

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

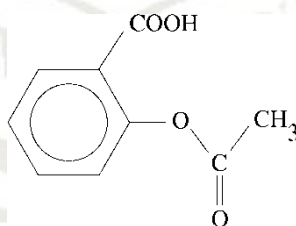
A. Penelitian Terdahulu

Berdasarkan penelitian yang terdahulu (Kevin, 2011), peneliti telah berhasil mendapatkan perolehan kembali (*recovery*) aspirin sebanyak 60-100% pada kedua metode yang digunakan. Untuk *recovery* senyawa paracetamol lebih sedikit yaitu 0-10% metode ekstraksi dan 10-20% metode kromatografi dari *recovery* aspirin karena bentuk dari paracetamol yang padat sehingga susah untuk difiltrasi. *Recovery* yang didapat oleh kafein persentasenya lebih besar pada metode kromatografi yaitu 40%, dibandingkan dengan metode ekstraksi yaitu 1-5%.

B. Landasan Teori

1. Aspirin

Aspirin mempunyai nama kimia yaitu asam asetil salisilat dan mempunyai rumus molekul dengan berat molekul 180,16 (Gambar 2.1). Pemerian aspirin berupa serbuk hablur putih, umumnya seperti jarum atau lempengan tersusun, tidak berbau atau berbau lemah. Aspirin stabil di udara kering, didalam udara lembab secara bertahap terhidrolisis menjadi asam salisilat dan asam asetat. Aspirin sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, larut dalam kloroform, dan dalam eter, agak sukar larut dalam eter mutlak (Dirjen POM, 1995).



Gambar 2.1. Struktur Aspirin(Dirjen POM, 1995)

Asam asetil salisilat mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% $C_9H_8O_4$, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Tablet asam asetil salisilat mengandung asam asetil salisilat($C_9H_8O_4$), tidak kurang dari 90,0%

dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket (Dirjen POM, 1995).

2. Pemisahan Senyawa

Sediaan farmasi merupakan campuran dari berbagai senyawa. Adapun campuran senyawa tersebut menyebabkan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal sulit dilakukan. Oleh karena itu, tahap awal perlu dilakukan pemisahan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), *size-exclusion chromatography* (SEC), *solid-phase extraction* (SPE), dan lain-lain (Sarker *et al.*, 2006).

Faktor yang perlu diperhatikan sebelum melakukan isolasi adalah sifat dari senyawa target. Sifat umum molekul yang dapat membantu proses isolasi yaitu kelarutan (hidrofilisitas atau hidrofobisitas), sifat asam-basa, muatan, stabilitas, dan ukuran molekul. Sebagai contoh, suatu campuran senyawa yang mengandung senyawa polar lebih baik dilakukan pemisahan dengan *reversed-phase* HPLC (RP-HPLC). Berbagai sifat fisika juga membantu dalam pemisahan suatu senyawa (Sarker *et al.*, 2006):

- a. Hidrofobisitas atau hidofilisitas. Suatu indikasi polaritas ekstrak sesuai dengan senyawa yang ada dalam ekstrak dapat dideterminasi dengan mengeringkan aliquot dari campuran dan mencoba melarutkannya kembali dalam variasi pelarut pada beberapa tingkatan polaritas.
- b. Sifat asam-basa. Sifat ini membawa partisi dalam pelarut air pada kisaran pH, khususnya 3, 7, dan 11 dapat membantu determinasi sifat asam-basa dari senyawa dalam ekstrak.
- c. Muatan. Informasi nilai muatan dari senyawa dapat diperoleh dengan pengujian pada sejumlah kondisi, efek dari penambahan beberapa penukar ion ke dalam campuran. Informasi ini dapat digunakan untuk merancang metode isolasi yang melibatkan kromatografi penukar ion.

- d. Stabilitas terhadap panas. Tes stabilitas terhadap panas dilakukan dengan menginkubasi sampel pada suhu 90 °C selama 11 menit dalam penangas air diikuti dengan pengujian terhadap senyawa yang tidak terpengaruh.

3. Ekstraksi Cair-Cair

Pada ekstraksi cair-cair, satu komponen bahan atau lebih dari suatu campuran dipisahkan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi cair-cair terutama digunakan apabila pemisahan campuran dengan cara destilasi tidak mungkin dilakukan (misalnya karena pembentukan azeotrop atau karena kepekaannya terhadap panas) atau tidak ekonomis. Ekstraksi cair-cair selalu terdiri dari sedikitnya dua tahap, yaitu pencampuran secara intensif bahan ekstraksi dengan pelarut dan pemisahan kedua fase cair itu sesempurna mungkin. Pada ekstraksi cair-cair, zat terlarut dipisahkan dari cairan pembawa (diluen) menggunakan pelarut cair. Campuran cairan pembawa dan pelarut ini adalah heterogen, jika dipisahkan terdapat dua fase yaitu fase diluen (rafinat) dan fase pelarut (ekstrak). Perbedaan konsentrasi zat terlarut di dalam suatu fasa dengan konsentrasi pada keadaan setimbang merupakan pendorong terjadinya pelarutan (pelepasan) zat terlarut dari larutan yang ada. Gaya dorong (*driving force*) yang menyebabkan terjadinya proses ekstraksi dapat ditentukan dengan mengukur jarak sistem dari kondisi setimbang (Wibawa, 2012).

4. Pemisahan dengan Kromatografi

a. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah bentuk lain dari kromatografi adsorpsi padat-cair dan tergantung pada prinsip-prinsip dasar yang sama seperti halnya kromatografi lapis tipis. Keuntungan KLT dalam jumlah sedikit campurannya dapat dipisahkan namun memiliki kelemahan bahwa teknik ini membutuhkan jauh lebih banyak waktu untuk melakukan. Skala yang lebih besar dari pemisahan menggunakan teknik kromatografi kolom membuatnya mudah untuk memurnikan senyawa dari campuran reaksi sehingga salah satu dari mereka dapat dimurnikan dan digunakan dalam reaksi kimia berikutnya. Kekuatan adsorpsi dari senyawa organik dipengaruhi pada polaritas dan sifat adsorben serta pada sifat dari senyawa fungsional yang terdapat dalam molekul. Ketika kromatografi kolom fase normal dilakukan, fase diamnya polar seperti alumina atau silika gel

digunakan dalam kombinasi dengan pelarut organik sebagai fase gerak atau eluennya. Dalam kromatografi kolom fase terbalik, fase diamnya terdiri dari plat kaca yang dilapisi dengan film hidrokarbon non polar, dan campuran air dan pelarut organik umumnya digunakan sebagai fase geraknya (Gilbert dan Martin, 2011).

b. Kromatografi Lapis Tipis (*Thin Layer Chromatography*)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kromatografi kolom pada prinsipnya sama. Apabila suatu cuplikan yang merupakan campuran dari beberapa komponen yang diserap lemah oleh adsorben akan keluar lebih cepat bersama eluen, sedangkan komponen yang diserap kuat akan keluar lebih lama (Hostettman, 1995). KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Deinstrop, 2007).

5. *Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*(LC-MS)

Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry (LC-MS) merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan detector spectrometer massa. Kelebihan dari teknologi LC-MS meliputi:

1. Spesifitas, hasil analisis didapatkan dari penggunaan spectrometer massa sebagai detektor.
2. Aplikasi yang luas dengan sistem praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spektrometer massa “klasik”, penerapan LC-MS tidak hanya terbatas untuk senyawa *volatile* (biasanya dengan berat molekul dibawah 500 Da). Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi.
3. Fleksibilitas, pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat.
4. Kaya informasi, sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter (Ginting, 2012).

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka. Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa yang menyeleksi ion. Sistem LC-MS umumnya menggunakan beberapa jenis sumber ion dan analisis massa yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisis. Masing-masing sumber ion dan analisis massa memiliki kelebihan dan kekurangan sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (Ginting, 2012).

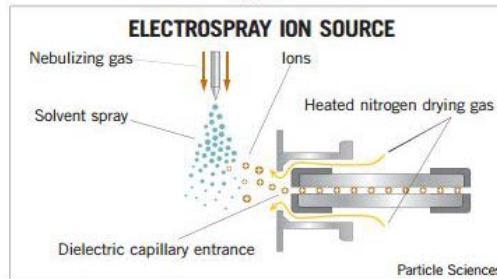
a. Sumber Ion (*Ion Source*)

Selama sepuluh tahun terakhir terjadi banyak kemajuan pada LC-MS dalam pengembangan sumber ion dan teknik untuk mengisolasi dan memisahkan ion molekul analit dari fase geraknya. Sebelumnya LC-MS menggunakan sistem antar muka yang kurang baik dalam memisahkan molekul fase gerak dari molekul analit. Molekul-molekul analit yang terionisasi dalam spektrometer massa berada pada kondisi vakum, peristiwa semacam ini sering terjadi pada ionisasi elektron tradisional. Teknik ini berhasil hanya untuk jumlah senyawa yang sangat terbatas (Ginting, 2012).

Pengenalan teknik ionisasi tekanan atmosfer (*atmospheric pressure ionization/API*) sangat memperluas jumlah senyawa yang dapat dianalisis dengan LC-MS. Pada teknik ionisasi tekanan atmosfer, molekul-molekul analit terionisasi terlebih dahulu pada tekanan atmosfer. Ion-ion analit tersebut kemudian secara mekanis dan elektrostatis terpisah dari inti molekul. Teknik ionisasi tekanan atmosfer umumnya meliputi ionisasi elektropray (*electrospray ionization/ESI*), ionisasi kimia tekanan atmosfer (APCI), dan Photoionisasi Tekanan Atmosfer (APPI). Dalam setiap pengukuran, sifat analit dan kondisi pemisahan memiliki pengaruh kuat untuk memberikan hasil terbaik dalam teknik ionisasi pada elektropray, APCI, maupun APPI. Teknik yang paling efektif tidak selalu mudah untuk diprediksi (Ginting, 2012).

Ionisasi elektropray bergantung pada pelarut yang digunakan untuk memungkinkan analit mampu mengion dengan baik sebelum mencapai spektrometer massa. Eluen LC disemprotkan bersamaan dengan gas nebulizer

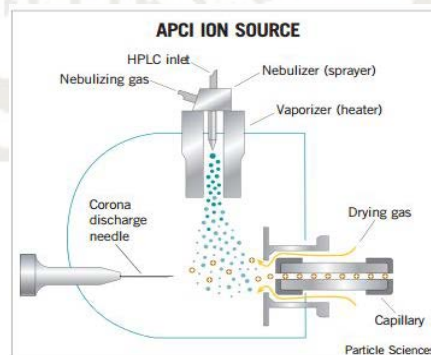
kedalam bidang elektrostatis pada tekanan atmosfer yang menyebabkan disosiasi lebih lanjut molekul analit (Ginting, 2012).



Gambar 2.2. Sumber Ionisasi Elektrospray (Partikel Sciences, 2009)

Pada saat yang bersamaan gas yang dipanaskan menyebabkan menguapnya pelarut sehingga tetesan analit menyusut, konsentrasi muatan dalam tetesan meningkat. Keadaan akan memaksa ion untuk bermuatan melebihi kekuatan kohesif atau ion dikeluarkan ke dalam fasa gas. Ion-ion tertarik akan melewati pipa kapiler pengambilan sampel yang selanjutnya akan diteruskan ke dalam analisis massa (Ginting, 2012).

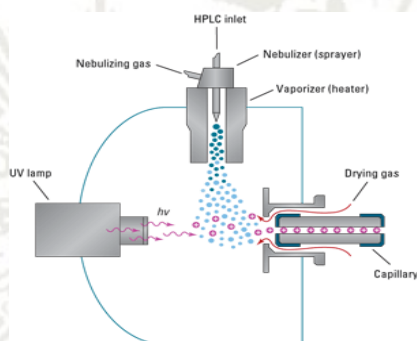
Dalam APCI, eluen disemprotkan melalui sebuah pemanas (umumnya bersuhu 250°C–400°C), proses berlangsung pada tekanan atmosfer. Udara panas akan menguapkan cairan. Pelarut yang dihasilkan akan terionisasi oleh elektron dari jarum korona. Ion-ion pelarut kemudian mentransfer muatan pada molekul analit melalui reaksi kimia (ionisasi kimia). Ion-ion analit melewati pipa kapiler pengambilan sampel yang dilanjutkan ke dalam analisis massa (Ginting, 2012).



Gambar 2.3. Sumber ion APCI (Partikel Sciences, 2009)

APCI berlaku untuk berbagai kutub dan molekul nonpolar. Karena melibatkan suhu tinggi, APCI kurang cocok dibandingkan dengan elektropray untuk analisis biomolekul besar yang mungkin secara termal tidak stabil. APCI lebih sering digunakan pada kromatografi fase normal dibandingkan dengan sumber ion elektropray karena analit yang biasanya nonpolar (Ginting, 2012).

APPI untuk LC/MS merupakan teknik yang relative baru. Penguapan mengubah eluen LC menjadi fase gas. Sebuah lampu bermuatan menghasilkan foton dalam kisaran energi ionisasi yang kecil. Kisaran energi yang dipilih ialah energi yang mampu mengionisasi molekul analit banyak dan mungkin mampu meminimalkan ionisasi molekul pelarut. Ion-ion yang dihasilkan akan melewati pipa kapiler pengambilan sampel kedalam analisis massa (Ginting, 2012).



Gambar 2.4. Sumber ion APPI (Agilent)

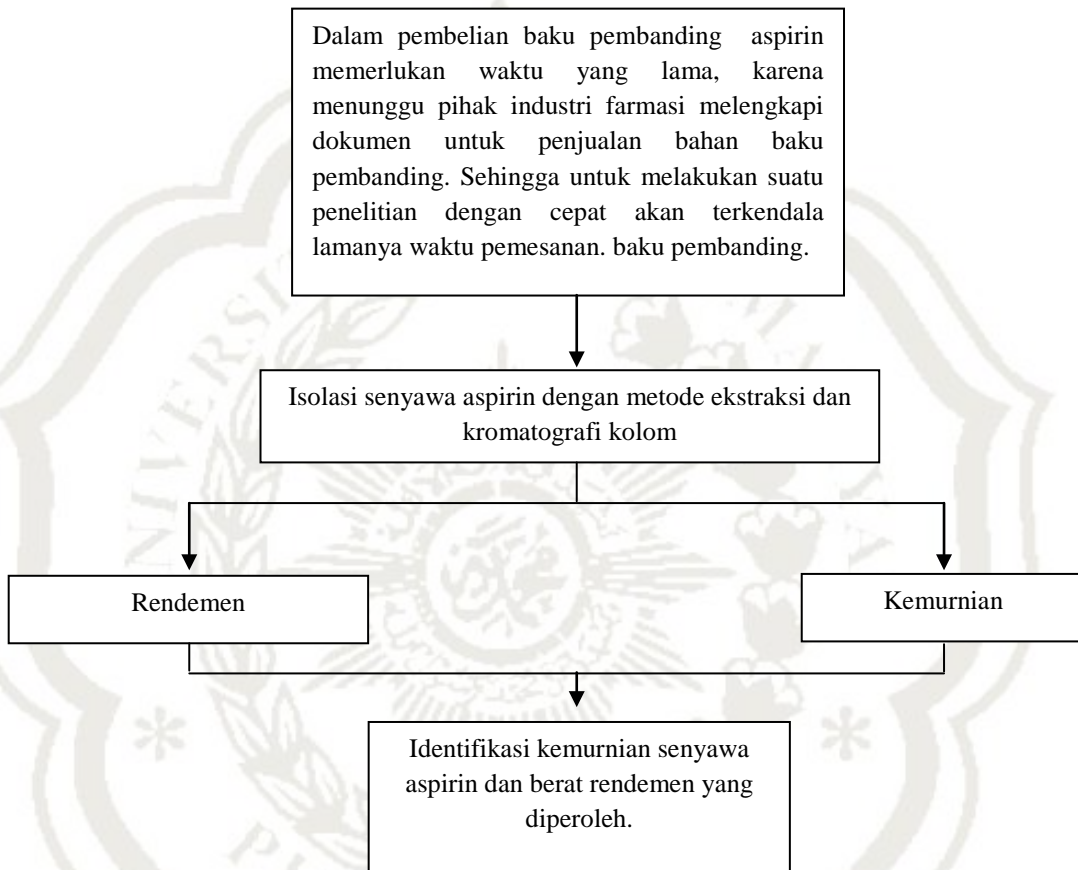
Hampir semua senyawa yang biasa dianalisis oleh APCI dapat dianalisis pula dengan APPI. Hal ini menunjukkan kemiripan di dalam dua aplikasi, yakni menganalisis senyawa yang sangat nonpolar dengan laju alir yang rendah (<100 ml/menit), dimana kesensitifitasan APCI terkadang berkurang (Ginting, 2012).

6. Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklear (NMR)

Spektroskopi resonansi magnetik nuklir (NMR) terlebih dahulu dijelaskan pada tahun 1946, dan sejak itu telah menjadi hal penting untuk kemurnian dan ketidakmurnian. Hari ini digunakan dalam berbagai aplikasi yang berbeda dalam industri dan penelitian akademis. Beberapa farmakope internasional menggunakan metode H-NMR untuk menentukan profil ketidakmurnian obat-obatan terlarang. Spektroskopi ^1H NMR digunakan untuk analisis kuantitatif

karena sensitivitas yang tinggi dari inti proton dikombinasikan dengan waktu relaksasi yang relatif singkat dan hampir 100% kelimpahan alam. Intensitas NMR berbanding lurus dengan jumlah proton yang diberikan(Weber *et al.*, 2013).

C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

Berdasarkan teori dan penelitian terdahulu yang telah dilakukan, senyawa murni aspirin dapat diisolasi dari tablet dengan metode ekstraksi dan kromatografi kolom. Hasil isolasi tersebut berupa rendemen dan kemurnian senyawa aspirin.