

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Waktukadaluwarsa**

Waktu kadaluwarsa yaitu waktu yang menunjukkan batas akhir obat masih memenuhi persyaratan seperti semula, sehingga sebaiknya obat digunakan sebelum batas waktu tersebut (Widodo, 2007).

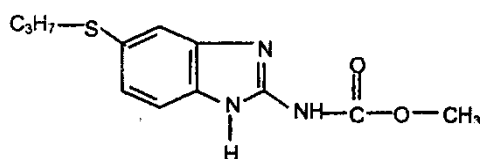
Obat yang sudah kadaluwarsa tidak boleh digunakan lagi karena beberapa hal:

1. obat yang sudah kadaluwarsa sudah terdegradasi atau potensinya menurun dan dapat menyebabkan terapi yang tidak optimal. Sehingga ketika digunakan tidak lagi bermanfaat atau tidak optimal lagi untuk pengobatan. Lebih berbahaya lagi jika senyawa hasil degradasi obat merupakan zat toksik bagi tubuh karena dapat terurai, tentunya dapat membahayakan kesehatan.
2. Mutu, khasiat dan keamanan obat kadaluwarsa tidak dapat dipertanggungjawabkan.
3. Untuk antibiotik yang kadaluwarsa dapat menimbulkan kasus resistensi antibiotik (bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik yang bersangkutan). Potensi antibiotik sudah menurun sehingga tak mampu lagi menuntaskan infeksi mikroba yang ada.
4. Obat kadaluwarsa dapat ditumbuhi jamur maka sangat berbahaya, bukan menyembuhkan penyakit, dikhawatirkan akan lebih membahayakan penyakit.
5. Dari bentuk fisik obat juga dapat diketahui apakah obat masih dalam kondisi baik atau tidak, selain itu dapat ditinjau dari warna, bau, dan rasa.

## B. Albendazol

Albendazol adalah obat cacing derivat benzimidazol berspektrum lebar yang dapat diberikan peroral. Dosis 1 tablet efektif untuk infeksi cacing kremi, cacing gelang, cacing trikuris, cacing *S. stercoralis* dan cacing tambang. Juga merupakan obat pilihan untuk penyakit hidatid dan sistiserkosis.

Struktur kimianya adalah sebagai berikut :



Rumus molekul albendazol ( $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ )

Gambar 1. Struktur kimia albendazol (Gunawan, 2007:544-545)

Pemerian serbuk putih sampai agak kuning hampir tidak berbau, melebur pada suhu lebih kurang  $290^{\circ}$

Kelarutan praktis tidak larut dalam air, dalam larutan asam mineral encer, dalam etanol, dalam eter, dan dalam klorofom, mudah larut dalam asam format (Depkes RI 1995:1009).

Farmakokinetik : Pada pemberian per oral obat ini diserap secara tidak teratur oleh usus. Obat ini cepat dimetabolisme, terutama menjadi albendazol sulfoksida suatu metabolit aktif yang sebagian besar dieksresikan dalam urin dan sedikit lewat feses. Makanan berlemak akan meningkatkan absorpsi empat kali lebih besar dibanding perut kosong. Kadar puncak metabolit aktif plasma dicapai dalam 3 jam. Waktu paruh 8-9 jam sebagian besar metabolit terikat dengan protein dan didistribusi ke jaringan-jaringan termasuk ke kista hidatid.

Farmakodinamik : Obat ini bekerja dengan cara berikatan dengan  $\beta$ -tubulin parasit sehingga menghambat polimerisasi mikrotubulus. Dan memblokir pengambilan glukosa oleh larva maupun cacing dewasa, sehingga persediaan glikogen menurun dan pembentukan ATP berkurang, akibatnya cacing akan mati. Obat ini memiliki khasiat membunuh larva *N. americanus* dan juga dapat merusak telur cacing gelang, tambang dan trikuris.

Indikasi : Untuk infeksi cacing kremi, cacing tambang, cacing askaris atau trikuris. Dosis dewasa dan anak umur di atas 2 tahun adalah 400 mg dosis tunggal bersama makan. Untuk cacing kremi, terapi hendaknya diulang sesudah 2 minggu. Untuk *N. americanus* dan cacing trikuris serta aksariasis berat lama pengobatan yang dianjurkan ialah 2-3 hari.

Efek samping : untuk penggunaan 1-3 hari aman. Efek samping berupa nyeri ulu hati, diare, sakit kepala, mual, lemah, pusing, insomnia, frekuensinya sebanyak 6%. Tetapi pada salah satu penelitian dilaporkan, bahwa insidens efek samping ini tidak berbeda dengan plasebo. Pada pengobatan atau penyakit hydatid selama 3 bulan, dilaporkan timbulnya efek samping berupa : alopesia, leukopenia yang reversibel, peningkatan transaminase yang reversibel, serta gangguan cerna berupa mual, muntah, dan nyeri perut.

Pada studi toksisitas kronik dengan hewan coba ditemukan adanya: diare, anemia, hipotensi, depresi sumsum tulang, kelainan fungsi hati, ambriotoksisitas, dan teratogenisitas.

Kontraindikasi : Anak umur kurang dari 2 tahun, wanita hamil dan *sirosis hati*(Gunawan, 2007:544-545).

### C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi ( KCKT )

KCKT atau biasa disebut dengan *High performance liquid chromatography* (HPLC) merupakan suatu teknik pemisahan komponen-komponen dari campuran yang memiliki perbedaan migrasi dalam sebuah kolom yang mengandung mikropartikel padat dalam fase diam. Larutan akan ditransport pada kolom oleh tekanan dari fase gerak cair, dan dideteksi saat terelusi (Kealey dan Haines, 2002).

KCKT adalah suatu metode pemisahan yang menggabungkan koefisien kolom dan kecepatan analisis. KCKT adalah istilah yang umum dipakai di dunia internasional yang mengandung dualisme pengertian, yaitu :

1. *Hige performance liquid chromatography.*
2. *High pressure liquid chromatography.*

Kalau dilihat dari alatnya maka, KCKT termasuk kromatografi kolom karena dipakai fase diamnya yang diisikan atau ter”*packing*” didalam kolom. Tetapi apabila ditinjau dari proses pemisahannya KCKT dapat digolongkan sebagai kromatografi adsorpsi atau kromatografi partisi. Tergantung pada butiran-butiran adsorban yang ada didalam kolom. Apakah sebagai fase padat yang murni atau disalut dengan cairan (Mulja dan Suharman, 1995:236).

Waktuambat atau waktu retensi (*retention time*) adalah selang waktu yang diperlukan oleh linarut (solut) mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor. Harga waktuambat dinyatakan dalam satuan waktu (menit). Waktuambat memberikan arti sangat penting dalam analisis kualitatif dengan metode KCKT. Campuran zat yang diinjeksikan untuk analisis dengan KCKT mempunyai harga waktu retensi yang berbeda-beda karena masing-masing linarut berbeda dalam berinteraksi dengan fase gerak (Mulja dan Suharman, 1995:239).

Kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi dan detektor yang sensitif telah menyebabkan perubahan kromatografi cair menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Metode ini dikenal sebagai kromatografi cair kinerja tinggi (Depkes RI 1995: 1009).

Keuntungan metode KCKT antara lain:

- a. Waktu analisis yang singkat.
- b. Hasil pemisahan tinggi.
- c. Kondisi yang cukup.
- d. Penentuan dapat dalam jumlah mikro (Roth & Gottfried, 1995:431-432).
- e. Dapat dilaksanakan pada suhu kamar.
- f. Detektor KCKT dapat divariasikan.
- g. Pelarut pengembang yang dapat dipakai berulang kali, demikian juga dengan kolomnya.
- h. Ketepatan dan ketelitainya yang relatif tinggi dijumpai teknik analisis fisika kimia (Mulja dan Suharman, 1995:237).

Keuntungan kromatografi cair kinerja tinggi dibandingkan dengan kromatografi gas telah diketahui hanya mungkin untuk pemisahan senyawa yang mudah menguap atau senyawa yang dapat membentuk derivat yang mudah menguap, karena sebagai fase mobil digunakan fase gas. Dengan penggunaan fase mobil cairan pada dasarnya sejumlah besar zat dapat ditentukan dengan prosedur analisis ini (Roth & Gottfried, 1995:431-432).

Kromatogram KCKT merupakan relasi antara tanggapan detektor sebagai ordinat dan waktu sebagai absis pada sistem koordinat kartesian, dimana titik nol dinyatakan sebagai saat dimulainya injeksi sampel (Mulja dan Suharman, 1995:239).

Bagian utama dari instrumen kromatografi cair kinerja tinggi:

a. Gerbang suntik.

Ada tiga macam sistem injektor pada KCKT yaitu :

1. Injektor dengan memakai diafragma (septum).
2. Injektor tanpa septum.
3. Injektor dengan pipa dosis.

b. Sistem dengan pipa dosis saat ini merupakan pilihan yang sangat tepat pada KCKT khususnya untuk analisis kuantitatif. Sebab ketepatan jumlah

c. Pompa pada KCKT merupakan instrumen pendukung untuk mendorong fase gerak dan cuplikan pada tekanan tinggi. Pompa berfungsi lah volume sampel yang akan diinjeksikan akan sangat penting untuk analisis kuantitatif dan keadaan ini hanya dapat diantisipasi dengan injektorsistem pipa dosis (*sample loop*). Prinsip kerja pipa dosis adalah “*loadinject*” ini berarti pada keadaan pertama sampel akan masuk loop dan akhirnya dengan volume yang tidak berkurang sedikitpun segera masuk menuju kolom pemisahan (Mulja dan Suharman, 1995:241).

d. Pompa. untuk mengalirkan pelarut sebagai fase gerak dengan kecepatan dan tekanan yang tetap, gangguan pada pompa biasanya terjadi karena perawatan yang kurang teratur, seperti pelarut yang tidak disaring dengan baik, adanya elektrolit yang mengandung kadar klorida yang tinggi pada pH yang rendah, dan terjadinya endapan pada pompa. Tekanan pompa

yang diperlukan tergantung dari ukuran kolom dan viskositas dari pelarut. Untuk kolom yang berdiameter lebih kecil, maka kecepatan aliran akan menjadi lebih kecil juga. Sebaliknya pada kolom yang lebih besar kecepatan alirnya juga lebih besar. Oleh karena identifikasi puncak-puncak kromatogram didasarkan pada waktu retensi, maka aliran pelarut diharapkan dapat konstan. Hal ini hanya dapat tercapai bila sistem pemompaannya dapat diandalkan. Waktu retensi adalah selang waktu yang diperlukan oleh larutan atau solut mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya tertangkap oleh detektor (Mulja dan Suharman, 1995:238).

Persyaratan sistem pompa KCKT adalah pompa harus tahan terhadap semua jenis pelarut dan dapat mencapai tekanan sampai dengan 6000 Psi (Ibs / m<sup>2</sup>). Sama sekali bebas dari partikel, memberikan kecepatan aliran 0,1-10 ml/menit, alirannya terkontrol dengan reproduksibilitas 0,5% atau kurang, antikarat. Untuk meningkatkan kemampuan pompa dalam satu instrumen KCKT dapat dipasang lebih dari satu pompa sehingga kemampuan pompa dapat mencapai 10000 Psi (Mulja dan Suharman, 1995:248).

e. Kolom.

Kolom pada kromatografi cair kinerja tinggi merupakan bagian yang penting, sebab separasi komponen-komponen sampel akan terjadi didalam kolom, maka dari itu harus diperhatikan :

- 1) Pemilihan kolom yang sesuai.
- 2) Pemeliharaan kolom.
- 3) Uji terhadap spesifikasi kolom.

Kolom mengandung fase diamberepa cairan yang disaputkan pada padatan pendukung (penyangga). Kolom akan menjadi kunci penentu keberhasilan pemisahan komponen-komponen sampel serta hasil akhir analisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi/kolomnya dibedakan atas:

1. Kromatografi fase normal.

Kromatografi dengan kolom konvensional dimana fase diamnya “normal” bersifat polar, misalnya silica gel, sedangkan fase geraknya bersifat non polar.

2. Kromatografi fase terbalik.

Kromatografi dengan kolom yang fase diamnya bersifat non polar sedangkan fase geraknya bersifat polar. Fase diam non polar yang banyak dipakai adalah jenis : C18, C8 dan C2 (Mulja dan Suharman, 1995:242-244).

Ada dua jenis kolom pada KCKT yaitu :

1. Kolom konvensional: diameter dalam 4,6 mm
2. Kolom mikrobor: diameter dalam 1 dan 2 mm (Gandjar, I.G dan Rohman, A, 2009:384).

f. Oven kolom.

Kolom KCKT diletakkan didalam oven untuk menjaga temperatur kolom supaya stabil. Hal ini sangat penting untuk memperoleh stabilitas keterandalan dalam analisis dengan metode KCKT. Oven kolom yang banyak dipakai adalah dengan sistem sirkulasi udara panas yang bertekanan (Mulja dan Suharman, 1995:245).

g. Detektor.

Detektor pada KCKT berfungsi untuk mendeteksi adanya sejumlah komponen sampel dalam eluen kolom. Detektor yang baik harus menunjukkan sensitifitas tinggi, pengotornya rendah, daerah respon yang linear dan mempunyai respon untuk semua jenis senyawa.

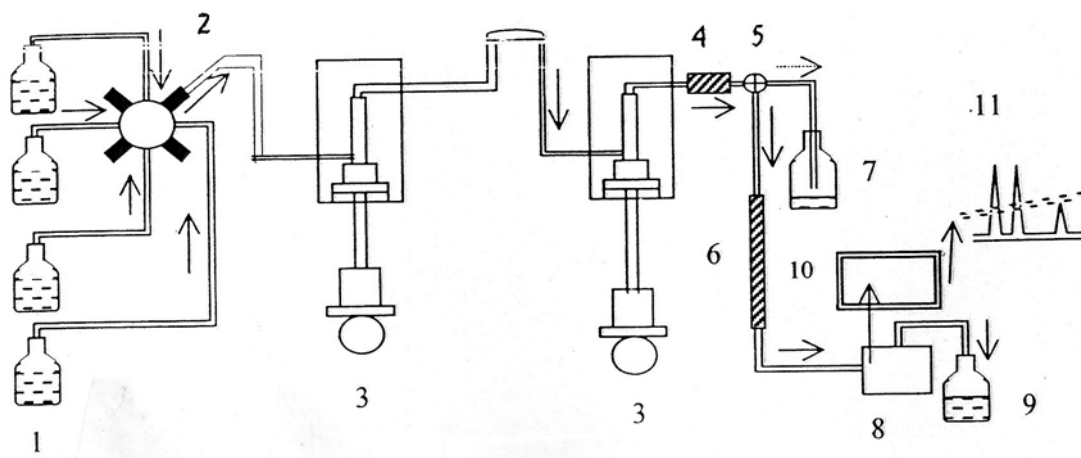
Detektor akan memberikan informasi tentang segala sesuatu yang diperlukan sehubungan dengan tujuan analisis kualitatif dan kuantitatif dengan KCKT (Mulja dan Suharman, 1995:250).

Analisis KCKT bertujuan untuk identifikasi dari suatu komponen atau lebih dari suatu cuplikan. Hal ini terutama dilakukan dengan membandingkan dengan senyawa standar. Analisis kualitatif pada KCKT pada prinsipnya mengacu kepada waktu retensi atau waktu tambat.

Waktu retensi dapat berulang dalam batas 1% dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi tiap puncak. Karena waktu retensi merupakan sifat karakteristik dari suatu komponen, maka besaran ini dapat digunakan untuk keperluan identifikasi dari suatu komponen atau lebih dari suatu cuplikan (Sastrohamidjojo, 2002: 92).

Sedangkan analisis kuantitatif pada teknik kromatografi pada prinsipnya dapat dilakukan secara sepihak artinya tanpa mengacu kepada zat standar acuan sebagai internal atau eksternal. Ada dua jalan untuk analisis perhitungan kuantitatif analit pada kromatogram yaitu; dengan mengukur tinggi puncak kromatogram dan dengan menentukan area kromatogram. Cara terbaik untuk penentuan kadar analit pada kromatogram adalah penentuan area. Sebab area puncak kromatogram sangat proporsional dengan konsentrasi analit (Mulja dan Suharman, 1995:280).

Pada garis besarnya instrumentasi KCKT urutan letaknya seperti tampak pada gambar berikut :



**Gambar 2. susunan perangkat KCKT (Mulja dan suharman, 1995:240)**

Keterangan :

1. Botol-botol eluen.
2. Pompa tekanan rendah.
3. Pompa tekanan tinggi.
4. Kolom pelindung.

5. Gerbang suntik.
6. Kolom analitik.
7. Pembuangan.
8. Detektor.
9. Penampung eluen.
10. Integrator.
11. Kromatogram.

#### **D. Validasi Metode Analisis**

Ketepatan metode analisis merupakan suatu prosedur yang digunakan untuk membuktikan bahwa metode analisis tersebut secara tepat memberikan hasil seperti yang diharapkan dengan kecermatan dan ketelitian yang memadai (Mulja dan Suharman, 1995:6).

##### 1. Linearitas (*Linearity*)

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematika yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas suatu metode dapat dilihat dari respon hasil pengukuran vs konsentrasi apakah mendekati garis lurus. Linearitas dapat diperoleh dengan melakukan pengukuran tunggal pada beberapa konsentrasi analit. Sebagai parameter adanya hubungan linear digunakan korelasi  $r$  pada analisis regresi linear  $Y = a + bx$ . Hubungan yang ideal dicapai jika  $r = +1$  atau  $r = -1$  bergantung pada arah garis (Harmita, 2004:128-129).

##### 2. Ketelitian

Ketelitian dapat diartikan sebagai ukuran nilai kedekatan hasil uji seseorang dengan metode replikasi berulang-ulang dari sampel yang homogen. Ketelitian atau keseksamaan juga diartikan sebagai ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur

ditetapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004:121).

Ketelitian dibagi menjadi dua yaitu :

a) Keterulangan (*repeatability*)

Adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek.

b) Ketertiruan (*reproducibility*)

Adalah keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda. Biasanya analisis dilakukan dalam laboratorium-laboratorium yang berbeda menggunakan peralatan, pereaksi, pelartu, dan analis yang berbeda pula (Harmita, 2004:122).

3. Ketepatan (*accuracy*)

Ketepatan dapat diartikan sebagai kedekatan nilai hasil pengukuran terhadap nilai sebenarnya. Kecermatan juga diartikan sebagai ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan hasil (*recovery*) analit yang ditambahkan.

Kecermatan ditentukan dengan dua cara : (Harmita, 2004:117-118)

a. Metode simulasi (*spiked-placebo recovery*)

Dalam metode simulasi sejumlah analit bahan murni ditambahkan kedalam campuran bahwa pembawaan sedia farmasi (plasebo) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang tidak ditambahkan (kadar yang sebenarnya).

b. Metode penambahan baku (*standard addition method*)

Dalam metode ini sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dacampur dan dianalisis lagi. selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya.

4. Batas deteksi (LOD/ *limit of detection*)

Batas deteksi dapat diartikan sebagai kadar terkecil dari sampel yang menunjukkan respon. Batas deteksi juga dapat diartikan sebagai jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko (Harmita, 2004:130).

5. Batas kuantitasi (LOQ/ *limit of quantitation*)

Batas kuantitation adalah konsentrasi terkecil dalam sampel yang masih dapat menunjukkan pengukuran secara teliti dan tepat yang dapat diukur. Batas kuantitasi juga diartikan sebagai parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004:130).

