

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tablet**

Tablet merupakan sediaan padat yang mengandung bahan obat dengan atau tanpa bahan pengisi. Berdasarkan metode pembuatan, tablet digolongkan menjadi tablet cetak dan tablet kempa. (Anonim, 1995).

Pada umumnya, tablet mengandung bahan tambahan yang memiliki fungsi yang berbeda-beda. Bahan-bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan tablet adalah bahan pengisi, bahan pengikat, bahan penghancur, dan bahan pelicin. Bahan pengisi diperlukan jika jumlah zat aktif tidak cukup memenuhi massa tablet. Selain itu bahan pengisi juga ditambahkan untuk memperbaiki daya kohesi, sehingga dapat memacu aliran dan dapat dikempa langsung. Bahan pengisi yang biasa digunakan adalah laktosa, amilum, sukrosa (Voigt, 1995).

Bahan pengikat ditujukan untuk meningkatkan kohesifitas antar partikel serbuk, sehingga memberikan kekompakan dan daya tahan tablet (Voigt, 1995). Penambahan ini dimaksudkan agar tablet kompak dan tidak mudah pecah. Bahan pengikat yang umum digunakan adalah cairan amilum, gelatin, gom arab, tragakan, dan derivat selulosa. Bahan penghancur ditujukan untuk memudahkan pecahnya atau hancurnya tablet dalam medium air atau cairan lambung sehingga pecah menjadi granul atau partikel penyusunnya dan dapat memberikan efek terapeutik yang diharapkan. Bahan penghancur yang umum digunakan adalah pati (Lachman, 1976).

Bahan pelicin ditujukan untuk memudahkan pengeluaran tablet dari ruang kempa melalui pengurangan gesekan antara dinding dengan permukaan sisi tablet. Bahan pelicin juga ditujukan untuk memperbaiki sifat alir granul dan mencegah massa tablet yang melekat pada dinding ruang kempa. Bahan pelicin yang sering digunakan adalah magnesium stearat, talk, dan polietilenglikol (Voigt, 1995).

Bahan-bahan tambahan yang sering digunakan dalam pembuatan tablet adalah amilum manihot, gelatin, dan magnesium stearat. Amilum manihot (pati singkong). Pati singkong diperoleh dari umbi akar *Manihot utilissima*. Amilum manihot merupakan serbuk halus dan berwarna putih. Kelarutan praktis tidak larut dalam air dingin dan dalam etanol (Anonim, 1995).

Gelatin merupakan zat yang diperoleh dari hidrolisa parsial kolagen dari kulit. Gelatin berupa lembaran, kepingan atau potongan, atau serbuk kasar sampai halus, kuning lemah atau coklat terang. Larutan berbau lemah seperti kaldu. Kelarutan, tidaklarut dalam air dingin, mengembang dan lunak bila dicelup dalam air, menyerap air secara bertahap sebanyak 5 sampai 10 kali beratnya, larut dalam air panas, dalam asam asetat 6 N dan dalam campuran panas gliserin dan air, tidak larut dalam etanol dalam kloroform, dalam eter, dan dalam minyak lemak dan dalam minyak menguap. Magnesium stearat merupakan senyawa magnesium dengan campuran asam- asam organik padat yang diperoleh dari lemak, terutama terdiri dari magnesium stearat dan magnesium palmitat dalam berbagai perbandingan. Mengandung setara dengan tidak kurang dari 6,8% dan tidak lebih dari 8,3% Magnesium Oksida (MgO). Magnesium stearat merupakan serbuk halus, putih dan voluminus, bau khas lemah, mudah melekat dikulit, bebas dari butiran. Kelarutannya tidak larut dalam air, dalam etanol, dan dalam eter. (Maria , 2010)

Tablet merupakan suatu bentuk sediaan yang banyak digunakan saat ini. Keuntungan dari bentuk tablet antara lain relatif murah dan relatif mudah digunakan pada masyarakat. Kebanyakan tablet digunakan dengan pemberian secara oral, dan kebanyakan ditambahkan zat warna, zat pemberi rasa, dan lapisan-lapisan dalam berbagai jenis. Tablet juga dapat digunakan secara sublingual, bukal, atau melalui vaginal. Tablet dapat berbeda-beda dalam bentuk, ukuran, berat, kekerasan, ketebalan, dan waktu hancur tergantung cara pemakaian dan pembuatannya (Ansel, 1985).

Kualitas tablet dapat dilihat dari evaluasi sifat fisik tablet (Aulton and Summer, 1994). Evaluasi kualitas tablet meliputi penampilan tablet, keseragaman ukuran tablet, keseragaman bobot dan kandungan, waktu hancur, kekerasan, kerapuhan, dan keseragaman kandungan. Penampilan tablet

sangat mempengaruhi penerimaan konsumen tentang mutu suatu obat. Pengontrolan penampilan ini, melibatkan pengukuran keseragaman ukuran, bentuk, permukaan, warna, ada tidaknya bau, rasa, dan cacat fisik dari tablet (Lachman, 1976).

Menurut Farmakope Indonesia edisi III, keseragaman ukuran tablet dinyatakan bahwa diameter tablet tidak lebih dari 3 kali dan tidak kurang dari  $\frac{1}{3}$  tebal tabletnya (Anonim, 1979). Tablet harus memenuhi uji keseragaman bobot, jika zat aktif merupakan bagian terbesar dari tablet dan jika uji keseragaman bobot cukup mewakili keseragaman kandungan. Keseragaman bobot bukan merupakan indikasi yang cukup dari keseragaman kandungan jika zat aktif merupakan bagian kecil dari tablet (Anonim, 1995). Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi III, untuk tablet tidak bersalut, harus memenuhi syarat keseragaman bobot, yaitu dengan menimbang 20 tablet dan menghitung bobot rata-rata tablet. Jika ditimbang satu per satu tidak boleh lebih dari 2 tablet yang bobotnya menyimpang dari kolom A dan tidak ada tablet yang menyimpang dari kolom B. Untuk tablet tidak bersalut yang memiliki bobot lebih dari 300 mg, tidak lebih dari 2 tablet yang menyimpang 5% dari bobot rata-rata dan tidak boleh ada tablet yang menyimpang 10% dari bobot rata-rata.

Waktu hancur, tablet dinyatakan hancur jika terlarut atau hancur menjadi partikel dalam suatu medium penguji, yaitu air bersuhu tertentu (misal 37°C) (Voigt, 1994). Berdasarkan Farmakope Indonesia, untuk tablet tidak bersalut waktu hancur tidak lebih dari 15 menit sedangkan untuk tablet bersalut tidak lebih dari 60 menit (Anonim, 1995).

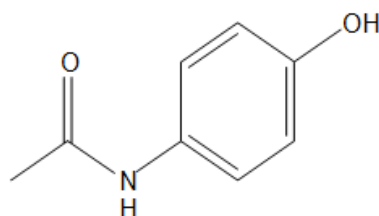
Kekerasan, dikehendaki tablet yang cukup keras agar tidak pecah saat distribusi, tetapi tidak terlalu keras agar tablet dapat hancur dan menimbulkan efek. Kekerasan tablet minimum yang sesuai dalam bidang industri farmasi adalah 4 kg (Ansel, 1989).

Kerapuhan, benturan-benturan pada proses pengemasan dan pengangkutan tidak cukup kuat untuk memecahkan tablet, tetapi dapat menghilangkan beberapa partikel obat dari permukaan tablet (Aulton and Summer, 1994).

Keseragaman kandungan, berdasarkan *United State Pharmacopeia*, 10 unit dosis ditetapkan kadarnya sesuai dengan monografi yang tercantum. Jika tidak dicantumkan dalam monografi, harus memenuhi persyaratan dalam rentang 85%- 115% dari kandungan yang tertera pada label dan memiliki standar deviasi kurang dari 6 % (Allen and Popovich, 2005).

## 2.2 Parasetamol

Sinonim lain dari parasetamol adalah asetaminofen; *p*-Hidroksiasetanilida; *p*-asetamidofenol; *N*-asetil-*p*-aminofenol;  $C_6H_9NO_2$ , dengan berat molekul 151,16 (Anonim, 1995). Rumus bangun dari parasetamol adalah sebagai berikut



**Gambar 2.1** Rumus Bangun Parasetamol ( Anonim,1995)

Parasetamol merupakan senyawa yang sangat stabil dalam larutan air. Profil laju-pH menunjukkan katalisis asam spesifik dan katalisis basa spesifik dengan stabilitas maksimumnya terletak pada jarak pH 5 sampai 7. Parasetamol merupakan turunan anilin dan *p*-aminofenol yang mempunyai aktivitas analgetik-antipiretik sebanding dengan aspirin, tetapi tidak mempunyai efek antiradang dan antirematik. Parasetamol digunakan untuk mengurangi rasa nyeri kepala dan nyeri pada otot atau sendi, dan penurun panas yang cukup baik. Efek samping yang ditimbulkan antara lain adalah methemoglobin dan hepatotoksik.

Hubungan struktur-aktivitas anilin, *p*-aminofenol dan parasetamol adalah

- Anilin mempunyai efek antipiretik cukup tinggi tetapi toksisitasnya juga besar Karena menimbulkan methemoglobin, suatu bentuk hemoglobin yang tidak dapat berfungsi sebagai pembawa oksigen
- P*-aminofenol adalah produk metabolit dan anilin, toksisitasnya lebih rendah dibanding anilin, tetapi masih terlalu toksik untuk langsung digunakan sebagai

obat sehingga perlu dilakukan modifikasi struktur untuk mengurangi toksisitasnya.

c. Asetilasi gugus amino dan p-aminonofenol (parasetamol) akan menurunkan toksisitasnya, pada dosis terapi retail aman tetapi pada dosis yang lebih besar dan pada pemakaian jangka panjang dapat menyebabkan methemoglobin dan hepatotoksik (Siswandono & Soekardjo, B.,1995).

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna, konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam 0,5 jam dan masa paruh plasma 1-3 jam dan tersebar keseluruh cairan tubuh. Obat ini dimetabolisme oleh enzim mikrosom hati, sebagian parasetamol (80%) dikonjugasi oleh asam glukuronat dan sebagian kecil lagi oleh asam sulfat, selain itu obat ini juga mengalami hidroksilasi. Metabolit hasil hidroksilasi ini dapat menimbulkan methemoglobinemia dan hemolysis eritrosit (Tanu lan, 1995).

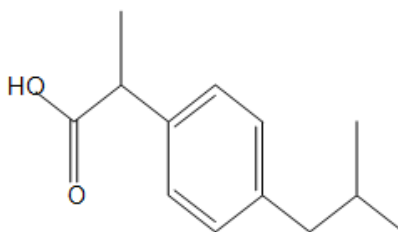
Parasetamol diekskresikan sebagai glukoronida dan sulfat, karena parasetamol lebih cepat diglukuronidasi daripada diasetilasi, pembentukan methemoglobin lebih sedikit. N-asetil-p-benzokuinolin yang dapat bereaksi dengan substrat yang nukleofilik, berlaku sebagai metabolit yang potensial nefrotoksik. Melalui penggabungan dengan glutathione, terbentuk dari senyawa ini merkapturat parasetamol. Bila tidak tersedia cukup glutathione pada keracunan akut, maka N-asetil-p-benzokuinolin dapat terikat pada komponen sel. Obat ini diekskresikan melalui ginjal, sebagian kecil sebagai parasetamol (3%) dan sebagian besar dalam bentuk terkonjugasi sebagai analgesik (Schunack, W. et al.,1990)

Efek samping tidak jarang terjadi antara lain reaksi hipersensitivitas dan kelainan darah. Pada penggunaan kronis 3-4 g sehari dapat terjadi kerusakan hati, pada dosis di atas 6 g mengakibatkan nekrosis hati yang tidak reversible. Hepatotoksitas ini disebabkan oleh metabolit-metabolitnya, yang pada dosis normal dapat ditangkal oleh glutathione (suatu tripeptida dengan -SH). Pada dosis di atas 10 g, persediaan peptida tersebut habis dan metabolit-metabolit mengikat pada protein dengan -SH, fatal over dosis bisa menimbulkan antara lain mual, muntah, dan anorexia. Penanggulangannya dengan cuci lambung. juga perlu diberikan zat-zat penawar (asam amino N-asetilsistein atau metionin) sedini

mungkin. sebaiknya dalam 8-10 jam setelah intoksikasi. Wanita hamil dapat menggunakan parasetamol dengan aman, juga selama laktasi walaupun mencapai air susu ibu. Masa paruh kloramfenikol dapat sangat diperpanjang. Dosis untuk nyeri dan demam secara peroral 2-3 kali sehari 0,5-1g maksimum 4g/hari ( Tjay, T.H., dan Kirana, R., 2002).

### 2.3 Ibuprofen

Sinonim lain dari ibuprofen adalah 2-(*p*-Isobutilfenil)asam propionat,  $C_{13}H_{18}O_2$ , dengan berat molekul 206,28. Rumus bangun dari ibuprofen adalah sebagai berikut:



**Gambar 2.2** Rumus Bangun Ibuprofen (Anonim,1995)

Ibuprofen mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{13}H_{18}O_2$  dihitung terhadap zat anhidrat. Pemerian dari ibuprofen ini adalah berupa serbuk hablur, putih, hingga hampir putih, berbau khas lemah. Kelarutan dari ibuprofen ini yaitu praktis tidak larut dalam air, sangat mudah larut dalam etanol, dalam metanol, dalam aseton, dan dalam kloroform, sukar larut dalam etil asetat. Serapan maksimal dari ibuprofen pada panjang gelombang 221 nm (Anonim, 1995). Ibuprofen adalah sejenis obat yang tergolong dalam kelompok antiperadangan non-steroid dan digunakan untuk mengurangi rasa sakit akibat artritis. Ibuprofen juga tergolong dalam kelompok analgesik dan antipiretik. Obat ini dijual dengan merk dagang advil, motrin, nuprin, dan brufen. Dosis normal untuk ibuprofen adalah 1,2 gram sehari (Anonim, 2000).

### 2.4 Spektrofotometri

#### 2.4.1 Definisi

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya.

Sedangkan peralatan yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Cahaya yang dimaksud dapat berupa cahaya visibel, UV dan inframerah, sedangkan materi dapat berupa atom dan molekul namun yang lebih berperan adalah elektron valensi (Hasibuan, 2015).

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau serapan suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometer merupakan penggabungan dari dua fungsi alat yang terdiri dari spektrometer yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik ini akan meningkatkan energi dari tingkat dasar ke tingkat tereksitasi (Rohman, 2007).

Teknik analisis spektrofotometri berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik dengan komponen atom atau molekul yang menghasilkan fenomena bermakna sebagai parameter analisis (Satiadarma dkk., 2004).

Bagian molekul yang bertanggung jawab terhadap penyerapan cahaya disebut kromofor yang terdiri atas ikatan rangkap dua atau rangkap tiga, terutama jika ikatan rangkap tersebut terkonjugasi. Semakin panjang ikatan rangkap dua atau rangkap tiga terkonjugasi di dalam molekul, molekul tersebut akan lebih mudah menyerap cahaya (Cairns, 2008).

Besarnya absorbansi radiasi tersebut berbanding dengan banyaknya molekul analit yang mengabsorpsi dan dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Satiadarma dkk., 2004).

## **2.4.2 Klasifikasi Spektrofotometri**

### **a. Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380 - 780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Suatu molekul yang sederhana apabila dikenakan radiasi elektromagnetik akan mengabsorpsi radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi tersebut

akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan eksitasi. Apabila pada molekul yang sederhana tadi hanya terjadi transisi elektronik pada satu macam gugus, maka akan terjadi satu absorpsi yang merupakan garis spektrum (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

- i. Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
- ii. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel).
- iii. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
- iv. Kemurniannya harus tinggi (Suhartati, 2017).

#### b. Spektrofotometri Inframerah

Konsep radiasi inframerah diajukan kali pertama oleh Sir William Herschel (tahun 1800) melalui percobaannya mendispersikan radiasi matahari dengan prisma. Ternyata pada daerah sesudah sinar merah menunjukkan adanya kenaikan temperatur tertinggi yang berarti pada daerah panjang gelombang radiasi tersebut banyak kalori (energi tinggi). Daerah spektrum tersebut selanjutnya disebut infrared (IR) (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektroskopi inframerah merupakan teknik analisis yang sangat populer untuk analisis berbagai jenis sampel, baik sampel produk farmasetik, makanan, cairan biologis, maupun sampel lingkungan. Karena pada spektroskopi ini melibatkan cahaya (foton), maka metode spektroskopi juga seringkali disebut dengan metode spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk mengukur spektra disebut dengan spektrofotometer (Rohman, 2014).

Spektrum inframerah merupakan jenis spektrum yang spesifik terhadap suatu molekul yang akan memberikan informasi yang menyatu tentang gugusgugus fungsional yang ada dalam molekul, termasuk jenis dan



interaksinya, sidik jari, kuantitatif, yang mana intensitas puncak berkorelasi dengan konsentrasi, bersifat universal dan tidak merusak (Rohman, 2014).

c. Fotoluminesensi

Fotoluminesensi merupakan suatu metode kolektif dari tiga macam metode analisis yaitu fluoresensi (pendar flour), fosforesensi (pendar fosfor) dan luminesensi kimia. Ketiga metode fisikokimia tersebut mempunyai kesamaan pada dasar analisisnya, yaitu membicarakan tentang pendar molekul (emisi) setelah dikenakan radiasi elektromagnetik ataupun pendar setelah terjadi reaksi kimia (Mulja dan Suharman, 1995).

d. Spektroskopi Raman

Interaksi Radiasi Elektro Magnetik (REM) dengan atom atau molekul yang berada dalam media transparan, maka sebagian dari radiasi tersebut akan di percikan oleh atom atau molekul tersebut. Percikan radiasi oleh atom atau molekul tersebut menuju ke segala arah dengan panjang gelombang dan intensitas yang dipengaruhi ukuran partikel molekul (Mulja dan Suharman, 1995).

e. Spektrofotometri Emisi Nyala dan Spektrofotometri Absorpsi Atom

Spektrofotometri Emisi Nyala (SEM) dikenal dengan FES (Flame Emission Spectrophotometry). Dasar pemikiran metode ini adalah reaksi nyala untuk unsur unsur logam pada penentuan kualitatif. Setiap unsur akan memberikan nyala pada gas pembakar. Energi panas gas pembakar akan mengeksitasi elektron atom logam pada kulit yang terluar ke tingkat eksitasi (Mulja dan Suharman, 1995). Perbedaan prinsip Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan Spektrofotometri Emisi Atom menyangkut metode dan instrumentasi. Pada SSA terjadi penyerapan sumber radiasi oleh atom-atom netral dalam keadaan gas yang berada dalam nyala. Radiasi yang diserap oleh atom-atom netral dalam keadaan gas tadi biasanya radiasi UV-Vis (Mulja dan Suharman, 1995).

f. Spektrometri Resonansi Magnet Inti (RMI)

Spektrometri RMI sangat penting dalam analisis kualitatif, khususnya dalam penentuan struktur molekul zat organik. Hasil spektrometri RMI seringkali

merupakan penegasan urutan gugus atau susunan atom dalam satu molekul yang menyeluruh (Mulja dan Suharman, 1995).

## **2.5 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible ( UV-Vis )**

### **2.5.1 Pengertian spektrofotometri ultraviolet-visible**

Sebuah spektrofotometer adalah suatu instrumen untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, dapat pula dilakukan pengukuran terhadap sederetan sampel pada suatu panjang gelombang tunggal (Day dan Underwood, 1998).

Spektrofotometri ultraviolet-visible merupakan salah satu teknik analisis spektrofotometri yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik sinar ultraviolet dan sinar tampak (visible) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Gandjar dan Rohman, 2012).

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektroskopi serapan ultraviolet, cahaya tampak, inframerah, dan serapan atom. Jangkauan panjang gelombang untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke inframerah (Ditjen POM, 1995). Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

Serapan cahaya oleh molekul pada daerah ultraviolet dan visible bergantung pada struktur elektronik molekul. Spektrum ultraviolet dan visible senyawasenyawa berkaitan dengan transisi-transisi antara tingkat-tingkat energi elektronik. Oleh karena itu, serapan radiasi ultraviolet-visible disebut spektroskopi elektronik (Sastrohamidjojo, 1985).

### **2.5.2 Instrumentasi spektrofotometer ultraviolet-visible (UV-Vis)**

Komponen yang penting dari suatu spektrofotometer adalah sebagai berikut:

- a. Sumber

Sebagai sumber cahaya biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten untuk pengukuran pada cahaya tampak (Dachriyanus, 2004).

#### b. Monokromator

Ini adalah piranti optis untuk mengisolasi suatu berkas radiasi dari suatu sumber berkesinambungan (Day dan Underwood, 1998). Monokromator atau prisma ini memisahkan panjang gelombang dari sumber cahaya (Dachriyanus, 2004).

#### c. Sel

Kebanyakan spektrofotometri melibatkan larutan dan karenanya kebanyakan wadah sampel adalah sel untuk menaruh cairan ke dalam berkas cahaya spektrofotometer. Sel tampak dan ultraviolet yang khas mempunyai panjang lintasan 1 cm, namun tersedia sel dengan ketebalan yang sangat beragam, mulai dari lintasan yang sangat pendek, kurang dari 1 milimeter sampai 10 cm atau bahkan lebih (Day dan Underwood, 1998). Pada instrumen berkas ganda, setiap pengukuran membutuhkan sepasang sel absorpsi yang sifat optiknya sama. Sel absorpsi tersebut disebut kembar karena ukuran alur radiasi, tebal, dan bahan dinding selnya sama agar sifat transmisi kedua sel itu sama (Satiadarma, dkk., 2004).

#### d. Detektor

Detektor adalah alat yang menerima sinyal dalam bentuk radiasi elektromagnetik, mengubah, dan meneruskannya dalam bentuk sinyal listrik ke rangkaian sistem penguat elektronika (Satiadarma, dkk., 2004). Macammacam deteksi yang telah digunakan paling meluas, didasarkan pada perubahan fotokimia, efek fotolistrik, dan efek termolistrik. Secara umum, detektor fotolistrik digunakan dalam daerah tampak dan ultraviolet dan detektor yang didasarkan pada efek termal digunakan dalam inframerah (Day dan Underwood, 1998).

### **2.5.3 Kegunaan spektrofotometri ultraviolet-visible**

Penggunaan utama spektrofotometri ultraviolet adalah untuk pemeriksaankuantitatif. Apabila dalam spektrofotometer terdapat senyawa yang mengabsorpsi radiasi, akan terjadi pengurangan kekuatan radiasi yang mencapai

detektor. Parameter kekuatan energi khas yang diabsorpsi oleh molekul adalah absorban yang dalam batas konsentrasi rendah nilainya sebanding dengan banyaknya molekul yang mengabsorpsi radiasi dan merupakan dasar pemeriksaan kuantitatif (Satiadarma, dkk., 2004).

Ketika suatu atom atau molekul menyerap cahaya, maka energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi tergantung panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi (Dachriyanus, 2004).

Spektrofotometer ini merupakan peralatan yang berbiaya murah sampai sedang dan mempunyai kepekaan analisis cukup tinggi. Karena luasnya ragam bahan farmasi dan bahan biokimia yang menyerap radiasi ultraviolet-visible, maka metode ini banyak dipakai dalam analisis farmasi dan analisis klinik (Munson, 1984).

## **2.6 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisis berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang, antara lain : farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri industri makanan. KCKT biasanya dilakukan pada suhu kamar. Jadi, untuk zat – zat yang labil pada pemanasan atau tidak menguap merupakan pilihan yang logis (Gandjar dan Rohman, 2007).

### **2.6.1 Jenis Pemisahan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

Berdasarkan jenis fase gerak dan fase diamnya, jenis pemisahan KCKT dibedakan atas :

#### **a. Kromatografi Fase Normal**

Kromatografi dengan kolom yang fase diamnya bersifat polar, misalnya silika gel, alumina, sedangkan fase geraknya bersifat non polar seperti heksan.

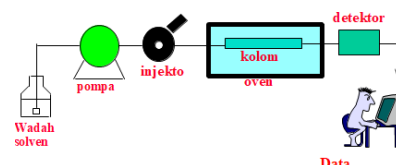
#### b. Kromatografi Fase Terbalik

Pada kromatografi fase terbalik, fase diamnya bersifat non polar, yang banyak dipakai adalah oktadesilsilan (ODS atau C18) dan oktilsilan (C8). Sedangkan fase geraknya bersifat polar, seperti air, metanol dan asetonitril (Mulja dan Suharman, 1995).

### 2.6.2 Cara Kerja KCKT

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Rohman, 2009).

#### 2.6.2.1 Komponen KCKT



**Gambar 2.3 Bagan Alat KCKT**

#### 2.6.2.2 Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama dipompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis (Rohman, 2009).

### 2.6.2.3 Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat wadah pelarut yakni : pompa harus inert terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 ml/menit. Untuk tujuan preparatif, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 ml/ menit (Rohman, 2009).

### 2.6.2.4 Injektor

Menurut Meyer (2004), ada 3 jenis injektor, yakni *syringe injector*, *loop valve* dan *automatic injector (autosampler)*. Syringe injector merupakan bentuk injektor yang paling sederhana. Katup putaran (*loop valve*) , tipe injektor ini umumnya digunakan untuk menginjeksi volume lebih besar daripada 10 µl dan sekarang digunakan dengan cara otomatis (dengan adaptor khusus, volume-volume lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Pada posisi *LOAD*, sampel loop (cuplikan dalam putaran) diisi pada tekanan atmosfer. Bila katup difungsikan, maka cuplikan di dalam putaran akan bergerak ke dalam kolom. *Automatic injector* atau disebut juga *autosampler* memiliki prinsip yang mirip, hanya saja sistem penyuntikannya bekerja secara otomatis (Meyer, 2004).

### 2.6.2.5 Kolom

Kolom merupakan jantung kromatografi. Keberhasilan atau kegagalan analisis bergantung pada pemilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok :

- a. Kolom analitik : garis tengah dalam 2 – 6 mm. Panjang bergantung pada jenis kemasan, untuk kemasan pelikel biasanya panjang kolom 50 – 100 cm. Untuk kemasan mikropartikel berpori, biasanya 10 – 30 cm;
- b. Kolom preparatif : umumnya bergaris tengah 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25 – 100 cm.

Kolom umumnya dibuat dari stainless steel dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi,

terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi. Kemasan kolom tergantung pada mode KCKT yang digunakan (Johnson dan Stevenson, 1991).

#### **2.6.2.6 Detektor**

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen cuplikan dalam aliran yang keluar dari kolom. Detektor-detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (*noise*) yang rendah, kisar respons linier yang luas, dan memberi tanggapan/respon untuk semua tipe senyawa. Suatu kepekaan yang rendah terhadap aliran dan fluktuasi temperatur sangat diinginkan, tetapi tidak selalu dapat diperoleh. Detektor yang paling banyak digunakan dalam kromatografi cair modern kecepatan tinggi adalah detektor spektrofotometer UV 254 nm. Berbagai macam detektor dengan variasi panjang gelombang UV-Vis sekarang menjadi populer karena mereka dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa dalam rentang yang luas. Detektor indeks refraksi juga secara luas digunakan, terutama dalam kromatografi eksklusi, tetapi umumnya kurang sensitif dari pada detektor spektrofotometer UV. Detektor lainnya, antara lain: detektor fluometer, detektor ionisasi nyala, detektor elektrokimia dan lain-lain juga telah digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007)