

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Penelitian Terdahulu

Beberapa metode analisis penentuan parasetamol dengan menggunakan teknik pemisahan seperti KLT densitometer (Mostafa, 2010), HPLC (Altun, 2002), dan GC (Prescott, 1971) telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya. Parasetamol juga telah ditentukan dengan metode spektrofotometri ultraviolet (Tulandi *et al.*, 2015).

Untuk penentuan kadar parasetamol dengan menggunakan KLT densitometer telah dilakukan oleh Mustofa pada tahun 2010 secara sederhana, akurat, dan sensitif. Metode ini dilakukan dengan cara pelarutan obat dalam metanol kemudian mengamati bercak larutan pada lapisan tipis silika gel G254. Parasetamol dipisahkan pada silika gel dengan campuran fase gerak yaitu, etil asetat : benzena : asam asetat dalam perbandingan volume 1 : 1 : 0,05. Kemudian untuk penentuan absorbansinya telah ditetapkan pada panjang gelombang 250 nm, sedangkan kurva kalibrasinya ditetapkan pada kisaran konsentrasi 5-20 mg. Untuk hasil yang dicapai dengan membandingkan daerah pada puncak diperoleh dari pemindaian plat kromatografi. Metode ini berhasil diterapkan pada sediaan farmasi (kapsul) dan diperoleh hasil yang baik secara statistik (Mostafa, 2010).

Penentuan kadar parasetamol dengan HPLC menggunakan teknik pemisahan dengan kolom  $\mu$ -Bond pack C8 dengan elusi isokratik dan laju aliran 1,0 ml/menit. Komposisi fase geraknya adalah 0,01 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : metanol : asetonitril : isopropil alkohol dengan perbandingan volumenya 420 : 20 : 30 : 30 v / v. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 215 nm, pada kisaran konsentrasi parasetamol adalah 0,409-400  $\mu\text{g/ml}$  (Altun, 2002).

Penentuan parasetamol yang lainnya menggunakan kromatografi gas telah dilakukan oleh Prescott pada tahun 1971. Parasetamol tidak dapat dianalisis menggunakan kromatografi gas secara langsung dalam jumlah kecil karena dapat kehilangan absorpsi yang signifikan, dan diperlukan

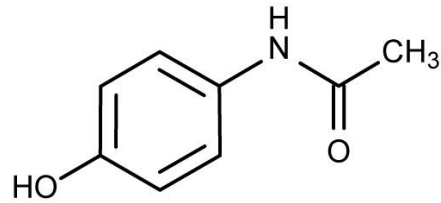
turunan trimetilsilil (TMS) sebagai agen silasi. Adapun beberapa kelemahan dalam penggunaan agen sililasi yaitu derivat trimetilsilil dari parasetamol yang terbentuk dengan N,O-bis (trimetilsilil) asetamida rentan terhadap hidrolisis, dan sililasi senyawa lain dalam ekstrak plasma dapat menyebabkan puncak yang tidak diinginkan pada kromatogram. Hasil yang baik diperoleh dengan menggunakan N-trimetilsililimidazol (TMSI). Selanjutnya, elektroda detektor ionisasi yang menyala dapat terkontaminasi oleh endapan silika (Prescott, 1971).

Analisis parasetamol dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet sudah pernah dilakukan oleh Tulandi pada tahun 2015. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan mengukur absorbansi dari parasetamol pada panjang gelombang ultraviolet yaitu antara panjang gelombang 200–400 nm. Dari hasil penelitian, diperoleh panjang gelombang maksimum adalah 248 nm (Tulandi *et al.*, 2015).

Penentuan parasetamol dengan spektrofotometri harus melalui proses derivatisasi terlebih dahulu karena parasetamol bukanlah zat yang dapat berfluoresensi secara langsung. Maka dari itu perlu penambahan suatu gugus yang menghasilkan fluorofor agar dapat terbaca oleh spektrofotometer. Analisis parasetamol dengan metode spektrofotometri telah dilakukan oleh Amman pada tahun 1980, peneliti ini melakukan derivatisasi parasetamol dengan mereaksikannya menggunakan Ce (IV) sebagai agen pengoksidasi yang selanjutnya diukur intensitas fluoresensi yang dihasilkan dari Ce (IV) (Amman *et al.*, 1980).

## **B. Parasetamol**

Parasetamol mempunyai nama kimia N-(4-hidroksifenil) etanamida dan N-asetil-para aminofenol dengan rumus kimia  $C_8H_9NO_2$  (Gambar 2.1) serta memiliki bobot molekul 151,2. Adapun pemerian dari parasetamol ini adalah berupa hablur atau serbuk hablur putih, tidak berbau dan tidak berasa. Kelarutan dari parasetamol adalah larut dalam 70 bagian air, dalam 7 bagian etanol (95%) P, dalam 13 bagian aseton P, dalam 40 bagian gliserol P, dan dalam 9 bagian propilenglikol P (FI IV, 1995).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Parasetamol (FI III, 1995)

Parasetamol merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang telah digunakan sejak tahun 1893. Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus amino benzen. Parasetamol di Indonesia dikenal sebagai antipiretik, dan tersedia sebagai obat bebas. Efek anti-inflamasi parasetamol hampir tidak ada (Siswandono dan Bambang, 2000).

Parasetamol merupakan derivat dari asetanilida yang efek analgetiknnya dapat diperkuat dengan 50% kafein dan codein. Overdosis yang dapat ditimbulkan antara lain mual, muntah, dan anoreksia. Penanggulangannya dengan cuci lambung, juga perlu diberikan zat-zat penawar (asam amino N-asetilsistein atau metionin) sedini mungkin, sebaiknya 8-10 jam setelah intoksikasi. Penggunaan parasetamol dalam dosis besar dan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan pada hati, untuk itu parasetamol dikontraindikasikan untuk pasien dengan gangguan fungsi hati berat. Wanita hamil dapat menggunakan parasetamol dengan aman, juga selama laktasi walaupun mencapai susu ibu. Interaksi dengan dosis tinggi memperkuat efek antikoagulansia dan pada dosis biasa tidak interaktif (Tjay, 2000).

Pemilihan parasetamol sebagai objek penelitian disebabkan karena parasetamol merupakan salah satu obat analgetik-antipiretik yang banyak digunakan khususnya di fasilitas pelayanan kesehatan pemerintah. Selain harganya yang terjangkau juga memiliki aktivitas yang mampu menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif dan relatif aman dengan penggunaan dosis terapi.

### C. Tablet

Tablet adalah sediaan padat, kompak, dibuat secara kempa cetak dalam bentuk tabung pipih atau sirkuler, kedua permukaannya rata atau cembung mengandung satu jenis obat atau lebih, dengan atau tanpa zat tambahan (FI IV, 1979). Zat tambahan yang digunakan dapat berfungsi sebagai bahan pengisi, zat pengikat, zat pelincir, zat pengembang, zat pembasah, atau zat lain yang cocok.

Pada penelitian kali ini digunakan sediaan tablet karena tablet merupakan salah satu sediaan farmasi yang banyak ditemukan dan digunakan di masyarakat. Selain itu sediaan tablet memiliki banyak kelebihan dibandingkan dari bentuk sediaan lainnya yaitu:

1. Takaran obat teliti dan serba sama untuk setiap tablet.
2. Pembebasan obat dapat diatur sesuai dengan efek terapi yang diinginkan
3. Rasa dan bau yang tidak menyenangkan dapat ditutupi dengan penyalutan
4. Bahan obat yang dapat rusak oleh cairan atau enzim dalam saluran pencernaan dapat diatasi dengan penyalutan.
5. Mudah dalam pengemasan, pengepakan, transportasi dan penggunaannya
6. Biaya produksi relatif mudah dibandingkan dengan bentuk sediaan lain.

Selain itu memiliki kerugian/kelemahan yaitu:

1. Sukar diberikan pada anak-anak dan penderita yang sukar menelan
2. Biasanya efek terapi yang diinginkan lebih lambat
3. Bentuk yang menarik dan rasa yang enak dapat menyebabkan anak-anak semaunya saja.

Persyaratan khusus untuk sediaan tablet dalam Farmakope Indonesia edisi IV:

1. Mengandung zat berkhasiat sesuai yang tertera pada etiket.
2. Mempunyai keseragam ukuran yaitu diameter tidak lebih dari 3x dan tidak kurang dari  $1\frac{1}{3}$  tablet tebalnya.
3. Mempunyai keseragam bobot.

4. Kecuali dinyatakan lain, waktu hancur dari tablet tidak lebih dari 15 menit untuk tablet tidak bersalut dan tidak lebih dari 60 menit untuk tablet bersalut selaput.

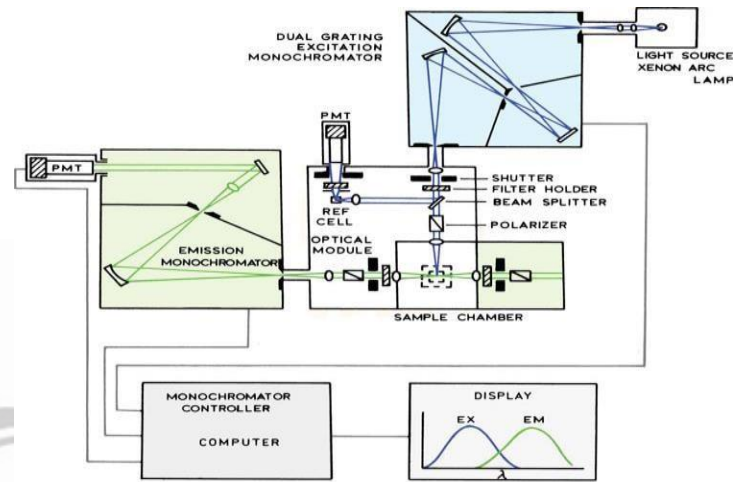
#### **D. Spektrofluorometri**

Spektrofluorometri adalah metode analisis berdasarkan penyerapan molekul energi cahaya pada satuan panjang gelombang dan emisi. Senyawa fluoresen memiliki dua spektrum yaitu spektrum eksitasi (panjang gelombang dan jumlah cahaya yang diserap) dan spektrum emisi (panjang gelombang dan jumlah cahaya yang dipancarkan). Spektrum ini sering disebut sebagai tanda fluoresensi senyawa majemuk atau sidik jari karena tidak ada dua senyawa yang memiliki tanda fluoresensi yang sama. Prinsip inilah yang menjadikan fluorometri sebagai teknik analisis yang sangat spesifik (Naresh, 2008).

Fluorometri adalah pengukuran fluoresensi. Instrumen yang digunakan untuk mengukur fluoresensi disebut fluorometer atau fluorimeter. Sebuah fluorometer menghasilkan panjang gelombang cahaya yang dibutuhkan untuk membangkitkan minat analit, secara selektif mentransmisikan panjang gelombang cahaya yang dipancarkan, kemudian mengukur intensitas cahaya yang dipancarkan. Cahaya yang dipancarkan sebanding dengan konsentrasi analit yang diukur. Fluorometer menggunakan monokromator (spektrofluorometer), filter optik (filter fluorometer), atau sumber cahaya pita sempit seperti LED atau laser untuk memilih eksitasi dan panjang gelombang emisi (Royer, 1995).

Prinsip dari spektrofluorometri yaitu berdasar pada fluoresensi dan fosforesensi, yaitu proses emisi foton yang terjadi pada saat relaksasi molekuler dari keadaan elektron yang tereksitasi. Proses fotonik ini melibatkan transisi antara keadaan elektron dan vibrasi molekul fluoresen poliatomik (fluorofor). Fluorofor mempunyai peran sentral dalam spektrofluorometri. Fluorofor adalah komponen dalam molekul yang menyebabkannya suatu molekul dapat berfluoresensi. Fluorofor terutama

adalah molekul yang mengandung cincin aromatik seperti tirosin, triptopan, fluoresein, dan lain-lain (Naresh, 2014).



**Gambar 2.2** Komponen-komponen fluorometer (Naresh, 2014)

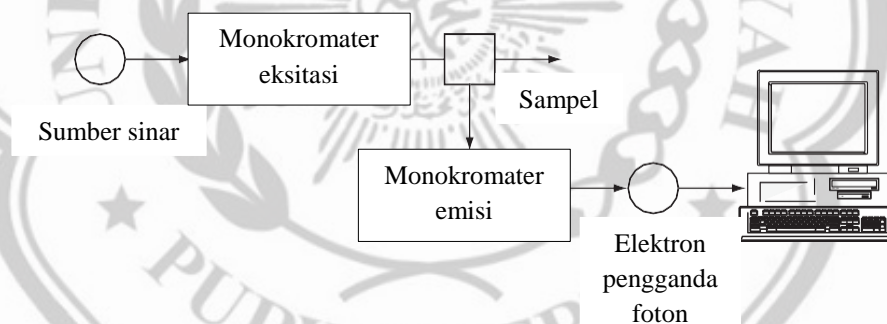
Gambar 2.2 menunjukkan komponen-komponen penting dan penyusunnya dalam fluorometer. Sumber sinar harus sangat intens dan sangat stabil karena intensitas fluoresensi berbanding langsung dengan  $I_0$ . Lampu merkuri dan lampu xenon merupakan sumber radiasi yang paling sering digunakan. Lampu-lampu ini mampu mengemisikan radiasi, baik pada daerah ultraviolet maupun daerah visibel. Emisi lampu xenon terdistribusi pada kisaran panjang gelombang yang luas, sementara itu emisi lampu merkuri memberikan intensitas yang sangat tinggi pada daerah panjang gelombang tertentu.

Untuk memperoleh spesifitas eksitasi dan mengurangi sesatan sinar, maka dipilih pita radiasi yang sempit dari radiasi yang diemisikan oleh sumber sinar. Pemilihan ini dilakukan oleh penyaring eksitasi atau EF (*excitation filter*) umumnya berupa penyaring kaca yang akan mentransmisikan sinar pada panjang gelombang yang dikehendaki dan akan menyerap semua radiasi yang lain. Penyaring-penyaring kaca ini akan mentransmisikan pita radiasi dengan lebar antara 50-100 nm. Penyaring-penyaring ini juga dapat saling ditukarkan/diganti sehingga bisa dipilih penyaring yang mentransmisikan pita radiasi yang bersesuaian dengan absorbansi maksimal senyawa tertentu, akan tetapi akan memotong sinar

pada panjang gelombang yang lebih pendek atau lebih panjang. Penyaring eksitasi juga dikenal sebagai penyaring utama.

Sinar eksitasi selanjutnya melewati tempat sampel. Beberapa pelarut juga ada yang berfluoresensi sehingga harus dilakukan pemilihan secara cermat.

Sinar fluoresens diemisikan ke segala arah oleh sampel. Pengukuran intensitas fluoresensi pada arah perambatan radiasi eksitasi sangatlah sulit karena melibatkan pengukuran sinar yang diemisikan terhadap sinar yang ditransmisikan oleh dasar (*back ground*) yang mempunyai intensitas yang sangat tinggi. Beberapa sinar yang ditransmisikan akan dihamburkan (*scattered*) dalam arah ini, dan sinar yang tidak diharapkan ini akan dihilangkan dengan penyaring fluoresensi kedua (penyaring sekunder) yang dipilih sedemikian rupa sehingga penyaring kedua ini akan mentransmisikan secara maksimal pada fluoresensi yang maksimal (Gandjar dan Rohman, 2007)



**Gambar 2.3** Komponen-komponen spektrofotometer (Kealey dan Haines 2002)

Gambar 2.3 menunjukkan bahwa komponen-komponen alat spektrofotometer hampir sama dengan komponen-komponen pada spektrofotometer. Meskipun demikian, ada perbedaan antar keduanya. Pada spektrofotometer terdapat 2 monokromator, yaitu monokromator yang digunakan untuk panjang gelombang eksitasi dan monokromator yang digunakan untuk panjang gelombang emisi.

Faktor-faktor yang mempengaruhi fluoresensi antara lain:

- 1) Temperatur (Suhu)
  - a. EF berkurang pada suhu yang dinaikkan
  - b. Kenaikan suhu menyebabkan tabrakan antar molekul atau dengan molekul pelarut
  - c. Energi akan dipancarkan sebagai sinar fluoresensi akan diubah menjadi bentuk lain
- 2) Pelarut
  - a. Dalam pelarut polar, intensitas fluoresensi bertambah
  - b. Jika pelarut yang digunakan mengandung atom-atom yang berat ( $\text{CBr}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$ ) maka intensitas fluoresensi berkurang, sebab ada interaksi gerakan spin dengan gerakan orbital elektron ikatan agar mempercepat LAS maka intensitas menjadi berkurang
- 3) pH

pH mempengaruhi keseimbangan bentuk molekul dan ionik
- 4) Oksigen terlarut

Adanya oksigen terlarut dalam larutan cuplikan menyebabkan intensitas fluoresensi berkurang, sebab:

  - a. Oksigen terlarut oleh pengaruh cahaya, dapat mengoksidasi senyawa yang diperiksa
  - b. Oksigen mempermudah LAS
- 5) Kekakuan struktur (*structural rigidity*)

Struktur yang rigid (kaku) mempunyai intensitas yang tinggi

## E. Validasi Metode

Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya, antara lain:

### **1. Kecermatan (akurasi)**

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu untuk mencapai kecermatan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis tersebut seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur (Harmita, 2004).

### **2. Keseksamaan (presisi)**

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual. Keseksamaan diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata, jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004)

### **3. Linearitas**

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima (Harmita, 2004).

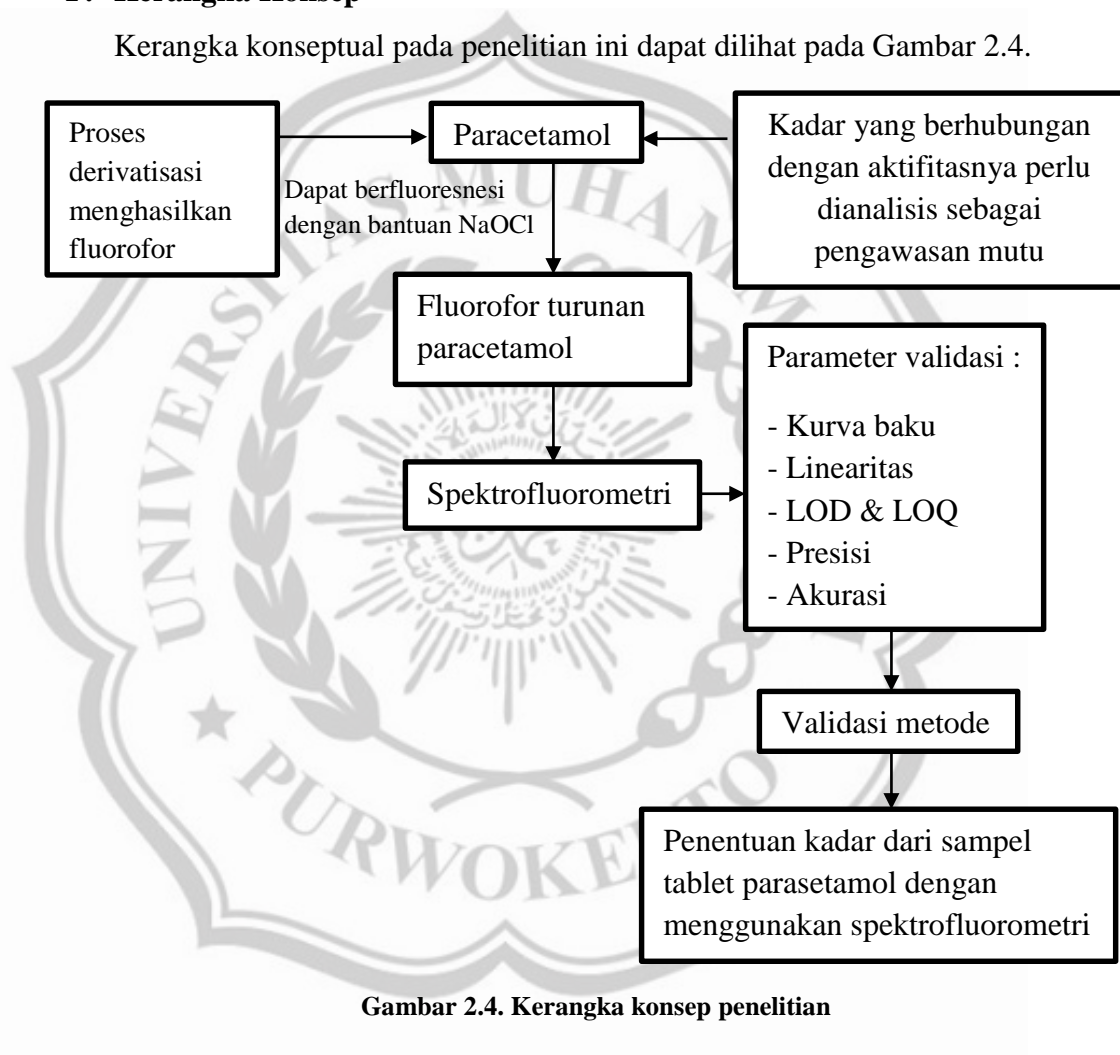
### **4. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)**

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit yang dapat dideteksi, yang masih dapat memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residu ( $Sy/x$ ) (Harmita, 2004).

## F. Kerangka Konsep

Kerangka konseptual pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Kerangka konsep penelitian

## G. Hipotesis

Metode spektrofluorometri diduga mampu mengidentifikasi parasetamol dalam sediaan tablet dengan bantuan penambahan larutan kerja sodium hipoklorit (NaOCl).