

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ASAM ASETILSALISILAT
DALAM SEDIAAN OBAT MEMANFAATKAN SINAR REFLEKTAN
TERUKUR DARI BERCAK YANG DIHASILKAN**

SKRIPSI



Oleh :

**SEPTYANITA DWIANGGA
K100060001**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2010**

BAB I

Pendahuluan

A. Latar Belakang Masalah

Asam asetilsalisilat merupakan jenis obat yang banyak digunakan oleh masyarakat. Badan POM Indonesia menyebutkan bahwa obat ini merupakan analgesik antiinflamasi pilihan pertama (Badan POM, 2003). Asam asetilsalisilat dapat juga mengurangi resiko penyakit asma pada orang dewasa (Graham, *et al.*, 2006). Pada treatment menggunakan asam asetilsalisilat dosis rendah dengan kombinasi *clopidogrel* memperlihatkan adanya kemampuan untuk mencegah serangan stroke. (Connolly, *et al.*, 2009).

Ditinjau dari banyaknya khasiat dari asam asetilsalisilat tentu konsumsi obat ini sangat tinggi. Produsen akan berlomba-lomba melakukan inovasi pada setiap produk asam asetilsalisilat sesuai kebutuhan konsumen. Jumlah sediaan yang beredar dipasaran mencapai 35 merk dagang, sediaan yang ditujukan untuk analgesik biasanya dikonsumsi dengan dosis tiga kali sehari masing-masing 80 sampai 100mg tiap tablet. Sedangkan untuk tujuan sebagai antiplatelet dosis yang digunakan satu kali sehari masing-masing 80-100 mg tiap tablet nya. Oleh karena itu pengawasan mutu yang menyangkut kandungan asam asetilsalisilat pada produk ini juga harus ditingkatkan. Untuk mencapai hal itu maka harus dikembangkan metode penetapan kadar dengan keunggulan dapat memenuhi parameter validitas suatu metode analisis yang meliputi akurasi, presisi, liniertitas serta LOD (*Limit of Detection*), serta LOQ (*Limit of Quantitation*). Selain itu juga dibutuhkan metode yang memiliki tingkat kesulitan yang rendah, cepat, dan

membutuhkan biaya yang lebih sedikit.

Beberapa metode dapat digunakan sebagai alternatif dalam penetapan kadar asam asetilsalisilat ini seperti titrasi asam basa, potensiometri, spektrofotometri ultraviolet-visibel, fluoresen, spektrofotometri infra merah, kromatografi seperti HPLC. Akan tetapi beberapa metode tadi masih memiliki beberapa kekurangan seperti kerumitan preparasi serta analisisnya, waktu yang dibutuhkan terlalu lama. Selain itu instrumen pada beberapa metode tersebut memiliki harga sangat mahal dan membutuhkan keahlian khusus (Matias *et al.*, 2004).

Alternatif metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dapat dilakukan dengan metode uji bercak yang kemudian di analisis dengan sinar reflektan. Hasil penelitian metode reflektometrik sederhana untuk determinasi dipiron menunjukkan bahwa metode ini memenuhi parameter-parameter validitas suatu metode analisis (Weinert *et al.*, 2007). Penelitian sejenis yang dilakukan dengan cara mereaksikan asam asetilsalisilat dengan NaOH, asam nitrat serta larutan *ferri nitrat* dan hasil kompleksasi yang dihasilkan diteteskan pada kertas kertas saring dan dianalisis langsung dengan sinar reflektan. Hasil pada metode ini diperoleh nilai rata-rata RSD = 0,9 (Matias, *et al.*, 2004). Penelitian-penelitian sebelumnya hampir semua menyebutkan bahwa metode ini lebih menghemat biaya (Weiner *et al.*, 2000), sangat sederhana dan hanya menggunakan reagen dalam jumlah kecil (Roberto *et al.*, 2006), dan potensial untuk analisis kuantitatif karena mudah serta cepat (Gotardo *et al.*, 2008).

Penelitian dilakukan untuk pengembangan metode analisis penetapan kadar asam asetilsalisilat dengan tujuan mendapatkan metode analisis yang memiliki keunggulan daripada metode yang lain. Metode ini merupakan pengembangan dari metode analisis asam asetilsalisilat secara spektrofotometri visible. Metode ini dilakukan dengan reagen kering yaitu menggunakan kertas *whatman* yang telah mengandung ferri nitrat. Sampel yang akan diteliti dihidrolisis terlebih dahulu dan ditetaskan pada kertas tersebut kemudian bercak yang didapatkan dianalisis dengan pemanfaatan sinar reflektan.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui validitas dari metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dalam sediaan obat memanfaatkan sinar reflektan terukur dari bercak yang dihasilkan. Pada validasi ini digunakan enam macam parameter yaitu ; ketepatan (akurasi), presisi antara, ripitabilitas, linieritas, *robustness*, LOD (*Limit of Detection*), serta LOQ (*Limit of Quantitation*).

B. Perumusan Masalah

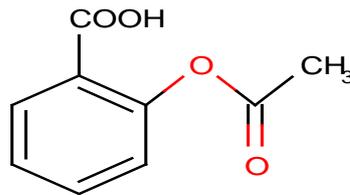
Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah: bagaimanakah validitas metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dalam sediaan obat dengan memanfaatkan sinar reflektan terukur dari bercak yang dihasilkan?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui validitas metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dalam sediaan obat memanfaatkan sinar reflektan terukur dari bercak yang dihasilkan dengan melihat parameter validasi yang meliputi ketepatan (akurasi), presisi antara, riptabilitas, linieritas, *robustness*, LOD (*Limit of Detection*), serta LOQ (*Limit of Quantitation*).

D. Tinjauan Pustaka

1. Asam asetilsalisilat



Gambar 1. Struktur Kimia dari asam asetilsalisilat (Clarke, 2004).

Asam asetilsalisilat memiliki rumus kimia seperti pada gambar 1. Sediaan tablet yang mengandung asam asetilsalisilat memiliki nama dagang diantaranya seperti Contrexyn® (80 mg tiap tablet), Inzana® (80 mg tiap tablet), Thrombo Aspilets® (80 mg tiap tablet), Cardio Aspirin® (100 mg tiap tablet) dan Farmasal® (100 mg tiap tablet) (Anonim, 2006). Asam asetilsalisilat merupakan kristal putih atau tidak berwarna atau serbuk kristal putih atau berupa granul. Asam asetilsalisilat stabil pada udara kering tetapi bila dalam lingkungan yang lembab akan terhidrolisis menjadi asam salisilat dan asam asetat. Kelarutan asam asetilsalisilat sebagai berikut, 1 bagian dalam 300 bagian air, 1 bagian dalam 5

bagian etanol, 1 bagian dalam 10 – 15 bagian eter, larut dalam larutan asetat dan sitrat, dengan adanya senyawa yang terdekomposisi, serta larut dalam larutan alkali hidroksida dan karbonat. Asam asetilsalisilat ini memiliki nilai pKa 3,5 pada suhu 25⁰C dan koefisien partisi atau Log P (oktanol/dapar pH 7,4) sebesar -1,1 (Clarke's, 2004).

Asam asetilsalisilat tersusun atas tiga gugus yaitu karboksilat, benzen dan asetil dan merupakan ester fenolik yang mudah terhidrolisis. Penetapan kadar asam asetilsalisilat dengan metode titrasi kembali dilakukan dengan hidrolisis asam asetilsalisilat dengan natrium hidroksida 0,5 N. Larutan tersebut dididihkan selama 10 menit dan ditambah indikator *fenolftalein* dan dititrasi dengan asam sulfat 0,5 N (Anonim, 1995). Penetapan kadar asam asetilsalisilat dengan metode spektrofotometri visibel dilakukan dengan hidrolisis asam asetilsalisilat dengan natrium hidroksida 10%. Hidrolisis ini menghasilkan menghasilkan asam salisilat dan asam asetat yang kemudian dinetralkan dengan asam klorida pekat. Asam salisilat yang terbentuk dikomplek dengan ferri nitrat yang akan bereaksi dengan gugus fenol dari asam salisilat dan menghasilkan kompleks berwarna ungu. Setelah 10 menit dibaca absorbansi larutan pada panjang gelombang 525 nm (Higuchi dan Hanssen, 1961).

Penetapan kadar asam asetilsalisilat pada penelitian ini dilakukan dengan cara menghidrolisis terlebih dahulu asam asetilsalisilat dengan suatu basa karena kecepatan hidrolisis ester yang dikatalisis oleh OH⁻ lebih cepat daripada hidrolisis ester yang dikatalisis oleh H⁺ (Ganjar dan Rohman, 2007). Kemudian hasil hidrolisis ini diteteskan pada kertas *whatman* yang mengandung ferri nitrat.

Komplek warna yang terbentuk kemudian dianalisis dengan menggunakan sinar reflektan terukur.

2. Densitometer

Densitometer merupakan peralatan optik yang tersusun atas sumber cahaya serta detektor untuk membaca sinar yang dipantulkan oleh sampel (Chung, 2006). Densitometri bekerja secara serapan atau fluoresensi dengan sumber cahaya monokromator untuk memilih panjang gelombang yang sesuai (Ganjar dan Rohman, 2007). Pada sistem serapan dapat dilakukan dengan model pantulan (*reflection*) dan transmisi. Pada penggunaan metode reflektan dilakukan dengan menyinari bercak dari satu sisi dan mengukur sinar yang dipantulkan dan dapat menggunakan sinar tampak maupun *ultraviolet* (Sudjadi, 1986).

Penggunaan sinar reflektan pada beberapa tahun yang lalu hanya terbatas pada bidang industri cat, pigmen, kertas, tekstil, dan keramik. Tetapi pada saat ini telah banyak dikembangkan terutama pada bidang penelitian atau analisis terhadap suatu obat. Sebagai contoh adalah kuantifikasi asam asetilsalisilat yang direaksikan terlebih dahulu dengan ferri nitrat kemudian diteteskan pada kertas (Matias *et al.*, 2004), metildopa (Roberto *et al.*, 2006), dipiron (Weinert *et al.*, 2007) serta atenolol dalam sediaan farmasi (Gotardo *et al.*, 2008).

3. Validasi metode analisis

Validasi merupakan metode yang dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduisibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Harmita, 2004). Validasi adalah suatu pembuktian terhadap suatu parameter berdasarkan hasil laboratorium bahwa parameter tersebut memenuhi

syarat untuk penggunaannya (Gandjar dan Rohman, 2007). Validasi metode ini menggunakan beberapa parameter yaitu ketepatan (akurasi), presisi antara, rpitabilitas, linieritas, *robustness*, LOD (*Limit of Detection*), serta LOQ (*Limit of Quantitation*) (Harmita, 2004). Tujuan dilakukan validasi adalah sebagai verifikasi bahwa parameter-parameter kinerja metode analisis cukup mampu untuk mengatasi problem analisis.

Metode analisis harus selalu divalidasi ketika (1) metode baru dikembangkan untuk mengatasi masalah analisis tertentu. (2) metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena terjadi suatu masalah yang mengarahkan agar metode tersebut harus direvisi. (3) penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah. (4) metode baku yang dilakukan di laboratorium yang berbeda, di kerjakan oleh analisis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda. (5) untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode seperti metode baru dan metode baku (Gandjar dan Rohman, 2007). Metode analisis yang mengalami perubahan seperti perubahan pada proses sintesis obat, perubahan pada komposisi produk akhir, serta perubahan pada prosedur analisis harus dilakukan *revalidasi* atau validasi kembali. Metode analisis pada penelitian ini merupakan pengembangan dari metode yang telah ada sehingga harus dilakukan validasi metode (ICH, 2005).

Akurasi adalah ketepatan prosedur analisis yang menyatakan kedekatan antara suatu nilai yang sebenarnya atau nilai referensi dengan nilai yang ditemukan (ICH, 2005). Akurasi ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan baku (*standard*

addition method). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (plasebo) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar sebenarnya dari analit yang ditambahkan. Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis kemudian sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (Harmita, 2004). Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel. Parameter ini dilakukan dengan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda seperti 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi. Data dilaporkan sebagai persentase perolehan kembali (ICH, 2005).

Presisi merupakan metode yang menyatakan variasi dari laboratorium seperti perbedaan hari, perbedaan analisis, perbedaan peralatan (ICH, 2005). Sumber lain menyebutkan bahwa presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik (Gandjar dan Rohman, 2007).

Parameter presisi ini meliputi (1) keterulangan yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama baik orangnya, peralatan, tempat maupun waktunya, (2) presisi antara yaitu pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatan, tempat maupun waktunya, (3) reproduktibilitas yang merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium lain. Dokumentasi presisi mencakup simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) (Gandjar dan Rohman, 2007). Reripitabilitas menyatakan presisi dari suatu metode analisis pada

kondisi yang sama pada beberapa interval waktu. Reritabilitas ini termasuk pada pengukuran parameter presisi (ICH, 2005).

Linieritas adalah kemampuan prosedur analisis untuk memperoleh hasil percobaan yang berbanding lurus kepada konsentrasi analit di dalam sampel (ICH, 2005). Parameter ini merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda dan selanjutnya ditentukan nilai kemiringan (*slope*) dan intersep serta koefisien korelasi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Robustness adalah ketahanan suatu metode analisis mengenai kapasitasnya untuk tetap tidak terpengaruh oleh adanya variasi metode yang kecil. Ketahanan dievaluasi oleh adanya variasi parameter-parameter metode seperti persentase pelarut organik, pH, kekuatan ionik, atau suhu (Gandjar dan Rohman, 2007).

Limit of Detection (LOD) merupakan parameter yang menunjukkan batas deteksi dari metode analisis yang merupakan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dideteksi, namun tidak memerlukan angka kuantitatif yang tepat.

Limit of Quantitation (LOQ) adalah parameter yang menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurat. Parameter ini digunakan untuk pengujian kuantitatif analit dengan jumlah kecil yang terkandung dalam sampel dan digunakan untuk pengukuran cemaran serta produk degradasi (ICH, 2005).

Kesalahan yang sering terjadi dalam analisis kuantitatif dapat dikelompokkan menjadi dua macam yaitu kesalahan random dan kesalahan sistematis (Gandjar dan Rohman, 2007).

a. Kesalahan random (*random error*)

Kesalahan random adalah kesalahan yang selalu terjadi dalam analisis dikarenakan adanya sedikit variasi yang tidak dapat ditentukan (dikontrol) saat pelaksanaan (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Kesalahan sistematis

Kesalahan sistematis memiliki sifat yang konstan, serta dapat mengakibatkan hasilnya menyimpang dari rata-rata. Kesalahan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti (1) kesalahan personel dan operasi. (2) kesalahan alat dan pereaksi. (3) kesalahan metode. Untuk mengatasinya dapat dilakukan beberapa cara seperti Kalibrasi alat yang dipakai, melakukan penetapan blanko, penetapan kontrol, satu seri penetapan kadar serta penetapan dengan berbagai metode (Mursyidi dan Rohman, 2006).

E. Landasan Teori

Teknik analisis dengan uji bercak serta pemanfaatan sinar reflektan telah banyak digunakan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan memaparkan keunggulan dari metode ini seperti pada metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dengan menggunakan uji bercak dapat lebih menghemat biaya (Weiner, *et al*, 2000). Uji bercak untuk atenolol juga merupakan teknik yang potensial untuk analisis kuantitatif karena mudah, cepat dan murah karena membutuhkan sedikit reagent dan tentunya ramah lingkungan (Gotardo, *et al*,

2008). Uji bercak merupakan metode yang sederhana dengan menggunakan sedikit reagen sehingga dapat memberikan prospek yang baik untuk analisis rutin terhadap kandungan suatu obat (Roberto *et al*, 2006).

Penelitian sejenis yang dilakukan dengan cara asam asetilsalisilat direaksikan dengan NaOH, asam nitrat serta larutan *ferri nitrat* kemudian larutan warna ungu yang merupakan hasil kompleksasi ini diteteskan pada kertas kertas saring dan dianalisis langsung dengan sinar reflektan. Hasil pada metode ini diperoleh nilai rata-rata RSD = 0,9 dan *recovery* yang diperoleh yaitu antara 97,6% - 99,7% (Matias, *et al*, 2004).

Pemanfaatan sinar reflektan pada penetapan kadar atenolol yaitu dengan mereaksikan atenolol dengan *p-chloranil* pada kertas *whatman 42* dan kemudian kompleks warna yang terbentuk dianalisis dengan sinar reflektan didapat hasil yang baik. Nilai parameter linieritas pada metode tersebut memenuhi syarat keberterimaan yaitu dengan $r = 0,9992$ dan memiliki *recovery* yang cukup baik antara 95% - 101% (Gotardo, *et al*, 2008).

Penelitian metode reflektometrik sederhana untuk determinasi dipiron, yaitu dengan mereaksikan dipiron dengan *p-dimethylaminocinnamaldehyde* pada kertas saring yang kemudian kompleks berwarna jingga ini dianalisis dengan sinar reflektan. Metode ini memenuhi parameter-parameter validitas suatu metode analisis yaitu dengan hasil *recovery* antara 99,5% - 103,5% dengan hasil presisi antara memiliki RSD 1,1% dan parameter rpitabilitas dengan RSD 0,9% (Weinert *et al.*, 2007).

F. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang telah diuraikan dapat diambil suatu hipotesis yaitu validitas metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dalam sediaan obat memanfaatkan sinar reflektan dari bercak yang dihasilkan dapat memenuhi parameter-parameter validitas suatu metode analisis.