

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Hasil Penelitian Terdahulu

Asam mefenamat telah berhasil dianalisis dengan beberapa metode, diantaranya titrimetri (Akirer, et al., 1999), spektrofotometri (Dinç, dkk., 2002), *fluorescence spectrometry* (Ruiz, dkk., 1998), kromatografi (Rouini, et al., 2004), *atomic absorption spectrometry* (Khuwawar dkk., 2001), *nuclear magnetic resonance spectroscopy* (Husain, dkk., 2000), *capillary electrophoresis* (Pérez-Ruiz, dkk., 2000) dan *flow injection analysis* (Aly, dkk., 2000). Pada penelitian Musiam, (2017) menganalisis asam mefenamat menggunakan spektrofotometri UV dan diperoleh nilai linearitas sebesar  $r = 0,9980$ ; akurasi (99,86%); presisi (1,73%); batas deteksi (LOD) 1,4828  $\mu\text{g/mL}$  dan batas kuantitasi (LOQ) 4,9425  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian Noviny, (2015) juga melakukan analisis kadar tablet asam mefenamat dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet dan diperoleh nilai linearitas sebesar  $r = 0,9979$ ; batas deteksi (LOD) 0,1246  $\mu\text{g/mL}$ ; batas kuantitasi (LOQ) 0,4154  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian Alballa et al., (2016) penentuan asam mefenamat dalam sediaan tablet dikembangkan dengan metode spektrofotometri UV sederhana, sensitif dan spesifik. Metode ini didasarkan pada oksidasi asam mefenamat dengan besi (III) dan kemudian di kompleksasi besi (II) dengan *o-phenanthroline* untuk menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah (ferroin) dengan panjang gelombang 510 nm. Grafik kalibrasi linear pada konsentrasi 0,4-2,0  $\mu\text{g/mL}$ .

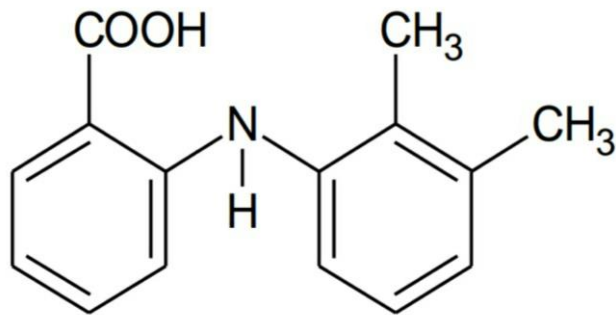
Pada penelitian lain, menggunakan metode HPLC fasa terbalik (RP-HPLC) sederhana dan tepat dikembangkan dan divalidasi untuk penentuan asam mefenamat dalam bentuk sediaan farmasi. Kromatografi

dilakukan dengan menggunakan kemasan ODS L<sub>1</sub>, 250 x 4,6 mm, 5 µm, kolom pada 27°C dengan fase gerak asetonitril : 0,05 M monobasic ammonium buffer fosfat: tetrahidrofur (46:40:14) pada laju alir 1,0 mL/menit dan deteksi UV panjang gelombang 254 nm. Waktu retensi obat adalah 10,583 menit. Analisis asam mefenamat dengan metode RP-HPLC diperoleh linearitas dalam rentang konsentrasi 5-30 µg/mL dengan koefisien korelasi  $r = 0,99954$ ; batas deteksi (LOD) 0,12 µg/mL; dan batas kuantitasi (LOQ) 0,36 µg/mL (R.M. Khrisna *et al.*, 2011).

## B. Asam Mefenamat

Asam mefenamat adalah turunan dari asam antranilat, dengan nama kimia asam N-2,3-xililantranilat. Asam mefenamat memiliki sifat anti inflamasi dengan efek analgesik dan antipiretik (*Espinosa et al.*, 2005). Asam mefenamat digunakan untuk pengobatan rheumatoid arthritis, osteoarthritis, dan penyakit kerangka otot lainnya (*Espinosa et al.*, 2005).

Asam mefenamat merupakan obat analgesik golongan obat anti inflamasi non steroid yang biasanya diindikasikan untuk pengobatan dismenore primer, nyeri ringan dan nyeri gigi. Asam mefenamat bekerja dengan mekanisme penghambatan enzim prostaglandin sintase yang memproduksi prostaglandin (mediator inflamasi) hampir keseluruhan. Prostaglandin adalah senyawa yang dilepas tubuh dan menyebabkan rasa sakit serta inflamasi. Akibat dari penghambatan produksi prostaglandin oleh Asam Mefenamat maka akan terjadi pengurangan rasa sakit dan inflamasi (Asif, 2014). Asam mefenamat digunakan sebagai analgesik; sebagai anti-inflamasi, asam mefenamat kurang efektif dibandingkan dengan aspirin. Asam mefenamat terikat sangat kuat pada protein plasma. Dengan demikian interaksi terhadap obat antikoagulan harus diperhatikan (Wilmana dan Sulistia, 2007).



**Gambar 2.1 Struktur asam mefenamat** (Alballa *et al.*, 2016)

Asam mefenamat memiliki rumus molekul  $C_{15}H_{15}NO_2$ . Asam mefenamat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%  $C_{15}H_{15}NO_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Pemerian berupa serbuk hablur; putih atau hampir putih; melebur pada suhu lebih kurang  $230^{\circ}C$  disertai peruraian. Asam mefenamat larut dalam alkali hidroksida; agak sukar larut dalam kloroform; sukar larut dalam etanol dan dalam metanol; praktis tidak larut dalam air (Depkes RI, 2014).

Dosis asam mefenamat adalah 2-3 kali 250-500 mg sehari. Asam mefenamat mencapai kadar puncak dalam plasma dalam 2-4 jam setelah penggunaan dosis tunggal. Rata-rata 50% dari dosis asam mefenamat diekskresikan di urin, umumnya sebagai metabolit terkonjugasi 3- hidroksi metil dan metabolit 3-karboksil. Sejumlah 20% asam mefenamat ditemukan di feses, umumnya sebagai metabolit tak terkonjugasi 3- karboksil (Wilmana dan Sulistia, 2007). Efek samping terhadap saluran cerna sering timbul misalnya dyspepsia, diare, sampai diare berdarah dan gejala iritasi lain terhadap mukosa lambung. Pada orang lanjut usia efek samping diare hebat lebih sering dilaporkan. Efek samping lain yang berdasarkan hipersensitivitas ialah eritema kulit dan bronkokonstriksi dan anemia hemolitik juga pernah dilaporkan (Wilmana dan Sulistia, 2007).

### C. Spektroskopi Infra Merah

Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) atau spektroskopi inframerah adalah suatu metode analisis berdasarkan pada prinsip interaksi suatu senyawa kimia dengan radiasi elektromagnetik yang akan menghasilkan suatu getaran (vibrasi) dari suatu ikatan kimia poliatomik atau gugus fungsional senyawa kimia. Teknik ini disebut juga dengan spektroskopi vibrasional (Moros, *et al.*, 2010). Spektroskopi FTIR memiliki kemampuan yang cepat dalam menganalisis, bersifat tidak merusak dan hanya dibutuhkan preparasi sampel yang sederhana (Vlachos, *et al.*, 2006).

Spektrofotometer FTIR didasarkan pada ide adanya interferensi radiasi antara 2 berkas sinar untuk menghasilkan suatu interferogram. Interferogram merupakan sinyal yang dihasilkan sebagai fungsi perubahan *pathlength* antara 2 berkas sinar. Dua domain (jarak dan frekuensi) dapat ditukarbalikkan dengan metode matematis yang disebut dengan transformasi fourier (Stuart, 2004).

Terdapat 3 jenis spektroskopi vibrasional yang diaplikasikan luas dalam bidang farmasi yaitu spektroskopi inframerah dekat (*near infrared*), spektroskopi inframerah tengah (*mid infrared*), dan spektroskopi Raman. Daerah yang penting untuk analisis kualitatif sistem organik adalah IR tengah, karena banyak ditemukan vibrasi dasar. Daerah spektra Raman adalah sama dengan IR tengah. Pada daerah IR dekat umumnya digunakan konfirmasi struktur kimia, dan pada IR jauh penggunaannya sangat terbatas (Rohman, 2014). Ketiga teknik dan instrumen dalam metode tersebut merupakan teknik yang menarik dan menjanjikan untuk digunakan sebagai penelitian, untuk penjaminan mutu produk, dan merupakan teknik analisis kimia hijau karena hanya sedikit atau sama sekali tidak menggunakan pelarut atau reagen kimia sehingga dapat mencegah bahaya yang dapat timbul karena reagen kimia atau pelarut dan mengurangi biaya analisis (Moros, *et al.*, 2010).

**Tabel 2.2 Korelasi antara jenis vibrasi gugus fungsional dan frekuensi**

<b>Gugus</b>	<b>Jenis vibrasi</b>	<b>Frekuensi (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Intensitas</b>
<b>C-H</b>	Alkana (ulur)	3000-2850	Kuat
	CH <sub>3</sub> (tekuk)	1450 dan 1375	Medium
	CH <sub>2</sub> (tekuk)	1465	Medium
	Alkena (ulur)	3100-3000	Medium
	Alkena (tekuk, keluar bidang)	1000-650	Kuat
	Aromatis (ulur)	3150-3050	Kuat
	Aromatis (tekuk, keluar bidang)	900-690	Kuat
	Alkana (ulur)	± 3300	Kuat
	Aldehid	2900-2800	Lemah
		2800-2700	Lemah
<b>C-C</b>	Alkana	1200	Sedang
<b>C=C</b>	Alkena	1680-1600	Medium-lemah
	Aromatis	1600 dan 1475	Medium-lemah
<b>C≡C</b>	Alkana	2250-2100	Medium-lemah
	Aldehid	1740-1720	Kuat
	Keton	1725-1705	Kuat
	Asam karboksilat	1725-1700	Kuat
<b>C=O</b>	Ester	1750-1730	Kuat
	Amida	1680-1630	Kuat
	Anhidrida	1810 dan 1760	Kuat
	Asil klorida	1800	Kuat
<b>C-O</b>	Alcohol, eter, ester, asam karboksilat, anhidrida	1300-1000	Kuat
	Fenol		
<b>O-H</b>	Bebas	3650-3600	Medium
	Terikat hydrogen	3400-3200	Medium
	Asam-asam karboksilat	3400-2400	Medium
<b>N-H</b>	Amin primer, amin sekunder, amida		
	Ulur	3500-3100	Medium
	Tekuk	1640-1550	Medium-kuat
<b>C-N</b>	Amina	1350-1000	Medium-kuat

**Lanjutan**

<b>C=N</b>	Imina dan oksim	1690-1640	Medium-kuat
<b>C≡N</b>	Nitril	2260-2240	Medium
<b>X=C=Y</b>	Alena, ketena, isosianat, isotiosianat	2270-1940	Medium Kuat
<b>N=O</b>	Nitro (R-NO <sub>2</sub> )	1550 dan 1135	Kuat
<b>S-H</b>	Merkaptan	2250	Lemah
	Sulfoksida	1050	kuat
<b>S=O</b>	Sulfon, sulfonil klorida, sulfat, sulfonamid	1375-1300 dan 2350-1140	Kuat
	Flourida	1400-1000	Kuat
	<b>C-X</b>	Klorida	785-540
Bromide, iodide		<667	Kuat

(Sumber: Pavia, *cit* Rohman., 2014).

Daerah spektrum inframerah dapat dibagi menjadi dua yaitu:

1. Daerah frekuensi gugus fungsional

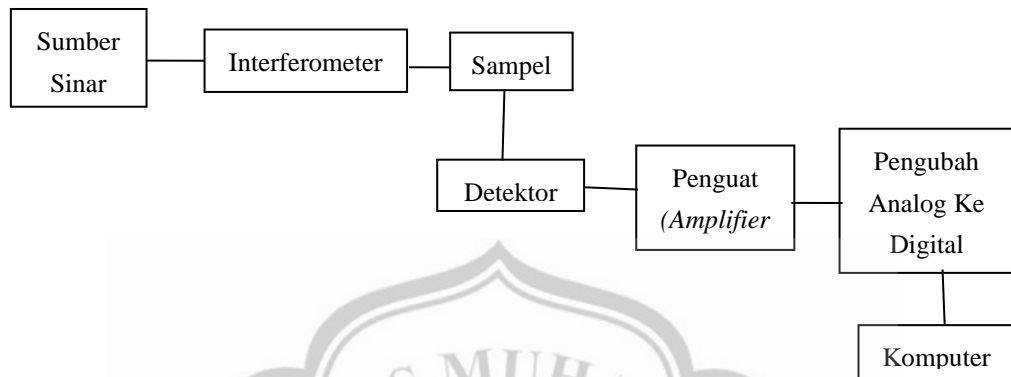
Terletak pada daerah radiasi 4000-1400 cm<sup>-1</sup>. Bagian dari spektrum ini menunjukkan absorbansi yang timbul karena ikatan dan gugus. Kebanyakan puncak absorpsi dalam daerah spektrum ini mudah dikenal dan berasal dari gugus fungsional yang khas.

2. Daerah sidik jari (*Fingerprint*)

Yaitu daerah yang terletak pada 1400-400 cm<sup>-1</sup>. Pita-pita absorpsi pada daerah ini berhubungan dengan vibrasi molekul secara keseluruhan. Setiap atom dalam molekul akan saling mempengaruhi sehingga dihasilkan pita-pita absorpsi yang khas untuk setiap model (Mudasir dan Candra, 2008).

Komponen dasar spektrofotometer FTIR ditunjukkan secara skematis dalam Gambar 2.2. Radiasi yang berasal dari sumber sinar dilewatkan melalui interferometer ke sampel sebelum mencapai detektor. Selama

penguatan (amplifikasi) sinyal, yang mana kontribusi-kontribusi frekuensi tinggi telah dihilangkan dengan filter, data diubah ke bentuk digital dengan *analog-to-digital converter* dan dipindahkan ke komputer untuk menjalani transformasi Fourier.



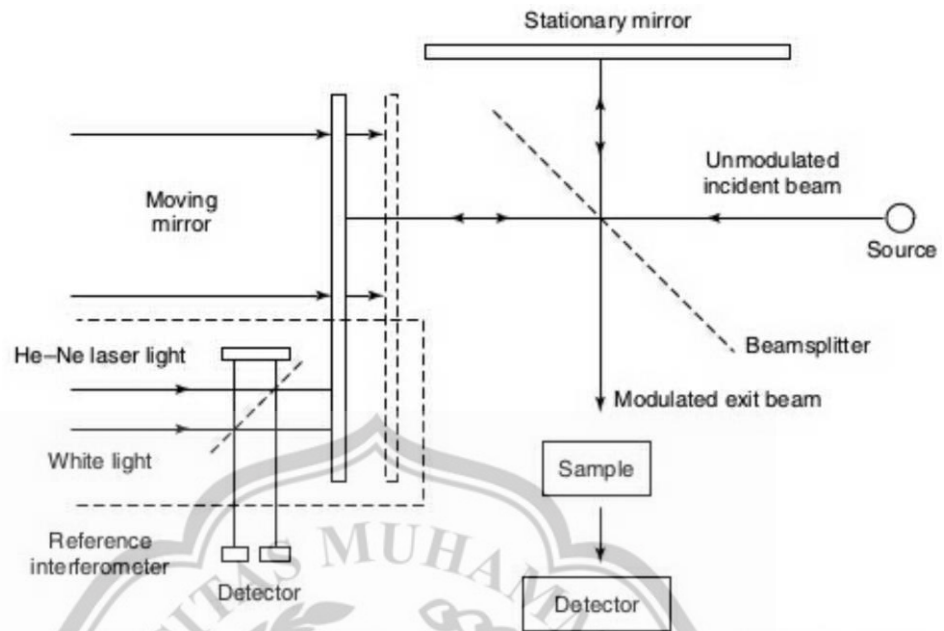
**Gambar 2.2. Komponen utama yang digunakan dalam spektrofotometer FTIR** (Stuart, 2004).

#### 1) Sumber sinar

Sumber sinar yang digunakan spektrofotometer FTIR daerah IR tengah terbuat dari filamen Glibar atau Nerst yang dipanaskan dengan menggunakan listrik sampai temperatur 1000°-1800°C (Purnamasari, 2016). Jika spektra IR jauh juga akan diukur, dapat digunakan lampu merkuri tekanan tinggi. Untuk IR dekat, dapat digunakan sumber sinar lampu-lampu Tungsten-Hidrogen (Rohman, 2014).

#### 2) Interferometer Michelson

Interferometer pertama kali dirancang oleh Albert Abraham Michelson pada tahun 1891. Tujuan interferometer adalah untuk membawa berkas sinar, lalu memecahnya ke dalam dua berkas sinar, dan membuat salah satu berkas sinar berjalan dengan jarak yang berbeda dengan yang lain. Perbedaan jarak yang dilalui oleh 2 berkas sinar ini disebut dengan perbedaan celah optik (*pathlength difference*) atau penghambatan optik, disimbolkan dengan huruf Yunani, delta kecil ( $\delta$ ).



**Gambar 2.3. Interferometer Michelson**

Sumber: Stuart, 2004

Interferometer Michelson mempunyai 2 buah cermin, yakni cermin statis/tetap (tidak bergerak) dan cermin yang selalu bergerak. Diantara 2 cermin ini terdapat pemecah berkas sinar (*beam splitter*), yang dirancang untuk mentransmisikan setengah radiasi yang mengenainya dan merefleksikan/memantulkan yang setengahnya. Sebagai hasilnya, sinar yang ditransmisikan oleh *beam splitter* akan mengenai cermin statis, sementara sinar yang direfleksikan akan mengenai cermin bergerak. Dua berkas sinar tersebut akan dipantulkan dari cermin-cermin ini, kembali ke *beam splitter* yang mana keduanya akan bergabung kembali dan akan melakukan interferensi. Setengah berkas sinar yang dipantulkan dari cermin statis ditransmisikan melalui *beam splitter*, sementara setengahnya dipantulkan kembali ke arah sumber sinar. Berkas sinar

yang muncul dari interferometer pada  $90^\circ$  ke berkas sinar yang masuk disebut dengan berkas sinar yang ditransmisikan dan ini merupakan berkas sinar yang terdeteksi dalam spektrofotometer FTIR (Stuart, 2004).

### 3) Pemecah Sinar (*Beam Splitter*)

Beberapa material transparan dengan indeks relatif (Purnamasari, 2016) yang terletak diantara cermin statis/diam dan cermin bergerak pada interferometer. Pemecah sinar (*Beam Splitter*) berfungsi untuk mentransmisikan setengah radiasi yang mengenainya dan memrefleksikan/memantulkan setengah yang lain (Stuart, 2004).

### 4) Daerah Cuplikan

Berkas acuan dan cuplikan masuk ke dalam daerah cuplikan dan masing-masing menembus sel acuan dan cuplikan yang bersesuaian (Purnamasari, 2016).

### 5) Detektor

Ada 2 jenis detektor yang umum digunakan pada spektrofotometer FTIR. Detektor normal pada penggunaan rutin adalah alat piroelektrik yang didalamnya terdapat deuterium triglisin sulfat (DTGS) pada jendela alkali halida yang tahan terhadap panas. Untuk pekerjaan yang memerlukan sensitivitas lebih, dapat digunakan detektor merkuri kadmium tellurida (MCT), tetapi detektor ini harus didinginkan pada suhu nitrogen cair. Untuk pengukuran spektra IR di daerah dekat (NR), detektor yang digunakan adalah fotokonduktor timbal sulfida.

### 6) Komputer

Komputer merupakan komponen yang krusial dalam instrumen spektrofotometer FTIR modern. Komputer akan mengendalikan instrumen, misalnya dalam hal kecepatan, batas, serta awal dan akhir *scanning*. Komputer akan membaca spektra dari instrumen begitu

spektrum discanning. Hal ini bermakna bahwa spektrum telah didigitalisasikan. Komputer juga dapat digunakan untuk manipulasi spektrum, misalnya untuk melakukan derivatisasi, pengurangan dan penjumlahan spektra, serta untuk *overlay* antar spektra (Stuart, 2004).

Spektrofotometer FTIR merupakan instrumen *single beam*. Pengukuran *background* dilakukan sebelum pengukuran sampel. Pengukuran *background* ini merupakan pengukuran spektrum lingkungan, yang terdiri dari gas yang mampu mengabsorpsi sinar inframerah, seperti gas karbon dioksida dan uap air. Pengukuran sampel dengan spektrofotometer FTIR dilakukan setelah pengukuran spektra *background*. Perangkat lunak komputer akan mengurangi spektra hasil pengukuran dengan spektra *background* secara otomatis untuk menghasilkan spektra sampel yang dianalisis (Stuart, 2004).

Mekanisme kerja spektroskopi FTIR adalah ketika sinar datang dari sumber sinar lalu akan diteruskan. Kemudian dipecah oleh *beam splitter* menjadi 2 bagian sinar yang saling tegak lurus. Sinar ini kemudian dipantulkan oleh 2 cermin, yaitu cermin statis/diam dan cermin bergerak. Lalu sinar hasil pantulan dari kedua cermin tersebut akan dipantulkan kembali menuju *beam splitter* untuk saling berinteraksi. Dari *beam splitter*, sebagian sinar akan diarahkan menuju cuplikan dan sebagian akan menuju sumber. Gerakan cermin yang maju mundur akan menyebabkan sinar pada detektor berfluktuasi. Sinar akan saling menguatkan ketika kedua cermin memiliki jarak yang berbeda. Fluktuasi sinar yang sampai pada detektor akan menghasilkan sinyal pada detektor yang terdapat di interferometer (Tahid, 1994).

Instrumen analisis yang ada banyak menggabungkan antara informasi dari spektra inframerah di daerah dekat dan inframerah tengah (FT-NIR dan FTIR). Spektroskopi Fourier Transform dan juga dispersif

sering membutuhkan aplikasi kemometrika (analisis multivariat) untuk memperoleh informasi spektra dalam keperluan analisis kualitatif dan kuantitatif (Stuart, 2004). Manfaat dari metode statistik multivariat tersebut adalah kemampuannya dalam mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif. Metode statistik multivariat sering disebut dengan metode kemometrik (Ritz, M. *et al.*, 2011).

Secara garis besar, spektrum IR diperoleh dengan teknik transmisi dan pantulan (*reflectance*) (Rohman, 2014; Beasley, *et al.*, 2014).

#### 1. Teknik Transmisi

Teknik transmisi dalam memperoleh spektra IR, yaitu dengan melewatkan berkas sinar inframerah melalui sampel. Kelebihan dari teknik ini yaitu spektra transmisi mempunyai rasio sinyal *noise* yang tinggi, relatif tidak mahal, dan bersifat universal karena bekerja pada sampel padat, cair, gas dan polimer. Kekurangannya yaitu pada sampel yang dianalisis, idealnya harus berketebalan 1-20 mikron dan penyiapan sampel membutuhkan waktu yang lama. Teknik transmisi dibagi menjadi tiga yaitu: (1) spektra transmisi sampel padat, (2) spektra transmisi sampel cairan, dan (3) spektra transmisi sampel gas.

##### a. Spektra transmisi sampel padat

Terdapat tiga cara untuk memperoleh sampel padatan yaitu:

##### 1) Lempeng Kalium Bromida (Pelet KBr)

Pelet KBr digunakan untuk memperoleh spektra IR dari sampel padat terutama untuk sampel-sampel serbuk. KBr bersifat *inert*, transparan terhadap sinar IR, dapat beraksi sebagai pendukung dan pengencer sampel.

## 2) Mull

Mull atau lumpuran dibuat dengan menggerus sampel/cuplikan sampai halus, kemudian dicampur dengan 1-2 tetes minyak hidrokarbon berat/parafin cair (Nujol) hingga menjadi lumpuran.

## 3) Lapis Tipis

Lapisan tipis padatan cuplikan pada lempeng natrium klorida dapat diperoleh dengan meneteskan larutan cuplikan pada permukaan lempeng natrium klorida. Pelarut yang digunakan mudah menguap, sehingga didapatkan lapisan tipis pada natrium klorida.

### b. Spektra Transmisi Sampel Cairan

Terdapat 2 teknik pengolahan sampel cairan yaitu:

#### 1) Metode Lapisan Tipis Kapiler

Lapisan tipis kapiler dibuat dengan 1 tetes sampel yang diletakkan di antara 2 jendela transparan inframerah.

#### 2) Metode Sel Cairan Tertutup

Teknik ini untuk cairan yang volatil, berbau menyengat, cairan toksik. Cairan tersebut tidak menguap dan tidak menyebabkan bahaya, karena metode ini mempunyai pengemas yang menutup cairan didalam sel, akibatnya akan mencegah penguapan.

### c. Spektra Transmisi Sampel Gas

Cuplikan gas dimasukkan ke dalam sampel gas. Jendela transparan terhadap inframerah, biasanya NaCl digunakan sehingga sel dapat diletakkan langsung dalam berkas cuplikan. Modifikasi dari bentuk ini dilakukan dengan menggunakan cermin-cermin internal sehingga berkas sinar dipantulkan beberapa kali melalui sampel untuk menaikkan kepekaan.

## 2. Teknik Reflektan (*Pantulan*)

Teknik reflektan digunakan untuk sampel yang sulit untuk dianalisis dengan teknik transmittan. Teknik pantulan atau reflectance ini sinar inframerah kembali dipantulkan pada sampel yang dianalisis. Keuntungan dari teknik reflektan adalah preparasi sampel cepat, mudah, tidak dipengaruhi oleh ketebalan sampel dan non-destruksi. Terdapat 2 metode reflektan, yaitu:

### a. *Attenuated Total Reflectance (ATR)*

Teknik ATR digunakan untuk memperoleh spektra zat padat, cair, semipadat, dan lapisan tipis. ATR dilakukan dengan menggunakan aksesori dalam kompartemen sampel spektrofotometer FTIR. Bagian inti aksesori ATR terlihat kristal (berupa bahan transparan inframerah) dengan indeks bias yang tinggi (Rohman, 2014; Beasley, *et al.*, 2014).

ATR merupakan teknik yang baik dan tangguh untuk sampling IR. ATR berguna untuk sampling permukaan bahan yang halus, dimana bahan tersebut sangat tebal atau buram untuk pengukuran IR dengan transmisi. Teknik ATR bersifat nondestruktif, preparasi sampel sedikit dan tidak memerlukan preparasi sampel, dan cepat. ATR dapat mengukur padatan (seperti kertas, kaca, keju, daging, serbuk dan bahan yang warna gelap) dan cairan termasuk larutan non-aqueous (seperti minyak dan pasta), polimer dan bahan organik lain (Sun, 2008).

### b. Spektroskopi reflektan spekular

Teknik ini merupakan salah satu jenis reflektan eksternal. Dalam pantulan eksternal, radiasi yang mengenai difokuskan ke sampel dan 2 bentuk pantulan dapat terjadi, yakni: (1) *specular* atau pemantulan yang terjadi pada permukaan yang mengkilap; dan (2) *diffuse* (menyebarkan). Reflektan eksternal mengukur radiasi yang dipantulkan dari sebuah permukaan. Bahan yang digunakan harus memantulkan atau diikatkan

dengan bahan yang memantul.

(1) Pantulan specular terjadi ketika sudut radiasi yang dipantulkan sama dengan sudut datang. Banyaknya sinar yang dipantulkan tergantung pada sudut datang, indeks bias, kekasaran permukaan, dan sifat-sifat serapan sampel. Pada teknik ini, sampel-sampel padat diletakkan pada permukaan yang rata. Teknik specular umum digunakan untuk sampel-sampel cairan yang dapat dituang melalui teflon.

(2) Pada spektroskopi pantulan menyebar, energi yang menetralkan satu atau lebih partikel dipantulkan ke segala arah dan komponen ini disebut dengan pantulan menyebar (*diffuse reflectance*). Dalam teknik inframerah, pantulan menyebar (biasa dikenal dengan DRIFT = *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform*). Pada teknik pantulan menyebar, serbuk sampel dicampur dengan serbuk KBr, tetapi tidak memerlukan pembuatan pelet dengan tekanan hidrofilik. DRIFT sangat sesuai untuk sampel-sampel serbuk dan serat.

## **E. Kemometrika**

Secara umum, kemometrika didefinisikan sebagai cabang ilmu pengetahuan yang mengaplikasikan teori-teori matematika dan statistika untuk mengolah data kimia. Kemometrika dapat digunakan untuk merancang atau memilih prosedur dan pengujian yang optimal, serta untuk menarikan informasi kimia sebanyak-banyaknya dari suatu data (Roggo dkk., 2007). Menurut *International Chemometrics Society* (kumpulan ahli kemometrika internasional), kemometrika adalah ilmu pengetahuan yang menghubungkan pengukuran yang dibuat pada suatu proses atau sistem kimiawi melalui penggunaan ilmu matematika dan statistika. Berdasarkan definisi tersebut dapat diketahui bahwa ilmu matematika dan statistika mendukung pemahaman kemometrika (Otto, 2007).

Kemometrika banyak berkaitan dengan pengukuran dua multivariat (Adams, 2004). Data multivariat adalah data yang dihasilkan dari pengukuran banyak variabel pada satu sampel yang sama. Salah satu penggunaan data multivariat dalam analisis campuran obat dengan menggunakan kisaran frekuensi yang lebar (misalnya pada frekuensi  $4.000-400\text{ cm}^{-1}$ ), sehingga jumlah variabel di sini sangat banyak. Kegunaan lainnya adalah untuk melakukan pengelompokan berbagai minyak atau lemak makan berdasarkan spektra IR-nya dan sebagai variabel untuk pengelompokannya digunakan data absorbansi pada kisaran frekuensi yang lebar (Miller dan Miller, 2005).

Dalam analisis data spektroskopi FTIR, model kalibrasi multivariat dapat berupa *multiple linier regression* (MLR), *principal component regression* (PCR), dan *artificial neural network* (AAN). Analisis multivariat yang dapat digunakan untuk pengenalan pola antara lain yaitu *exploratory data analysis* (EDA) yang terdiri dari *principal component analysis* (PCA) dan *factor analysis* (FA), *unsupervised pattern recognition*, dan *supervised pattern recognition*.

Analisis kuantitatif data spektroskopi dan elektrokimia telah banyak menggunakan teknik kalibrasi multivariat, salah satunya adalah PLS (*Partial Least Square*) dan PCA (*principal component analysis*).

#### 1. PLS (Partial Least Square)

PLS merupakan salah satu kemometrika yang didasarkan pada metode regresi yang dapat menghubungkan antara spektra vibrasional dengan sifat sampel yang dapat dikuantifikasi (contoh: konsentrasi analit), yang mengacu pada data multivariat. Sehingga regresi yang jumlah variabelnya lebih dari satu ini disebut regresi multivariat (Rohman, 2014).

PLS dapat memperkirakan serangkaian variabel tak bebas (respon) dan variabel bebas (prediktor) yang jumlahnya sangat banyak, memiliki sistematis linier, dengan atau tanpa data yang hilang dan memiliki

kolinieritas yang tinggi (Miller dan Miller, 2005). Regresi PLS memiliki kelebihan berupa pembentukan komponen regresi PLS yang menggambarkan hubungan antara variabel x dan y. Setiap komponen pada regresi PLS diperoleh dengan memaksimalkan kovarian antara variabel y dengan setiap fungsi linier yang memungkinkan dari variabel x. Dalam FTIR, PLS sering digunakan untuk mengekstrak informasi dari spektra yang kompleks dengan puncak-puncak yang tumpang tindih, adanya pengotor, dan adanya *noise* dari instrumen spektrometer FTIR (Rohman, 2014). Kelebihan utama PLS adalah kemampuannya untuk membangun korelasi antara spektra FTIR dengan analit, meskipun tidak terlihat adanya perbedaan yang teramati secara visual dalam spektra FTIR (Che Man, 2005).

Evaluasi dari kalibrasi PLS dapat menggunakan *root mean square error of calibration* (RMSEC) dan koefisien determinasi ( $R^2$ ). Nilai  $R^2$  menunjukkan seberapa besar variasi dari setiap variabel Y (konsentrasi) yang mampu dijelaskan oleh variabel independen (X) (Rohman, 2014). Nilai RMSEC menunjukkan selisih kadar terukur dengan kadar sebenarnya sehingga semakin rendah nilai RMSEC maka model kalibrasi semakin baik karena faktor kesalahannya kecil (Gulo, 2016) yang ditunjukkan dengan nilai RMSEC yang mendekati nol (Rohman, 2014). Model PLS lalu akan disilangkan dengan teknik *leave one out*, yaitu kinerja dari prediksi dapat divalidasi dengan menggunakan validasi silang (*cross validation*) teknik *leave-one-out* (mengeluarkan satu persatu). Dalam teknik ini, nilai sampel pertama (sampel A) dibuang dari serangkaian data (sampel A-J) dan nilai-nilai sampel tersisa (sampel B-J) digunakan untuk menemukan nilai prediksi  $C_1$  untuk sampel A. Prosedur ini diulangi terus-menerus meninggalkan satu persatu sampel dan dimodelkan dengan sampel yang tersisa. Selanjutnya perbedaan nilai

sebenarnya dengan nilai prediksi untuk setiap sampel dihitung.

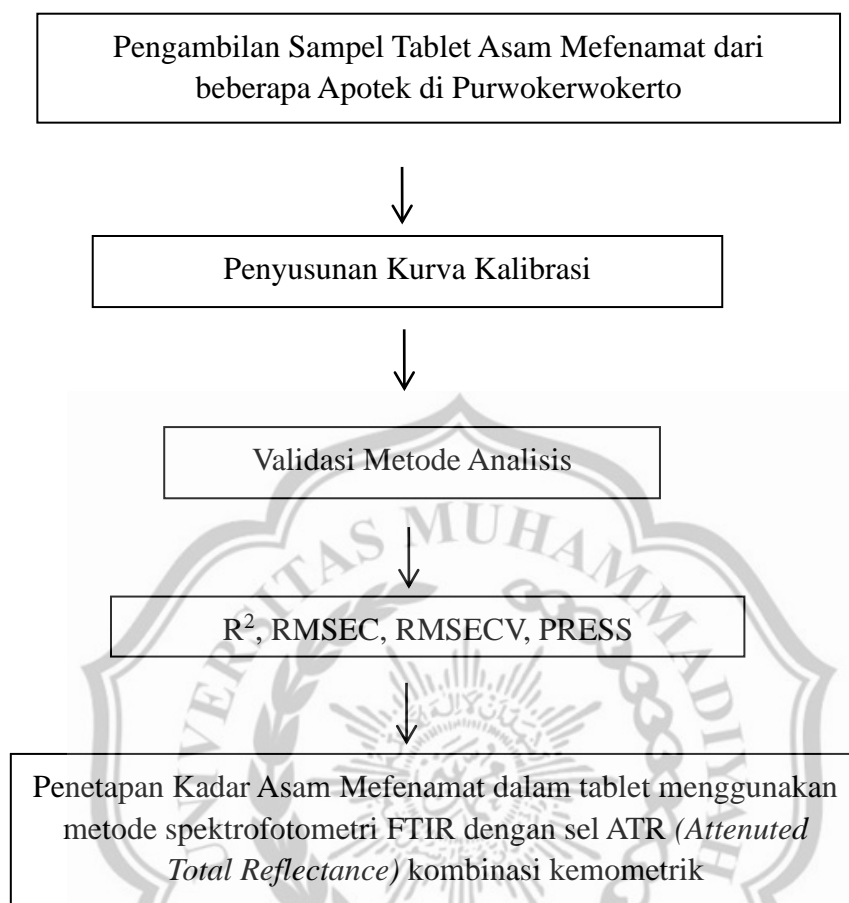
Total kuadrat nilai-nilai ini disebut dengan predicted residual error sum of squares (PRESS) (Rohman, 2014). Nilai PRESS adalah nilai yang menunjukkan kesalahan prediksi saat proses pemodelan dan merupakan bagian dari validasi untuk model kalibrasi multivariat PLS (Gulo, 2016). Semakin dekat nilai PRESS ke nilai nol (0) maka daya prediktif model semakin baik. Untuk mengevaluasi kesesuaian model prediksi pada cross validation dapat diketahui dengan menghitung nilai RMSECV (root mean square error of cross validation), dimana nilai RMSECV semakin mendekati nol, maka kesesuaian model prediksi pada cross validation semakin baik (Rohman, 2014).

## 2. PCA (*Principle Component Analysis*)

Merupakan teknik yang digunakan untuk mengurangi jumlah peubah dalam suatu matriks data. Prinsip PCA yaitu mencari komponen utama yang dipilih sedemikian rupa sehingga komponen utama memiliki variasi terbesar dalam set data, sedangkan komponen utama kedua tegak lurus terhadap komponen utama pertama dan memiliki variasi terbesar berikutnya (Miller & Miller, 2005). Secara keseluruhan fungsi dari PCA yaitu untuk mengklasifikasi sampel menjadi grup yang umum, mendeteksi adanya pencilan (outliers), melakukan pemodelan data, dan menseleksi variabel untuk klasifikasi maupun pemodelan (Brereton, 2003).

Kedua komponen utama pertama ini pada umumnya digunakan sebagai bidang proyeksi untuk pemeriksaan visual dan multivariat. Jika jumlah varian dari komponen utama satu (PC1) dan (PC2) lebih besar dari 70% maka score plot memperlihatkan visualisasi dua dimensi yang baik.

## G. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

## H. Hipotesis

Metode spektrofotometri FTIR dengan teknik ATR dapat digunakan untuk penetapan kadar asam mefenamat dalam sediaan tablet.