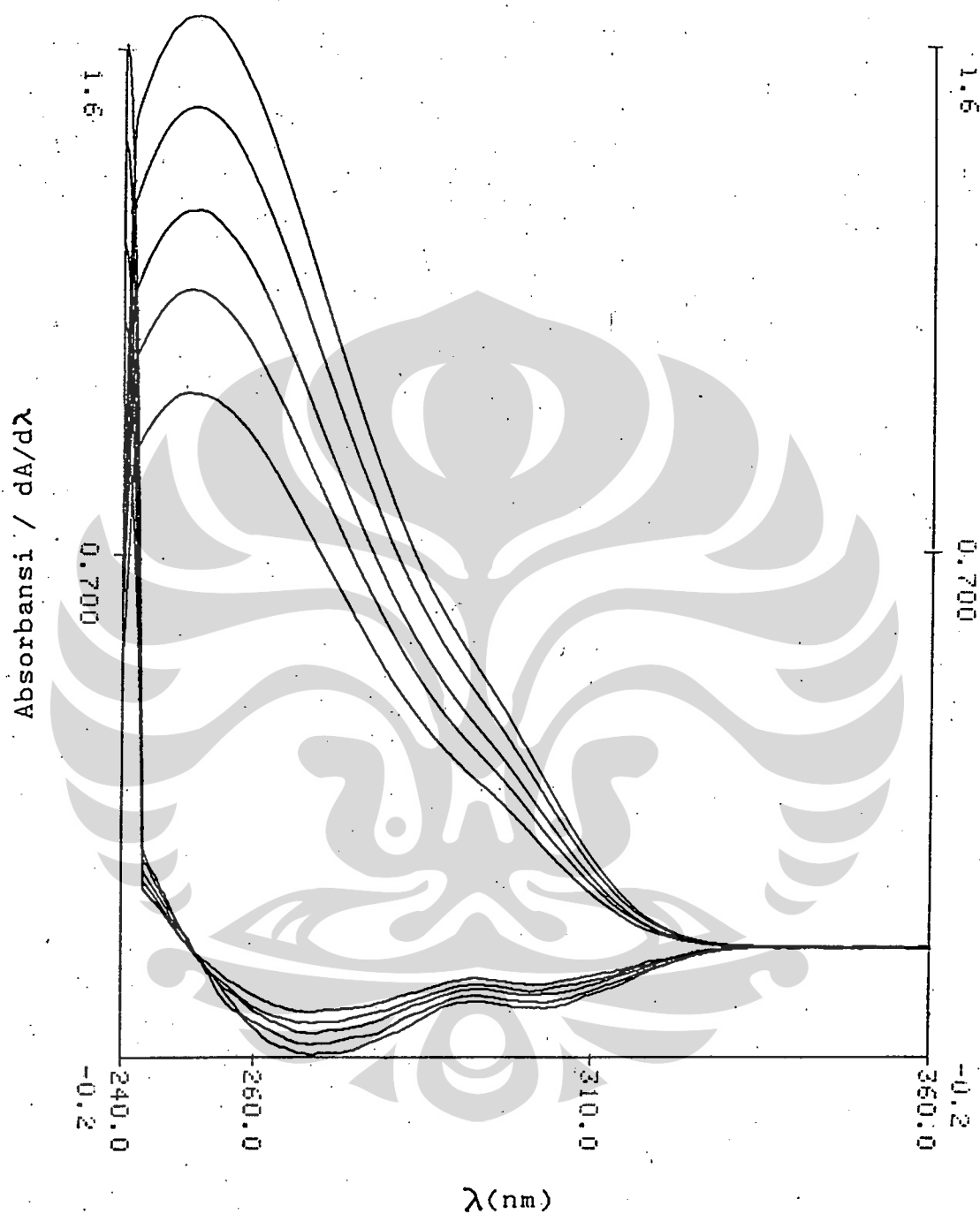
$$Y = 0,019236X - 0,002620 \quad r = 0,99958$$

3. λ 286,4 nm pada kurva derivat pertama

$$Y = -0,016301X + 0,000639 \quad r = -0,99998$$

λ = panjang gelombang

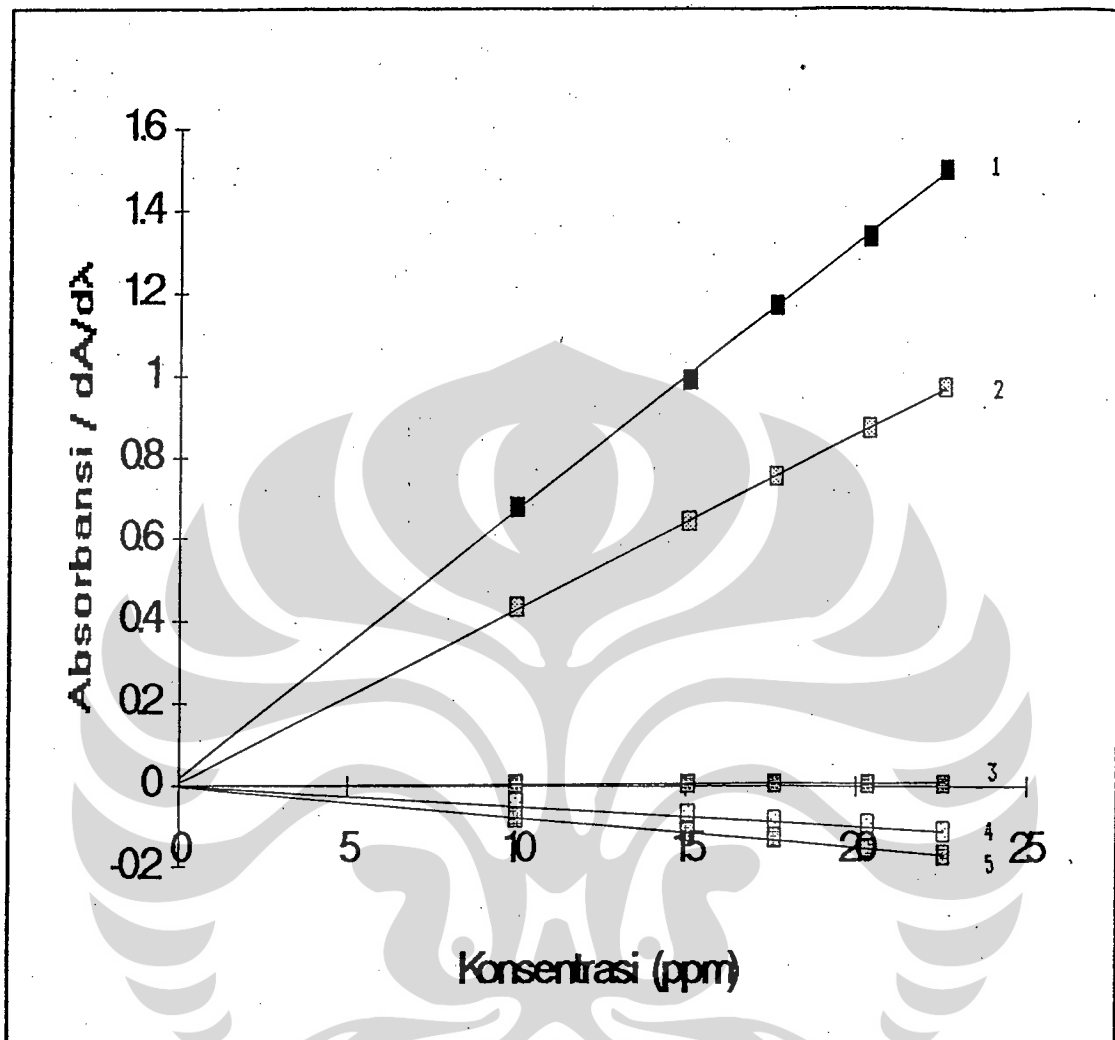
r = koefisien korelasi



Gambar 5. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama parasetamol berbagai konsentrasi dalam buffer pH 10,0.

Konsentrasi (ppm): 15,0400; 17,6000; 20,3200; 22,5600; 25,0400.

λ = panjang gelombang



Gambar 6. Kurva kalibrasi parasetamol dalam buffer pH 10,0.

1. λ 250,9 nm pada spektrum serapan

$$Y = 0,064866X + 0,025320 \quad r = 0,99975$$

2. λ 272,3 nm pada spektrum serapan

$$Y = 0,042333X + 0,011460 \quad r = 0,99974$$

3. λ 327,7 nm pada spektrum serapan

$$Y = 0,000281X + 0,000784 \quad r = 0,90276$$

4. λ 286,4 nm pada kurva derivat pertama

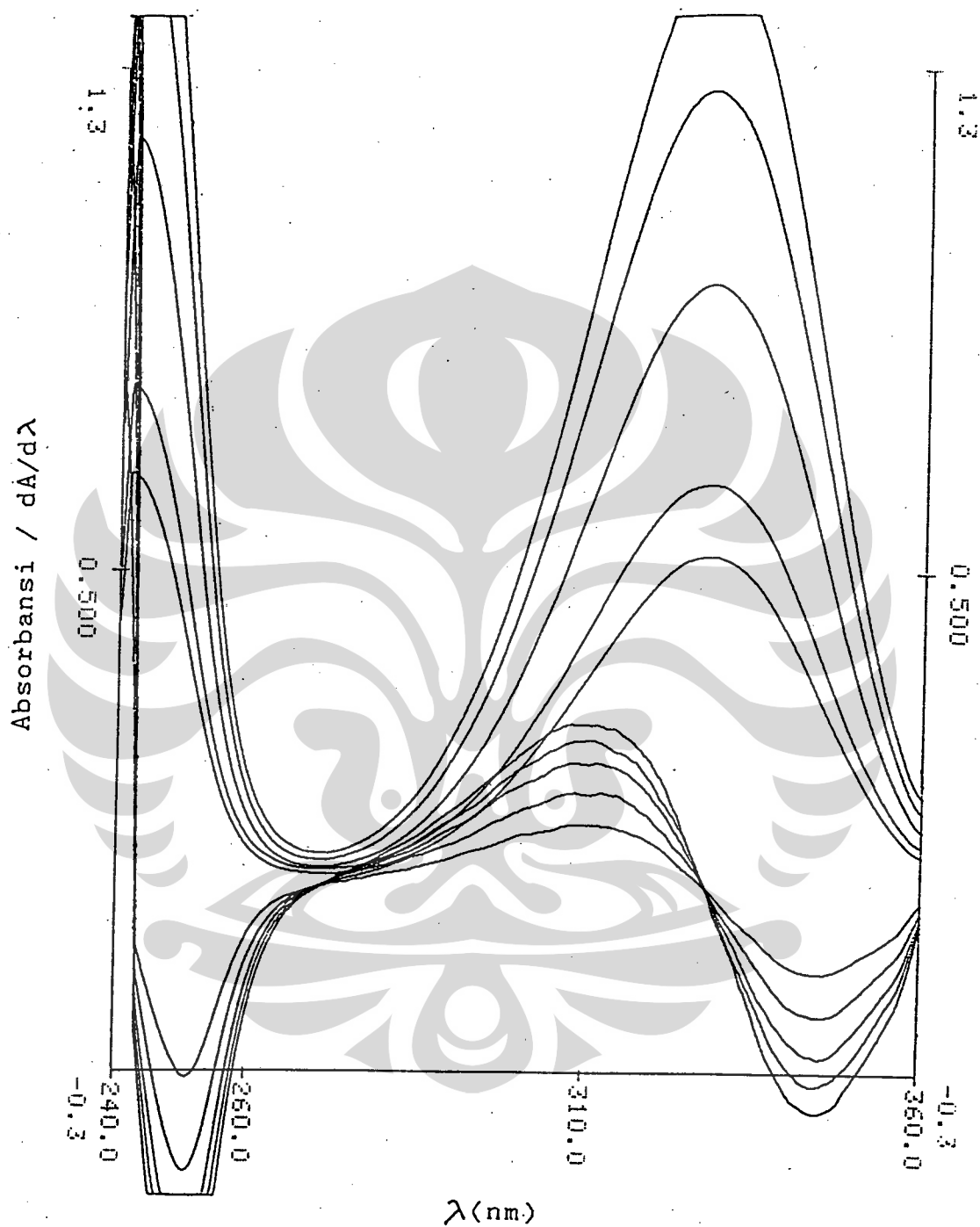
$$Y = -0,004834X + 0,000916 \quad r = -0,99970$$

5. λ 272,5 nm pada kurva derivat pertama

$$Y = -0,007216X - 0,004526 \quad r = -0,99938$$

λ = panjang gelombang

r = koefisien korelasi

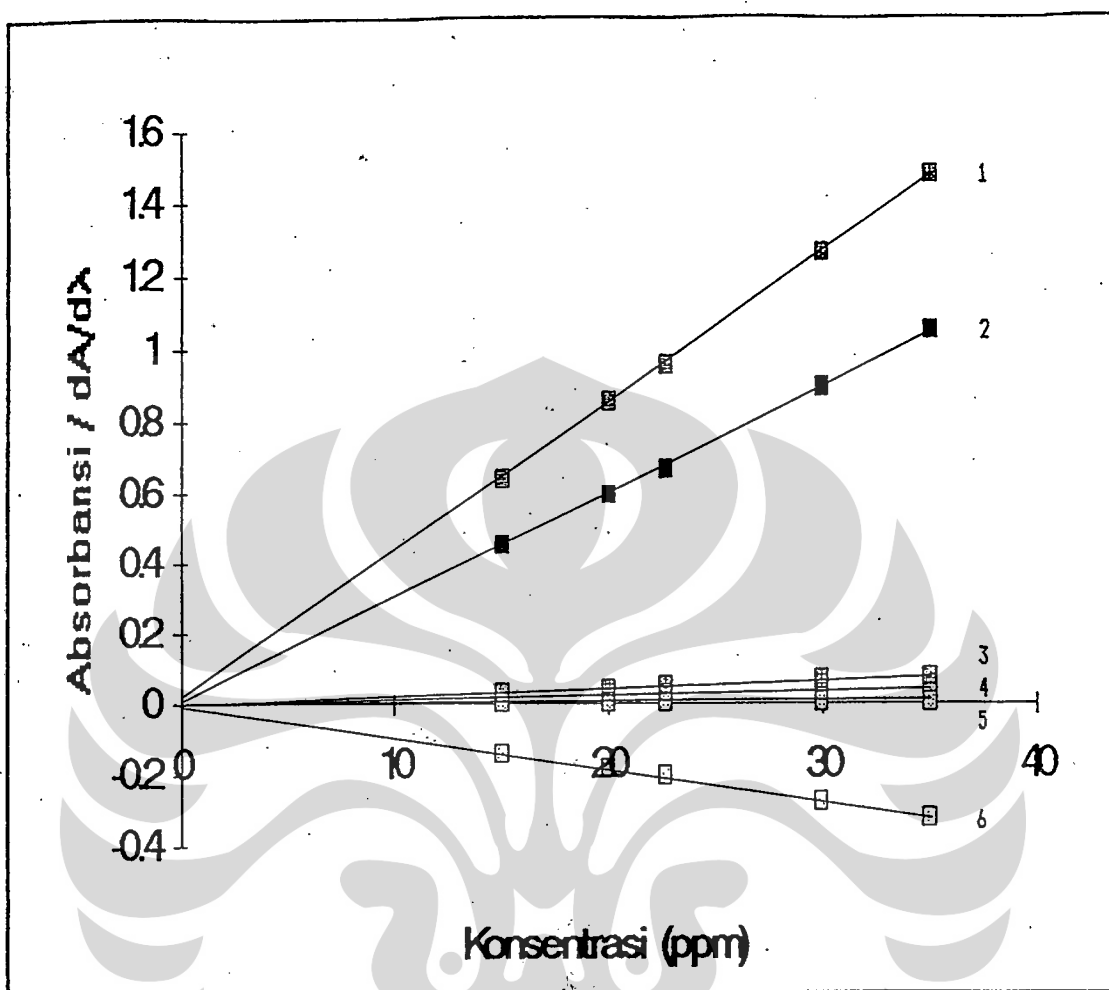


Gambar 7. Spektrum serapan dan kurva derivat pertama salisilamida berbagai konsentrasi dalam buffer pH 10,0.

Konsentrasi (ppm): 15,0800; 20,0400; 22,7200; 29,9200; 34,9600.

λ = panjang gelombang

Penetapan Kadar..., Franky Yulyanto, FMIPA UI, 1994



Gambar 8. Kurva kalibrasi salisilamida dalam buffer pH 10,0.

1. λ 327,7 nm pada spektrum serapan
 $Y = 0,041329X + 0,020845$ $r = 0,99987$
 2. λ 250,9 nm pada spektrum serapan
 $Y = 0,029255X + 0,010767$ $r = 0,99984$
 3. λ 286,4 nm pada kurva derivat pertama
 $Y = 0,002178X + 0,000525$ $r = 0,99959$
 4. λ 272,3 nm pada spektrum serapan
 $Y = 0,001493X - 0,001548$ $r = 0,99516$
 5. λ 272,5 nm pada kurva derivat pertama
 $Y = 0,000237X - 0,001272$ $r = 0,97720$
 6. λ 344,7 nm pada kurva derivat pertama
 $Y = -0,008947X - 0,003954$ $r = -0,99962$
- λ = panjang gelombang
 r = koefisien korelasi