



Analisis

Farmasi

***Buku Ajar untuk
Mahasiswa Farmasi dan
Praktisi Kimia Farmasi***

EDISI 2



David G. Watson



PENERBIT BUKU KEDOKTERAN



EGC

BUKU ASLI BERSTIKER HOLOGRAM 3 DIMENSI

EGC 1801

This edition of *Pharmaceutical Analysis, 2e* by **David Watson** is published by arrangement with Elsevier Limited, Oxford, United Kingdom

© 2005, Elsevier Limited. All rights reserved.

ANALISIS FARMASI:

**BUKU AJAR UNTUK MAHASISWA FARMASI DAN PRAKTISI KIMIA FARMASI,
Edisi 2**

Alih bahasa: Winny R. Syarief, S.Si, Apt

Editor edisi bahasa Indonesia: Amalia H. Hadinata, S.Farm, Apt

Hak cipta terjemahan Indonesia

© 2007 Penerbit Buku Kedokteran EGC

P.O. Box 4276/Jakarta 10042

Telepon: 6530 6283

Anggota IKAPI

Kerjasama penerjemahan dengan Pusat Perbukuan, Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia

Desain kulit muka: Yohanes Duta Kurnia Utama

Penata letak: M. Azis Asmarokondi

Hak cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip, memperbanyak, dan menerjemahkan sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit.

Cetakan 2010

Perpustakaan Nasional: Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Watson, David G

Analisis farmasi : buku ajar untuk mahasiswa farmasi dan praktisi kimia farmasi / David G. Watson ; alih bahasa, Winny R. Syarief ; editor edisi bahasa Indonesia, Amalia H. Hadinata. — Ed. 2 — Jakarta : EGC, 2009.

xiv, 445 hlm. ; 15,5 x 24 cm.

Judul asli: *Pharmaceutical analysis : a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists, 2nd ed.*

ISBN 978-979-044-004-3

I. Farmasi. I. Judul. II. Winny R. Syarief. III. Amalia H. Hadinata.

615.1

Indikasi akurat, reaksi merugikan, dan jadwal dosis untuk obat disajikan pada buku ini, tetapi hal ini dapat saja berubah. Pembaca disarankan mengacu data informasi dari pabrik tentang obat yang ditulis pada kemasannya.



Isi di luar tanggung jawab percetakan

Daftar isi

1. Pengendalian mutu metode analisis 1

Pendahuluan 2

Pengendalian kesalahan dalam analisis 3

Akurasi dan presisi 6

Validasi prosedur analisis 8

Standard operating procedur (SOP) untuk penetapan kadar tablet
parasetamol 11

Kesalahan acak majemuk 12

Pelaporan hasil 14

Istilah-istilah lain yang digunakan dalam pengendalian prosedur
analisis 15

Perhitungan dasar dalam analisis farmasi 21

Soal-soal tambahan 26

2. Sifat fisika dan kimia molekul obat 29

Pendahuluan 29

Perhitungan nilai pH larutan berair asam kuat, asam lemah, basa kuat,
dan basa lemah 30

Kekuatan asam dan basa serta pKa 32

Persamaan Henderson-Hasselbalch 33

Ionisasi molekul obat 34

Dapar 36

Hidrolisis garam 41

Aktivitas, kekuatan ion, dan tetapan dielektrik 42

Koefisien partisi 43

Stabilitas obat 47

Stereokimia obat 50

Pengukuran rotasi optik 56

Profil sifat fisikokimia beberapa molekul obat 57

Soal-soal tambahan 65

3. Metode titrimetri dan analisis kimia 69

- Poin penting 69
- Pendahuluan 70
- Instrumentasi dan pereaksi 70
- Titration asam/basa langsung dalam fase berair 71
- Titration garam basa lemah dalam campuran medium berair/bebas-air 75
- Titration taklangsung dalam fase berair 75
- Titration bebas-air 79
- Titration argentometri 81
- Titration kompleksometri 81
- Titration redoks 82
- Titration iodometri 85
- Titration pasangan ion 88
- Titration diazotasi 89
- Titration potensiometri 89
- Titration Karl Fischer (deteksi titik-akhir secara kulometri) 93
- Otomatisasi metode kimia basah 94
- Penerapan FIA dalam analisis farmasi 97
- Soal-soal tambahan 99

4. Spektroskopi ultraviolet dan visibel 105

- Poin penting 105
- Pendahuluan 106
- Faktor-faktor yang mengatur serapan radiasi pada daerah UV/visibel 107
- Hukum Lambert-Beer 109
- Instrumentasi 110
- Instrumen *diode array* 111
- Kalibrasi instrumen 112
- Spektrum UV beberapa contoh molekul obat 114
- Penggunaan spektrofotometri UV/visibel untuk menentukan nilai pK_a 117
- Penerapan spektroskopi UV/visibel pada analisis kuantitatif farmasi 118
- Spektrofotometri perbedaan (*difference spectrophotometry*) 124
- Spektrum derivatif 126
- Penerapan spektroskopi UV/visibel dalam praformulasi dan formulasi 127
- Soal-soal tambahan 131

5. Spektrofotometri inframerah 135

- Poin penting 135
- Pendahuluan 136
- Faktor-faktor yang menentukan intensitas dan tingkat energi absorpsi dalam spektrum IM 138
- Instrumentasi 139
- Penyiapan sampel 141
- Penerapan spektrofotometri IM dalam elusidasi struktur 144
- Contoh-contoh spektrum IM molekul obat 145
- Spektrofotometri IM sebagai teknik sidik jari 149
- Spektrofotometri inframerah sebagai suatu metode untuk mengidentifikasi polimorf 152

- Analisis inframerah-dekat (*Near-infrared analysis, NIRA*) 153
 - Poin penting 153
 - Pendahuluan 153
 - Contoh-contoh penerapan NIRA 154
 - Soal-soal tambahan 158

6. Spektrofotometri atom 161

- Spektrofotometri emisi atom (SEA) 161
 - Poin penting 161
 - Pendahuluan 162
 - Instrumentasi 162
 - Contoh kuantitasi dengan SEA 163
 - Interferensi dalam analisis SEA 165
 - Penetapan kadar berdasarkan metode penambahan baku 167

- Spektrofotometri serapan atom (SSA) 169
 - Poin penting 169
 - Pendahuluan 169
 - Instrumentasi 170
 - Contoh penetapan kadar dengan menggunakan SSA 171
 - Beberapa contoh uji batas yang menggunakan SSA 173
 - Spektroskopi emisi plasma yang dikopel secara induktif 176

7. Spektroskopi emisi molekul 179

Spektrofotometri fluoresensi 179

Poin penting 179

Pendahuluan 180

Instrumentasi 181

Molekul-molekul yang menunjukkan fluoresensi 182

Faktor-faktor yang mengganggu intensitas fluoresensi 183

Penerapan spektrofotometri fluoresensi dalam analisis farmasi 184

Spektroskopi Raman 187

Poin penting 187

Pendahuluan 188

Instrumentasi 189

Penerapan 190

8. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti 195

Poin penting 195

Pendahuluan 196

Instrumentasi 197

RMI proton 199

Penerapan RMI untuk konfirmasi struktur pada beberapa molekul obat 207

RMI karbon-13 212

Spektrum RMI dua dimensi 215

Penerapan RMI pada analisis kuantitatif 217

Penerapan khusus RMI lainnya 219

9. Spektrometri massa 223

Poin penting 223

Pendahuluan 224

Instrumentasi 224

Spektrum massa yang diperoleh di bawah kondisi ionisasi tumbukan elektron (TE) 226

Pola-pola fragmentasi molekul 227

Spektrum massa TE beberapa molekul obat 233

Kromatografi gas-spektrometri massa (KG-SM) 239

Penerapan KG-SM pada pembuatan profil pengotor 242

Kromatografi cair-spektrometri massa (KC-SM) 245

Beberapa contoh spektrum massa tandem 248

Penerapan KC-SM dalam analisis farmasi 252

10. Teori kromatografi 261

- Pendahuluan 261
- Volume hampa dan faktor kapasitas 261
- Perhitungan efisiensi kolom 262
- Sumber-sumber pelebaran pita pada KCTT 264
- Parameter yang digunakan dalam mengevaluasi kinerja kolom 268
- Perolehan data 273
- Pembuatan laporan 274

11. Kromatografi Gas 277

- Poin penting 277
- Pendahuluan 278
- Instrumentasi 279
- Selektivitas fase diam cair 284
- Penggunaan derivatisasi pada KG 291
- Ringkasan parameter yang mengatur kinerja KG kapiler 293
- Detektor KG 295
- Penerapan KG dalam analisis kuantitatif 295
- Penentuan residu pembuatan dan peruraian dengan KG 303
- Penentuan pelarut residual 305
- Mikroekstraksi fase-padat (*solid-phase microextraction*, SPME) 308
- Penerapan KG dalam bioanalisis 309
- Soal-soal tambahan 310

12. Kromatografi cair tekanan tinggi 313

- Poin penting 314
- Pendahuluan 314
- Instrumentasi 314
- Fase diam dan fase gerak 316
- Faktor-faktor struktural yang mengatur laju elusi senyawa dari kolom KCTT 317
- Pertimbangan lebih lanjut terhadap selektivitas pelarut dalam kromatografi fase-balik 324
- Ringkasan fase diam yang digunakan dalam KCTT 325
- Pertimbangan lebih lanjut terhadap fase diam fase-balik 327
- Ringkasan detektor yang digunakan dalam KCTT 329
- Kinerja detektor *diode array* (*diode array detector*, DAD) 330
- Penerapan KCTT untuk analisis kuantitatif obat-obat dalam formulasi 334

Penetapan kadar yang melibatkan teknik-teknik KCTT yang lebih khusus 350

Soal-soal tambahan 362

13. Kromatografi lapis-tipis 367

Poin penting 367

Pendahuluan 368

Instrumentasi 368

Kromatogram KLT 369

Fase diam 371

Seri elutropik dan fase gerak 372

Modifikasi adsorban KLT 375

Deteksi senyawa pada pelat KLT setelah pengembangan 376

Penerapan analisis KLT 378

KLT kinerja-tinggi (KLTKT) 384

14. Elektroforesis kapiler kinerja-tinggi 387

Poin penting 387

Pendahuluan 388

Instrumentasi 393

Pengendalian pemisahan 394

Penerapan EK dalam analisis farmasi 396

Penggunaan bahan tambahan dalam dapar penggerak 401

Soal-soal tambahan 410

15. Metode ekstraksi dalam analisis farmasi 413

Poin penting 413

Pendahuluan 414

Eksipien yang biasa digunakan dalam formulasi 414

Metode ekstraksi pelarut 416

Ekstraksi fase-padat (EFP) 420

Poin penting 420

Pendahuluan 421

Metodologi 421

Tipe-tipe adsorban yang digunakan dalam EFP 423

Adaptasi EFP untuk ekstraksi *on-line* terotomatisasi sebelum analisis KCTT 429

Perkembangan mutakhir dalam fase-padat dan ekstraksi *on-line* 430

Indeks 443

1

Pengendalian mutu metode analisis

Pendahuluan	Kesalahan acak majemuk	Penimbangan berdasarkan perbedaan
Pengendalian kesalahan dalam analisis	Pelaporan hasil	Perhitungan dasar dalam analisis farmasi
Akurasi dan presisi	Istilah lain yang digunakan dalam pengendalian prosedur analisis	Persen volume/volume (%v/v)
Validasi prosedur analisis	Kesesuaian sistem	Persen bobot dalam volume (%b/v)
Prosedur analisis	Blangko analisis	Pengenceran
Presisi (ketepatan)	Kalibrasi	Penyiapan larutan stok baku
Keterulangan	Batas deteksi	Persen bobot/bobot (%b/b)
Presisi intermediat	Batas kuantifikasi	Perhitungan bagian per sejuta (bpj)
Reprodusibilitas	Linearitas	Pengerjaan di antara bobot dan molaritas
Akurasi	Rentang	
Standard operating procedure (SOP) untuk penetapan kadar tablet parasetamol	Robustness	Soal-soal tambahan
	Selektivitas	
	Kepekaan	

Kotak 1.1 Pertanyaan-pertanyaan tentang metode analisis farmasi yang biasa diajukan

- Apakah identitas obat dalam produk yang diformulasi tersebut benar?
- Berapa persentase kandungan obat yang dinyatakan terdapat di dalam suatu formulasi?
- Apakah formulasi ini hanya mengandung bahan aktif atau apakah ada pengotor lainnya?
- Bagaimana stabilitas obat dalam formulasi tersebut dan juga berapa lama masa edar produk?
- Berapa laju obat tersebut dilepaskan dari formulasinya sehingga dapat diabsorpsi oleh tubuh?
- Apakah identitas dan kemurnian suatu senyawa obat murni yang akan digunakan dalam pembuatan formulasi memenuhi spesifikasi?
- Apakah identitas dan kemurnian eksipien yang akan digunakan dalam pembuatan formulasi tersebut memenuhi spesifikasi?

(Berlanjut)

Kotak 1.1 Pertanyaan-pertanyaan tentang metode analisis farmasi yang biasa diajukan (*Lanjutan*)

- Berapa konsentrasi zat-zat pengotor spesifik di dalam senyawa obat murni?
- Berapa konsentrasi obat tersebut dalam suatu sampel jaringan atau cairan biologis?
- Berapa nilai pK_a , koefisien partisi, kelarutan, dan stabilitas suatu senyawa obat yang sedang dikembangkan?

Pendahuluan

Prosedur-prosedur analisis farmasi dapat digunakan untuk menjawab semua pertanyaan di dalam Kotak 1.1 di atas. Mutu suatu produk dapat menyimpang dari standar yang dipersyaratkan, tetapi dalam melakukan suatu analisis, kita juga harus yakin bahwa mutu analisis itu sendiri memenuhi standar yang dipersyaratkan. Pengendalian mutu adalah bagian integral pada semua proses industri modern dan tidak terkecuali industri farmasi. Pengujian produk farmasi mencakup analisis kimia, fisika, dan terkadang mikrobiologi. Di Inggris saja, pengujian tersebut diperkirakan £10 milyar per tahun dihabiskan untuk analisis, dan proses analisis tersebut dapat ditemukan di berbagai industri antara lain industri yang memproduksi makanan, minuman, kosmetik, deterjen, logam, cat, air, agrokimia, produk bioteknologi, dan industri farmasi. Karena banyaknya uang yang dihabiskan untuk pengendalian mutu analisis, penyediaan analisis yang tepat dan akurat menjadi sangat penting. Jadi, hal yang tepat untuk memulai sebuah buku mengenai analisis farmasi dengan mempertimbangkan, pada tingkat dasar, kriteria yang digunakan untuk menilai mutu suatu analisis. Istilah-istilah yang digunakan dalam menetapkan mutu analisis membentuk kosa kata yang lebih

Kotak 1.2 Pedoman ICH

Persyaratan untuk pengendalian mutu metode-metode analisis (validasi) telah dikeluarkan oleh International Conference of Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, atau, lebih disingkat, ICH (www.ich.org). ICH mulai dibentuk di Brussel pada tahun 1990 serta dihadiri oleh perwakilan-perwakilan badan regulasi dan asosiasi industri dari Eropa, Jepang, dan AS. Tujuan organisasi ini adalah untuk menstandarisasi persyaratan untuk regulasi obat-obatan di seluruh dunia. Standardisasi validasi prosedur analisis adalah satu bidang yang ditangani oleh ICH. ICH mengindikasikan bahwa prosedur-prosedur analisis terpenting yang memerlukan validasi adalah:

- Uji identifikasi
- Uji kuantitatif untuk bahan pengotor
- Uji batas untuk pengendalian bahan pengotor
- Uji kuantitatif terhadap gugus aktif di dalam sampel zat obat atau produk obat atau komponen tertentu lainnya di dalam produk obat.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Dalam praktiknya, mungkin akan sedikit lebih sulit untuk mengatakan apakah siswa 1 atau siswa 2 yang telah melakukan analisis terbaik karena hal tersebut jarang terjadi, kecuali sampel tersebut adalah baku analisis murni, yang kandungan sampelnya diketahui secara tepat. Untuk menentukan apakah siswa 1 atau siswa 2 yang telah melakukan penetapan kadar terbaik mungkin diperlukan analisis lain untuk menghasilkan serangkaian hasil tepat yang sama agar benar-benar yakin pada jawaban yang benar. Faktor-faktor yang menyebabkan ketidaktepatan dan ketidakakuratan dalam hasil penetapan kadar dirangkum di dalam Kotak 1.3.

Kotak 1.3 Beberapa faktor yang menyebabkan ketidaktepatan dan ketidakakuratan dalam suatu penetapan kadar

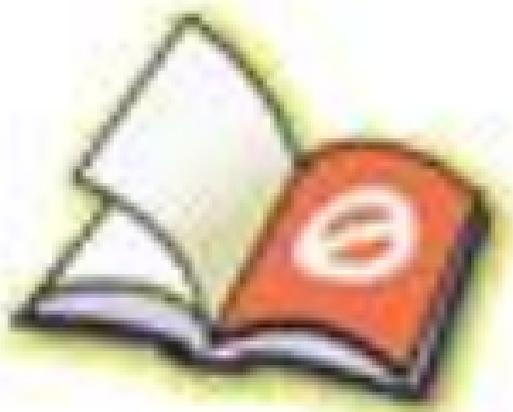
- Kesalahan dalam penimbangan dan pemindahan analit dan baku
- Ekstraksi analit yang tidak efisien dari matriks, misalnya tablet
- Kesalahan penggunaan pipet, buret, atau labu tentukur untuk mengukur volume
- Pengukuran dilakukan dengan menggunakan instrumen yang dikalibrasi secara tidak tepat
- Tidak dapat menggunakan blangko analisis
- Pemilihan kondisi penetapan kadar yang menyebabkan penguraian analit
- Tidak dapat memungkinkan atau menghilangkan gangguan ekseprien dalam pengukuran suatu analit

Latihan 1.1

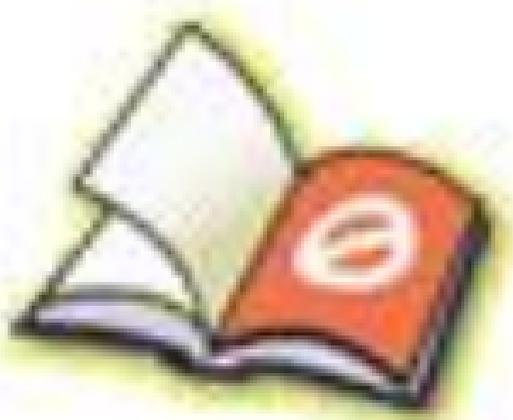
Jelaskan bagaimana hal-hal berikut ini dapat menyebabkan kesalahan dalam prosedur analisis:

- i. Analisis eliksir berbasis-sukrosa dengan menggunakan pipet untuk mengukur aliquot eliksir untuk analisis.
- ii. Penimbangan 2 mg baku analisis dengan menggunakan neraca analitik empat-digit yang minimum menimbang 0,1 mg.
- iii. Penggunaan baku analisis yang menyerap kelembapan dari udara.
- iv. Penggerusan tablet salut yang tidak sempurna sebelum ekstraksi.
- v. Ekstraksi suatu salep dengan menggunakan pelarut, namun salep sukar larut di dalamnya.
- vi. Penggunaan buret yang belum dicuci bersih dan masih mengandung sedikit pelumas.

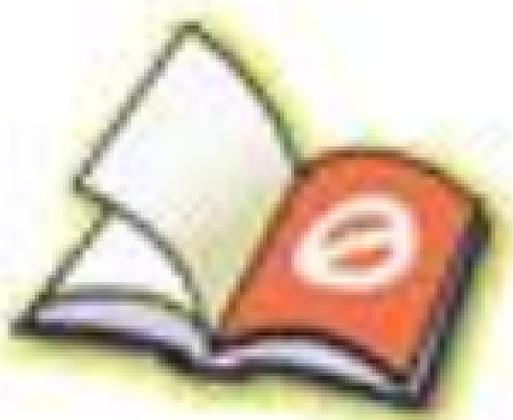
Jawaban: i. Viskositas menyebabkan pengeringan pipet yang tidak sempurna; ii. Dalam setiap penimbangan selalu ada ketidakpastian sebesar $\pm 0,05$ mg, sehingga untuk 2 mg ketidakpastiannya adalah $\pm 2,5\%$; iii. Derajat absorpsi kelembapan tidak pasti; iv. Hanya sedikit analit yang diperoleh kembali; v. Hanya sedikit analit yang diperoleh kembali; vi. Distorsi meniskus menyebabkan pembacaan buret menjadi tidak akurat.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

- iii. mutu semua pereaksi atau pelarut yang digunakan dalam penetapan kadar dan metode pembuatannya;
- iv. prosedur dan keadaan yang digunakan untuk pengoperasian semua perlengkapan yang diperlukan dalam penetapan kadar tersebut; dan
- v. metodologi yang digunakan untuk kalibrasi penetapan kadar dan metodologi yang digunakan untuk pemrosesan sampel tersebut sebelum analisis.

Pada kenyataannya, sulit untuk menjelaskan secara menyeluruh pada pembahasan singkat ini, karena deskripsi metode yang sudah divalidasi sepenuhnya merupakan dokumen yang panjang.

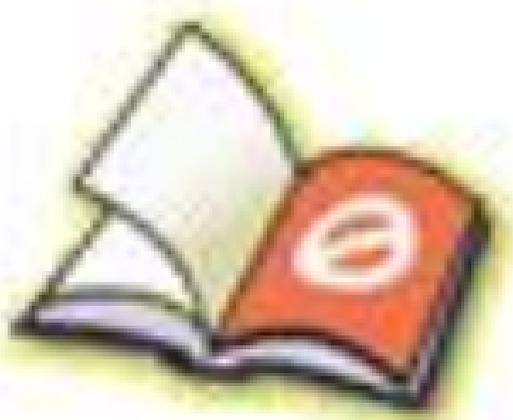
Presisi (ketepatan)

Pedoman ICH mendefinisikan presisi sebagai berikut:

“Presisi suatu prosedur analisis menyatakan kedekatan kesesuaian (derajat sebaran) di antara serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengambilan sampel berulang pada sampel homogen yang sama di bawah kondisi-kondisi yang ditentukan... Presisi suatu prosedur analisis biasanya dinyatakan sebagai variansi, simpangan baku, atau koefisien variasi serangkaian pengukuran.”

Secara luas, hal ini merupakan hal-hal yang telah dijelaskan dengan lebih terperinci sebelumnya untuk penetapan kadar tablet parasetamol. Tidak ada pedoman mutlak tentang seberapa baik seharusnya presisi tersebut untuk bahan aktif di dalam formulasi tapi, secara umum, presisi yang diinginkan adalah $< \pm 1,0\%$. Presisi yang dapat diperoleh tergantung pada sifat sampel yang sedang dianalisis. SBR yang dapat dicapai dalam analisis sesepora pengotor dalam obat ruahan atau obat dalam cairan biologis mungkin jauh lebih besar dari $\pm 1,0\%$ karena meningkatnya kemungkinan kehilangan jika analit dengan konsentrasi yang sangat rendah diekstraksi dan dianalisis. Presisi penetapan kadar sampel tertentu, pada contoh pertama, biasanya diperoleh dengan mengulangi prosedur penetapan kadar minimal lima kali, dimulai dari lima alikuot sampel yang terpisah (misalnya lima bobot serbuk tablet atau lima volume eliksir) menghasilkan total 25 pengukuran. Pengulangan ekstraksi sampel memberikan suatu ukuran untuk semua variasi dalam perolehan kembali dari matriks formulasi selama ekstraksi.

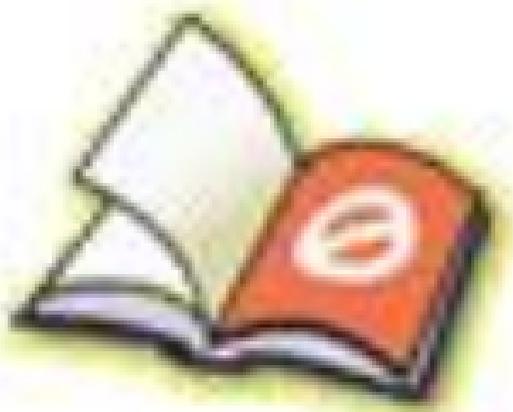
Salah satu kesulitan dalam mendefinisikan presisi suatu penetapan kadar adalah pengindikasian tahap-tahap apa saja dalam penetapan kadar yang harus diperiksa. Pada mulanya suatu penetapan kadar memiliki karakteristik secara rinci tetapi, kemudian dalam menentukan kembali presisi (misalnya dalam rangka menentukan keterulangan dan presisi intermediat), unsur-unsur tertentu dalam penetapan kadar tersebut mungkin dipertimbangkan. Sebagai contoh, larutan kalibrasi baku yang sama dapat digunakan selama beberapa hari sehingga stabilitasnya pada penyimpanan sudah ditetapkan, atau sejumlah sampel terbatas akan diekstraksi untuk penetapan kadar sehingga sudah ditetapkan bahwa perolehan kembali sampel selama ekstraksi tidak banyak berbeda. Berdasarkan pedoman ICH, presisi mungkin dipertimbangkan pada tiga tingkatan: keterulangan, presisi intermediat, dan reproduibilitas.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Tabel 1.2 Toleransi pabrik terhadap beberapa produk alat-alat gelas

Produk alat gelas	Kualitas A	Kualitas B
1 ml pipet labu	$\pm 0,7\%$	$\pm 1,5\%$
5 ml pipet labu	$\pm 0,3\%$	$\pm 0,6\%$
100 ml labu tentukur	$\pm 0,08\%$	$\pm 0,15\%$
500 ml labu tentukur	$\pm 0,05\%$	$\pm 0,1\%$
Buret 25 ml penuh	$\pm 0,2\%$	$\pm 0,4\%$

terhadap alat-alat gelas. Tabel 1.2 memberikan nilai SBR khusus terhadap produk tertentu pada alat-alat gelas kualitas A dan B.

Perkiraan kesalahan acak majemuk diperoleh dari akar kuadrat dari jumlah kuadrat SBR yang terkait dengan masing-masing komponen atau pelaksanaan dalam analisis. Jika analisis parasetamol yang dijelaskan dalam Kotak 1.4 diperhitungkan, lalu menganggap bahwa produk alat-alat gelas digunakan secara benar, kesalahan yang terlibat dalam tahap-tahap pengenceran dapat mudah diperkirakan dari toleransi yang diberikan untuk pipet dan labu tentukur. Toleransi menurut the British Standard Institution (BS) untuk alat gelas kualitas A yang digunakan dalam penetapan kadar adalah sebagai berikut:

500 ml labu tentukur $500 \text{ ml} \pm 0,05\%$

100 ml labu tentukur $100 \text{ ml} \pm 0,08\%$

5 ml pipet satu tanda $5 \text{ ml} \pm 0,3\%$

Simpangan baku kesalahan dari alat gelas =

$$\sqrt{0,05^2 + 0,08^2 + 0,3^2} = \sqrt{0,0989} = 0,31\%$$

Latihan 1.3

Perkirakan kesalahan acak majemuk dalam penetapan kadar berikut ini dengan memperhatikan tahap-tahap pengenceran yang dijelaskan dan hitung kesalahan dengan SB dalam persen b/v injeksi dengan menganggap bahwa SB tersebut tepat 2% b/v.

Injeksi 2%b/v diencerkan dua kali dengan menggunakan pipet labu 5 ml kualitas A dan labu tentukur 100 ml sebagai berikut:

Pengenceran 1: 5 sampai 100 ml

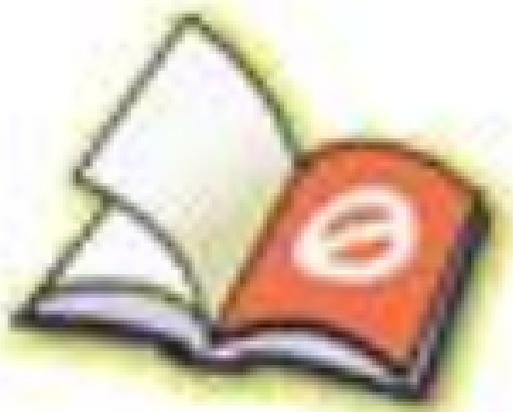
Pengenceran 2: 5 sampai 100 ml

Ketidakpastian dalam pembacaan spektrofotometrik adalah $\pm 0,2\%$.

Jawaban: $\pm 0,48\%$ dan $\pm 0,10\%$ b/v



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Linearitas

Kebanyakan metode analisis didasarkan pada proses-proses yang metodenya menghasilkan suatu respons yang linear dan yang meningkat atau menurun secara linear sebanding dengan konsentrasi analit. Persamaan suatu garis lurus menghasilkan:

$$y = a + bx$$

Dengan a adalah perpotongan garis lurus dengan sumbu y dan b adalah kemiringan garis tersebut. Dengan menggunakan contoh sederhana, kurva kalibrasi tiga titik terbentuk melewati pembacaan absorbans terhadap konsentrasi prokain (Tabel 1.4)

Kesesuaian suatu garis lurus paling baik yang melewati nilai-nilai ini dapat ditentukan dengan penentuan a dan b dengan persamaan-persamaan berikut ini:

$$b = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

dengan x_i adalah nilai masing-masing untuk x , \bar{x} adalah nilai rerata untuk x , y_i adalah nilai masing-masing untuk y , dan \bar{y} adalah nilai rerata untuk y .

$$\bar{x} = \frac{0,8 + 1,0 + 1,2}{3} = 1,0$$

$$\bar{y} = \frac{0,604 + 0,763 + 0,931}{3} = 0,766$$

$$b = \frac{(0,8 - 1,0)(0,604 - 0,766) + (1,0 - 1,0)(0,763 - 0,766) + (1,2 - 1,0)(0,931 - 0,766)}{(0,8 - 1,0)^2 + (1,0 - 1,0)^2 + (1,2 - 1,0)^2}$$

$$= \frac{0,0324 + 0 + 0,033}{0,04 + 0,04} = 0,818$$

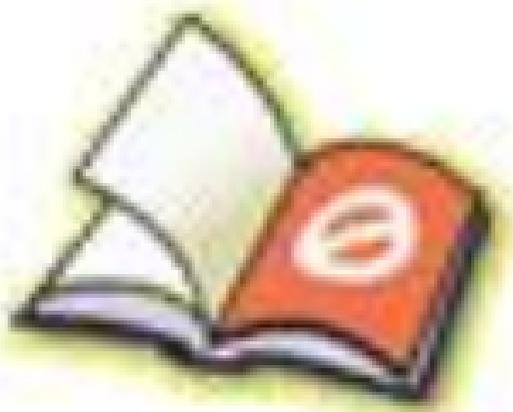
$$a = 0,766 - 0,818 \times 1,0 = -0,052$$

Jadi, persamaan untuk kesesuaian yang paling baik adalah:

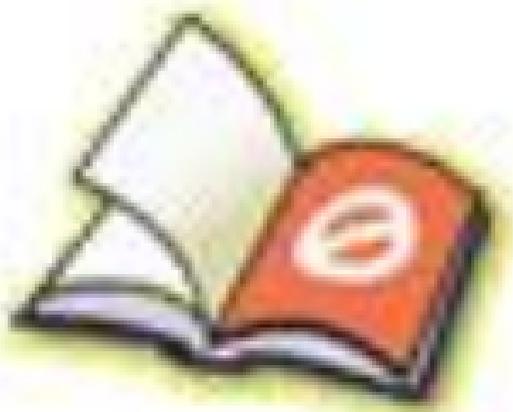
$$y = 0,818x - 0,052$$

Tabel 1.4 Data yang digunakan untuk pembuatan suatu kurva kalibrasi untuk penentuan prokain secara spektrofotometri

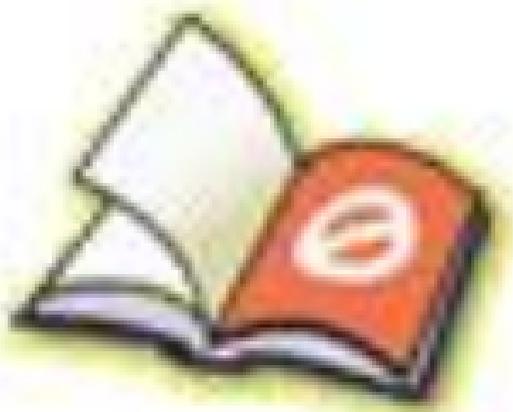
Konsentrasi prokain mg/100 ml	Pembacaan absorbans
0,8	0,604
1,0	0,763
1,2	0,931



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Perhitungan dasar dalam analisis farmasi

Data yang diperoleh dari analisis dapat dilakukan dengan menggunakan metode-metode berbasis komputer. Akan tetapi, agar dapat memperoleh beberapa gagasan tentang kebenaran suatu jawaban, penting untuk dapat melakukan perhitungan-perhitungan secara tradisional. Ada bermacam-macam unit yang digunakan untuk menunjukkan jumlah dan konsentrasi analisis farmasi dan contoh-contoh unit tersebut akan dibahas pada pembahasan berikut ini.

Persen volume/volume (%v/v)

%v/v paling sering ditemui berkaitan dengan komposisi fase gerak yang digunakan dalam kromatografi cair tekanan tinggi. Jadi, jika 30 ml metanol dicampurkan dengan 70 ml air, akan terbentuk campuran 30:70 v/v. Karena beberapa penyusutan dalam volume terjadi jika dua cairan dicampurkan, %v/v hanya dapat diperkirakan. Beberapa ahli kromatografi lebih suka membuat campuran pelarut dengan menimbanginya dan bukan dengan mengukur volume dan dalam hal ini campuran pelarut dapat dinyatakan sebagai % bobot dalam bobot (%b/b).

Persen bobot dalam volume (%b/v)

%b/v biasanya digunakan untuk menyatakan kandungan bahan aktif di dalam formulasi cair seperti injeksi, infus, dan tetes mata. Kerapatan pelarut tersebut dalam hal ini tidak relevan; jadi, larutan 1 g/100 ml suatu obat adalah 1% b/v baik obat itu dilarutkan di dalam etanol ataupun air.

Latihan 1.5

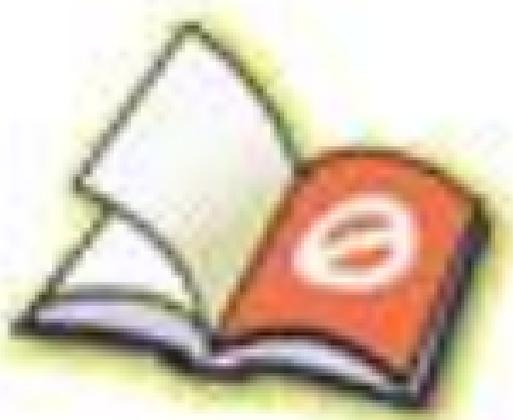
Ubah konsentrasi berikut ini menjadi %b/v.

- (i) 0,1 g/100 ml
- (ii) 1 mg/ml
- (iii) 0,1 g/ml
- (iv) 100 µg/ml

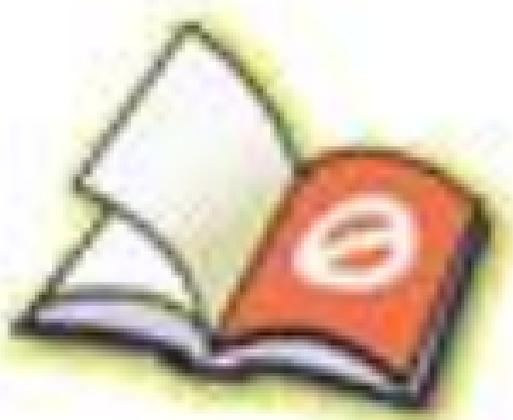
(i) 0,1% b/v
(ii) 0,1% b/v
(iii) 10% b/v
(iv) 0,1% b/v
Jawaban:

Pengenceran

Agar ekstrak dari suatu formulasi atau larutan zat obat yang murni dapat diukur, ekstrak tersebut harus diencerkan sehingga akan berada di dalam rentang kerja instrumen yang digunakan untuk melakukan pengukuran. Jadi, pemahaman tentang faktor-faktor pengenceran sangat penting untuk perhitungan berdasarkan data analisis.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Perhitungan bagian per sejuta (bpj)

Bagian per sejuta (bpj) pada basis b/b adalah 1 mg/g (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Ini adalah ukuran yang lazim digunakan untuk mengetahui kandungan pengotor di dalam bahan-bahan obat, terutama logam berat dan pelarut. 1 bpj juga sama dengan 0,0001% b/b.

Contoh perhitungan 1.4

Kandungan kalium dalam suatu infus intravena yang mengandung natrium klorida ditentukan. Infus tersebut ditemukan mengandung 0,9092% b/v NaCl. Infus yang tidak diencerkan diukur kandungannya dibandingkan dengan kalium klorida baku. Kandungan kalium pada infus yang tidak diencerkan tersebut diketahui sebesar 0,141 mg/100 ml. Hitung kandungan natrium dalam natrium klorida dalam bpj.

$$0,9092\% \text{ b/v} = 0,9092 \text{ g/100 ml}$$

$$\text{Kandungan kalium} = 0,141 \text{ mg/100 ml} = 141 \mu\text{g/100 ml.}$$

Dibandingkan dengan natrium klorida, maka terdapat $141 \mu\text{g}/0,9092 \text{ g} = 141/0,9092 \text{ bpj} = 155 \text{ bpj}$.

Latihan 1.10

125,1 mg streptomisin sulfat dilarutkan dalam 10 ml air. Suatu analisis ruang atas KG dilakukan untuk menentukan kandungan metanol dalam obat tersebut. Puncak untuk metanol yang dihasilkan mempunyai 73,2% area puncak metanol baku yang mengandung 0,532 mg/100 ml metanol dalam air yang dianalisis dengan kondisi yang sama. Berapakah kandungan metanol pada streptomisin sulfat dalam bpj dan %b/b?

Jawaban: 311,3 bpj, 0,03113% b/b

Pengerjaan di antara bobot dan molaritas

Bobot jauh lebih mudah dipahami daripada konsentrasi molar, tetapi kadang-kadang, terutama di dalam metode analisis hayati, konsentrasi molar yang digunakan.

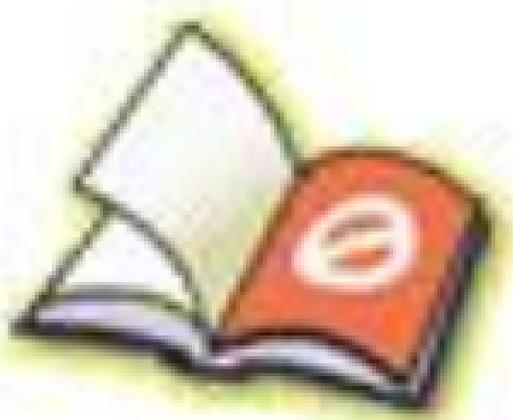
Definisi

Molar: bobot molekul dalam g/liter (mg/ml)

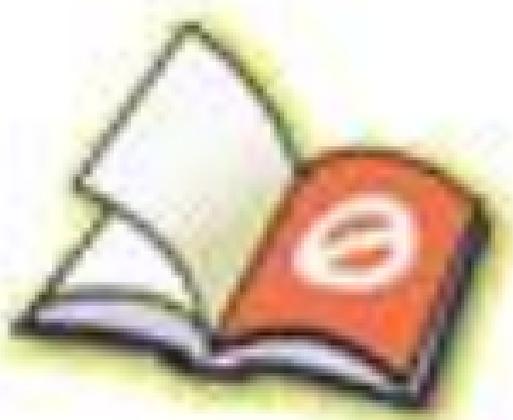
mMolar: bobot molekul dalam mg/liter ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

μMolar : bobot molekul dalam $\mu\text{g}/\text{liter}$ (ng/ml)

nMolar: bobot molekul dalam ng/liter (pg/ml)



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

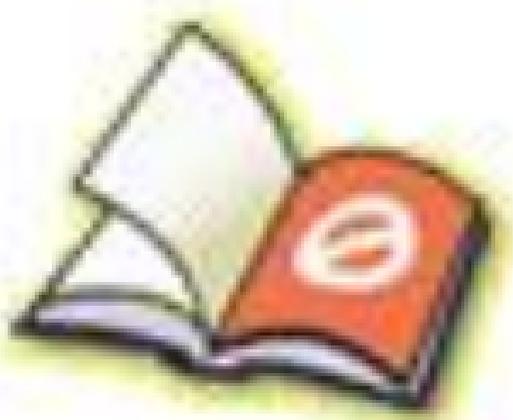
2

Sifat fisika dan kimia molekul obat

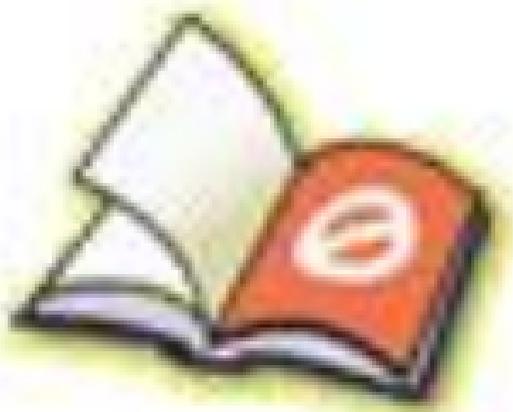
Pendahuluan	Hidrolisis garam	Pengukuran rotasi optik
Perhitungan nilai pH larutan berair asam kuat, basa kuat, asam lemah, dan basa lemah	Aktivitas, kekuatan ion, dan tetapan dielektrik	Profil sifat fisikokimia beberapa molekul obat
Disosiasi air	Koefisien partisi	Prokain
Asam kuat dan basa kuat	Efek pH terhadap pemisahan	Parasetamol
Asam lemah dan basa lemah	Stabilitas obat	Aspirin
Kekuatan asam dan basa serta pKa	Penguraian orde-nol	Benzilpenisilin
Persamaan Henderson-Hasselbalch	Penguraian orde-pertama	5-Fluorourasil
Ionisasi molekul obat	Stereokimia obat	Asebutolol
Dapar	Isomerisme geometris	Sulfadiazin
	Kiralitas dan isomerisme optis	Isoprenalin
	Diastereoisomer	Prednisolon
		Guanetidin
		Piridostigmin bromida
		Soal-soal tambahan

Pendahuluan

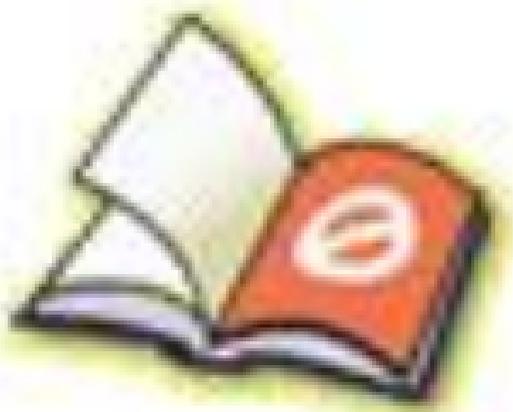
Sifat fisika molekul organik, seperti pKa dan koefisien partisi, banyak ditemui dalam pelajaran farmasi^{1,2} tapi tidak terlalu banyak dibahas di dalam bidang pelajaran kimia analisis. Para ahli kimia analisis sering takterduga bahwa mereka tidak dapat membedakan antara, misalnya, fungsi nitrogen yang bersifat basa, basa lemah, asam, asam lemah, dan netral. Sifat fisika molekul obat, bersama dengan reaksi-reaksi derivatisasi dan penguraian kimia sederhana, berperan penting dalam perancangan metode analisis. Molekul obat sangat rumit, memiliki banyak gugus fungsi yang dapat dikombinasi untuk menghasilkan sifat-sifat keseluruhan molekul tersebut. Bab ini akan menjadi titik awal untuk memahami sifat kimia dan fisikokimia molekul obat, yang memengaruhi pengembangan metode-metode analisis. Bagian akhir bab ini akan difokuskan pada beberapa obat khas yang mewakili segolongan molekul obat dan daftar sifat-sifatnya beserta sifat gugus fungsionalnya sejauh yang telah diketahui.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Jika pK_a digunakan sebagai ukuran kekuatan asam atau basa: *untuk suatu asam, semakin kecil nilai pK_a , semakin kuat asam tersebut; untuk suatu basa, semakin besar nilai pK_a , semakin kuat basa tersebut.*

Persamaan Henderson-Hasselbalch

$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]}$$

Persamaan tersebut dapat diatur kembali dengan mengganti pH untuk $-\log [H^+]$ dan pK_a untuk $-\log K_a$ sehingga menghasilkan:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Sebagai contoh, jika asam asetat (pK_a 4,76) adalah dalam larutan pada pH 4,76, persamaan Henderson-Hasselbalch dapat ditulis sebagai berikut:

$$pH = 4,76 + \log \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]}$$

Dari hubungan untuk asam asetat ini, derajat ionisasi asam asetat pada pH tertentu yang mungkin dapat ditentukan.

Jadi, pada $pH = 4,76$, maka:

$$4,76 = 4,76 + \log \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]}$$

$$\log \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 0$$

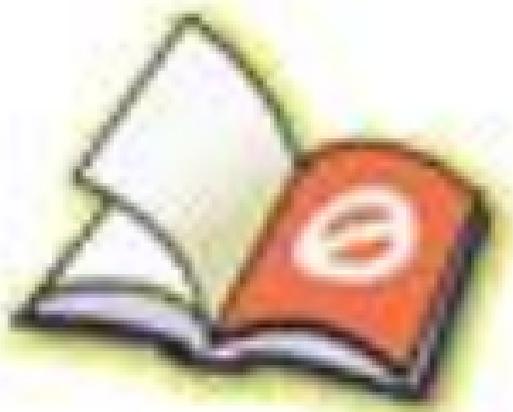
$$\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 10^0 = 1$$

Asam asetat terionisasi 50% pada pH 4,76. Untuk asam lemah, bentuk terprotonasi asam tersebut yang tidak terionisasi, dan karena pH turun, asam tersebut menjadi kurang terionisasi.

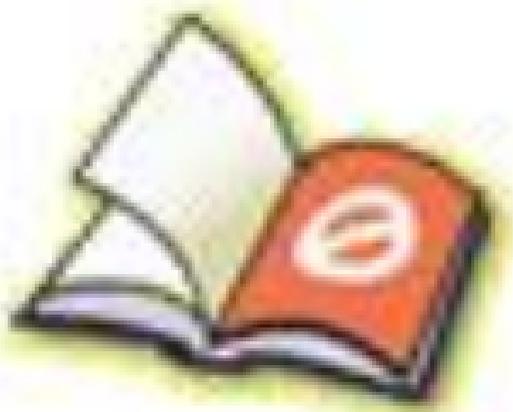
Latihan 2.3

Tentukan persen ionisasi asam asetat pada (i) pH 3,76 dan (ii) pH 5,76.

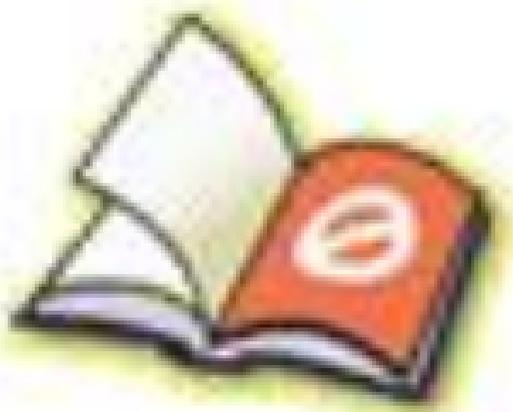
jawab: (i) 60% (ii) 0%



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

dalam dapar tersebut. Nilai pK_a asam asetat adalah 4,76; jadi, rentang dapar efektifnya adalah 3,76 – 5,76.

Salah satu cara menghasilkan 1 liter dapar asetat 0,1 M adalah dengan mencampurkan 850 ml larutan asam asetat 0,1 M dengan 150 ml larutan natrium asetat 0,1 M.

Contoh perhitungan 2.2

Satu liter dapar natrium asetat 0,1 M dibutuhkan dengan pH 4,0. Bobot molekul asam asetat = 60; maka, dalam setiap liter dapar 0,1 M akan terdapat 6 g asam asetat. Untuk membuat dapar tersebut, 6 g asam asetat ditimbang dan diencerkan dengan air sampai lebih kurang 500 ml. pH larutan asam asetat disesuaikan sampai 4,0 dengan penambahan larutan natrium hidroksida 2 M, dengan menggunakan pH meter untuk memantau pH. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan air sampai 1 liter. Hitung konsentrasi asetat dan asam asetat dalam dapar pada pH 4,0.

Dengan menggunakan persamaan Henderson-Hasselbalch:

$$4,00 = 4,76 + \log \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

$$\log \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = -0,76$$

$$\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = \frac{10^{-0,76}}{1} = \frac{0,17}{1}$$

Dapar tersebut terdiri atas 1 bagian asam asetat dan 0,17 bagian asetat.

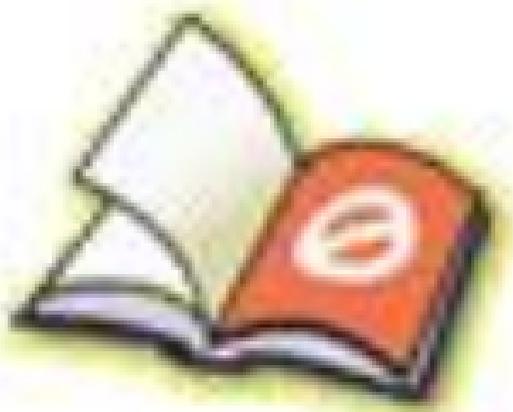
Dapar tersebut dibuat dari 0,1 mol asam asetat; setelah disesuaikan sampai pH 4,0, jumlah asam asetat dan asetat yang ada adalah sebagai berikut:

$$\text{CH}_3\text{COOH} = \frac{1}{1,17} \times 0,1 \text{ mol} = 0,085 \text{ mol}$$

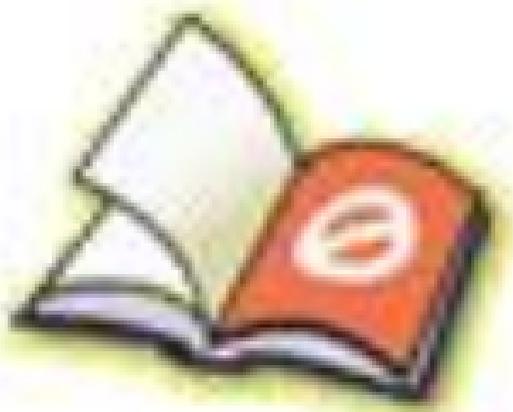
$$\text{CH}_3\text{COO}^- = \frac{0,17}{1,17} \times 0,1 \text{ mol} = 0,015 \text{ mol}$$

Karena asam asetat dan asetat dilarutkan dalam 1 liter air, dapar tersebut terdiri atas CH_3COOH 0,085 M dan CH_3COO^- 0,015 M. Meskipun konsentrasi asetat dan asam asetat bervariasi tergantung pada pH, dapar tersebut akan dikenal sebagai dapar natrium asetat 0,1 M.

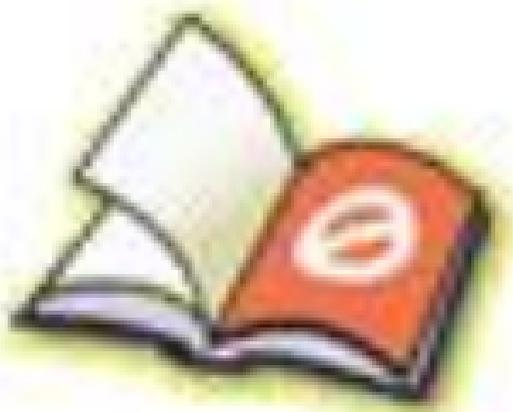
Catatan: Dapar 0,1 M tidak boleh dibuat dengan cara penambahan asam asetat ke dalam suatu larutan NaOH 0,1 M, karena banyak asam asetat yang akan perlu disesuaikan pH-nya sampai 4,0; sebenarnya, 0,1 mol NaOH akan membutuhkan 0,57 mol asam asetat untuk menghasilkan suatu dapar dengan pH 4,0 dan kekuatan 0,57 M.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

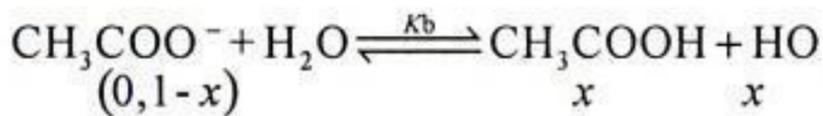


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Hidrolisis garam

Jika garam asam kuat dan suatu basa kuat dilarutkan dalam air, garam tersebut akan menghasilkan pH lebih kurang 7,0. Jika garam-garam dari asam lemah dan basa kuat atau dari asam kuat dan basa lemah dilarutkan dalam air, masing-masing garam tersebut akan menghasilkan larutan yang bersifat basa dan larutan yang bersifat asam.

Jika natrium asetat dilarutkan dalam air, ion asetat akan bersifat seperti basa, menghilangkan proton-proton dari larutan. Untuk elektrolit lemah dalam air, $K_b \times K_a = K_w$. Jika larutan natrium asetat 0,1 M dalam air diperhitungkan:



$$K_b(\text{CH}_3\text{COO}^-) = \frac{K_w}{K_a(\text{CH}_3\text{COOH})} = \frac{10^{-14}}{1,75 \times 10^{-5}} = 5,7 \times 10^{-10}$$

Karena perubahan dalam konsentrasi air tidak terlalu memengaruhi kesetimbangan, $[\text{CH}_3\text{COO}^-]$ tidak banyak diubah oleh hidrolisis.

$$5,7 \times 10^{-10} = \frac{x^2}{0,1}$$

$$[\text{HO}^-] = \sqrt{5,7 \times 10^{-11}} = 7,6 \times 10^{-6}$$

$$[\text{H}^+] = \frac{10^{-14}}{7,6 \times 10^{-6}} = 1,33 \times 10^{-9}$$

$$\text{pH} = 8,9$$

Latihan 2.9

Hitung pH larutan NH_4Cl 0,1 M. Jadi, hidrolisis garam meningkatkan $[\text{H}^+]$ dan kesetimbangan dalam soal ini adalah:



K_a untuk reaksi ini adalah $5,6 \times 10^{-10}$.

Jawaban: pH = 5,13



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Contoh perhitungan 2.5 (Lanjutan)

Ekstraksi ketiga

$\frac{5}{6}$ dari 2,8% yang tersisa dalam lapisan air diekstraksi.

$$\text{Persen terekstraksi} = \frac{5}{6} \times 2,8 = 2,3\%$$

Persen obat yang tersisa di dalam lapisan air = 0,5%

Persen total obat yang diekstraksi $83,3 + 13,9 + 2,3 = 99,5\%$

Latihan 2.10

Koefisien partisi antara kloroform dan air untuk suatu obat adalah 12. Hitung persen suatu obat yang akan diekstraksi dari 10 ml air dengan (i) 30 ml kloroform; (ii) 3×10 ml kloroform.

Jawaban: (i) 97,3%; (ii) 99,95%

Efek pH terhadap pemisahan

Banyak obat mengandung gugus yang dapat terionisasi dan koefisien partisinya pada pH tertentu mungkin sulit diperkirakan jika terdapat lebih dari satu gugus terionisasi yang terlibat. Akan tetapi, satu gugus dalam suatu molekul mungkin lebih sering terionisasi daripada gugus lain pada pH tertentu, sehingga menentukan pemisahannya. Penurunan dari persamaan Henderson-Hasselbalch untuk variasi pemisahan asam organik dan basa organik ke dalam pelarut organik mungkin dilakukan dengan memperhatikan pH larutan yang menjadi pelarutnya tersebut.

Dari persamaan Henderson–Hasselbalch:

$$\text{untuk asam : } P_{\text{app}} = \frac{P}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pKa}}}$$

$$\text{untuk basa : } P_{\text{app}} = \frac{P}{1 + 10^{\text{pKa} - \text{pH}}}$$

P_{app} adalah koefisien partisi nyata, yang bervariasi tergantung pada pH. Oleh karena itu, hal ini dapat terlihat bahwa, jika suatu senyawa, asam atau basa, terionisasi 50% (yaitu $\text{pH} = \text{pKa}$), koefisien partisinya adalah separuh koefisien partisi obat tersebut dalam keadaan takterionisasi.

$$P_{\text{app}} = \frac{P}{1 + 10^0} = \frac{P}{2}$$



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Jadi, waktu paruh obat tersebut (waktu yang dibutuhkan untuk 50% obat sampel terurai, dengan x adalah $a/2$) dihasilkan dengan persamaan berikut ini:

$$t_{0,5} = \frac{1}{k} \ln \frac{a}{a/2} = \frac{1}{k} \ln 2$$

Oleh karena itu, untuk aspirin, yang memiliki tetapan laju 0,0133 per jam untuk hidrolisis gugus esternya pada 25°C dan pH 7,0, waktu paruh dapat dihitung sebagai berikut:

$$t_{0,5} = \frac{0,693}{0,0133} = 52,1 \text{ jam}$$

Masa edar suatu obat, waktu yang dibutuhkan untuk penguraian 10% (dengan x adalah $0,1 a$), dihasilkan dengan persamaan berikut:

$$t_{0,9} = \frac{1}{k} \ln \frac{a}{0,9a} = \frac{1}{k} 1,11$$

Contoh perhitungan 2.7

Dalam suatu penetapan kadar tablet aspirin dengan kromatografi cair tekanan tinggi, 10 ekstrak disiapkan dan ekstrak tersebut diencerkan dengan larutan fase gerak yang terdiri atas asetonitril/dapar natrium asetat 0,1 M pH 4,5 (10:90) dan dianalisis secara berurutan. Jika tetapan laju untuk penguraian aspirin di dalam fase gerak adalah 0,0101 per jam pada suhu kamar, berapa lama analisis dapat menyimpan larutan-larutan tersebut pada suhu kamar sebelum penguraian analit lebih dari 0,5%?

Dalam hal ini, kita memperhatikan $t_{(0,995)}$: ln

$$t_{(0,995)} = \frac{(a/0,995a)}{0,0101} = 0,5 \text{ jam}$$

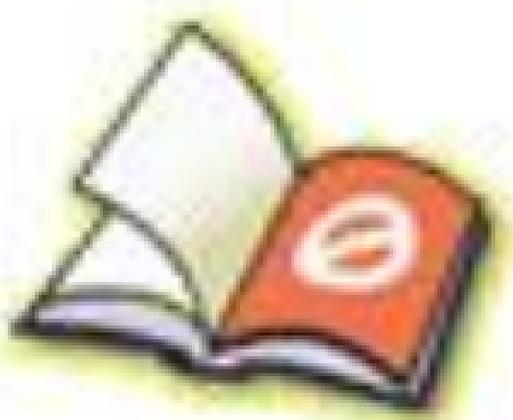
Jadi, agar penguraian <0,5%, larutan-larutan tersebut akan perlu dianalisis selama 3 menit pada saat sedang disiapkan.

Latihan 2.12

Tentukan waktu-paruh obat-obat berikut, yang dapat mengalami hidrolisis fungsi-fungsi esternya di dalam larutan, di bawah kondisi tertentu.

- (i) Atropin pada 40° C dan pH 7,0 dengan $k = 2,27 \times 10^{-4}$ /jam.
- (ii) Prokain pada 37° C dan pH 8,0 dengan $k = 1,04 \times 10^{-2}$ /jam.
- (iii) Benzokain pada 30° C dan pH 9,0 dengan $k = 2,27 \times 10^{-3}$ /jam.

Jawaban: (i) 127,2 hari; (ii) 66,6 jam; (iii) 12,7 hari



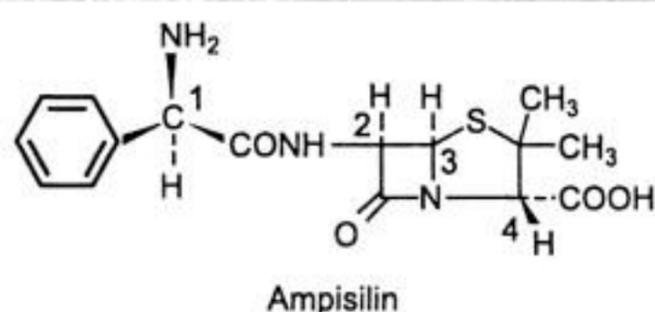
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

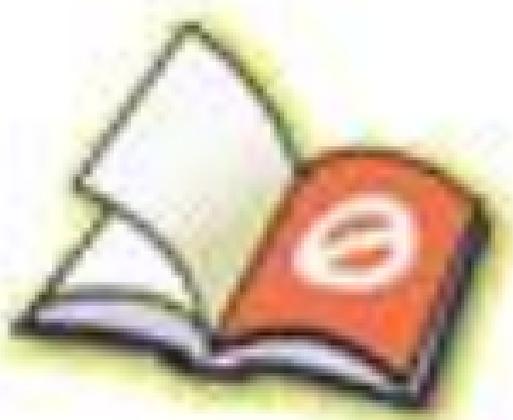


Gbr. 2.4

Struktur-struktur obat seperti yang digambarkan pada kertas tidak selalu mendukung untuk penempatan konfigurasi mutlak dan terkadang diperlukan sejumlah pertimbangan tertentu dalam tiga dimensi untuk menggambar struktur-struktur tersebut dalam bentuk yang konfigurasi mutlaknya dapat ditetapkan. Pada obat-obat seperti steroid, penisilin, dan alkaloid morfin, yang semuanya merupakan bahan alam, kiralitas dibentuk menjadi molekul-molekul sebagai hasil kerja enzim stereoselektif yang terdapat pada tanaman atau mikroorganisme penghasilnya. Akan tetapi, banyak obat sintetis yang pusat kiralnya merupakan bagian dari strukturnya. Banyak di antara obat ini digunakan dalam bentuk rasemat, karena terdapat kesulitan teknis dalam melakukan sintesis kimia stereospesifik atau dalam pemisahan campuran enantiomer yang berasal dari sintesis nonstereoselektif. Dahulu, banyak campuran rasemat tersebut telah digunakan sebagai obat tanpa memperhatikan fakta bahwa secara efektif suatu obat yang kemurniannya hanya 50% sedang diberikan. Istilah yang disebut enantiomer 'inaktif' pada kenyataannya mungkin bersifat antagonis terhadap bentuk aktifnya atau mungkin memiliki efek-efek fisiologis yang berbeda^{3,4}. Contoh yang paling nyata, yang memunculkan begitu banyak undang-undang obat selama 30 tahun terakhir, adalah kasus talidomid, yang mengandung satu pusat kiral dan diberikan sebagai suatu rasemat untuk mengurangi mual pagi hari selama kehamilan. Enantiomer aktifnya menghasilkan efek-efek terapeutik yang diinginkan, sedangkan enantiomer 'inaktif'-nya menyebabkan cacat lahir pada anak-anak yang ibunya menggunakan obat rasemat ini. Faktanya, pemberian enantiomer murni yang aktif secara terapeutik tidak akan membantu di dalam kasus ini karena talidomid mengalami rasemisasi di dalam tubuh. Peraturan saat ini mempersyaratkan pabrik untuk mendapatkan izin suatu obat baru yang berbentuk rasemat untuk membuktikan penggunaan rasemat tersebut dan bukan suatu enantiomer murni.

Diastereoisomer

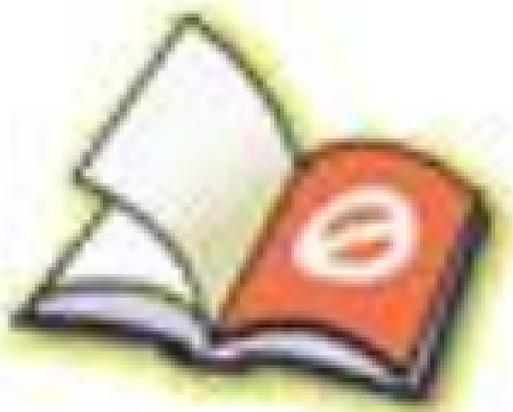
Jika lebih dari satu pusat kiral terdapat dalam suatu molekul, ada kemungkinan merupakan diastereoisomer, misalnya kaptopril. Contoh lain suatu obat sintetis dengan dua pusat kiral adalah labetalol. Jumlah diastereoisomer yang berasal dari n pusat kiral adalah 2^{n-1} , yaitu 2 dalam kasus labetalol. Pada struktur yang ditunjukkan dalam Gambar 2.5, pusat-pusat kiral 1 dan 2 dalam struktur A masing-masing memiliki konfigurasi R dan S ; enantiomer struktur ini (B) memiliki konfigurasi S dan R pada pusat 1 dan 2. Selain itu, terdapat pasangan enantiomer, C dan D, yang merupakan diastereoisomer struktur A dan B, dan yang memiliki konfigurasi $1R2R$ dan $1S2S$.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

pengukuran, pelarut, suhu, dan jenis cahaya yang digunakan. Misalnya, rotasi spesifik untuk (-) adrenalin dinyatakan sebagai:

$$[\alpha]^{25}_D = -51^\circ (c = 2, \text{HCl } 0,5\text{M})$$

Rotasi optik diperoleh pada 25° dengan menggunakan garis D natrium dengan 2 g per larutan 100 ml dalam HCl 0,5 M.

Jika suatu enantiomer murni secara kimia, derajat kemurnian enantiomeriknya dapat ditentukan dengan mengukur rotasi optiknya dibandingkan dengan nilai bakunya, misalnya jika suatu campuran enantiomerik terdiri atas 1% enantiomer A dan 99% enantiomer B, $[\alpha]$ akan berkurang sebesar 2% dibandingkan dengan nilai untuk B yang murni secara optik. Contoh pengukuran rotasi optik sebagai pemeriksaan pengendalian mutu dapat dilihat di dalam monografi BP untuk Timolol Maleat, Tobramisin, dan Fenilefrin Hidroklorida.

Latihan 2.15

Pengukuran rotasi optik dilakukan dengan menggunakan garis D natrium pada 25°C dalam suatu sel 1 dm dan hasil pembacaannya diperoleh sebagai berikut:

- (i) Fenilefrin HCl 2,6% b/v dalam HCl 0,1 M; $\alpha = -0,98^\circ$
- (ii) Timolol maleat 9,8% b/v dalam HCl 1 M; $\alpha = -0,59^\circ$

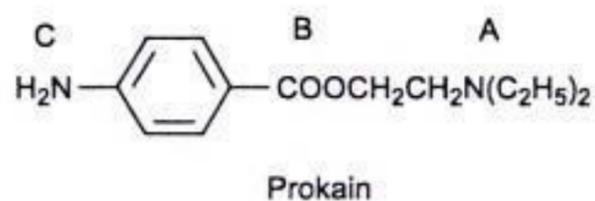
Hitung $[\alpha]$ untuk obat-obat ini dan nyatakan dalam bentuk konvensional.

$$\text{Jawaban: (i) } [\alpha]^{25}_D = -37,7^\circ (2,6\% \text{ HCl } 0,1 \text{ M}); \text{ (ii) } [\alpha]^{25}_D = -6,02^\circ (9,8\% \text{ HCl } 1 \text{ M})$$

Profil sifat fisikokimia beberapa molekul obat

Prokain

Gbr. 2.8



Jenis obat: anestetik lokal.

Gugus fungsi:

- A – amin alifatik tersier, pKa 9,0.
- B – ester, netral.
- C – amin aromatik, basa sangat lemah, pKa lebih kurang 2.



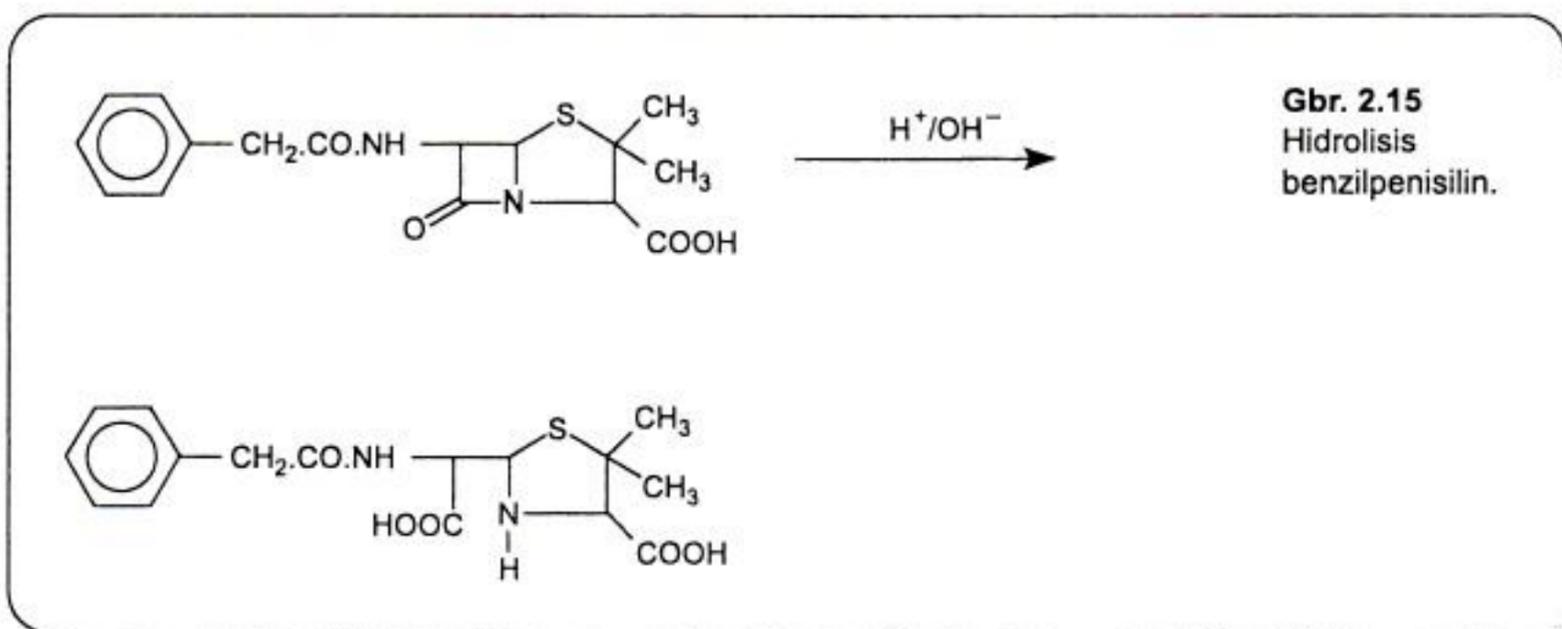
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



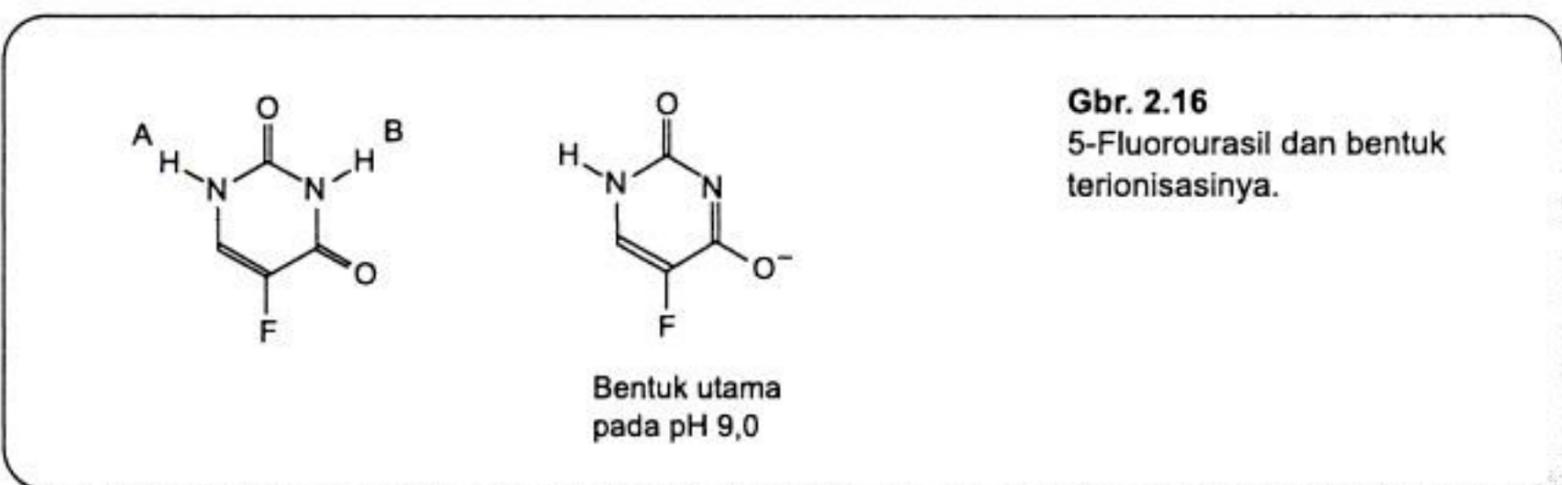
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



- D – Asam karboksilat, asam lemah pKa 2,8 (kekuatan asam ditingkatkan oleh cincin laktam yang berdekatan).

Senyawa-senyawa dengan sifat yang mirip: amoksisilin, kloksasilin, karbenisilin, flu-kloksasilin, fenoksimetilpenisilin, sefaleksin, sefuroksim.

5-Fluorourasil



Jenis obat: antikanker.

Gugus fungsi:

- A – Nitrogen ureida, asam, pKa 7,0.
- B – Nitrogen ureida, asam sangat lemah, pKa 13,0.

Informasi lain: Molekulnya cukup stabil.

Koefisien partisi molekul takterionisasi: oktanol/air lebih kurang 0,13.

Senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen bersifat asam dalam cincin heterosiklik: fenobarbital, amilobarbital, butobarbital, bemegrid, urasil, fenitoin, teofilin, teobromin.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Jenis obat: antihipertensi.

Gugus fungsi:

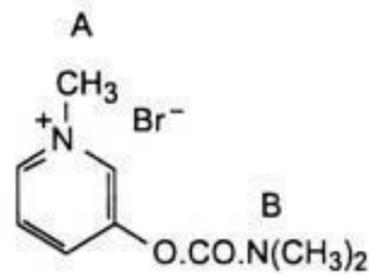
- A – Gugus guanidin; salah satu dari basa nitrogen terkuat, pKa 11,4.
- B – Amin tersier, pKa 8,3.

Senyawa yang mengandung gugus guanidin: arginin, kreatinin, betanidin, streptomisin, fenformin, metformin, klorheksidin.

Piridostigmin bromida

Gbr. 2.22

Piridostigmin bromida



Jenis obat: antikolinergik.

Gugus fungsi:

- A – Garam ion amonium kuaterner basa kuat. Ion-ion amonium kuaterner bermuatan pada semua nilai H.
- B – Gugus karbamat, nitrogen bersifat netral seperti dalam suatu amida, tetapi gugus karbamat kurang stabil daripada amida, memiliki stabilitas yang sama dengan stabilitas ester fenolat.

Senyawa yang mengandung gugus amonium kuaterner: atrakarium besilat, bretilium tosilat, klindium bromida, glikopironium bromida.

Soal-soal tambahan

1. Hitung pH larutan-larutan berikut ini dengan menganggap bahwa konsentrasi dan aktivitas larutan tersebut sama:
 - (i) HCl 0,05 M.
 - (ii) Asam kloroasetat 0,1 M ($K_a = 1,4 \times 10^{-3}$).
 - (iii) Asam fosfat 0,1 M (K_a pertama $7,5 \times 10^{-3}$).
 - (iv) Asam fumarat 0,1 M (K_a $9,3 \times 10^{-4}$).

(Berlanjut)



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

3

Metode titrimetri dan analisis kimia

Poin penting	Teori	Titration Karl Fischer (deteksi titik-akhir secara kulometri)
Pendahuluan	Titration bebas-air basa lemah	
Instrumentasi dan pereaksi	Titration bebas-air asam lemah	Otomatisasi metode kimia basah
Alat gelas	Titration argentometri	Titration otomatis
Baku primer dan larutan baku	Titration kompleksometri	Analisis injeksi aliran
Titration asam/basa langsung dalam fase berair	Titration redoks	Penerapan FIA dalam analisis farmasi
Titration asam kuat/basa kuat	Teori	Penentuan kloroksin
Titration asam lemah/basa kuat dan basa lemah/asam kuat	Titration iodometri	Penentuan kaptopril
Titration garam basa lemah dalam campuran medium berair/bebas-air	Titration langsung	Penentuan obat antiinflamasi nonsteroid
Titration taklangsung dalam fase berair	Titration penggantian iodin	Penentuan prometazin
Perkiraan ester dengan titration balik	Zat-zat pengabsorpsi-iodin dalam penisilin	Penentuan klorokresol
Bilangan penyabunan	Titration pasangan ion	Uji batas untuk logam berat
Perkiraan bilangan alkohol dan bilangan hidroksil melalui reaksi dengan anhidrida asetat (AA)	Titration menggunakan pewarna indikator	Penggunaan aliran tersegmentasi dalam penentuan koefisien partisi
Titration bebas-air	Titration menggunakan iodida sebagai anion lipofilik	Pengujian disolusi terotomatisasi
	Titration diazotisasi	Soal-soal tambahan
	Titration potensiometri	
	Deteksi titik-akhir secara potensiometri	
	Penggunaan titration potensiometri untuk menentukan nilai pKa	

POIN PENTING

Prinsip

Suatu analit secara kimia bereaksi dengan larutan baku pereaksi yang konsentrasinya diketahui secara pasti atau dengan konsentrasi yang dapat ditentukan dengan tepat. Jumlah larutan baku yang dibutuhkan untuk bereaksi sepenuhnya dengan seluruh sampel digunakan untuk memperkirakan kemurnian sampel tersebut.

(Berlanjut)



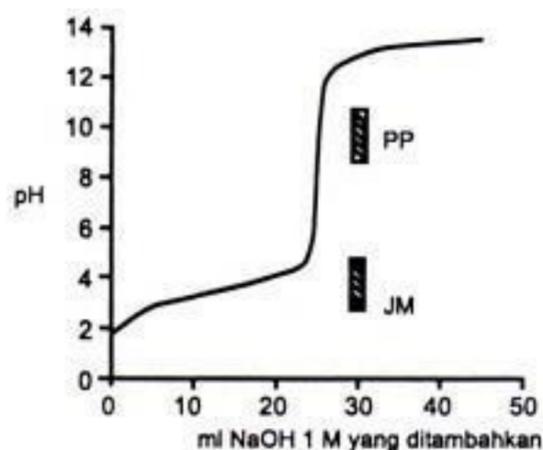
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

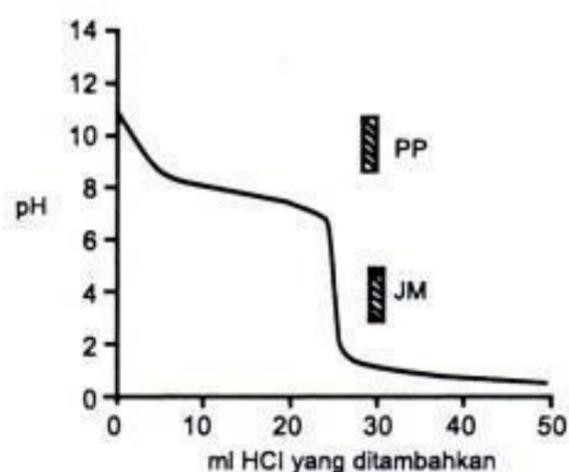


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 3.3
Kurva titrasi 25 ml larutan aspirin 1,0 M (pK_a 3,5) yang dititrasi dengan NaOH 1,0 M.

Gbr 3.4
25 ml larutan kuinin 1,0 M (pK_a 8,05) dititrasi dengan asam klorida 1,0 M.



Latihan 3.1

Yang mana indikator-indikator ini yang dapat digunakan untuk titrasi aspirin dan titrasi kuinin?

- (i) Biru bromofenol pK_a 4,0
- (ii) Merah metil pK_a 5,1
- (iii) Merah kresol pK_a 8,3
- (iv) Biru klorofenol pK_a 6,0

Jawaban: Aspirin: (iii) dan (iv). Quinin: (i) dan (ii)

semua gugus asam atau basa berbeda lebih dari sekitar 4, senyawa tersebut akan memiliki lebih dari satu infleksi dalam kurva titrasinya. Natrium karbonat merupakan garam asam karbonat dan senyawa ini dapat menerima dua proton. Nilai pK_a karbonat dan bikarbonat sangat berbeda (pK_a 10,32 dan 6,38) untuk dua infleksi dalam kurva titrasi. Dua tahapan dalam titrasi adalah:



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Contoh perhitungan 3.1

Data berikut ini diperoleh untuk sampel minyak hati ikan kod:

Bobot minyak yang digunakan untuk analisis = 2,398 g

KOH etanolat (BM 56,1) digunakan dalam penentuan = 0,986 M

Jumlah KOH etanolat yang digunakan untuk hidrolisis dan dalam titrasi blangko = 25 ml

Jumlah HCl 0,470 M yang diperlukan untuk menetralkan kelebihan KOH = 35,2 ml

Jumlah HCl 0,470 M yang diperlukan dalam titrasi blangko = 52,3 ml

Perhitungan

Jumlah KOH yang digunakan mula-mula = $52,3 \times 0,47 = 24,6$ mmol

Jumlah HCl yang diperlukan untuk menetralkan kelebihan KOH = $35,20 \times 0,470 = 16,5$ mmol

Jumlah KOH yang digunakan dalam hidrolisis = $24,6 - 16,5 = 8,1$ mmol \times BM = mg

Jumlah KOH yang digunakan dalam hidrolisis = $8,1 \times 56,1 = 454,0$ mg

Jumlah KOH/g minyak lemak yang digunakan dalam hidrolisis = $454/2.398 = 189,3$ mg

Jadi, bilangan penyabunan = 189,3.

Latihan 3.4

Hitung bilangan penyabunan sampel minyak jarak dari data berikut ini:

- Bobot minyak yang digunakan untuk analisis = 2,535 g
- KOH etanolat yang digunakan dalam hidrolisis = 1,03 M
- Jumlah KOH yang digunakan dalam hidrolisis = 25 ml
- Jumlah HCl 0,514 M yang diperlukan untuk menetralkan kelebihan KOH = 34,2 ml
- Jumlah HCl 0,514 M yang diperlukan dalam titrasi blangko = 50,2 ml

Jawab: 182

Perkiraan bilangan alkohol dan bilangan hidroksil melalui reaksi dengan anhidrida asetat (AA)

Alkohol dapat ditentukan melalui reaksi dengan kelebihan AA (Gbr. 3.7). Ini adalah metode titrimetri yang berguna karena gugus alkohol sulit diperkirakan dengan metode lain.

Kelebihan AA dan asam asetat dapat dititrasi balik dengan NaOH dengan menggunakan PP sebagai indikator.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

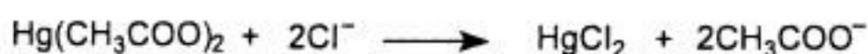
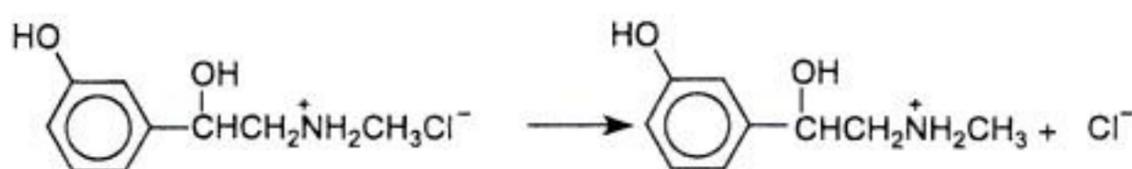


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



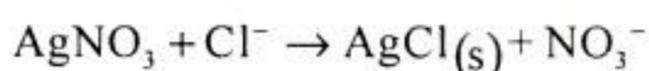
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 3.10
Analisis fenilefrin
hidroklorida dengan
titrasi bebas-air.

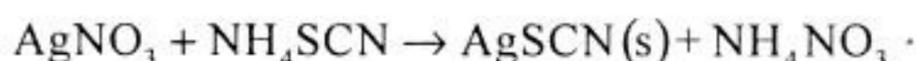


Titration argentometri

Titration argentometri didasarkan pada reaksi:



Kalium kromat dapat digunakan sebagai suatu indikator, menghasilkan warna merah dengan kelebihan ion Ag^+ . Titration yang lebih banyak dapat digunakan adalah metode titration balik. Kelebihan AgNO_3 ditambahkan ke dalam sampel yang mengandung ion klorida atau bromida. Kelebihan AgNO_3 kemudian dititrasi dengan amonium tiosianat, dan amonium ferro sulfat digunakan sebagai indikator pada kelebihan SCN^- .



Sebelum titration balik dapat dilakukan, AgCl yang mengendap harus disaring atau dilapisi dengan dietilftalat untuk mencegah SCN^- menyebabkan penguraian AgCl . Klorin yang dikombinasikan secara organik harus dibebaskan melalui hidrolisis dengan natrium hidroksida sebelum titration. Suatu halogen yang menempel pada cincin aromatik tidak dapat dibebaskan dengan cara hidrolisis dan halida aromatik harus dibakar dalam tabung oksigen agar dapat melepaskan halogen untuk titration.

Titration argentometri digunakan pada penetapan kadar dalam farmakope untuk: tablet natrium klorida dan kalium klorida, tiamin hidroklorida, mustin klorida, dan karbromal.

Titration kompleksometri

Titration ini digunakan untuk memperkiraan garam logam. Asam etilendiamin tetraasetat (EDTA) yang ditunjukkan pada Gambar 3.11 adalah titran yang biasa digunakan. EDTA membentuk kompleks stabil 1:1 dengan semua logam kecuali logam alkali seperti natrium dan kalium. Logam tanah alkali seperti kalsium dan magnesium mem-



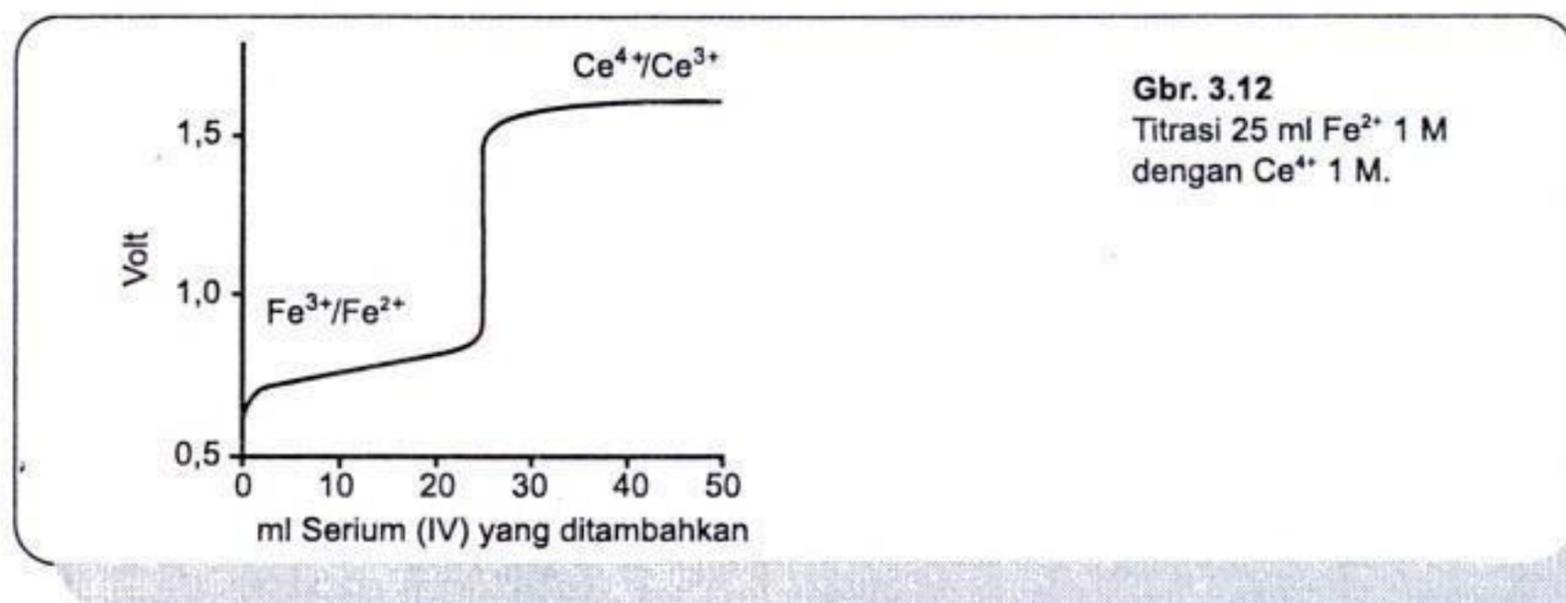
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Latihan 3.7

Dengan menggunakan nilai dalam Tabel 3.1, berapakah kira-kira potensial yang diukur untuk pasangan redoks Fe³⁺/Fe²⁺ yang terdapat dalam bagian pertama titrasi yang ditunjukkan dalam Gambar 3.12 yang diukur terhadap:

- (i) Suatu elektrode hidrogen standar.
- (ii) Suatu elektrode Ag/AgCl?

Demikian pula, berapakah kira-kira potensial untuk pasangan redoks Ce⁴⁺/Ce³⁺ pada plato setelah pengukuran titik-akhir terhadap:

- (iii) Suatu elektrode hidrogen standar.
- (iv) Suatu elektrode Ag/AgCl?

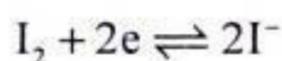
Jawaban: (i) 0,77 V; (ii) 1,39 V; (iii) 1,61 V; (iv) 1,55 V

Titrasi iodometri

Ada beberapa jenis penetapan kadar secara iodometri.

Titrasi langsung

Iodin adalah bahan pengoksidasi yang cukup kuat (Lihat Tabel 3.1). Selama oksidasi, iodin tereduksi seperti berikut ini:



Iodin akan mengoksidasi zat-zat yang potensial reduksinya lebih rendah, misalnya titrasi asam askorbat dilakukan seperti yang diperlihatkan pada Gambar 3.13.

Larutan iodin yang digunakan dibakukan terhadap natrium tiosulfat (lihat pada bagian berikutnya). Selain itu, titik-akhir dideteksi dengan menggunakan indikator kanji, yang menghasilkan pewarnaan biru dengan kelebihan iodin.

Titrasi iodometri langsung digunakan pada penetapan kadar dalam farmakope untuk: asam askorbat, natrium stilbiglukonat, injeksi dimerkaprol, dan asetarsol.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Pembentukan pasangan ion dengan iodida yang diikuti dengan titrasi kelebihan iodida dengan iodat digunakan dalam penetapan kadar farmakope untuk: setrimid, setilpiridium bromida, domifen bromida, dan benzalkonium klorida.

Titration diazotasi

Jenis titrasi ini cukup sederhana untuk dilakukan dan sangat berguna untuk analisis antibiotik sulfonamida dan anestetik lokal turunan-asam benzoat. Titrasi dilakukan dengan menggunakan natrium nitrit yang diasamkan, menyebabkan fungsi amin aromatik primer diubah menjadi garam diazonium, seperti ditunjukkan pada Gambar 3.16 untuk sulfasetamida.

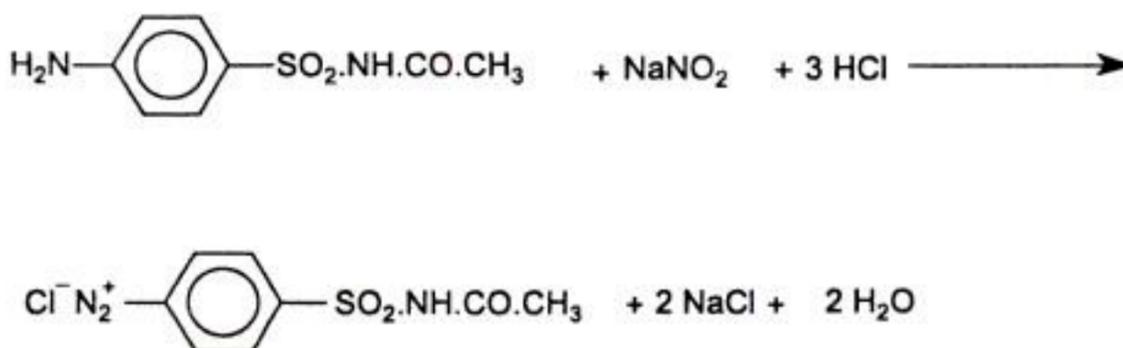
Sedikit iodida dimasukkan ke dalam campuran titrasi. Pada titik-akhir, tetesan pertama kelebihan asam nitrit mengubah iodida menjadi iodin dan ini dideteksi dengan menggunakan indikator kanji.

Titrasi dengan menggunakan asam nitrit digunakan pada penetapan kadar dalam farmakope untuk: benzokain, dapson, primakuin, prokainamida, prokain, sulfasetamida, sulfadoksin, sulfametizol, sulfapiridin, dan sulfatiazol.

Titration potensiometri

Deteksi titik-akhir secara potensiometri

Semua titrasi yang sudah dibahas pada bagian-bagian sebelumnya dapat dilakukan dengan menggunakan elektrode yang cocok untuk mengukur potensial larutan selama berlangsungnya titrasi. Keuntungan melakukan pengukuran secara potensiometri untuk mendeteksi titik-akhir adalah bahwa pengukuran dapat dilakukan dalam larutan yang berwarna, tidak seperti deteksi titik-akhir berdasarkan-indikator, dan memberikan titik-akhir yang tidak ambigu ketika perubahan warna indikator tidak jelas atau tiba-tiba. Kelemahan titrasi potensiometri adalah umumnya berlangsung lambat, karena dibutuhkan waktu agar pembacaan stabil, terutama di dekat titik-akhir titrasi. Akan tetapi, titrasi potensiometri dapat diotomatisasi dan deteksi titik-akhir secara potensiometri digunakan pada alat titrasi otomatis, tempat titran dipompa ke dalam sampel di bawah kendali mikroprosesor. Elektrode yang biasanya digunakan untuk melakukan pengukuran dalam titrasi potensiometri adalah indikator elektrode kaca peka-pH. Elektrode ini terdiri atas buli membran kaca peka-pH yang menutupi larutan dapar



Gbr. 3.16
Reaksi
sulfasetamida
dengan
asam nitrit.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Nilai pK_a dapat diperiksa setelah penambahan setiap 0,5 ml, karena konsentrasi asam dan garam diketahui pada masing-masing poin pada kurva titrasi. Sedikit peningkatan pada volume akibat penambahan KOH 0,1 M dapat diabaikan. Untuk basa, persamaan Henderson-Hasselbalch ditulis seperti yang diperlihatkan pada Bab 2, halaman 33.

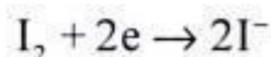
Latihan 3.10

50 ml larutan difenhidramin basa 0,01 M dititrasi dengan HCl 0,1 M dan pH-nya dipantau dengan elektrode kaca. Setelah 3 ml HCl 0,1 M ditambahkan, pH larutan tersebut adalah 8,82. Berapakah pK_a difenhidramin?

jawaban: 9,0

Titrasi Karl Fischer (deteksi titik-akhir secara kulometri)

Titrasi Karl Fischer adalah jenis khusus titrasi kulometri. Kulometri itu sendiri adalah teknik yang bermanfaat, tidak tapi tidak digunakan sebagai teknik yang lazim digunakan untuk analisis farmasi. Pada dasarnya, kulometri mengukur jumlah muatan yang harus melewati suatu larutan analit dengan tujuan untuk mereduksi atau mengoksidasi larutan tersebut. Jumlah muatan yang dibutuhkan dapat dihitung sama dengan jumlah mol analit yang terdapat di dalam larutan, karena, menurut hukum Faraday, dalam kasus ketika satu molekul bereaksi dengan satu elektron, 1 mol analit akan bereaksi dengan 96 485 coulomb listrik, dengan $\text{coulomb} = \text{amp} \times \text{dtk}$. Pada titrasi Karl Fischer, deteksi titik-akhir didasarkan pada reaksi berikut ini:



Sepasang elektrode platinum yang memberikan potensial yang bervariasi, sehingga arus yang konstan dipasok ke dalam sel titrasi, mendeteksi titik-akhir. Jika kelebihan iodine dihasilkan pada titik-akhir, resistensi sel tersebut turun dengan tajam. Sampai titik-akhir, reaksi pada katode pasangan elektrode tersebut adalah:



Pada titik-akhir, kelebihan iodine yang tereduksi, yang membutuhkan tegangan lebih sedikit daripada reaksi yang diperlihatkan di atas; hal ini menyebabkan penurunan tajam potensial pada titik-akhir.

Reagen Karl Fischer terdiri atas campuran metanol anhidrat, basa anhidrat (basa tersebut pada mulanya adalah piridin, tetapi sekarang lebih lazim digunakan basa seperti imidazol atau dietanolamin), iodine dan sulfur dioksida. Keterandalan titrasi merupakan hal yang penting sebab titrasi tetap didapar pada rentang optimal 4–7. Berbagai pelarut-bantu inert lain dapat digunakan dalam pembuatan reagen. Reaksi



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

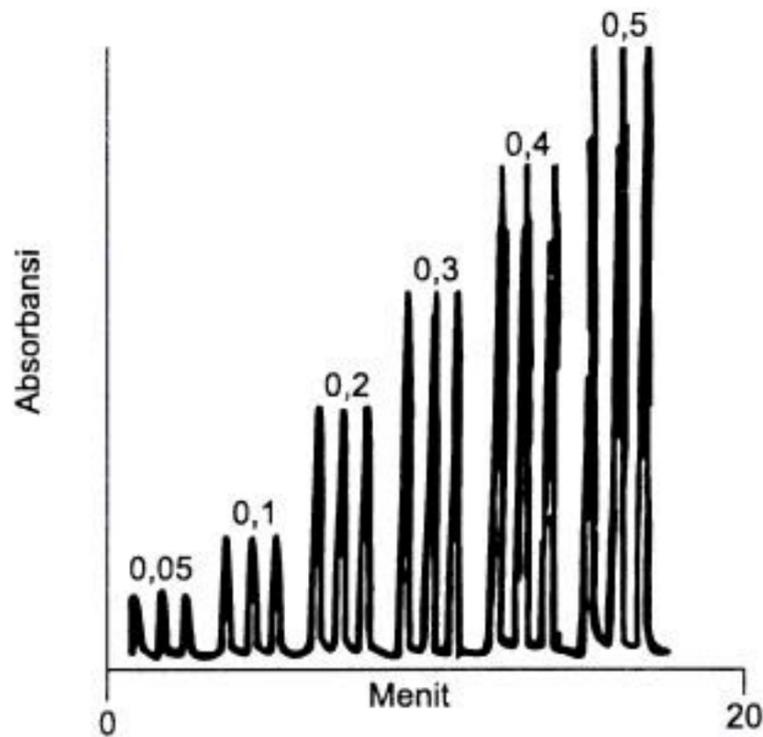


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 3.22
Kalibrasi metode FIA Karl Fischer untuk penentuan residu dalam air pada bahan-bahan farmasi. Analit tersebut berupa metanol yang mengandung 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; dan 0,5% b/v air.



Penerapan FIA dalam analisis farmasi

Penentuan kloroksin

Antibiotik kloroksin ditentukan dengan memanfaatkan pembentukan kompleks antara obat dan Al^{3+} dalam suatu sistem FIA. Kompleks tersebut ditentukan melalui pengukuran fluoresensi dengan 399 nm sebagai panjang gelombang eksitasi dan 496 nm sebagai panjang gelombang emisi. Untuk memastikan kelarutan kompleks tersebut di dalam pereaksi berair, suatu surfaktan dimasukkan ke dalam campuran pereaksi. Presisi metode tersebut lebih besar daripada yang diperoleh dengan menggunakan metode betas laboratorium untuk mengukur sampel secara manual dengan menggunakan spektrofotometer fluoresensi.³

Penentuan kaptopril

Metode FIA untuk menentukan kaptopril berdasarkan pada oksidasi gugus tiol di dalam molekul oleh Ce^{4+} . Reaksi ini menghasilkan emisi cahaya (kemiluminisens), yang dapat diukur. Pada contoh ini, pewarna rodamin G digunakan untuk meningkatkan emisi cahaya oleh reaksi. Metode ini dikembangkan dengan cepat dan tepat.⁴

Penentuan obat antiinflamasi nonsteroid

Natrium diklofenak, famotidin, dan ketorolak dianalisis dengan memanfaatkan pembentukan kompleks pemindah muatan berwarna dengan 2,4 dikloro-6-nitrofenol. Kompleks tersebut dideteksi dengan spektrofotometri UV/visibel pada 450 nm. Metode ini tidak dipengaruhi oleh adanya eksipien yang biasa terdapat di dalam formulasi yang dianalisis.

Presisi dan akurasi metode ini sebanding dengan presisi dan akurasi metode KCTT yang digunakan untuk menganalisis sampel yang sama.⁵



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Soal-soal tambahan (Lanjutan)

5. 1,507 g makrogol lauril eter ditempatkan dalam labu asetilasi 150 ml yang dilengkapi dengan kondensor udara dan 5 ml anhidrida asetat dalam larutan piridin (1:3) ditambahkan. Sampel tersebut dipanaskan selama 1 jam dalam penangas air, kemudian dipindahkan dan 5 ml air ditambahkan melalui bagian atas kondensor. Labu tersebut dikocok dan ditempatkan dalam penangas air selama 10 menit, dikeluarkan dan biarkan hingga dingin. Sampel dititrasasi dengan kalium hidroksida beretanol 0,5034 M (BM 56,1) dengan menggunakan fenolftalein sebagai indikator. Proses tersebut diulang tanpa penambahan makrogol.

Hasil

Volume KOH beretanol yang diperlukan untuk menitrasi sampel = 45,3 ml

Volume KOH beretanol yang diperlukan untuk menitrasi blangko = 52,6 ml

Hitung bilangan hidroksil makrogol tersebut.

Jawaban: 136,8

6. 20 tablet mengandung obat berbasis dua, etambutol hidroklorida (BM 277,2), digerus hingga menjadi serbuk. 0,3354 g serbuk tablet tersebut dilarutkan dalam 10 ml natrium hidroksida 2 M dan diekstraksi dengan 5 x 25 ml jumlah kloroform. Ekstrak kombinasi tersebut diuapkan dan residunya dilarutkan dalam 100 ml asam asetat anhidrat. Titrasi bebas-air dilakukan dengan menggunakan larutan 1-naftolbenzein sebagai indikator dan asam perklorat berasetat 0,1014 M.

Hasil

Volume asam perklorat berasetat yang diperlukan = 14,2 ml

Bobot 20 tablet = 3,367 g

Kandungan etambutol.HCl per tablet yang dinyatakan = 100 mg

Hitung % kandungan yang dinyatakan dalam tablet-tablet tersebut.

Jawaban: 100,2%

7. 20 tablet yang mengandung obat berbasis dua, fenitoin natrium (BM 274,3) digerus hingga menjadi serbuk dan 0,5541 g serbuk tablet tersebut diekstraksi dengan 40 ml natrium hidroksida 0,01 M dan ditambahkan natrium hidroksida 0,01 M sampai volume akhirnya 50 ml. Sampel tersebut disentrifugasi dan 25 ml sampel diasamkan dan kemudian diekstraksi dalam eter. Ekstraknya diuapkan dan residunya dilarutkan dalam 50 ml piridin anhidrat dan dititrasasi dengan tetrabutylamonium hidroksida 0,1024 M menggunakan biru timol sebagai indikator.

(Berlanjut)



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

POIN PENTING (Lanjutan)

- Dapat digunakan untuk memantau kinetika reaksi penguraian obat.
- Spektrum UV suatu obat sering digunakan sebagai salah satu dari sejumlah pemeriksaan identitas pada farmakope.

Kekuatan

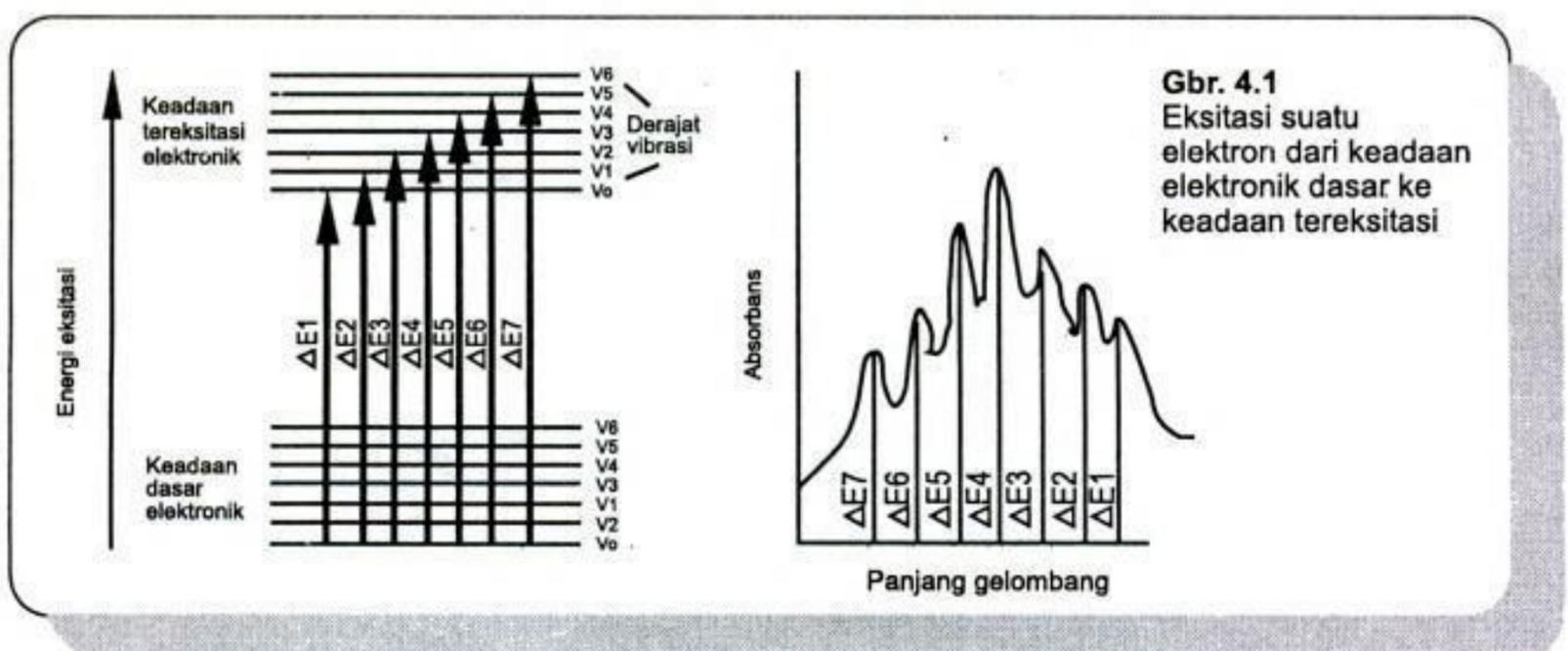
- Metode yang mudah digunakan, murah, dan terandalkan memberikan presisi yang baik untuk melakukan pengukuran kuantitatif obat-obat dalam formulasi
- Metode rutin untuk menentukan beberapa sifat fisikokimia obat, yang harus diketahui untuk tujuan formulasi
- Beberapa masalah pada metode dasar dapat dipecahkan dengan penggunaan spektrum derivatif.

Keterbatasan

- Selektivitasnya sedang. Selektivitas metode ini tergantung pada kromofor masing-masing obat, misalnya suatu obat yang diwarnai dengan kromofor yang diperpanjang lebih khas daripada obat dengan kromofor cincin benzen sederhana
- Tidak mudah diterapkan pada analisis campuran.

Pendahuluan

Interaksi antara radiasi dan materi merupakan hal yang sangat menarik. Kebanyakan molekul obat menyerap radiasi dalam daerah ultraviolet spektrum tersebut, meskipun sebagian diwarnai sehingga menyerap radiasi dalam daerah visibel, misalnya suatu zat berwarna biru menyerap radiasi pada daerah merah spektrum tersebut. Serapan radiasi UV/visibel terjadi melalui eksitasi elektron-elektron di dalam struktur molekular menjadi keadaan energi yang lebih tinggi; Gambar 4.1 menunjukkan sifat transisi yang berlangsung. Transisi-transisi ini terjadi dari keadaan vibrasional bawah pada keadaan dasar elektronik molekul ke salah satu dari sejumlah tingkat vibrasi pada keadaan tereksitasi elektronik. Transisi dari satu energi keadaan dasar ke salah satu dari sejumlah keadaan tereksitasi memberikan lebar pada spektrum UV. Gambar 4.1 menunjukkan spektrum UV yang masing-masing pita untuk transisi V_0 ke V_n yang berbeda dapat terlihat. Struktur halus vibrasi dapat dilihat melalui pita-pita yang saling tumpang tindih secara ekstensif; pita vibrasi itu sendiri memiliki lebar akibat transisi



Gbr. 4.1
Eksitasi suatu elektron dari keadaan elektronik dasar ke keadaan tereksitasi



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Pengukuran serapan cahaya oleh larutan molekul diatur dengan Hukum Lambert-Beer, yang ditulis sebagai berikut:

$$\log I_0/I_t = A = \epsilon bc$$

dengan I_0 adalah intensitas radiasi yang masuk; I_t adalah intensitas radiasi yang ditransmisikan; A dikenal sebagai absorbans dan merupakan ukuran jumlah cahaya yang diserap oleh sampel; ϵ adalah tetapan yang dikenal sebagai koefisien punahan molar dan merupakan absorbans larutan 1 M analit tersebut; b adalah panjang jalur sel dalam cm, biasanya 1 cm; dan c adalah konsentrasi analit dalam mol per liter.

Latihan 4.1

Hitung persen radiasi masuk yang diserap oleh suatu sampel dengan absorbans sebesar (i) 2; (ii) 0,1.

Jawaban: (i) 99,0%; (ii) 20,6%

Dalam produk farmasi, konsentrasi dan jumlah biasanya dinyatakan dalam gram atau miligram dan bukan dalam mol sehingga untuk keperluan analisis produk ini, hukum Lambert-Beer ditulis dalam bentuk berikut ini:

$$A = A(1\%, 1\text{ cm}) bc$$

A adalah absorbans yang diukur; $A(1\%, 1\text{ cm})$ adalah absorbans larutan 1% b/v (1 g/100 ml) dalam suatu sel berukuran 1 cm; b adalah panjang jalur dalam cm (biasanya 1 cm); dan c adalah konsentrasi sampel dalam g/100 ml. Karena pengukuran biasanya dibuat dalam sel berukuran 1 cm, persamaan tersebut dapat ditulis:

$$\left[c = \frac{A}{A(1\%, 1\text{ cm})} \right] \text{ yang menghasilkan konsentrasi analit dalam g/100 ml.}$$

Monografi BP sering menyatakan suatu nilai baku $A(1\%, 1\text{ cm})$ untuk suatu obat, yang akan digunakan dalam proses penghitungannya.

Instrumentasi

Diagram sederhana suatu spektrofotometer UV/visibel ditunjukkan pada Gambar 4.4. Komponen-komponennya antara lain:

- (i) *Sumber cahaya* – lampu deuterium untuk daerah UV dari 190 sampai 350 nm dan lampu halogen kuartz atau lampu tungsten untuk daerah visibel dari 350 sampai 900 nm



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Penentuan resolusi instrumen

Kekuatan pemisahan suatu instrumen dikendalikan oleh pengaturan lebar celahnya. Untuk beberapa uji farmakope, resolusi tertentu dinyatakan secara khusus. Kekuatan pemisahan suatu instrumen dapat dinilai dengan menggunakan larutan toluen 0,02% b/v dalam heksan. BP menyatakan secara khusus bahwa rasio absorbans untuk larutan ini pada 269 nm terhadap 266 nm adalah paling sedikit 1,5.

Penentuan cahaya sesatan

Cahaya sesatan adalah cahaya yang jatuh di atas detektor dalam suatu instrumen UV tanpa melewati sampel. Cahaya ini dapat muncul baik dari penghamburan cahaya di dalam instrumen ataupun dengan masuknya cahaya dari luar ke dalam instrumen. Hal tersebut menghasilkan pembacaan absorbans sampel yang rendah dan salah karena timbul seakan-akan sampel menyerap lebih sedikit cahaya daripada yang sebenarnya. Kejadian ini paling serius terjadi jika sampel memiliki absorbans yang tinggi, misalnya pada absorbans 2 sampel menyerap sebagian besar cahaya yang melewatinya sehingga hanya akan memerlukan cahaya sesatan dengan intensitas sangat rendah untuk menurunkan pembacaan secara substansial. Cahaya sesatan diperiksa dengan cara mengukur absorbans larutan KCl 1,2% dalam air terhadap blangko air pada panjang gelombang 200 nm. Jika absorbans sampel < 2 dan terdapat cahaya sesatan, instrumen tersebut harus diperbaiki.

Spektrum UV beberapa contoh molekul obat

Enona steroid

Kromofor pada kebanyakan obat didasarkan pada modifikasi kromofor cincin benzena. Satu kelompok besar obat yang tidak sesuai dengan kategori ini adalah androgen steroid dan kortikosteroid. Spektrum hidrokortison dan betametason ditunjukkan pada Gambar 4.7. Spektrum tersebut umumnya terdapat pada banyak steroid dan semuanya memiliki absorbans maksimum dengan intensitas yang sama, pada sekitar 240 nm. Ikatan rangkap ekstra dalam betametason jika dibandingkan dengan hidrokortison tidak terlalu berbeda pada panjang gelombang serapan maksimum karena ikatan tersebut tidak memperpanjang kromofor aslinya secara linear. Akan tetapi, bentuk pita serapan untuk betametason sedikit berbeda dengan bentuk pita serapan untuk hidrokortison. Perbedaan spektrum tersebut dapat digunakan dalam uji identifikasi kualitatif; uji-uji ini terutama digunakan bersama dengan pemeriksaan identifikasi KCTT, yang metode deteksinya menggunakan spektrofotometri UV *diode array* (Bab 12, hal 330).

Tabel 4.3 merangkum data serapan untuk beberapa struktur steroid dan menggambarkan efek bobot molekular pada nilai A (1%, 1 cm). Kekuatan kromofor enona sama untuk semua steroid karena nilai A (1%, 1 cm) didasarkan pada serapan larutan 1% b/v; oleh karena itu, hal ini akan menurun seiring dengan meningkatnya bobot molekular steroid. Hal ini, tentu saja, berlaku untuk semua molekul.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Persamaan berikut ini dapat digunakan untuk asam (untuk basa, log dikurangkan) dengan peningkatan pH menghasilkan pergeseran batokromik/hiperkromik:

$$pK_a = \text{pH} + \log \frac{A_i - A}{A - A_u}$$

dengan A adalah absorbans terukur dalam suatu dapar yang pH-nya diketahui pada panjang gelombang yang dipilih untuk analisis; A_i adalah absorbans spesies terionisasi sempurna; dan A_u adalah absorbans spesies takterionisasi.

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis adalah satu panjang gelombang yang terdapat perbedaan terbesar antara spesies terionisasi dan takterionisasi. Pengetahuan pendekatan tentang nilai pK_a diperlukan untuk memilih nilai pH yang sesuai, di dalam nilai $pK_a \pm 1$, untuk pengukuran A . Untuk penentuan yang akurat, pengukuran dilakukan pada sejumlah nilai-nilai pH yang jaraknya berdekatan.

Perlu diperhatikan bahwa jika asam atau basa mengalami pergeseran menjadi absorbans yang lebih rendah dan panjang gelombang yang lebih pendek seiring dengan peningkatan pH log di atas dikurangkan; situasi ini kurang lazim di dalam molekul obat.

Contoh perhitungan 4.1

Absorbans konsentrasi tetap fenilefrin pada 292 nm diketahui sebesar 1,224 dalam NaOH 0,1 M dan 0,02 dalam HCl 0,1 M. Absorbans dalam dapar pada pH 8,5 diketahui 0,349. Hitung nilai pK_a gugus hidroksil fenolik yang bersifat asam.

$$pK_a = 8,5 + \log \frac{1,224 - 0,349}{0,349 - 0,02} = 8,5 + 0,402 = 8,902$$

Latihan 4.3

Hitung nilai pK_a amin aromatik basa lemah dalam prokain dari data yang diberikan di bawah ini. Absorbans konsentrasi tetap prokain dalam HCl 1 M pada 296 nm = 0,031; absorbans dalam NaOH 0,1 M = 1,363; absorbans dalam dapar pada pH 2,6 = 0,837.

Jawaban: 2,41

Penerapan spektroskopi UV/visibel pada analisis kuantitatif farmasi

Pendahuluan

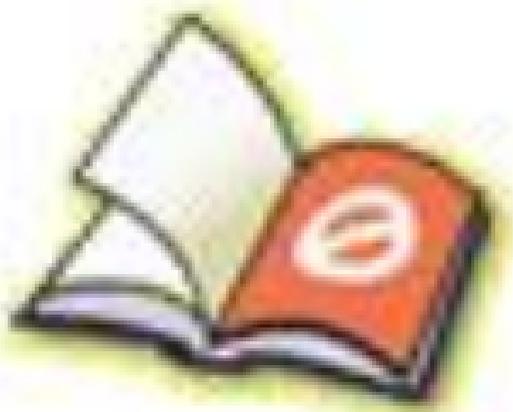
Metode farmakope sangat mengandalkan analisis sederhana dengan spektrofotometri UV/visibel untuk menentukan bahan aktif dalam formulasi. Metode-metode ini biasanya berdasarkan pada penggunaan nilai A (1%, 1 cm) standar untuk bahan aktif yang



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Penentuan kadar penisilin dengan derivatisasi (Gbr. 4.12)

BP menggunakan pembentukan suatu turunan untuk menguantifikasi penisilin dalam formulasi. Beberapa penisilin tidak memiliki kromofor yang berbeda; masalah lebih lanjut dengan molekul-molekul ini adalah bahwa pada saat berada di dalam suspensi, molekul tersebut tidak mudah diekstraksi dari excipien, karena molekul tersebut agak sukar larut dalam pelarut organik yang dapat bercampur dengan air. Penggunaan pembentukan kompleks dengan ion merkuri dengan adanya imidazol sebagai katalis, yang menghasilkan suatu turunan struktur penisilin, memiliki serapan maksimum antara 325 dan 345 nm. Pada penetapan kadar, perbandingan dengan baku murni untuk penisilin tertentu dilakukan dan tidak mengandalkan nilai A (1%, 1 cm) standar. Penetapan kadar ini digunakan oleh BP untuk analisis sediaan yang mengandung ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, kloksasilin, flukloksasilin, dan fenoksimetilpenisilin. Penetapan kadar tersebut tidak digunakan untuk sefaleksin sejenis.

Contoh perhitungan 4.4

Injeksi kloksasilin ditetapkan kadarnya dengan menggunakan reaksi merkuri-imidazol dibandingkan dengan baku kloksasilin. Sampel maupun baku diencerkan di dalam 500 ml air dan kemudian masing-masing larutan diambil 25 ml dan ditambahkan sampai 100 ml. 2 ml larutan sampel dan larutan baku kemudian direaksikan dengan pereaksi merkuri-imidazol. Dari data di bawah ini, hitung jumlah kloksasilin per vial.

Bobot kandungan 10 vial = 2,653 g.

Bobot serbuk injeksi yang digunakan untuk penetapan kadar = 0,1114 g.

Bobot baku kloksasilin natrium yang digunakan dalam larutan kalibrasi = 0,1015 g.

Absorbans larutan sampel = 0,111.

Absorbans larutan baku = 0,106.

Dalam perhitungan ini, pengenceran dapat diabaikan karena:

$$\text{Bobot kloksasilin dalam sampel} = \frac{\text{Absorbans sampel}}{\text{Absorbans baku}} \times \text{bobot baku}$$

$$\text{Bobot kloksasilin dalam sampel: } \frac{0,111}{0,106} \times 0,1015 = 0,1063 \text{ g.}$$

$$\text{Bobot 1 vial: } \frac{2,653}{10} = 0,2653 \text{ g.}$$

$$\text{Jumlah kloksasilin dalam 1 vial: } \frac{0,2653}{0,1114} \times 0,1063 = 0,2532 \text{ g.}$$



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Contoh perhitungan 4.5 (Lanjutan)

Konsentrasi aspirin dalam larutan sampel yang tidak diencerkan:

$$0,506 \times 100 = 50,6 \text{ mg/100 ml.}$$

Volume ekstrak awal = 100 ml.

Oleh karena itu, jumlah aspirin yang diekstraksi dari serbuk kapsul = 50,6 mg.

Jumlah yang diharapkan dalam serbuk kapsul yang dianalisis:

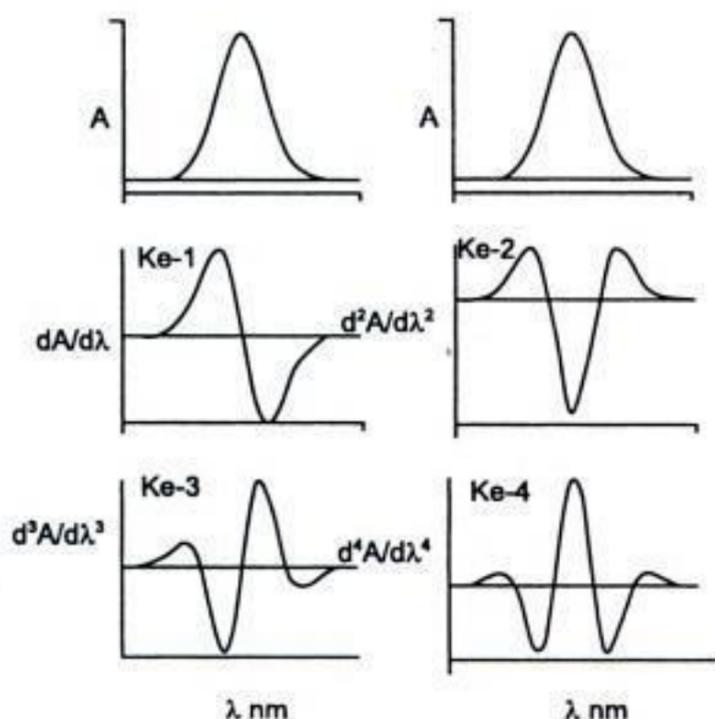
$$250 \times 20 \times \frac{0,1025}{10,556} \times 1000 = 48,6 \text{ mg}$$

Oleh karena itu, persen kandungan yang dinyatakan: $\frac{50,6}{48,6} \times 100 = 104,1$.

Spektrum derivatif

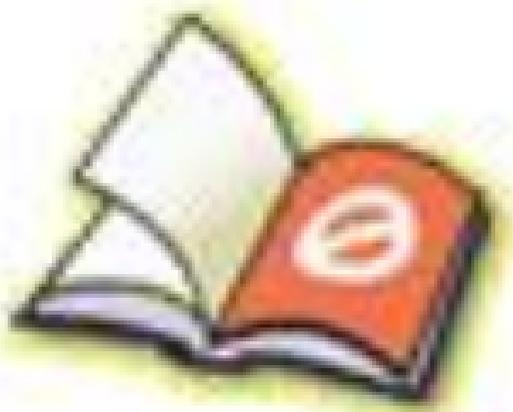
Spektrum derivatif dapat digunakan untuk menjelaskan pita-pita serapan dalam spektrum UV yang lebih kompleks. Teknik ini semakin banyak digunakan dalam bidang spektrofotometri inframerah-dekat (lihat Bab 5) dan juga dapat diterapkan dalam penentuan kemurnian puncak-puncak kromatografi pada saat dipantau dengan menggunakan deteksi *diode array*. Efek utama derivatisasi adalah menghilangkan dasar pita-pita serapan luas yang hanya terdapat perubahan bertahap pada kemiringan. Spektrum derivatif pertama diperoleh dengan memplot, misalnya, kemiringan segmen spektrum sebesar 2 nm, dan ini menghasilkan, seperti ditunjukkan untuk pita Gaussian dalam Gambar 4.15, dalam spektrum yang kemiringannya nol pada puncak maksimum dan kemiringannya maksimum pada sekitar separuh dari tinggi puncak. Pada spektrum

Gbr. 4.15
Derivat pita serapan Gaussian.





You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

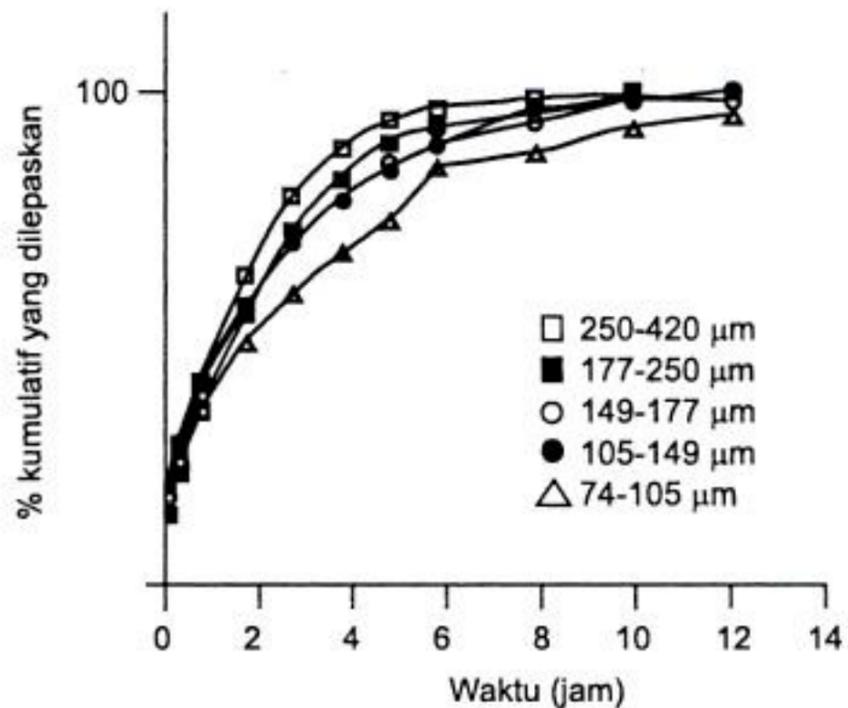
Pelepasan obat dari formulasi

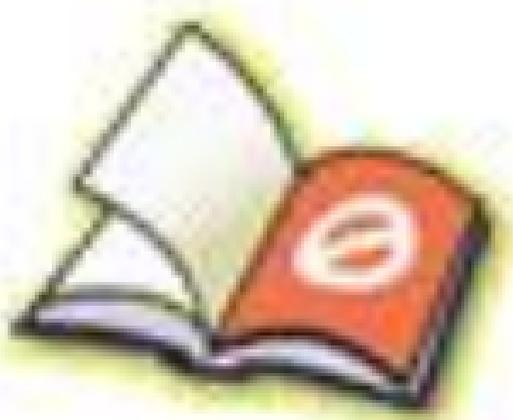
Spektrofotometri UV digunakan secara rutin untuk memantau pelepasan *in vitro* bahan-bahan aktif dari formulasi. Untuk formulasi sederhana, obat cukup dipantau pada λ maksimumnya. Dalam contoh yang ditunjukkan pada Gambar 4.18, laju pelepasan pseudoefedrin dari formulasi lepas-terkendali dipantau.¹ Pelepasan obat diikuti dengan pemantauan pelepasannya ke dalam air destilasi dengan menggunakan spektrofotometer UV yang diatur pada 206 nm. Pada contoh yang diberikan pada Gambar 4.18, ukuran partikel etilselulosa yang digunakan dalam formulasi memengaruhi laju pelepasan.

Jika eksipien penyerap-UV terdapat di dalam formulasi tersebut, panjang gelombang UV yang digunakan untuk memantau pelepasan perlu dipilih dengan hati-hati, atau dapat juga menggunakan kromatografi cair tekanan tinggi (KCTT) yang dikombinasikan dengan deteksi UV. Untuk pengujian tersebut, pengambilan sampel pada medium disolusi dapat seluruhnya terotomatisasi sehingga medium tersebut disaring dan dipompa ke dalam spektrofotometer UV pada interval waktu yang telah diatur untuk melihat hasil pembacaannya.

Gbr. 4.18

Pelepasan pseudoefedrin dari formulasi lepas-terkendali. Diuraikan ulang atas seizin Int.J. Pharmaceutics (lihat Referensi 1).





You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

5

Spektrofotometri inframerah

Poin penting

Pendahuluan

Faktor-faktor yang menentukan intensitas dan tingkat energi absorpsi dalam spektrum IM

- Intensitas serapan
- Tingkat energi serapan

Instrumentasi

- Kalibrasi instrumen

Penyiapan sampel

Penerapan spektrofotometri IM dalam elusidasi struktur

Contoh-contoh spektrum IM molekul obat

Spektrofotometri IM sebagai teknik sidik jari

- Penyiapan sampel untuk penentuan sidik jari

Spektrofotometri inframerah sebagai suatu metode untuk mengidentifikasi polimorf

Analisis inframerah-dekat (*Near-infrared analysis*, NIRA)

Poin penting

Pendahuluan

Contoh-contoh penerapan NIRA

Penentuan ukuran partikel aspirin tingkat *United States Pharmacopoeia* (USP)

Penentuan keseragaman campuran

Penentuan bahan aktif di dalam bentuk sediaan multikomponen

Penentuan bahan aktif dalam-kemasan

Penentuan polimorf

Penentuan kelembapan

Pengendalian proses komponen-komponen di dalam sampo

Soal-soal tambahan

POIN PENTING

Prinsip

- Rentang radiasi elektromagnetik yang berkisar antara 400 cm^{-1} dan 4000 cm^{-1} (2500 dan 20000 nm) dilewatkan pada suatu sampel dan diserap oleh ikatan-ikatan molekul di dalam sampel sehingga molekul tersebut meregang atau menekuk. Panjang gelombang radiasi yang diserap merupakan ciri khas ikatan yang menyerapnya.

Penerapan

- Sidik jari kualitatif memeriksa identitas bahan baku yang digunakan di pabrik dan untuk mengidentifikasi obat.
- Digunakan dalam kimia sintetik sebagai pemeriksaan pendahuluan identitas senyawa, terutama untuk memeriksa ada atau tidak adanya gugus karbonil, yang sulit diperiksa dengan metode lain.
- Dapat digunakan untuk mengarakterisasi sampel-sampel dalam keadaan padat dan setengah padat seperti krim dan tablet.
- Digunakan sebagai uji sidik jari untuk selaput tipis, penyalutan, dan plastik pengemas.

(Berlanjut)



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

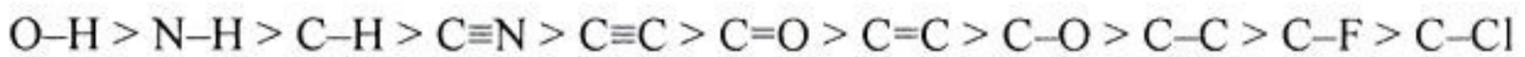
$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$$

misalnya, untuk ikatan O–H, $\mu = \frac{16 \times 1}{17} = 0,94$;

untuk ikatan C–O, $\mu = \frac{12 \times 16}{28} = 6,86$

dengan m_1 dan m_2 adalah massa atom yang terlibat di dalam ikatan tersebut.

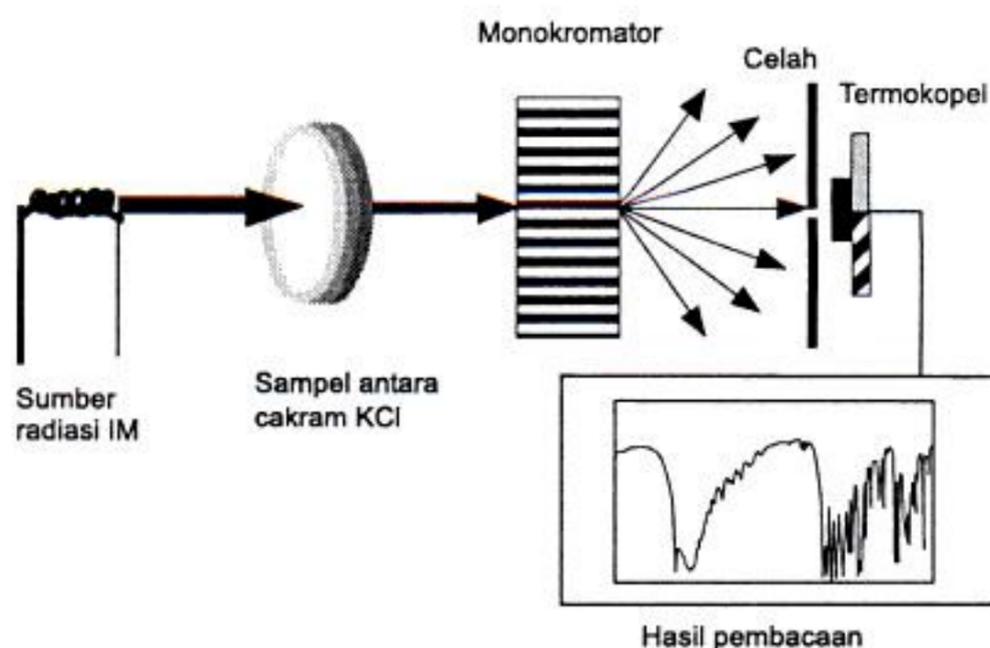
Berdasarkan persamaan μ , ikatan energi tertinggi adalah X–H (OH, NH, CH). Urutan serapan energi untuk beberapa ikatan umum adalah sebagai berikut, yang mencerminkan μ dan kekuatan ikatan:



Instrumentasi

Dua jenis instrumen yang biasa digunakan untuk memperoleh spektrum IM: instrumen dispersif, yang menggunakan suatu monokromator untuk memilih masing-masing bilangan gelombang secara berurutan untuk memantau intensitasnya setelah radiasi telah melewati sampel, dan instrumen transformasi Fourier, yang menggunakan suatu interferometer. Instrumen transformasi Fourier menghasilkan sumber radiasi dengan masing-masing bilangan gelombang dapat dipantau dalam ± 1 detik pulsa radiasi tanpa memerlukan dispersi. Diagram sederhana tata letak instrumen gelombang kontinu diperlihatkan pada Gambar 5.3. Penyusunan optik yang sebenarnya jauh lebih rumit daripada diagram ini, tapi diagram tersebut menunjukkan bagian-bagian komponen penting untuk suatu instrumen IM dispersif. Filamen yang digunakan terbuat dari oksida logam, seperti oksida zirkonium, itrium, dan torium, dan dipanaskan untuk

Gbr. 5.3
Diagram skematis
suatu instrumen IM
gelombang kontinu.





You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

taannya, spektrum yang dihasilkan adalah suatu spektrum absorbans dan bukan spektrum transmitans, tapi spektrum tersebut mudah diubah menjadi spektrum transmitans jika instrumennya terhubung dengan komputer. Teknik pantulan baur banyak digunakan pada spektrofotometri inframerah-dekat dan juga dapat digunakan untuk memeriksa selaput tipis dan penyalutan jika bahan-bahan tersebut diletakkan di atas latar belakang yang reflektif. Teknik ini juga berguna untuk memeriksa polimorf karena sampel dapat disiapkan untuk analisis dengan sedikit penggerusan dan pengempaan, yang dapat menyebabkan antarkonversi polimorf.

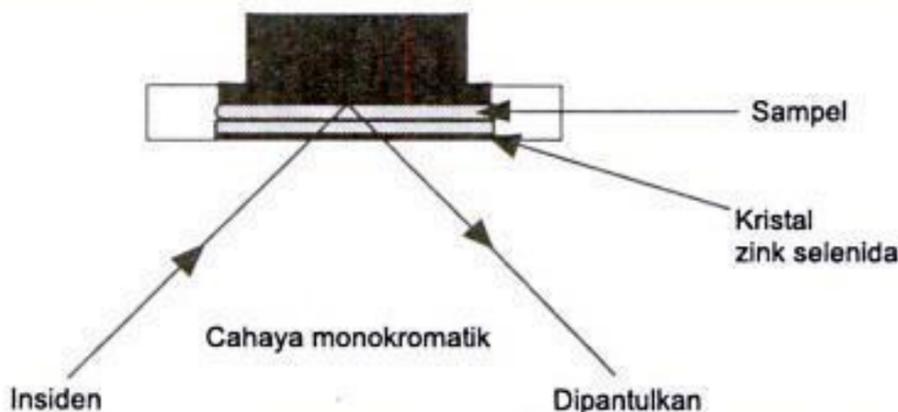
- (v) Pantulan total terlemahkan (*attenuated total reflectance*, ATR) adalah pengembangan mutakhir lain dalam penanganan sampel (Gbr. 5.8). Dalam hal ini, sampel dapat ditangani di dalam suatu gel atau krim, dan metode ini dapat digunakan untuk mengarakterisasi matriks formulasi dan interaksinya dengan obat-obat yang ada di dalamnya. Jika bahan aktif tersebut cukup pekat dan jika suatu blangko matriks ditangani dengan menggunakan teknik yang sama, bahan aktif dapat dikurangi dari sampel agar menghasilkan spektrum bahan aktif. ATR juga merupakan teknik lain yang dapat digunakan untuk karakterisasi polimorf.

Latihan 5.2

Berikan metode yang disarankan untuk analisis sampel-sampel berikut ini dengan menggunakan spektrofotometri IM:

- (i) Petidin hidroklorida.
- (ii) Petidin bebas basa (cairan).
- (iii) Krim yang mengandung asam salisilat 2% b/b.
- (iv) Bentuk polimorf suatu obat.
- (v) Plastik yang digunakan dalam pengemasan.

Jawaban: (i) Cakram KCl atau transformasi Fourier inframerah pantulan difusi (*diffuse reflectance infrared Fourier transform*, DRIFT) dalam serbuk KCl; (ii) Dianalisis sebagai *mill Nujol* untuk menghindari antarkonversi polimorf atau menggunakan DRIFT; (iii) Sampel selaput tipis tersebut disisipkan ke dalam instrumen IM.



Gbr. 5.8
Bagian tambahan
untuk analisis suatu
sampel dengan ATR.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Tabel 5.4 Penafsiran spektrum IM aspirin

Panjang gelombang	Penentuan	Keterangan
A 2400–3300 cm^{-1}	OH karboksilat regang	Sangat lebar dan rumit karena ikatan hidrogen yang kuat. Pita lebar tersebut menutupi pita-pita lain di daerah ini.
B \pm 3000 cm^{-1}	C–H regangan	Tidak jelas karena serapan OH yang mendasarinya
C 1757 cm^{-1}	Ester C=O regang	Memiliki gugus asetil, yang merupakan suatu ester alifatik takterkonjugasi
D 1690 cm^{-1}	Asam karboksilat terkonjugasi C=O regang	C=O asam tersebut terkonjugasi dengan cincin aromatik
E 1608 cm^{-1}	C=C aromatik regang	Pita-pita ini kuat karena cincin tersebut digantikan oleh gugus polar
F 1460 cm^{-1}	C=C aromatik regang	

Tabel 5.5 Penafsiran spektrum IM deksametason

Panjang gelombang	Penentuan	Keterangan
A 3140–3600 cm^{-1}	OH alkoholik regang	Lebar akibat ikatan hidrogen
B 2750–3122 cm^{-1}	C–H regang	Daerah kompleks akibat rangka hidrokarbon besar pada steroid
C 1705 cm^{-1}	Keton tak terkonjugasi C=O	Keton pada posisi 20 C=O regang, biasanya lebih rendah daripada suatu C=O ester regang
D 1655 cm^{-1}	Keton tak terkonjugasi C=O	Keton pada posisi 3
E 1615 cm^{-1}	Terkonjugasi C=C	Diperkuat dengan cara dikonjugasi dengan suatu gugus C=O. C=C tri-substitusi menyerap pada bilangan gelombang yang lebih tinggi daripada di-substitusi
F 1600 cm^{-1}	Terkonjugasi C=C	Diperkuat dengan cara dikonjugasi dengan suatu gugus C=O. C=C di-substitusi menyerap pada bilangan gelombang yang lebih rendah daripada tri-substitusi



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



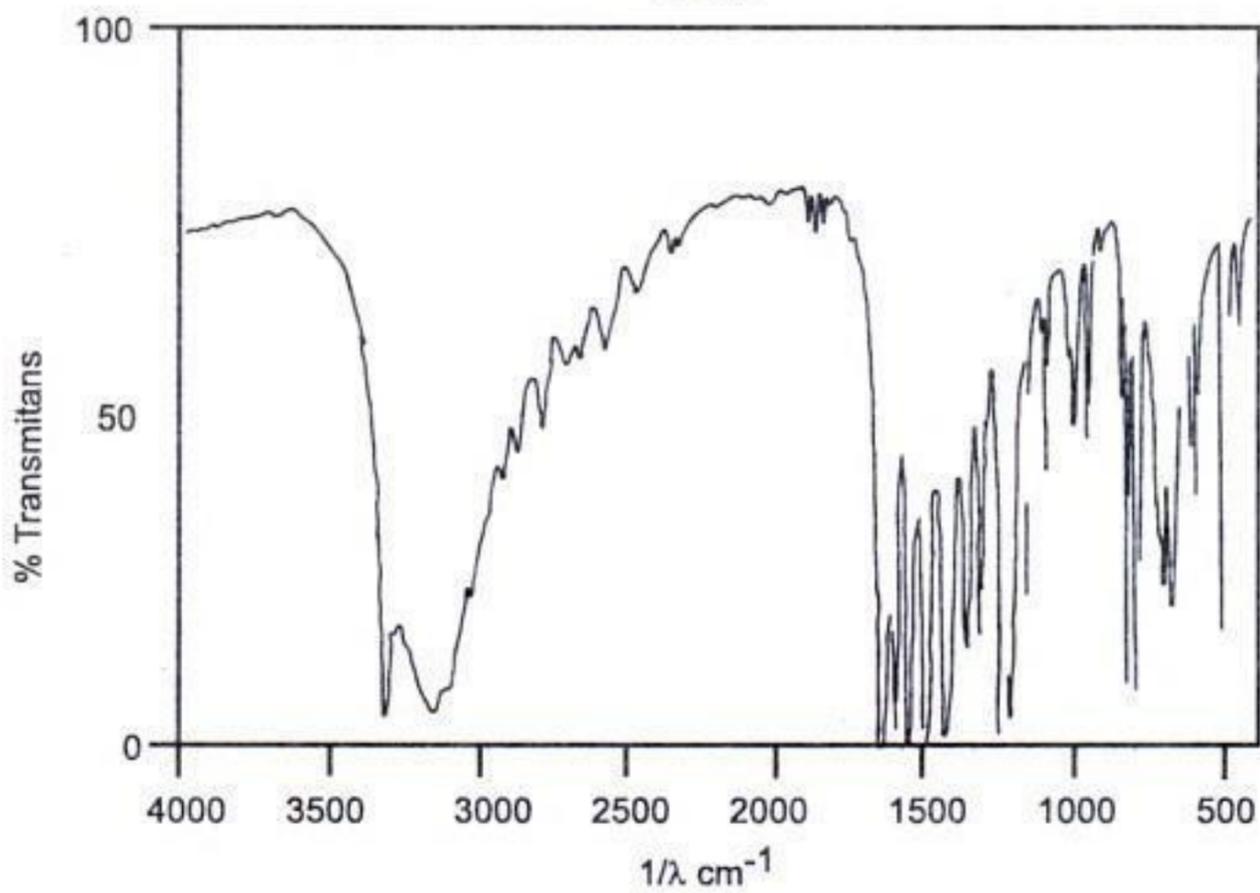
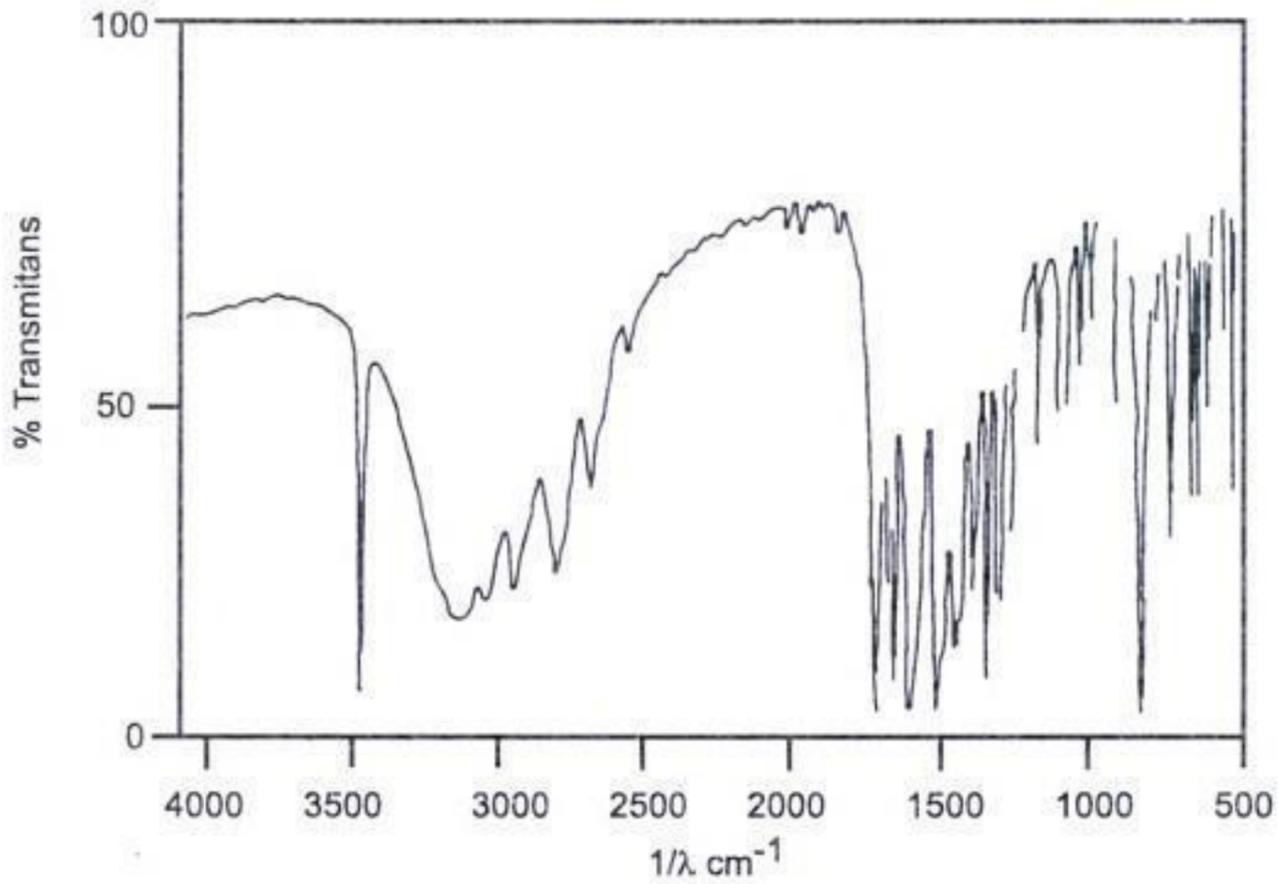
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Latihan 5.4

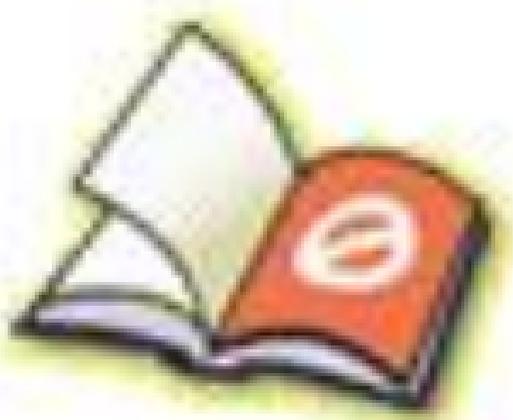
Bandingkan daerah sidik jari pada spektrum-spektrum berikut ini dengan spektrum parasetamol yang diperlihatkan pada Gambar 5.10. Spektrum mana yang dihasilkan dari parasetamol? Sebutkan kemungkinan struktur yang ada pada senyawa yang takdikenal tersebut.



Jawaban: Spektrum B berhubungan dengan parasetamol. Spektrum A adalah suatu isomer dari parasetamol-o-hidroksiasetanilida.



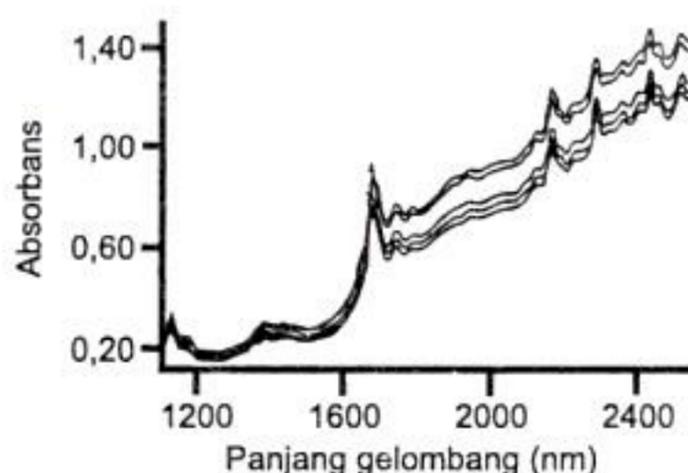
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



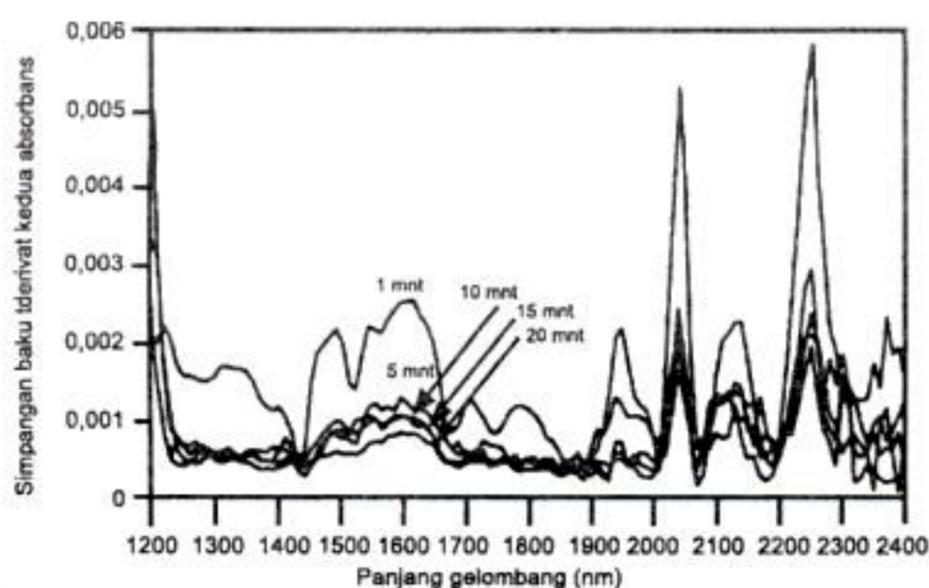
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 5.17
NIRA sampel-sampel aspirin USP dengan pengecilan ukuran partikel. Diuraikan ulang dengan seizin Applied Spectroscopy Reviews (lihat Referensi 4).

Penentuan keseragaman campuran

NIRA merupakan suatu metode yang sangat bagus untuk pemantauan langsung keseragaman campuran pada saat obat-obat sedang diformulasi. Gambar 5.18 menunjukkan efek waktu pencampuran terhadap keseragaman suatu sampel yang mengandung hidroklorotiazid, laktosa, magnesium stearat, dan kroskarmelosa natrium.⁵ Variasi intensitas absorbans yang paling menonjol pada spektrum campuran tersebut terjadi pada 2030 nm dan 2240 nm. Absorbans pada panjang gelombang ini mungkin disebabkan oleh hidroklorotiazid dan laktosa. Semakin lengkap campuran tersebut, semakin kecil simpangan baku absorbans yang diperoleh pada panjang gelombang ini jika beberapa bets yang diambil sampelnya pada titik waktu yang sama dibandingkan. Seperti yang telah diperkirakan, simpangan baku yang ditunjukkan pada Gambar 5.17 menurun seiring dengan waktu pencampuran, tapi penurunan tersebut tidak terlalu menonjol setelah 10 menit. Dalam penelitian ini, ditemukan bahwa pencampuran selama lebih dari 20 menit menyebabkan hilangnya keseragaman akibat adanya perubahan pada sifat-sifat alir serbuk, yang disebabkan oleh perubahan dalam distribusi magnesium stearat. Sensor NIR dapat langsung disisipkan ke dalam pencampur untuk memantau pencampuran.



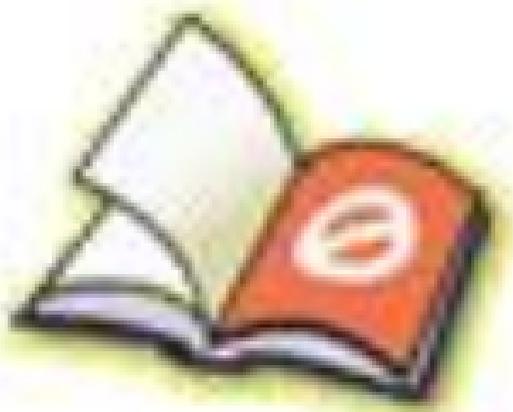
Gbr. 5.18
Efek perbedaan dalam waktu pencampuran terhadap keseragaman suatu formulasi yang mengandung laktosa dan hidroklorotiazid. Diuraikan ulang dengan seizin J. Pharm. Biomed. Anal. (lihat Referensi 5).



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

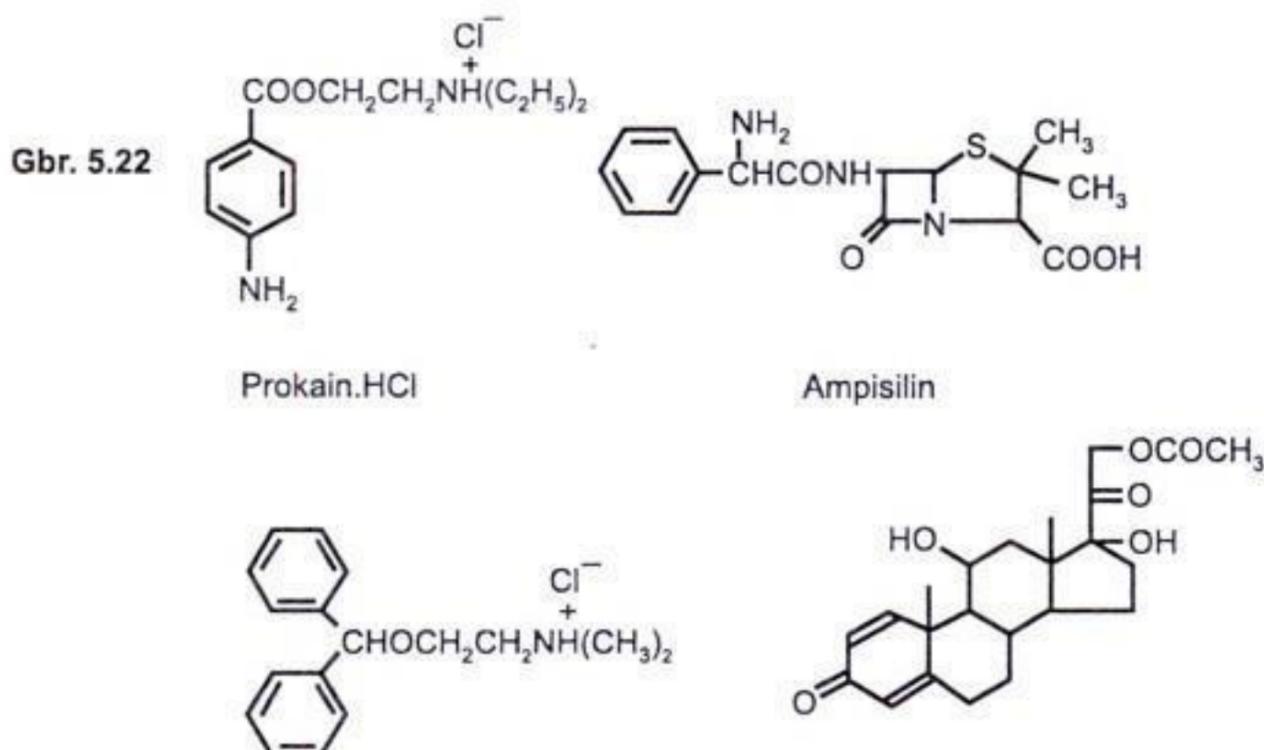


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Soal-soal tambahan (Lanjutan)



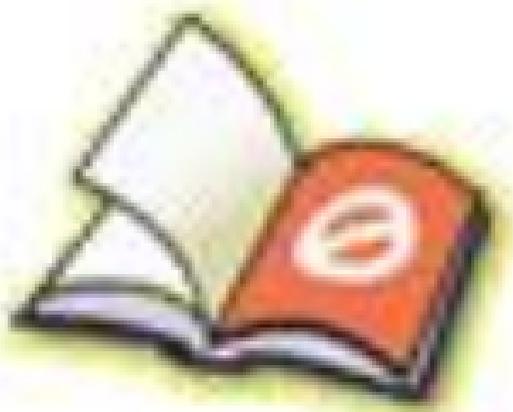
Jawaban: (i) difenhidramin.HCl; (ii) prednisolon asetat; (iii) ampisilin; (iv) prokain.HCl

Referensi

1. D.H. Williams and I. Fleming. Spectroscopic Methods in Organic Chemistry. 4th Edn. McGraw-Hill London (1989).
2. R.E. Schrimmer. Modern Methods of Pharmaceuticals Analysis. Vol 1. CRC Press, Boca Raton (1991).
3. K.J. Hartauer, E.S. Miller and J.K. Guillory. Int. J. Pharmaceutics. 85, 163-174 (1992).
4. E.W. Ciurezak. Applied Spectroscopy Reviews. 23, 147-163 (1987).
5. D.J. Wargo and J.K. Drennen. J.Pharm. Biomed. Anal. 14, 1415-1423 (1996).
6. E.W. Ciurezak and T. Maldacker. Spectroscopy 1, 36-39 (1986).
7. M.A.Dempster, J.A. Jones, I.R. Last, B.F., MacDonald and K.A. Prebble. J. Pharm. Biomed. Anal. 11/12, 1087-1092 (1993).
8. A. Dunko and A. Dovletoglou. J Pharm. Biomed. Anal. 28, 145-154 (2002).
9. R.E. Brereton. Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. Wiley (2003).
10. P.L. Walling and J.M. Dabney. J. Soc. Cosmet. Chem. 39, 191-199 (1988).

Bacaan tambahan

Infrared Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts. G. Socrates 2nd Edn. Wiley Interscience (1994).
 Fourier Transform Infrared Spectrometry. P. Griffiths and J.A. De Haseth. Wiley Interscience (1986).
 Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy. I. Murray and I.A. Cowe. Wiley Interscience (1992).
 Near-infrared Spectroscopy. H.W. Siesler. Wiley-VCH (2002).
 Journal of Near Infrared Spectroscopy.



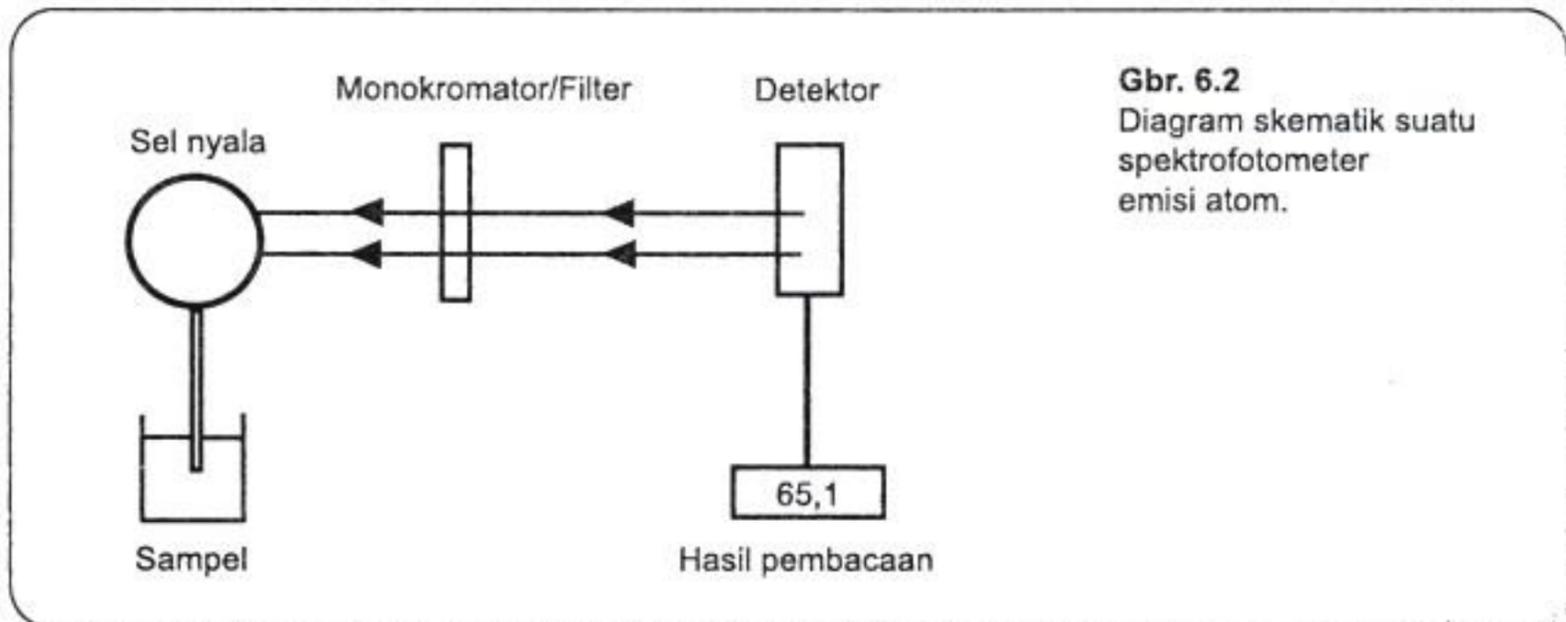
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 6.2
Diagram skematik suatu spektrofotometer emisi atom.

- (iii) **Detektor.** Intensitas radiasi yang dipilih kemudian diukur dengan menggunakan suatu sel fotosensitif.

Contoh kuantitasi dengan SEA

Agar dapat mengukur suatu sampel dengan SEA, suatu kurva kalibrasi dibuat dengan menyedot larutan-larutan yang konsentrasinya diketahui ke dalam nyala tersebut.

Penetapan kadar ion natrium dan kalium dalam suatu infus i.v.

Larutan baku natrium klorida (NaCl) dan kalium klorida (KCl) dalam air disiapkan dan diencerkan dengan tepat agar kurva kalibrasi melewati rentang kerja yang melintasi rentang instrumen tersebut ($\pm 0,05$ – 1 mg/100 ml). Penetapan kadar kemudian dilakukan dengan cara mengencerkan infus tersebut hingga konsentrasinya mendekati konsentrasi pada titik tengah seri kalibrasi tersebut. Air digunakan sebagai suatu blangko. Berikut ini adalah hasil-hasil yang diperoleh:

- (i)
 - Bobot NaCl yang digunakan untuk membuat larutan baku = 0,5092 g
 - Bobot KCl yang digunakan untuk membuat larutan baku = 0,1691 g
 Kedua baku dipindahkan ke dalam labu tentukur 1000 ml yang sama dan diencerkan hingga 1000 ml.
- (ii) Pengenceran dilakukan terhadap baku-baku:
 - *Langkah 1:* 20 ml larutan baku dipindahkan ke dalam labu tentukur 100 ml dan diencerkan hingga 100 ml (larutan baku encer)
 - *Langkah 2:* Seri kalibrasi disiapkan dengan memindahkan volume larutan baku encer sebanyak 0, 5, 10, 15, dan 25 ml, ke dalam labu tentukur 100 ml.
- (iii) Larutan infus diencerkan sebagai berikut:
 - *Langkah 1:* 5 ml menjadi 250 ml
 - *Langkah 2:* 10 ml menjadi 100 ml.
- (iv) Instrumen tersebut digunakan bersama suatu filter natrium untuk menetapkan kurva kalibrasi natrium dan kemudian kadar natrium di dalam sampel. Instrumen



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

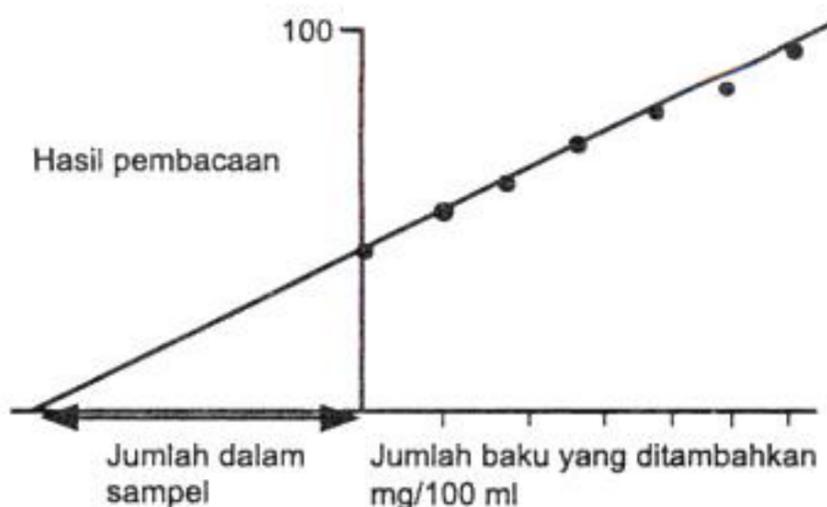
Penetapan kadar berdasarkan metode penambahan baku

Metode penambahan baku dapat digunakan dengan banyak teknik analisis yang interferensi dari matriks harus dieliminasi dan umum digunakan dalam analisis residu atau runutan. Pada dasarnya, teknik tersebut melibatkan penambahan suatu larutan baku bervolume yang meningkat ke dalam sampel bervolume tetap untuk membentuk suatu seri kalibrasi. Kelebihan teknik ini adalah bahwa, karena beberapa alikuot sampel dianalisis untuk menghasilkan seri kalibrasi, metode ini memberikan suatu ukuran ketepatan penetapan kadar tersebut. Sebagai contoh, lima alikuot identik dari larutan sampel dicampur dengan suatu larutan baku bervolume meningkat. Jika x adalah jumlah ion logam dalam larutan sampel, jumlah ion logam yang ditambahkan harus ± 0 ; $0,5x$; $1,5x$; $2,0x$; dan $2,5x$. Kurva kalibrasi yang diperoleh akan terlihat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6.3. Konsentrasi logam dalam sampel tersebut dihasilkan dari jarak antara pangkal dan tempat grafik tersebut memotong sumbu x , yaitu titik ketika $y = 0$ dalam persamaan garis tersebut.

Penetapan kadar untuk infus i.v. KCl, NaCl, dan glukosa

Analisis infus dilakukan dengan menggunakan metode penambahan baku, dan diperoleh data di bawah ini. Dari data dalam tabel yang diberikan di bawah, plot suatu kurva dan tentukan persentase b/v NaCl dan KCl dalam infus.

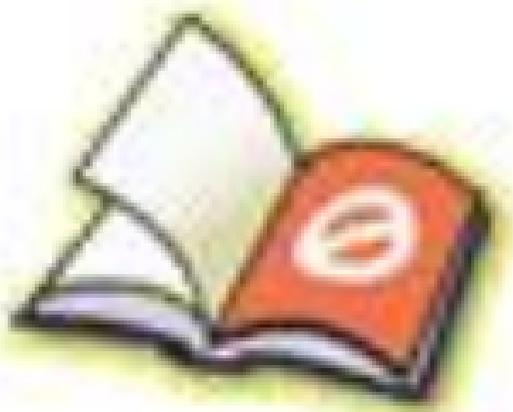
- (i) Larutan-larutan stok baku berikut ini disiapkan untuk mengkalibrasi instrumen untuk natrium dan kalium:
 - NaCl (0,2351 g) dilarutkan dalam air deionisasi dan larutan tersebut ditambahkan dengan air deionisasi hingga 1000 ml.
 - KCl (0,3114 g) dilarutkan dalam air deionisasi dan larutan tersebut ditambahkan dengan air deionisasi hingga 1000 ml.
- (ii) Suatu alikuot (20 ml) tiap larutan stok dipindahkan ke dalam labu tentukur 100 ml yang sama dan volumenya ditambahkan dengan air deionisasi (larutan stok yang diencerkan) hingga 100 ml



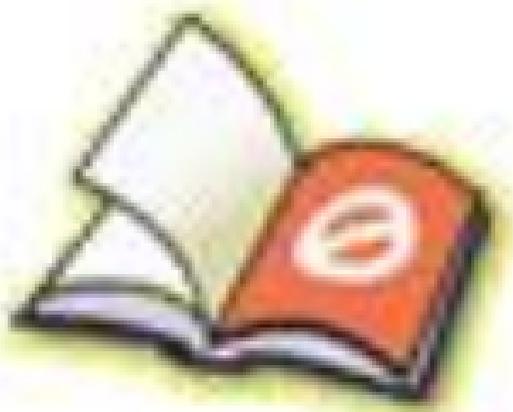
Gbr. 6.3
Suatu kurva penambahan baku.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

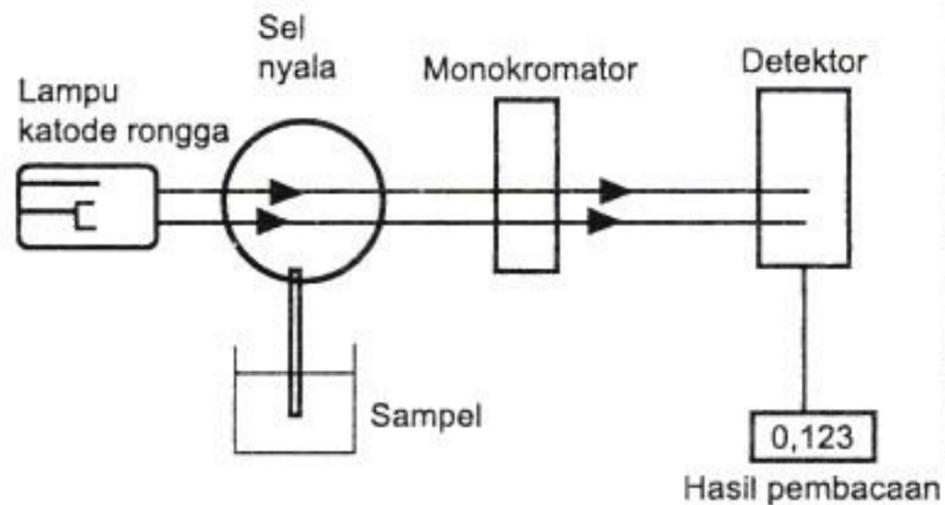


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 6.5
Diagram skematik
suatu SSA.



- (ii) *Nyala*. Nyala biasanya berupa udara/asetilen, menghasilkan suhu $\pm 2500^{\circ}\text{C}$. Dinitrogen oksida/asetilen dapat digunakan untuk menghasilkan suhu sampai 3000°C , yang diperlukan untuk menguapkan garam-garam dari unsur-unsur seperti aluminium atau kalsium.
- (iii) *Monokromator*. Monokromator digunakan untuk menyempitkan lebar pita radiasi yang sedang diperiksa sehingga diatur untuk memantau panjang gelombang yang sedang dipancarkan oleh lampu katode rongga. Ini menghilangkan interferensi oleh radiasi yang dipancarkan dari nyala tersebut, dari gas pengisi di dalam lampu katode rongga, dan dari unsur-unsur lain di dalam sampel tersebut.
- (iv) *Detektor*. Detektor berupa sel fotosensitif.

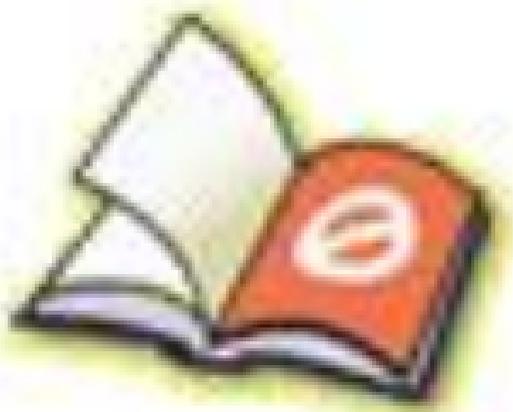
Contoh penetapan kadar dengan menggunakan SSA

SSA terutama digunakan dalam uji batas untuk logam-logam di dalam obat sebelum dimasukkan ke dalam formulasi. Sampel biasanya dilarutkan dalam asam nitrat 0,1 M untuk menghindari pembentukan hidroksida logam dari logam berat, yang relatif non-volatil dan menekan hasil pembacaan SSA.

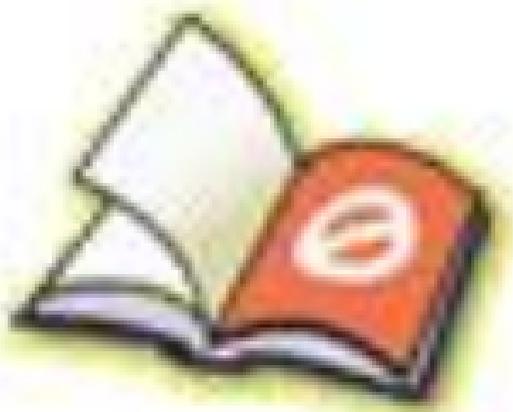
Penetapan kadar kalsium dan magnesium dalam cairan hemodialisis

Kalsium (Ca) dan magnesium (Mg) dalam suatu larutan hemodialisis dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom sebagai berikut:

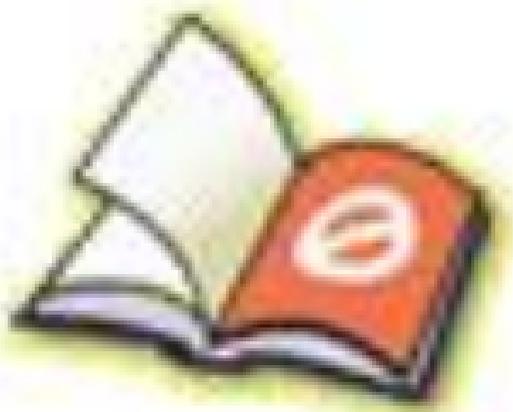
- (i) Larutan baku mengandung Ca pada konsentrasi 10,7 mg/100 ml air dan mengandung Mg pada konsentrasi 11,4 mg/100 ml air yang diencerkan sebagai berikut.
- (ii) Pengenceran: 10 ml dari kedua larutan dipindahkan ke dalam labu tentukur 100 ml yang sama dan diencerkan sampai 100 ml (larutan baku yang diencerkan).
- (iii) Seri kalibrasi dibuat dengan mengencerkan larutan baku yang diencerkan dengan air seperti ditunjukkan dalam Tabel 6.3.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Latihan 6.6

Prosedur yang digunakan untuk menentukan timbal dalam manitol juga digunakan untuk menentukan nikel dalam suatu sampel manitol. Hitung kandungan nikel di dalam suatu sampel manitol dari data berikut ini:

- 100,5 g manitol dilarutkan dalam 250 ml air.
- Suatu larutan baku yang mengandung nikel pada 10,6 bpj ($10,6 \mu\text{g/ml}$) digunakan untuk membuat satu seri kalibrasi dengan menambahkan 0,5 ml; 1,0 ml; dan 1,5 ml baku ke dalam 50 ml alikuot larutan manitol tersebut.
- Hasil-hasil pembacaan yang diperoleh adalah sebagai berikut: 0,378; 0,543; 0,718; 0,891. Hitung kandungan nikel dalam bpj di dalam sampel manitol.

Jawaban: 0,58 bpj

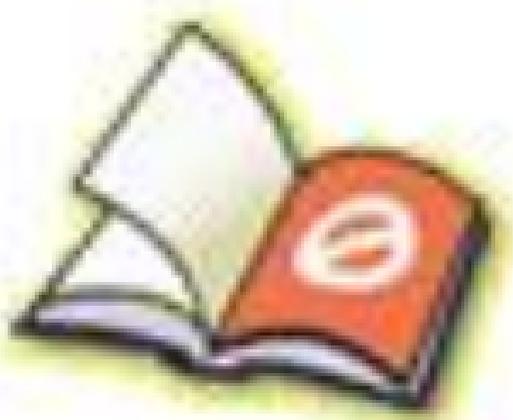
Logam runtu dalam pembalut luka rongga busa silikon

Pembalut luka yang dapat dipanjangkan dibuat dengan mencampur suatu elastomer silikon dengan suatu katalis organotin untuk membentuk pembalut yang dapat dipanjangkan dengan cepat sebelum digunakan. Kebanyakan timah tidak dapat diekstraksi dari matriks pembalut tersebut, tetapi suatu uji batas untuk timah yang dapat diekstraksi dilakukan sebagai berikut:

- (i) 5 g pembalut yang dipotong menjadi potongan-potongan dikocok dengan 50 ml natrium klorida 0,9% b/v selama 4 jam.
- (ii) Larutan tersebut disaring dan timah ditentukan secara SSA dengan menggunakan suatu nyala dinitrogen oksida/asetilen dan serapan diukur pada 235,5 nm. Batas yang diatur untuk timah tersebut adalah 6 bpj ($6 \mu\text{g/g}$).
- (iii) Larutan yang sama digunakan untuk menentukan apakah sampel tersebut melewati batas 5 bpj untuk kadmium, tembaga, timbal, dan zink, tapi menggunakan suatu nyala udara/asetilen dan menggunakan lampu-lampu yang sesuai untuk mendeteksi unsur-unsur ini.

Penerapan SSA dalam penetapan kadar BP

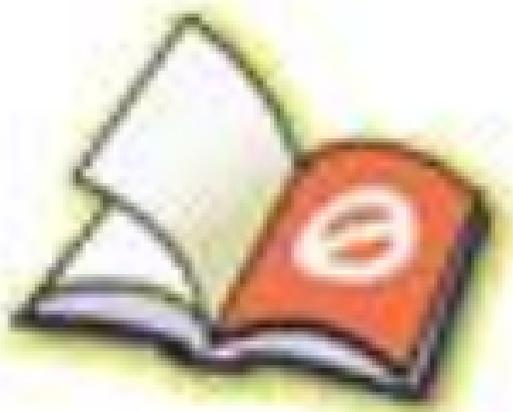
SSA digunakan dalam sejumlah uji batas untuk pengotor-pengotor logam, misalnya magnesium dan stronsium dalam kalsium asetat, paladium dalam karbenisilin natrium, dan timbal dalam bismut subgalat. SSA juga digunakan untuk menetapkan kadar logam-logam di dalam sejumlah sediaan lain: zink dalam suspensi zink insulin dan injeksi tetrakosaktrin zink; tembaga dan besi dalam asam askorbat; zink dalam asetilsistein; timbal dalam bismutsubkarbonat; perak dalam sisplatin; timbal dalam oksiprenolol; aluminium dalam larutan albumin; dan kalsium, magnesium, merkurium dan zink dalam air yang digunakan untuk mengencerkan larutan hemodialisis.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

POIN PENTING (Lanjutan)

Kelebihan

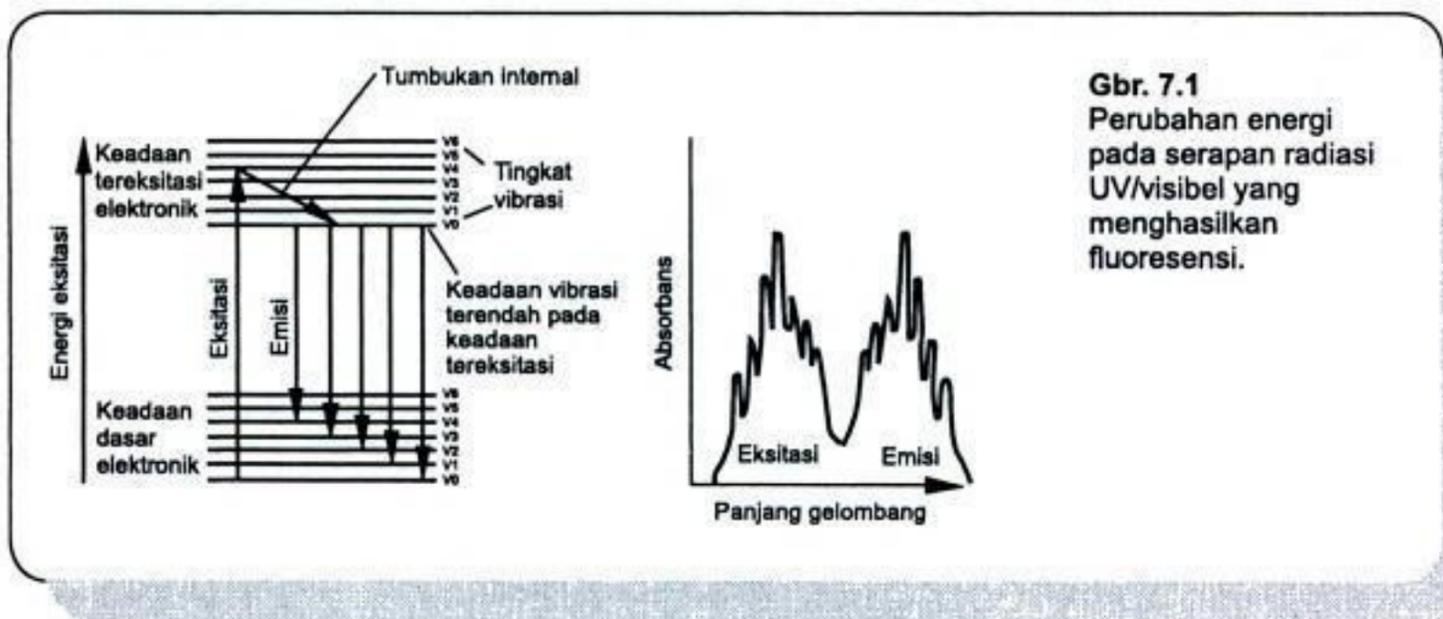
- Suatu metode deteksi yang selektif dan dapat digunakan untuk mengukur suatu senyawa yang berfluoresensi kuat dengan adanya bahan takberfluoresensi dalam jumlah yang lebih besar.
- Dapat digunakan untuk memantau perubahan dalam molekul kompleks seperti protein, yang semakin banyak digunakan sebagai obat.

Keterbatasan

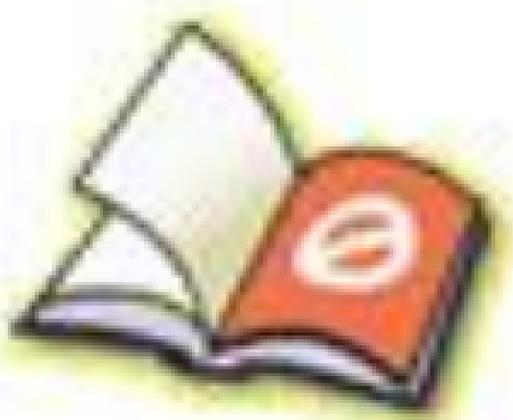
- Teknik ini hanya dapat diterapkan untuk molekul-molekul dalam jumlah terbatas.
- Fluoresensi mudah terkena interferensi oleh spesi-spesi pengabsorpsi-UV, ion-ion berat dalam larutan, dan dipengaruhi oleh suhu.

Pendahuluan

Gambar 7.1 mengilustrasikan perilaku elektron tereksitasi dalam molekul berfluoresensi. Dalam suatu molekul takberfluoresensi, jika suatu elektron tereksitasi menjadi keadaan tereksitasi elektronik, molekul tersebut akan kembali ke keadaan dasar dengan menghilangkan energi yang telah diperolehnya melalui perubahan kelebihan energi elektronik menjadi energi vibrasi. Jika suatu molekul memiliki struktur yang kaku, hilangnya energi elektronik melalui perubahannya menjadi energi vibrasi relatif lambat dan ada kesempatan bagi energi elektronik untuk dipancarkan sebagai radiasi ultraviolet atau visibel. Energi yang dipancarkan adalah energi yang lebih rendah daripada energi yang diserap karena, seperti ditunjukkan pada Gambar 7.1, elektron tereksitasi bergerak ke keadaan vibrasi energi terendah dalam keadaan tereksitasi sebelum kembali ke keadaan dasar. Jadi, emisi fluoresensi biasanya bergeser 50–150 nm ke arah panjang gelombang yang lebih panjang dibandingkan dengan panjang gelombang radiasi yang digunakan untuk menghasilkan eksitasi. Spektrum fluoresensi suatu molekul, idealnya, adalah suatu gambaran cermin pita panjang gelombang terpanjang dalam spektrum serapan molekul, tapi spektrum tersebut sering terdistorsi akibat tumpang tindih sebagian antara spektrum serapan dan spektrum emisi. Struktur vibrasi yang halus pada pita fluoresensi dapat diamati jika molekul tersebut tidak berinteraksi dengan pelarut secara kuat (bandingkan dengan spektrum UV) dan dapat diamati



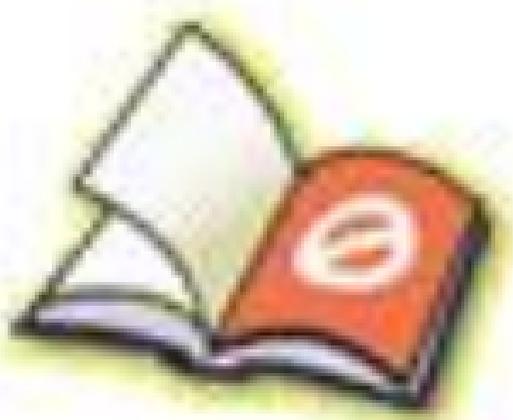
Gbr. 7.1
Perubahan energi pada serapan radiasi UV/visibel yang menghasilkan fluoresensi.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Pembentukan suatu kompleks kimia dengan molekul-molekul lain dalam larutan dapat mengubah perilaku fluoresensi, misalnya adanya kafein dalam larutan menurunkan fluoresensi riboflavin. Perubahan fluoresensi ini selama pengikatan dimanfaatkan pada saat memeriksa ikatan molekul berfluoresensi dengan protein atau unsur lain pada sel.

Fluoresensi juga tergantung pada suhu karena suhu dapat meningkatkan hilangnya eksitasi dengan tumbukan dan vibrasi ikatan. Suatu molekul yang tidak berfluoresensi pada suhu kamar dapat menjadi berfluoresensi pada suhu yang lebih rendah. Selain itu, pelarut-pelarut yang lebih kental cenderung meningkatkan fluoresensi.

Penerapan spektrofotometri fluoresensi dalam analisis farmasi

Penentuan etinilestradiol dalam tablet

BP menggunakan penetapan kadar fluoresensi untuk menentukan etinilestradiol dalam tablet. Tablet tersebut mengandung obat dalam dosis rendah, maka interferensi oleh eksipien kemungkinan menyebabkan masalah dalam pengukuran spektrofotometri UV/visibel. Sampel diukur dengan menggunakan suatu panjang gelombang pengeksitasi sebesar 280 nm dan pengukuran emisi dilakukan pada 320 nm. Seperti yang terlihat pada saat spektrum fluoresensi etinilestradiol dibahas sebelumnya, panjang gelombang eksitasi optimum untuk etinilestradiol adalah 285 nm dan maksimum emisi adalah 310 nm. Jadi, penetapan kadar ini seperti dijelaskan sebelumnya menghasilkan dua poin penting, yang telah disesuaikan baik secara disengaja maupun empiris dalam perancangan penetapan kadar tersebut:

- (i) Penggunaan panjang gelombang eksitasi yang sedikit lebih pendek mengurangi kemungkinan interferensi dari hamburan Raman, yang dapat bertumpang tindih dengan spektrum fluoresensi dan bergantung pada panjang gelombang radiasi pengeksitasi tersebut, sedangkan maksimum fluoresensi tidak.
- (ii) Intensitas hamburan Rayleigh dan Tyndall pada panjang gelombang yang lebih pendek adalah lebih besar sehingga emisi teramati pada panjang gelombang yang sedikit lebih panjang, yaitu 320 nm untuk mengurangi interferensi dari sumber ini.

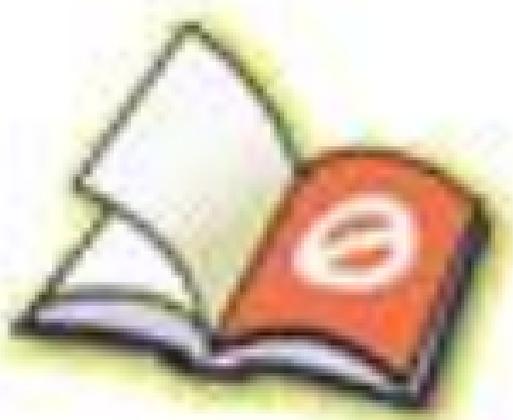
Setelah fluoresensi ekstrak sampel dalam metanol telah ditentukan, larutan natrium hidroksida 1M ditambahkan pada larutan sampel tersebut dan fluoresensinya ditentukan kembali. Penambahan natrium hidroksida menghilangkan fluoresensi dengan cara mengionisasi gugus fenol pada etinilestradiol, dan kemudian semua fluoresensi residual yang disebabkan oleh eksipien dapat dikurangkan dari hasil pembacaan. Pada penetapan kadar BP, kandungan etinilestradiol pada ekstrak tablet ditentukan dari perbandingan dengan fluoresensi suatu larutan yang mengandung baku etinilestradiol dalam jumlah yang diketahui dianalisis dengan menggunakan kondisi yang sama.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

POIN PENTING (Lanjutan)

- Sampel-sampel seperti bahan-bahan farmasi peptida dapat dianalisis perubahannya di dalam struktur tiga dimensinya
- Memberikan informasi identitas sidik jari tambahan yang melengkapi spektroskopi IM-tengah.

Kelebihan

- Merupakan pelengkap spektroskopi IM-tengah, tetapi membutuhkan sangat sedikit sediaan sampel karena radiasi inframerah-dekat yang memiliki sifat-sifat penetrasi yang baik dapat digunakan untuk analisis tersebut
- Semakin menjadi pilihan yang mudah tersedia pada instrumen FT-IR IM-tengah

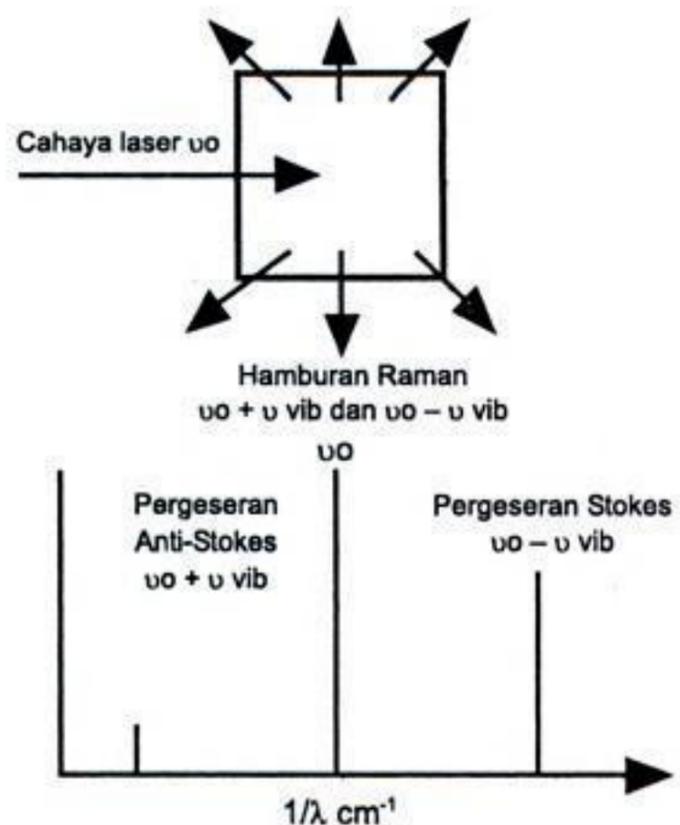
Keterbatasan

- Belum sepenuhnya ditetapkan sebagai suatu teknik kuantitatif
- Pelarut dapat mengganggu jika sampel-sampel dikerjakan di dalam larutan.

Pendahuluan

Semua molekul dapat dipolarisasikan sehingga elektron-elektron di dalamnya sedikit berubah dalam arah bidang yang diterapkan. Efek ini tidak sepenuhnya mengikuti hukum mekanika kuantum, tetapi bilangan gelombang penggantian radiasi oleh suatu gugus tertentu sama dengan bilangan gelombang radiasi yang diserap oleh gugus tertentu itu dalam spektroskopi IM-tengah. Pada kenyataannya, efek Raman ditemui pada saat melakukan pengukuran fluoresensi dalam daerah UV/visibel, meskipun biasanya lemah dibandingkan dengan hamburan Rayleigh dan Tyndall. Efek ini analog dengan fluoresensi kecuali bahwa efek tersebut tidak bergantung pada panjang gelombang, tidak mempersyaratkan molekul tersebut harus memiliki suatu kromofor, dan yang diukur adalah pergeseran energi dalam cm^{-1} , bukan panjang gelombang.

Gbr. 7.7
Hamburan Raman.

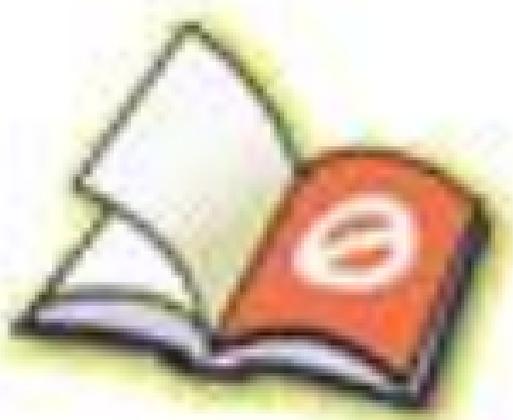




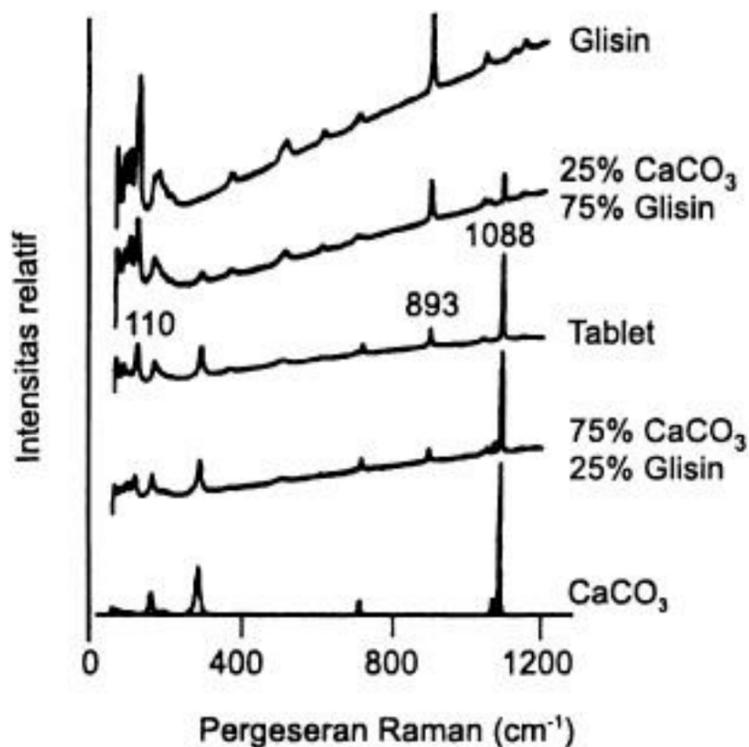
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 7.12
Spektrum Raman suatu tablet yang mengandung kalsium karbonat dan glisin dan campuran yang mengandung berbagai proporsi kedua komponen tersebut. Direproduksi dengan seizin J. Pharm. Biomed. Anal. (lihat Referensi 3.)

tablet dengan menggunakan spektroskopi Raman NIR⁵. Gambar 7.13 menunjukkan spektrum-spektrum yang diperoleh untuk tujuh merek dagang tablet meprobramat. Semua tablet mengandung bentuk polimorfik I obat tersebut tapi dapat dibedakan satu sama lain berdasarkan keseluruhan pola spektrum-spektrum yang mengandung kontribusi dari eksipien-eksipien dan juga dari bahan aktif tersebut.

Referensi

1. Z. Shahrokh, G. Eberlein and Y.J. Wang. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 12, 1035–1041 (1994).
2. P. Hendra, C. Jones and G. Warnes. *Fourier Transform Raman Spectroscopy*. Ellis Horwood (1991).
3. C.G. Kontoyannis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 13, 73–76 (1995).
4. D. Pratiwi, J.P. Fawcett, K.C. Gordon and T. Rades. *European J. Pharm. Biopharm.* 54, 337–341 (2002).
5. M.E. Auer, U.J. Griesser and J. Sawatski. *J. Mol. Structure* 661–2, 307–317 (2003).

Bacaan lanjutan

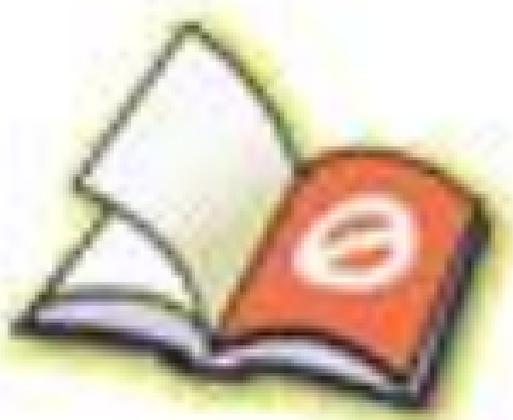
- Methods in Enzymology*. Vol 278. L. Brand and M.L. Johnson, eds. *Fluorescence Spectroscopy*. Academic Press, London (1997).
- Introductory Raman Spectroscopy*. Vol 2. J.R. Ferraro and K. Nakamoto, eds. Academic Press, London (1994).
- Spectrophotometry and Spectrofluorimetry: A practical approach*. M. Gore, ed. Oxford University Press (2000).

Situsweb yang bermanfaat

- <http://cfs.umbi.umd.edu>
Memuat banyak bahan latar belakang spektroskopi fluoresensi.
- <http://www.ijvs.com/index.html>
Banyak bahan mengenai spektroskopi Raman.



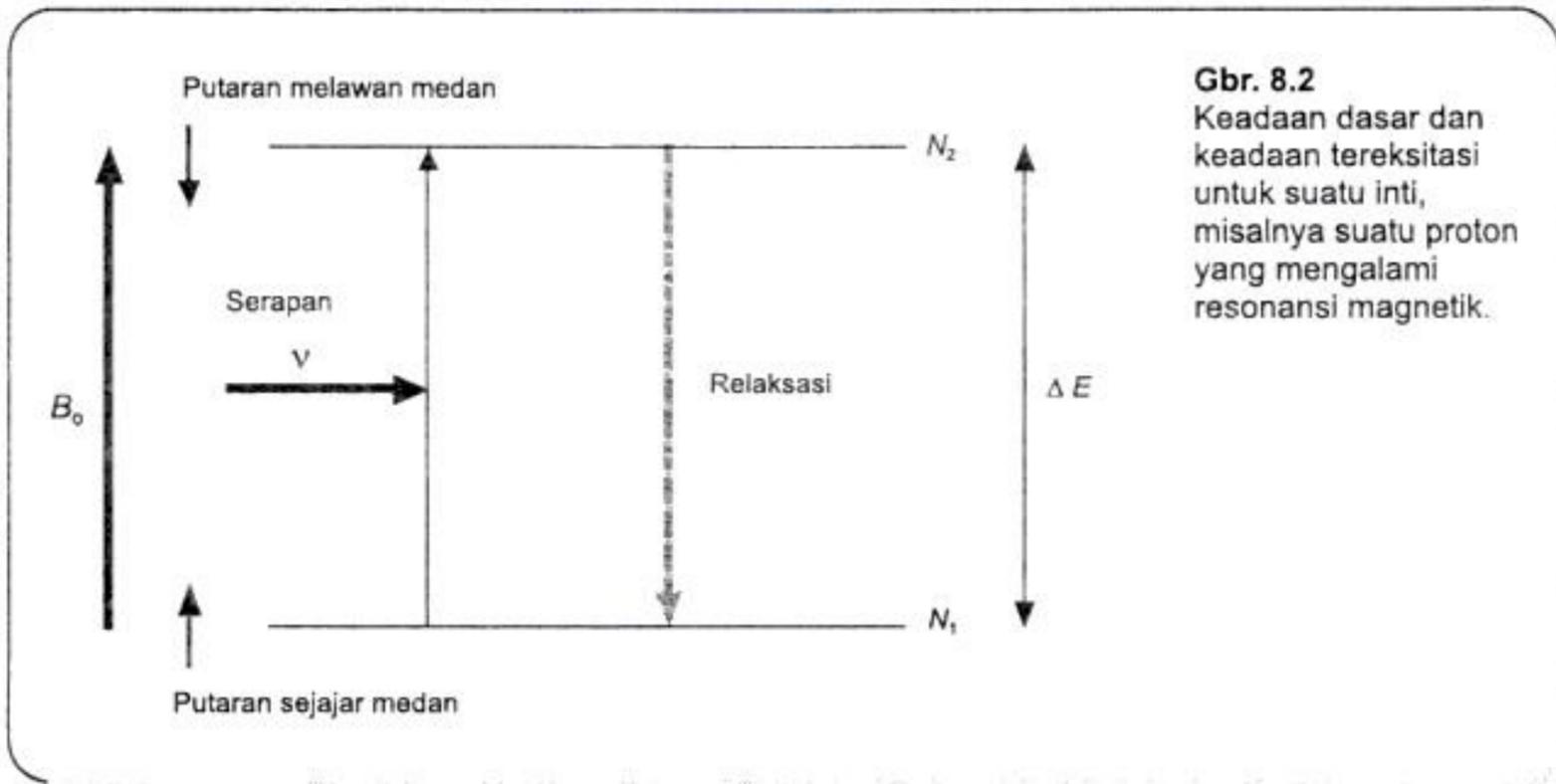
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 8.2
Keadaan dasar dan keadaan tereksitasi untuk suatu inti, misalnya suatu proton yang mengalami resonansi magnetik.

pada keadaan dasar akan menyerap radiasi yang memiliki frekuensi lebih kurang 60 mHz pada 1,4 T dan lebih kurang 600 mHz pada 14 T. Instrumen RMI yang dijelaskan berkaitan dengan frekuensi ketika instrumen itu menyebabkan proton-proton beresonansi; jadi instrumen 600 mHz adalah instrumen yang menyebabkan proton-proton beresonansi pada frekuensi lebih kurang 600 mHz. Pada kekuatan medan magnet yang lebih besar, kepekaan yang lebih besar dicapai karena perbedaan yang lebih besar dalam populasi pada keadaan energi yang lebih tinggi dan lebih rendah. Untuk suatu instrumen 60 mHz, perbedaan populasi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi untuk suatu proton lebih kurang 1 dalam 100000, sedangkan untuk instrumen 600 mHz perbedaan populasinya adalah lebih kurang 1 dalam 10000, yaitu peningkatan kepekaan sekitar 10 kali lipat.

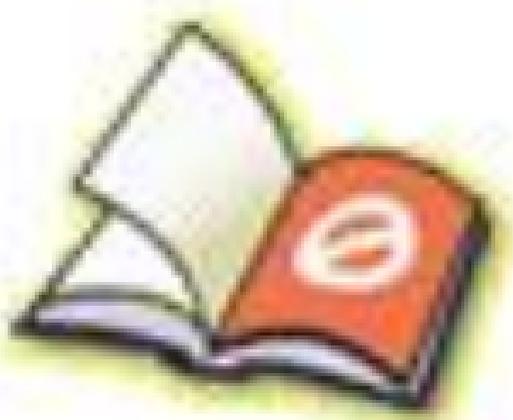
Instrumentasi

Gambar 8.3 memberikan tata ruang dasar pada suatu spektrometer RMI gelombang kontinu. Instrumen ini adalah tipe asli instrumen tersebut dan telah banyak digantikan oleh instrumen transformasi Fourier. Akan tetapi, prinsip-prinsip operasi pada umumnya mirip:

- (i) Sampel diletakkan di dalam tabung RMI kaca sempit dan diputar dalam medan magnet tetap pada lebih kurang 30 revolusi/menit dengan menggunakan alat turbin udara sehingga memastikan keseragaman medan magnet yang melewati sampel tersebut dengan arah horizontal. Sampel dianalisis dalam larutan di dalam suatu pelarut terdeuterasi untuk memastikan tidak ada interferensi dengan sinyal dari proton sampel oleh proton pelarut dalam jumlah yang jauh lebih banyak.
- (ii) Titik acuan 0 bagian per sejuta (bpj) ditentukan dengan frekuensi ketika proton-proton dalam tetrametilsilan (TMS) menyerap. Terkadang proton-proton resi-



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

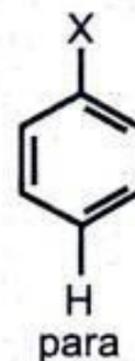
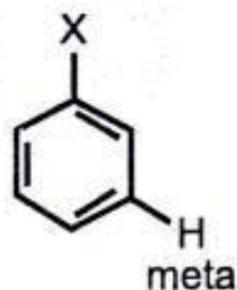
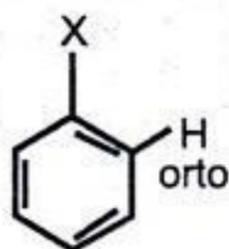


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

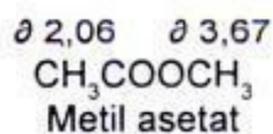
Tabel 8.2 Nilai-nilai pergeseran kimia untuk proton-proton yang menempel pada suatu cincin aromatik. Efek-efek substituen ditambahkan pada ataupun dikurangi dari pergeseran kimia untuk benzen pada $\delta = 7,72$



Substituen X	H orto	H meta	H para
NO ₂	0,94	0,18	0,39
OH	- 0,49	- 0,13	- 0,20
NH ₂	- 0,76	- 0,25	- 0,63
Cl	0,01	- 0,06	- 0,08
COOH	0,80	0,16	0,25
NH ₃ ⁺	0,40	0,20	0,20
CH ₃	- 0,16	- 0,09	- 0,17
OR	- 0,46	- 0,1	- 0,46
CH ₃ -CO-NH	- 0,12	- 0,07	- 0,21
COOR	0,71	0,1	0,21

Latihan 8.1

Tentukan perbedaan frekuensi antara pergeseran proton pada gugus metil asetat dalam Hz pada kekuatan medan 60 mHz, 250 mHz, dan 400 mHz.



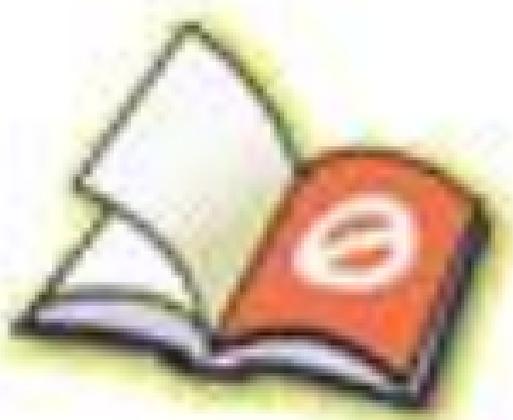
Jawaban: 96,6 Hz; 402,5 Hz; 644 Hz



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

proton-proton bersebelahan adalah 0–20 Hz. Jika pergeseran kimia kedua proton dekat, kopling dapat menyebabkan sinyal-sinyalnya bertumpang tindih. Tetapan kopling tidak bergantung pada medan magnet yang digunakan sehingga ukuran tetapan kopling dalam bpj akan menurun seiring dengan naiknya kekuatan medan meskipun nilai-nilainya dalam Hz tetap sama. Semakin tinggi kekuatan medan, semakin kecil kemungkinan sinyal-sinyal dari masing-masing proton akan bertumpang tindih.

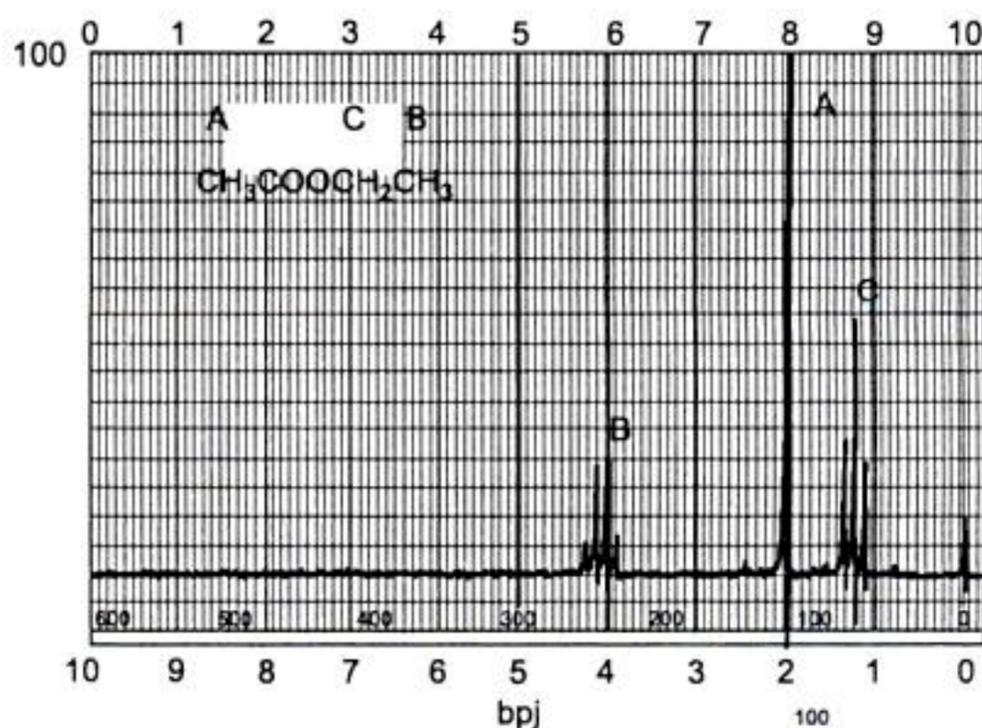
Spektrum pada Gambar 8.5 diperoleh pada suatu instrumen 270 mHz (1 bpj = 270 Hz). Pergeseran-pergeseran dalam bpj yang diperoleh untuk ketiga garis dalam sinyal gugus CH_3 adalah: 1,235; 1,262; dan 1,289. Oleh karena itu, garis-garis ini biasanya berjarak 0,027 bpj, yang ekuivalen dengan $270 \times 0,027 \text{ Hz} = 7,29 \text{ Hz}$. Gambar 8.7 menunjukkan spektrum etil asetat yang diperoleh pada instrumen 60 mHz (1 bpj = 60 Hz); dalam hal ini, tetapan kopling besar ($\pm 0,1 \text{ bpj}$) jika dibandingkan dengan skala bpj, tetapi memiliki tetapan kopling yang sama, $\pm 7 \text{ Hz}$, terhadap yang teramati dengan menggunakan instrumen 270 mHz.

Seiring dengan meningkatnya jumlah proton yang bersebelahan dalam suatu molekul, kompleksitas pola-pola pembagian proton semakin meningkat. Gambar 8.8 menunjukkan spektrum RMI proton propil asetat. Dalam hal ini, gugus CH_3 B terdapat sebagai suatu triplet seperti halnya dalam etil asetat, tapi gugus CH_2 C kini memiliki enam garis akibat adanya lima proton bersebelahan – tiga pada gugus B dan dua pada gugus D. Perbandingan garis-garis tersebut dalam hal ini adalah 1:5:10:10:5:1.

Jumlah garis yang diharapkan dan intensitas relatifnya yang dapat diperoleh dari segitiga Pascal, diperlihatkan pada Gambar 8.9.

Jika proton gugus B dan D dalam propil asetat tidak memiliki tetapan kopling yang sama dengan proton pada gugus C, pola garis yang lebih rumit akan dihasilkan, seperti ditunjukkan pada Gambar 8.10. Pada kasus yang ditunjukkan pada Gambar 8.10A, proton-proton dapat dianggap terbagi menjadi empat garis oleh suatu gugus

Gbr. 8.7
Spektrum RMI ^1H etil asetat pada 60 mHz. Direproduksi dengan seizin Aldrich Chemical Co.





You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



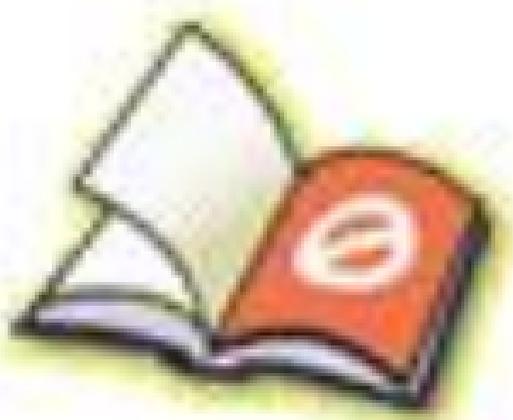
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



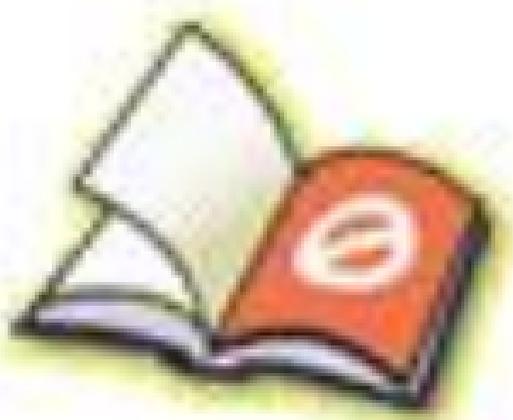
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



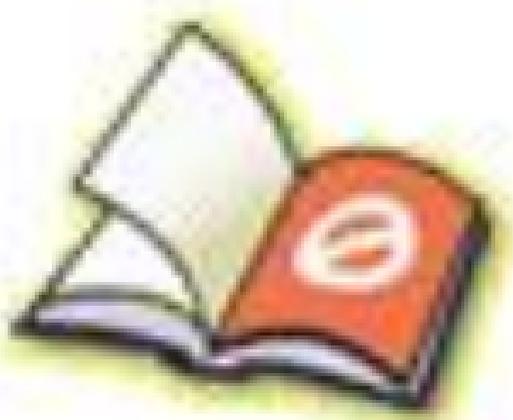
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



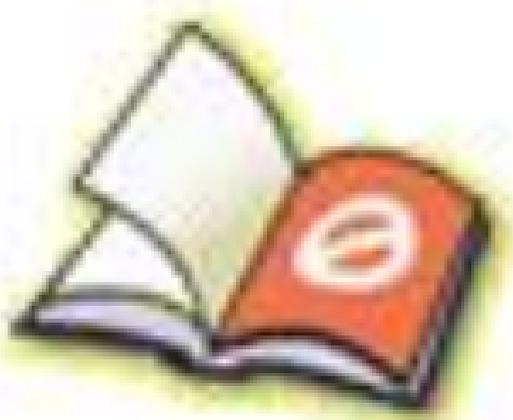
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



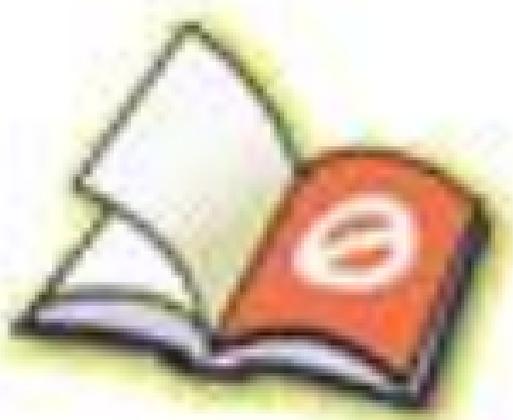
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

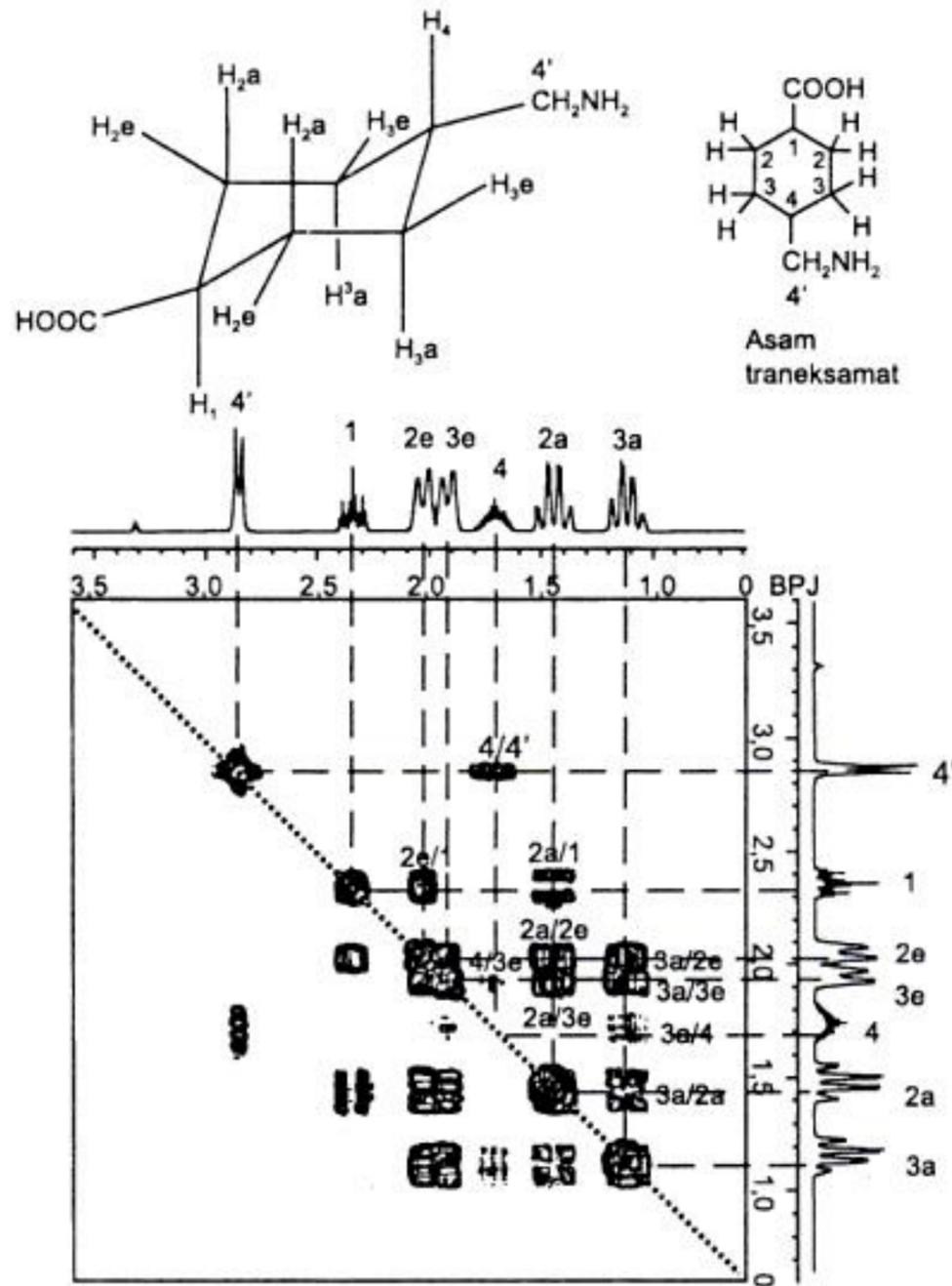


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 8.18
Spektrum korelasi proton-proton pada asam traneksamat.



- (ii) Proton-proton aksial (2a dan 3a) biasanya di atas medan dari proton-proton ekuatorial (2e dan 3e) karena proton tersebut terlindungi dengan memiliki ruang yang dekat dengan proton-proton aksial lain.

Penerapan RMI pada analisis kuantitatif

RMI dapat digunakan sebagai suatu teknik kuantitatif yang cepat dan spesifik. Contohnya, suatu obat dapat dikuantifikasi secara cepat dengan mengukur proton-proton yang sesuai (seringkali proton-proton metil terisolasi) terhadap singlet yang kuat untuk gugus-gugus metil tersebut dalam t-butanol. Jumlah obat yang ada dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini untuk gugus metil dalam t-butanol yang digunakan sebagai baku internal:



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

POIN PENTING (*Lanjutan*)

- Spektrometri massa bersama dengan kromatografi gas (KG–SM) ataupun kromatografi cair (KC–SM) memberikan suatu metode untuk mengarakterisasi pengotor dalam obat dan eksipien formulasi.
- KG–SM dan KC–SM memberikan metode yang sangat peka dan sangat spesifik untuk menentukan obat-obat dan metabolitnya di dalam cairan biologis dan jaringan.
- Spektrometri massa telah menjadi suatu alat yang penting dalam proteomik, yang kini menjadi alat utama dalam penemuan obat.

Kelebihan

- Metode terbaik untuk mendapatkan identifikasi cepat pengotor minor, yang idealnya harus dilakukan dengan menggunakan pemisahan secara kromatografi bersama dengan spektrometri massa resolusi tinggi sehingga komposisi unsur tersebut dapat ditentukan
- Dengan munculnya spektrometri massa elektrosemprot dan munculnya kembali spektrometri massa waktu lintas, teknik tersebut akan menjadi metode utama dalam pengendalian mutu antibodi dan peptida terapeutik.

Keterbatasan

- Spektrometri massa kini tidak digunakan dalam pengendalian mutu (*quality control*, QC) rutin tapi ditempatkan dalam suatu lingkungan penelitian dan pengembangan (*research and development*, R & D), yang digunakan untuk mengatasi masalah-masalah spesifik yang berasal dari proses rutin atau dalam pengembangan proses.
- Instrumentasi ini mahal dan membutuhkan dukungan personel yang sangat terlatih dan pemeliharaan yang teratur. Namun, keterbatasan ini secara bertahap dihilangkan.

Pendahuluan

Suatu spektrometer massa bekerja dengan membangkitkan molekul-molekul bermuatan atau fragmen-fragmen molekul baik dalam keadaan sangat hampa atau segera sebelum sampel memasuki ruang sangat hampa. Molekul terionisasi harus dibangkitkan dalam fase gas. Dalam spektrometri massa klasik hanya ada satu metode yang menghasilkan molekul bermuatan, tetapi kini ada beberapa alternatif. Sewaktu molekul sudah bermuatan dan berada dalam fase gas, molekul tersebut dapat dimanipulasi dengan penerapan medan listrik atau medan magnet agar dapat menentukan bobot molekulnya dan bobot molekul semua fragmen yang dihasilkan dari pemecahan molekul.

Instrumentasi

Suatu gambaran skematik spektrometer massa magnetik diperlihatkan dalam Gambar 9.1.

- (i) Sampel dimasukkan ke dalam sumber instrumen dengan memanaskannya pada akhir suatu sensor sampai menguap airnya, dibantu dengan keadaan sangat hampa di dalam instrumen tersebut.
- (ii) Jika berada dalam fase uap, analit dibombardir dengan elektron-elektron yang dihasilkan oleh filamen rhenium atau tungsten, yang diakselerasi menuju suatu target positif dengan energi sebesar 70 eV. Analit tersebut dimasukkan antara filamen dan target, dan elektron tersebut menyebabkan ionisasi sebagai berikut:



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



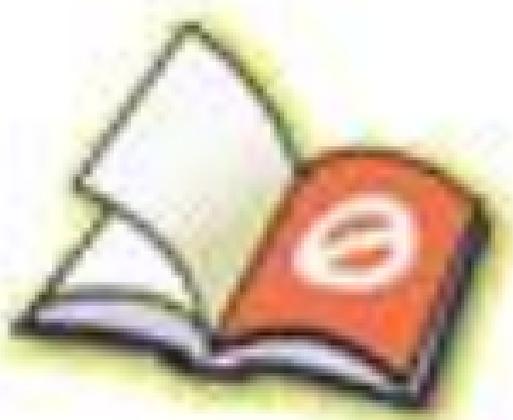
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

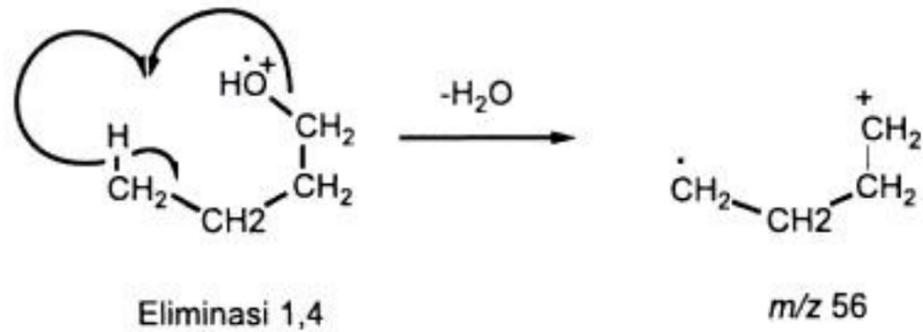


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

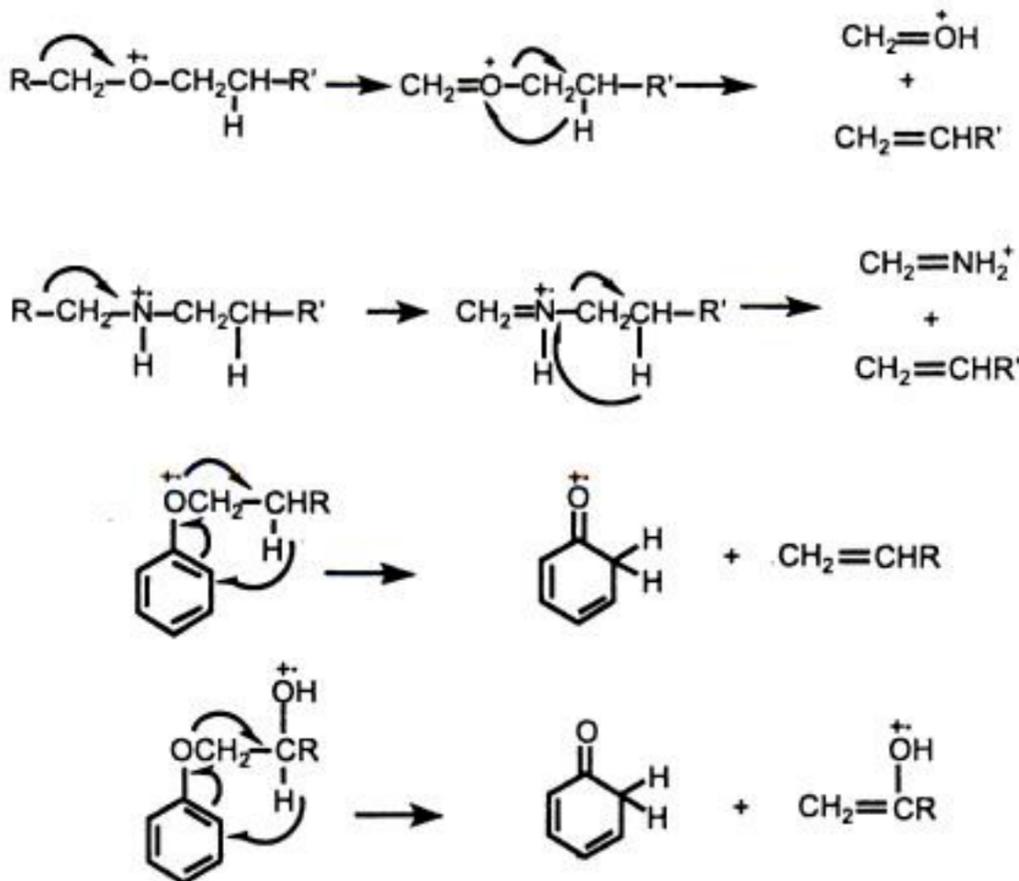
Gbr. 9.10
Hilangnya air melalui eliminasi 1,4.



Pembelahan dengan transfer proton

Pembelahan dengan transfer proton juga lazim dalam spektrum massa molekul obat. Dalam dua contoh pertama, tahap awal adalah pembelahan α homolitik, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 9.11; hal ini diikuti dengan hilangnya suatu fragmen hidrokarbon netral.

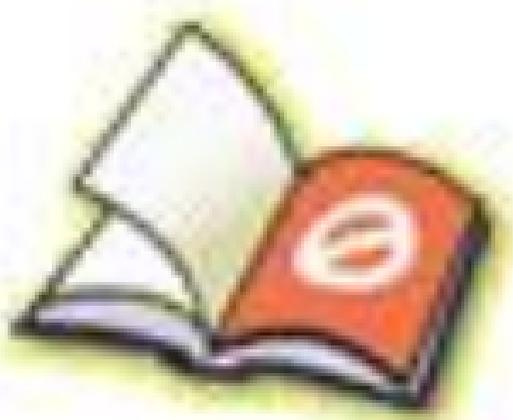
Tabel 9. 1 menunjukkan beberapa fragmen kecil tipikal yang hilang dari ion-ion molekular pada molekul tersebut.



Gbr. 9.11
Beberapa contoh pembelahan yang melibatkan transfer proton intramolekular.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



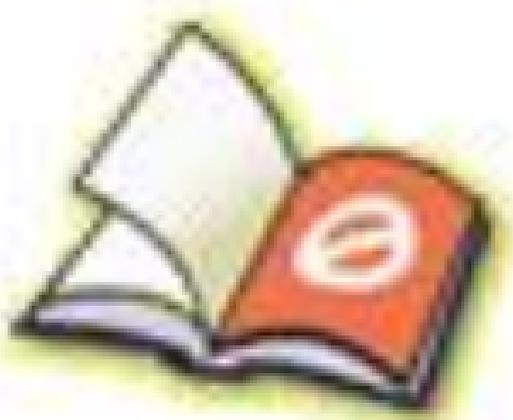
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



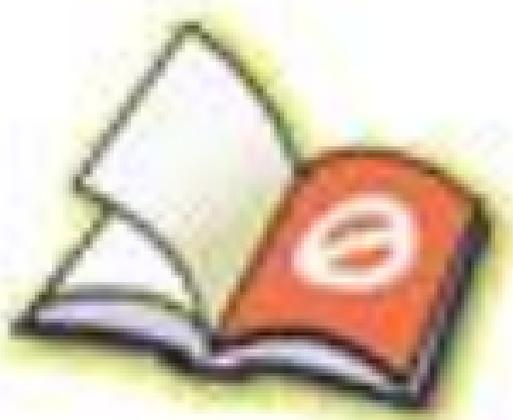
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



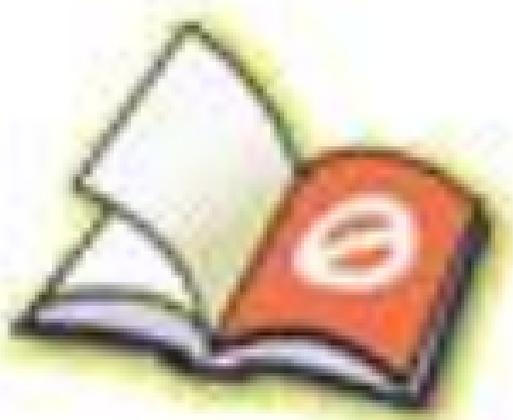
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



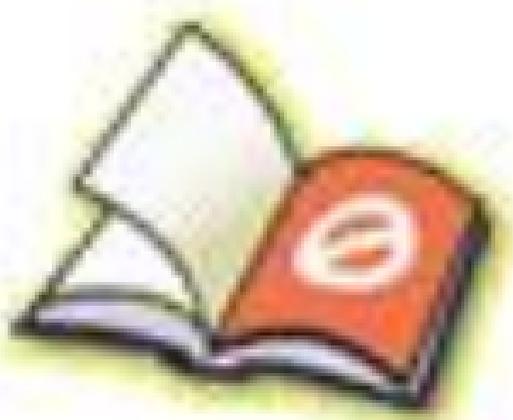
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

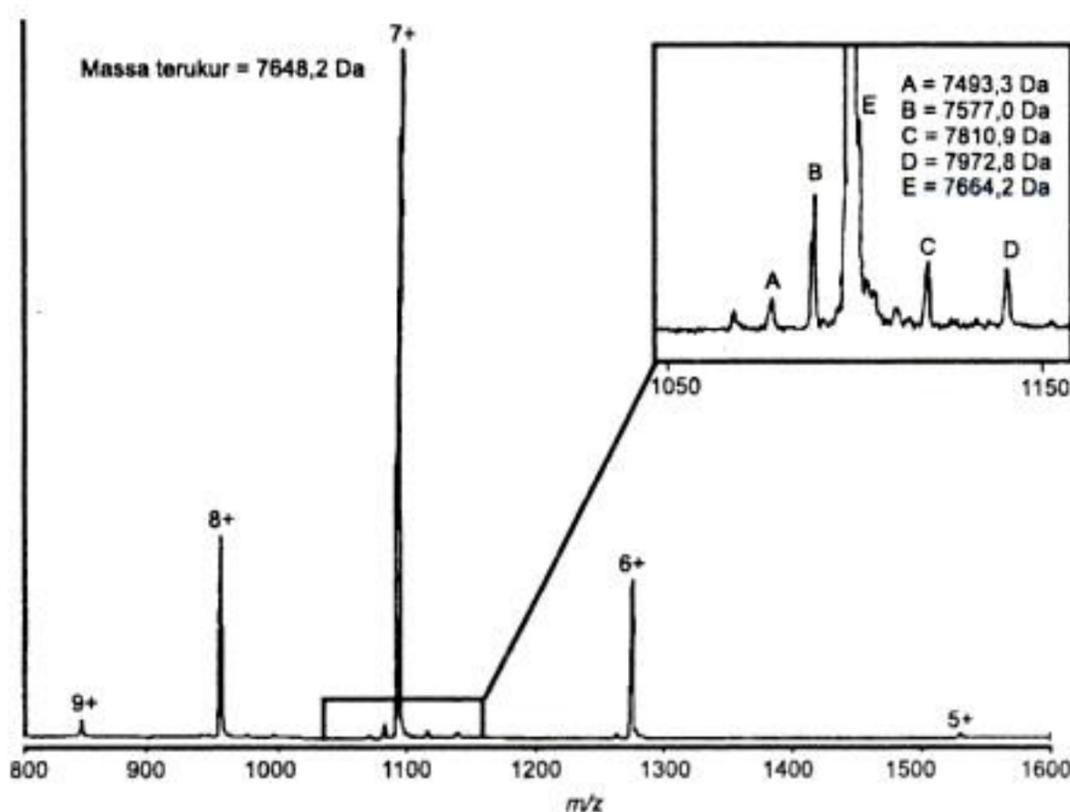
Penerapan KC–SM dalam analisis farmasi

Penentuan pengotor dalam faktor pertumbuhan mirip-insulin dengan elektro semprot–spektrometri massa (ES–SM)

ES-SM memberikan suatu sarana yang sangat baik untuk pengendalian mutu protein-protein rekombinan, beberapa di antaranya kini digunakan sebagai obat, misalnya insulin manusia, interferon, eritropoietin, dan faktor pengaktifan plasminogen jaringan.¹ Kesederhanaan spektrum-spektrum ion tunggal untuk setiap jumlah muatan berarti bahwa protein-protein sejenis dalam jumlah sedikit yang dapat mengontaminasi protein utama muncul dengan cukup jelas. Jadi, variasi-variasi dalam struktur protein, seperti derajat glikosilasi, atau pada asam-asam amino ujung pada protein tersebut dapat terlihat dengan cukup jelas.

Satu contoh bagaimana ES–SM dapat digunakan untuk menentukan pengotor-pengotor minor dalam protein rekombinan ditunjukkan dalam Gambar 9.38, dengan beberapa ion tambahan yang kecil dalam spektrum massa faktor pertumbuhan mirip-insulin (*insulin-like growth facts*, IGF) rekombinan dapat terlihat. Ion-ion utama dalam spektrum tersebut disebabkan oleh IGF itu sendiri yang membawa muatan bervariasi, tapi pengotor-pengotor kecil juga memunculkan puncak-puncak dan ini dapat ditafsirkan seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 9.4.

Sebelum kemunculan teknik ini, penentuan bobot molekul protein merupakan suatu proses laboratorium, dan pengendalian serta identifikasi pengotor-pengotor minor hampir mustahil dapat dilakukan.



Gbr. 9.38
ES-SM faktor pertumbuhan turunan insulin dan pengotor-pengotor minor. Direproduksi dengan izin dari Elsevier (lihat Referensi 1).



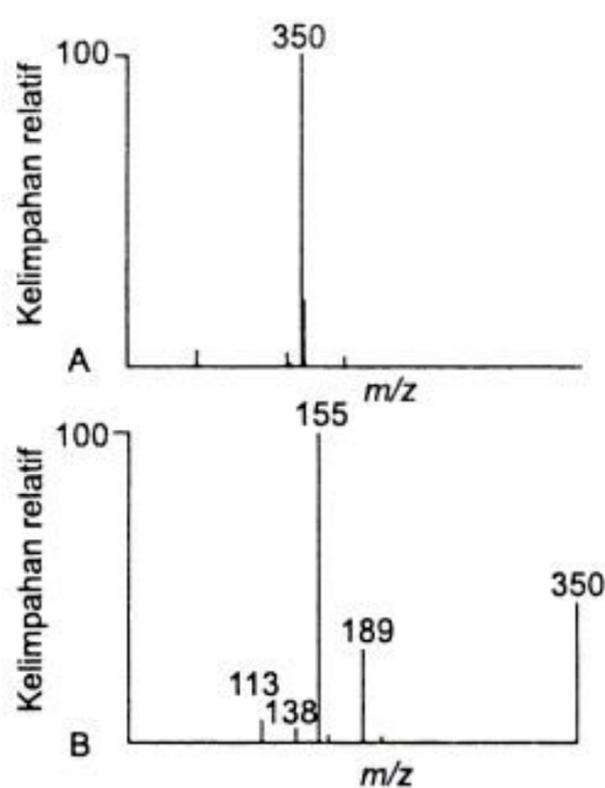
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



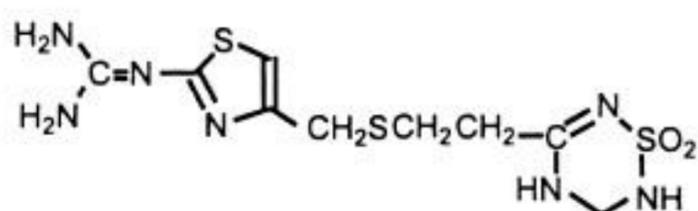
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



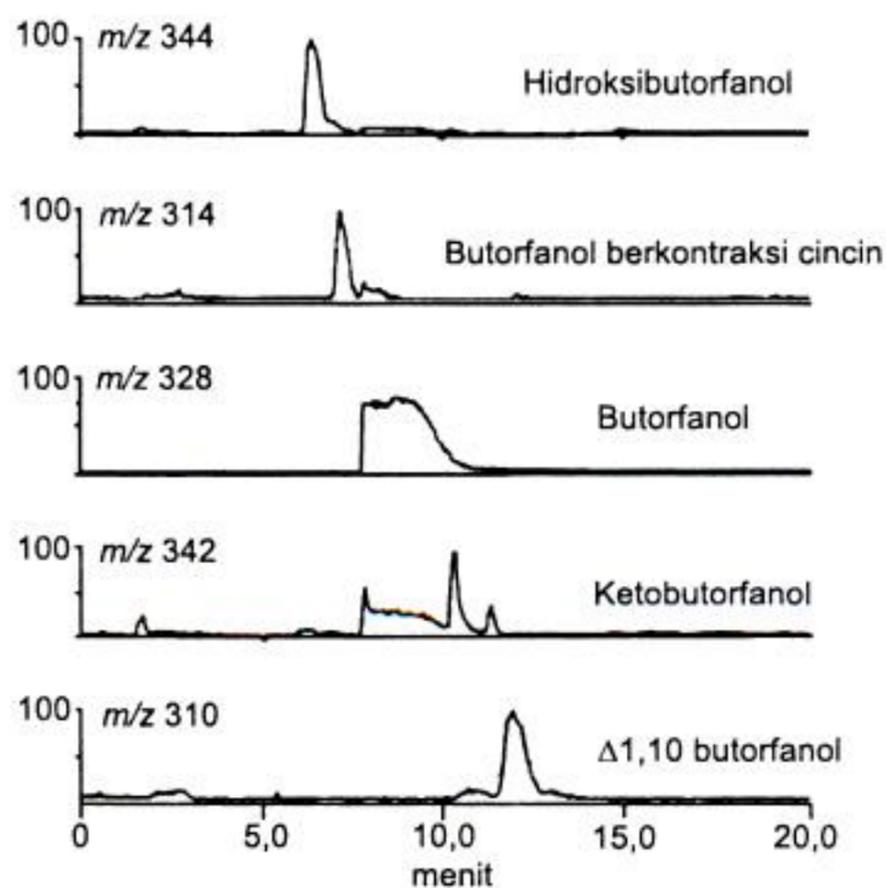
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

**Gbr. 9.44**

Spektrum-spektrum massa suatu hasil urai famotidin yang diperoleh di bawah kondisi APCI dengan SM tandem. (A) Tanpa fragmentasi tambahan; (B) Setelah peningkatan fragmentasi dinaikkan secara bertumbukan. Direproduksi dengan izin dari *Pharm. Biomed. Anal.* (lihat Referensi 2).

**Gbr. 9.45**

Profil ion pilihan KC-SM hasil urai yang terbentuk dari butorfanol. Direproduksi dengan seizin dari *Pharm. Biomed. Anal.* (lihat Referensi 3).





You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

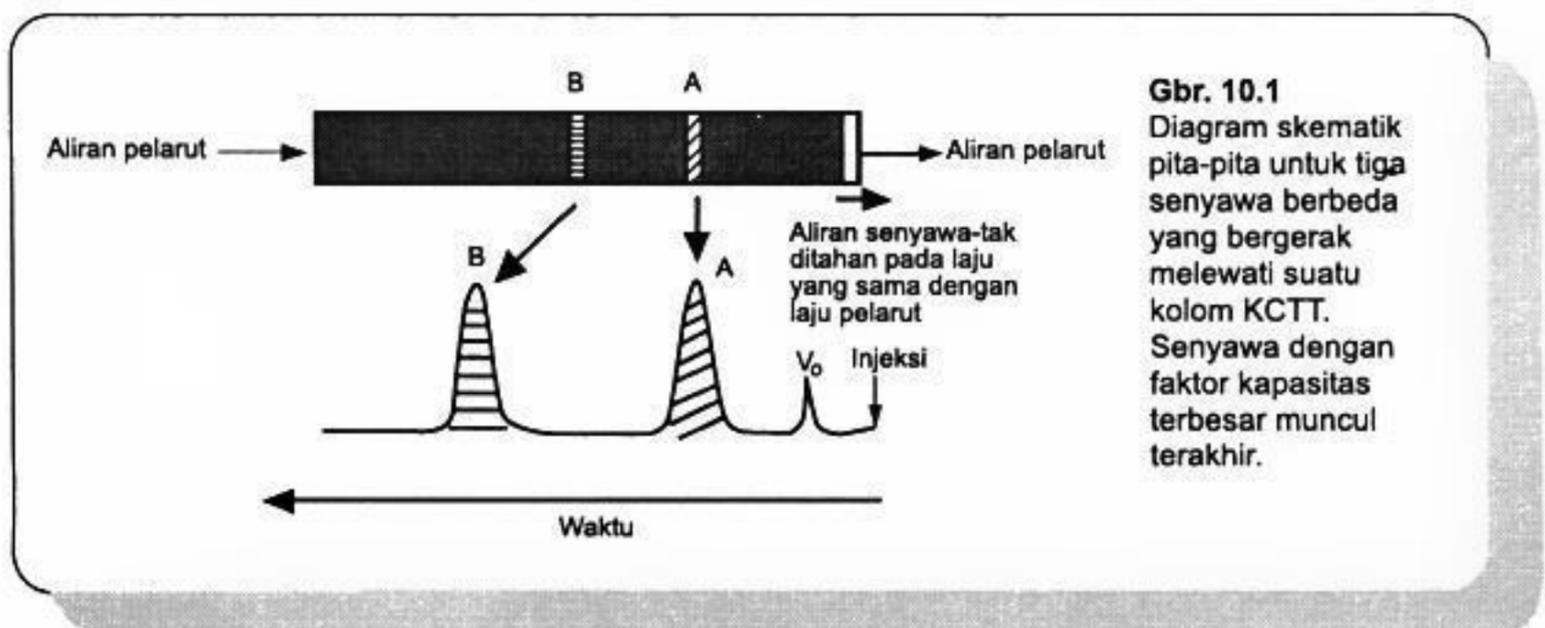
dibutuhkan pelarut atau molekul-molekul takditahan, mengalir dengan laju 1 ml/menit, $\pm 1,8$ menit untuk melewati volume hampa kolom tersebut (ruang bagian dalam kemungkinan besar berkurang yang permukaan gel silikanya telah dilapisi dengan fase diam). Lamanya waktu yang dibutuhkan suatu senyawa-ditahan untuk melewati kolom bergantung pada faktor kapasitasnya (K'), yang merupakan suatu ukuran seberapa jauh senyawa tersebut berpartisipasi (mengadsorpsi) ke dalam fase diam dari fase gerak:

$$K' = \frac{V_r - V_o}{V_o} \text{ atau } \frac{t_r - t_o}{t_o}$$

dengan V_o adalah volume hampa kolom; V_r adalah volume retensi analit; t_o adalah waktu yang diperlukan bagi suatu molekul-takditahan untuk melewati volume hampa; dan t_r adalah waktu yang diperlukan bagi analit untuk melewati kolom. Pada Gambar 10.1, senyawa B memiliki faktor kapasitas lebih besar daripada senyawa A. Contohnya, jika suatu senyawa memiliki K' 4, V_o suatu kolom adalah 1 ml dan pelarut tersebut mengalir melewati kolom dengan laju 1 ml/menit, waktu total yang dibutuhkan senyawa tersebut untuk melewati kolom adalah 5 menit, yaitu setiap 1 menit yang diperlukan untuk melewati ruang hampa di dalam kolom maka 4 menit akan dihabiskan di dalam fase diam. Ini adalah penyederhanaan proses sebenarnya tapi merupakan model yang mudah dipahami. Seperti dapat dilihat pada Gambar 10.1, puncak-puncak yang dihasilkan oleh pemisahan kromatografi sebenarnya memiliki lebar yang sama dengan waktu retensi dan proses-proses yang menghasilkan pelebaran ini akan dibahas kemudian.

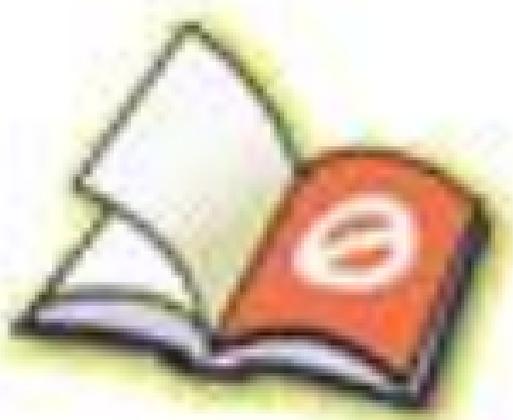
Perhitungan efisiensi kolom

Semakin lebar suatu puncak kromatografi yang sebanding dengan waktu retensinya, semakin kurang efisien kolom pengelusnya. Gambar 10.2 menunjukkan puncak kromatografi yang muncul pada waktu t_r setelah injeksi; efisiensi kolom paling mudah dinilai dari lebar puncak pada setengah-tingginya $W_{1/2}$ dan waktu retensinya dengan menggunakan Persamaan 1:

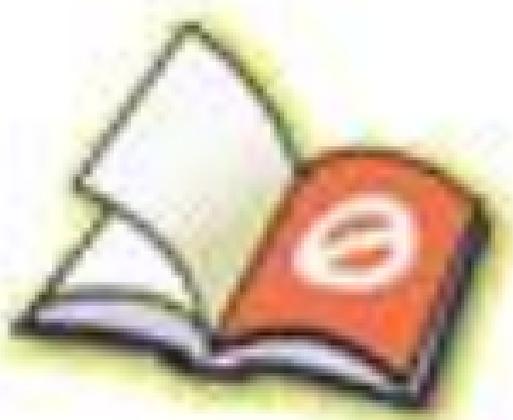




You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

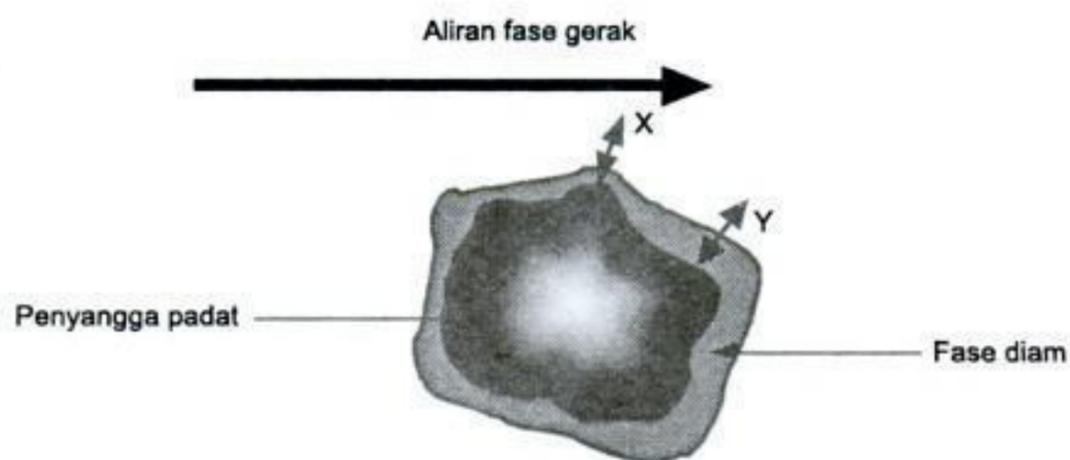


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 10.4
Resistensi terhadap transfer massa molekul di dalam suatu partikel fase diam.

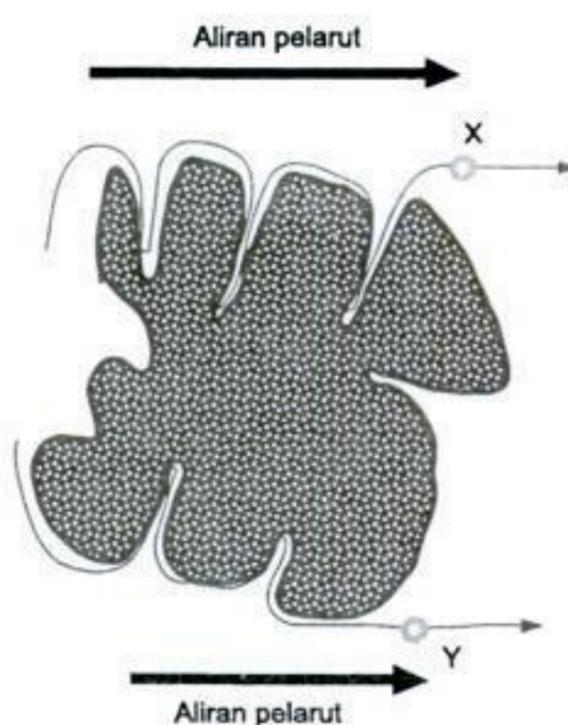


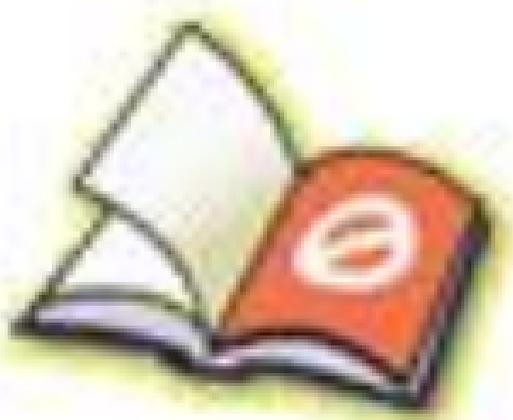
Semakin kecil dan semakin teratur bentuk partikel fase diam, semakin kecil kontribusi terhadap pelebaran pita dari faktor ini. Pada Gambar 10.5, molekul X lebih ditahan daripada molekul Y pada faktor-faktor kedua panjang jalur (ini benar-benar termasuk faktor difusi *eddy*) dan berkontak dengan area-area tergenang pelarut di dalam struktur pori fase diam. Dengan memerhatikan efek tersebut, semakin kecil laju difusi spesi-spesi molekular (D_m) di dalam fase gerak, penahanan akan semakin besar. Terdapat sejumlah partisi acak yang tidak memadai selama elusi agar efek-efek ini dapat terjadi.

Jadi, koefisien difusi yang rendah untuk analit dalam fase gerak meningkatkan efisiensi dengan mempertimbangkan faktor A , tetapi menurunkan efisiensi dengan mempertimbangkan faktor C_m . Pada kesetimbangan, koefisien difusi yang lebih tinggi lebih disukai. Suhu kolom yang lebih tinggi menurunkan efek transfer massa karena laju difusi suatu molekul di dalam fase gerak meningkat.

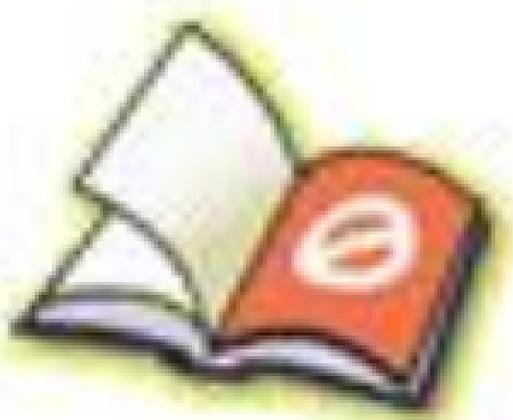
Dalam praktik, kontribusi faktor A , $C_s u$, dan $C_m u^{1/2}$ terhadap pelebaran pita sama kecuali pada laju aliran yang sangat tinggi, dengan faktor $C_s u$ lebih dominan. Pada

Gbr. 10.5
Pelebaran pita akibat resistensi terhadap difusi suatu molekul di dalam fase gerak, terkandung di dalam pori-pori fase diam dan disebabkan oleh ketidakteraturan dalam struktur pori fase diam.





You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Persamaan ini dapat diterapkan jika efisiensi kolom yang dihitung sama untuk kedua analit. Jika efisiensi kolom berbeda untuk kedua analit maka:

\sqrt{N} digantikan oleh $\sqrt[4]{N_A N_B}$ dan K'_B digantikan oleh K'_A .

Dari Persamaan 5 dapat dilihat bahwa efisiensi kolom memiliki efek yang lebih kecil daripada yang dapat diperkirakan terhadap resolusi dan $2 \times$ peningkatan efisiensi hanya menghasilkan $1,41 \times$ peningkatan resolusi. Namun, peningkatan faktor kapasitas telah memiliki efek yang nyata pada resolusi. Faktor kapasitas memberikan efeknya yang terkuat terhadap pemisahan melalui faktor α , yang juga dapat dinyatakan sebagai faktor kapasitas relatif. Cara paling sederhana untuk meningkatkan faktor kapasitas adalah mengubah komposisi pelarut fase gerak pada kromatografi cair atau suhu pada kromatografi gas.

Contoh perhitungan 10.1

Suatu kolom memiliki efisiensi sebesar 14000 pelat teoretis. Kolom tersebut memiliki nilai t_0 sebesar 1,3 menit. Dua analit memiliki waktu retensi 10,4 dan 12,2. Hitung faktor resolusinya.

$$K'_{A} = \frac{10,4 - 1,3}{1,3} = 9,4$$

$$K'_{B} = \frac{12,2 - 1,3}{1,3} = 11,2$$

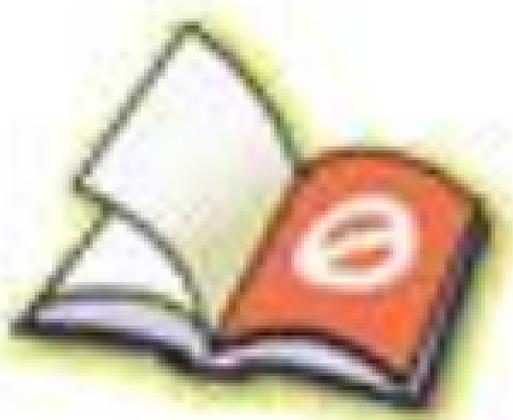
$$\alpha = \frac{11,2}{9,4} = 1,2$$

$$R_s = \frac{1}{4} \times \sqrt{14000} \times \frac{1,2 - 1}{1,2} \times \frac{11,2}{1 + (9,4 + 11,2)/2} = 50$$

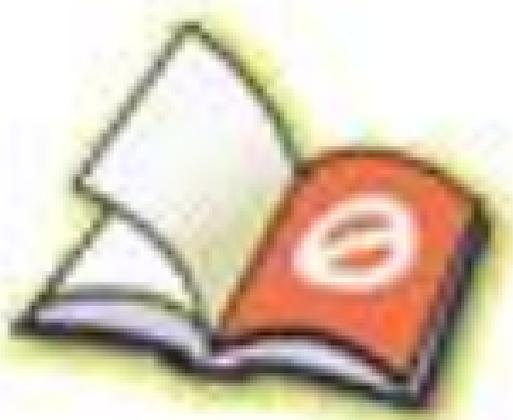
Gambar 10.8 menunjukkan efek penurunan % pelarut organik dalam pemisahan kromatografi fase-balik dua analit A dan B (lihat Bab 12). Kolom tersebut memiliki t_0 1,2 menit; maka perubahan komposisi telah mengubah faktor kapasitas untuk analit A dari 6,4 menjadi 8,1 (% perubahan = 26) dan faktor kapasitas untuk B dari 7,0 menjadi 10,0 (% perubahan = 43). Jika laju perubahan faktor kapasitas untuk kedua analit dengan perubahan pada komposisi fase gerak berbeda, hal ini menunjukkan beberapa perbedaan dalam mekanisme retensinya. Seringkali perubahan sederhana dalam komposisi pelarut organik akan memadai untuk memberikan resolusi yang memadai antara kedua analit; namun, untuk pemisahan kritis melibatkan sejumlah komponen, selektivitas suatu metode mungkin perlu diubah dengan menggunakan campuran terner pelarut atau dengan mengubah kolom kromatografi untuk mengubah faktor α pada Persamaan 5.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Kromatografi Gas

Poin penting

Pendahuluan

Instrumentasi

Semprit
Sistem injeksi
Oven KG
Jenis kolom

Selektivitas fase diam cair

Indeks Kovats dan polaritas kolom
Contoh pemisahan campuran dengan KG

Penggunaan derivatisasi pada KG

Ringkasan parameter yang mengatur kinerja KG kapiler

Jenis/aliran gas pembawa

Suhu kolom
Panjang kolom
Pengisian fase ketebalan film
Diameter-dalam

Detektor KG

Penerapan KG dalam analisis kuantitatif

Analisis metiltestosteron dalam tablet
Analisis atropin dalam tetes mata
Kuantifikasi etanol dalam suatu formulasi

Penentuan residu pembuatan dan peruraian dengan KG

Penentuan asam pivalat dalam tetes mata dipivefrin

Penentuan dimetilanilin dalam injeksi bupivakain
Penentuan glutaraldehid residual dalam suatu film polimer

Penentuan pelarut residual

Prosedur BP yang khas
Penentuan pelarut residual dan pengotor atsiri dengan analisis ruang atas (*headspace analysis*)
Analisis perangkap pembersihan

Mikroekstraksi fase-padat (*solid-phase microextraction, SPME*)

Penerapan KG dalam bioanalisis

Soal-soal tambahan

POIN PENTING

Prinsip

Suatu fase gerak berbentuk gas mengalir di bawah tekanan melewati pipa yang dipanaskan dan disalut dengan fase diam cair atau dikemas dengan fase diam cair yang disalut pada suatu penyangga padat. Analit tersebut dimuatkan ke bagian atas kolom melalui suatu portal injeksi yang dipanaskan, tempat analit menguap. Analit ini kemudian berkondensasi di bagian atas kolom tersebut, yaitu pada suhu yang lebih rendah. Suhu oven kemudian dijaga agar tetap konstan ataupun diprogram agar meningkat secara bertahap. Ketika sudah berada di dalam kolom, pemisahan suatu campuran yang terjadi bergantung pada lamanya waktu relatif yang dibutuhkan oleh komponen-komponennya di dalam fase diam. Pemantauan efluen kolom dapat dilakukan dengan berbagai detektor.

(Berlanjut)



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



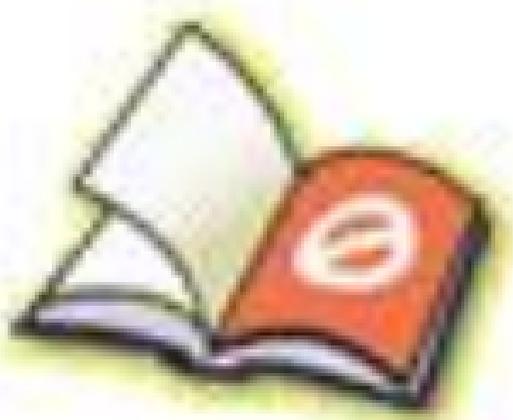
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



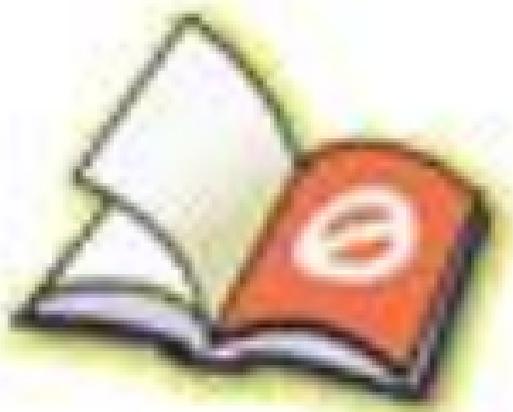
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Pada cara pisah, sampel dibagi menjadi dua bagian yang tidak sama, bagian yang lebih kecil akan masuk ke dalam kolom. Rasio pemisahan berkisar antara 10:1 dan 100:1, dengan bagian yang lebih besar dilepaskan dalam aliran keluar yang lebih tinggi pada lubang pemisah. Teknik ini digunakan pada sampel-sampel pekat. Pada cara tidak pisah, semua sampel dimasukkan ke dalam kolom dan katup pembersih injektor ditutup selama 0,5–1 menit setelah injeksi. Kesulitan yang dihadapi pada injeksi pisah/tidak pisah pada suatu kolom kapiler adalah dalam mencapai presisi injeksi yang baik.² Perhatian harus diberikan pada titik-titik tertentu:

- (i) Karena injeksi dilakukan pada suhu tinggi ke dalam suatu portal injeksi, harus dipertimbangkan kurangnya presisi akibat penguraian beberapa komponen dalam campuran sebelum zat-zat itu mencapai kolom. Oleh karena itu, penting untuk memastikan bahwa sampel mengalami kontak minimal dengan permukaan logam selama proses injeksi karena logam-logam tersebut dapat mempercepat penguraian.
- (ii) Jika digunakan cara injeksi pisah, perlu diperhatikan bahwa tidak ada perbedaan antara komponen-komponen yang lebih atsiri dan kurang atsiri dalam suatu campuran dalam hal proporsi yang hilang melalui lubang pemisah.
- (iii) Jika dilakukan injeksi tidak pisah, volume harus dipertahankan agar tetap di bawah lebih kurang 2 μl jika sampel tersebut berbalik melalui pengembangan pelarut secara cepat ketika sampel itu terlarut, baik ke dalam saluran pemasok gas atau saluran pembersihan. Setiap 1 μl pelarut mengembang paling besar melalui penguapan, misalnya metanol mengembang lebih kurang 0,66 ml/ μl atau etil asetat mengembang lebih kurang 0,23 ml/ μl pada tekanan atmosfer.
- (iv) Walaupun suatu baku internal (hlm. 344) digunakan untuk mengompensasi kehilangan, perlu dipertimbangkan kemungkinan baku internal tersebut dibedakan secara acak melalui perbedaan-perbedaan baik dalam keatsirian ataupun penguraian dibandingkan dengan sampel.
- (v) Pada cara tidak pisah, sampel harus terperangkap secara efisien di bagian atas kolom. Agar hal ini dapat dilakukan, sampel harus tak mudah atsiri, yaitu memiliki titik didih > sekitar 50° lebih tinggi daripada suhu awal kolom. Jika cukup atsiri, sampel harus disuntikkan ke dalam KG dalam pelarut yang keatsiriannya rendah, yang akan berkondensasi di bagian atas kolom, memerangkap sampel di dalam proses tersebut.
- (vi) Pemindahan sampel mungkin berlangsung lambat dan hal ini penting dipertimbangkan pada saat pengaturan waktu-waktu katup pembersihan, misalnya untuk aliran helium tipikal 1 ml/menit melalui suatu kolom kapiler, sekitar 0,5 menit akan diperlukan untuk memindahkan volume injeksi 2 μl etil asetat ke dalam kolom.
- (vii) Presisi kolom banyak ditingkatkan dengan penggunaan suatu pengambil sampel otomatis untuk melakukan injeksi karena alat tersebut dapat menghasilkan presisi yang lebih baik dalam pengukuran volume lebih kurang 1 μl daripada operator manusia.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



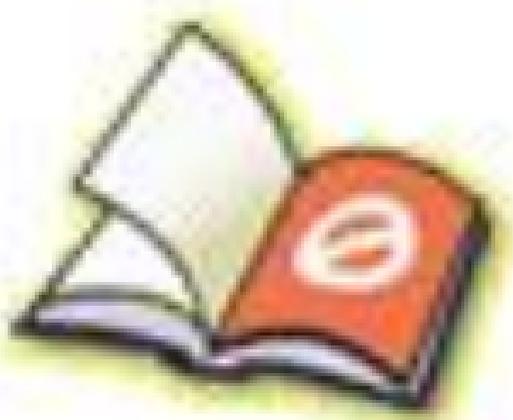
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



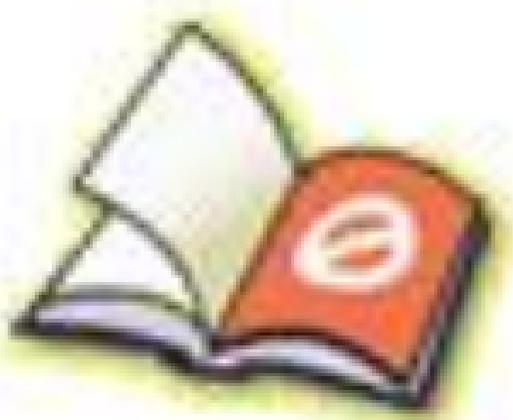
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

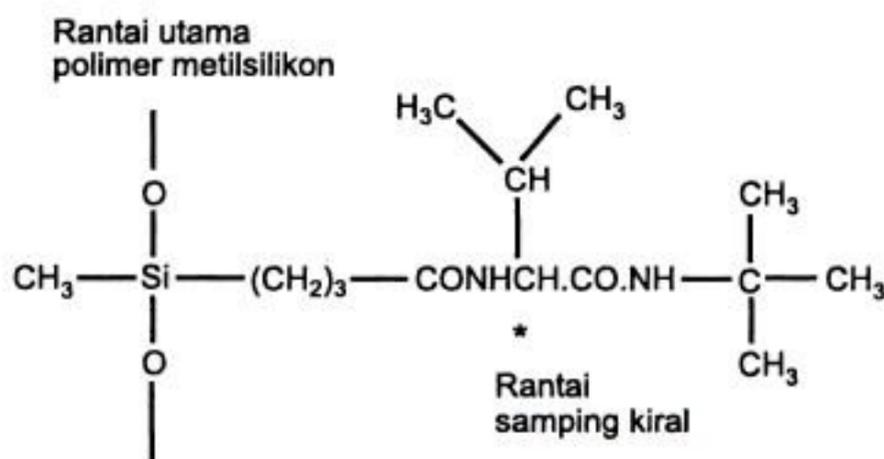
Selektivitas kiral

Jenis selektivitas kolom yang lebih canggih adalah perbedaan kiral. Karena enantiomer memiliki sifat-sifat fisik yang identik, enantiomer tersebut tidak dapat dipisahkan dengan kolom KG yang biasa. Namun, jika analit-analit kiral dimungkinkan untuk berinteraksi dengan lingkungan kiral, analit tersebut akan membentuk kompleks diastereomerik takpermanen, yang menyebabkan analit-analit itu ditahan oleh kolom dengan tingkat retensi yang berbeda. Seiring dengan meningkatnya sintesis obat murni secara enantiomerik untuk mengurangi efek samping, jenis pemisahan ini akan menjadi semakin penting.

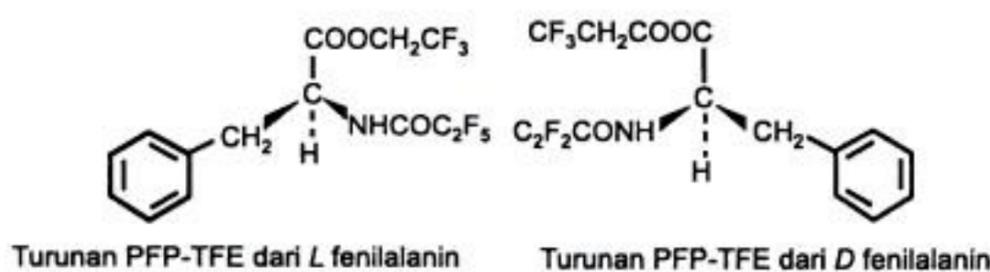
Chirasil Val adalah salah satu fase KG kiral yang pertama; fase ini memiliki satu pusat kiral, seperti yang dapat dilihat dalam strukturnya pada Gambar 11.10.

Sejumlah variasi pada jenis penyalutan ini telah disiapkan dan memberikan beberapa perbaikan dibandingkan dengan fase aslinya. Gambar 11.11 memperlihatkan turunan-turunan pentafluoropropionamida-trifluoroetil ester (PFP-TFE) yang atisiri dari *L* dan *D* fenilalanin. Gambar 11.12 menunjukkan pemisahan turunan PFP-TFE dari enantiomer *D* dan *L* asam amino fenilalanin dan *p*-tirosin dalam kolom Chirasil Val; *D(R)*-enantiomer yang pertama kali berelusi. Chirasil Val biasanya paling baik untuk pemisahan enantiomer asam amino; untuk banyak senyawa lain, fase ini tidak efektif.

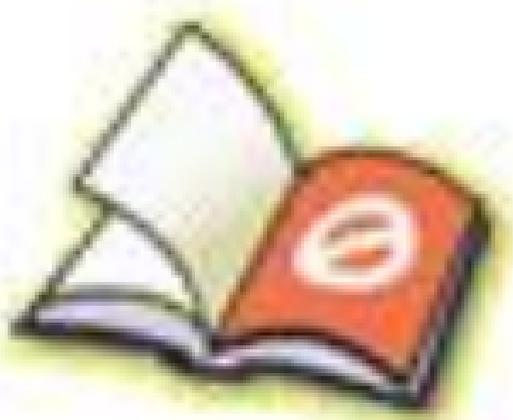
Belum lama ini, siklodekstrin teralkilasi telah dikembangkan sebagai fase kiral. Fase-fase ini didasarkan pada siklodekstrin, yang merupakan struktur siklik yang dibentuk dari 6, 7, atau 8 unit glukosa. Alkilasi gugus hidroksil dalam struktur siklodekstrin menurunkan titik lelehnya dan membuatnya cocok sebagai fase KG. Senyawa



Gbr. 11.10
Struktur Chirasil Val.



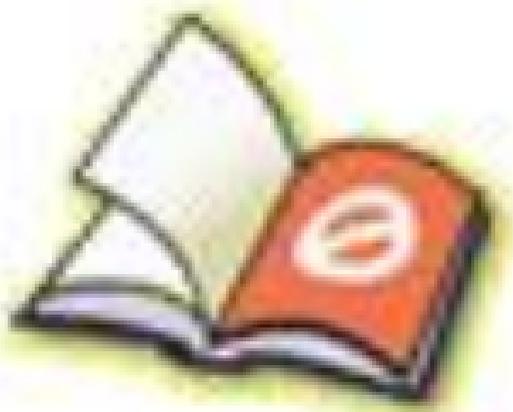
Gbr 11.11



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

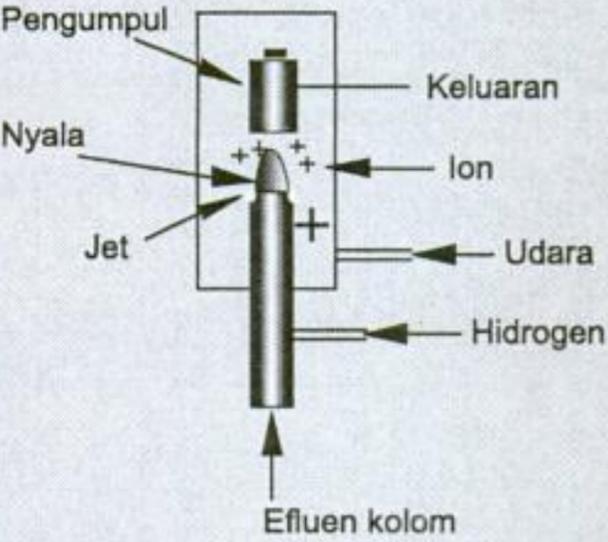
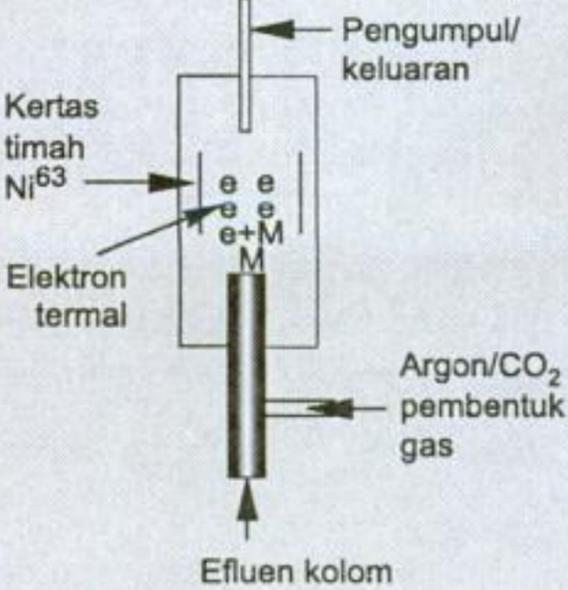
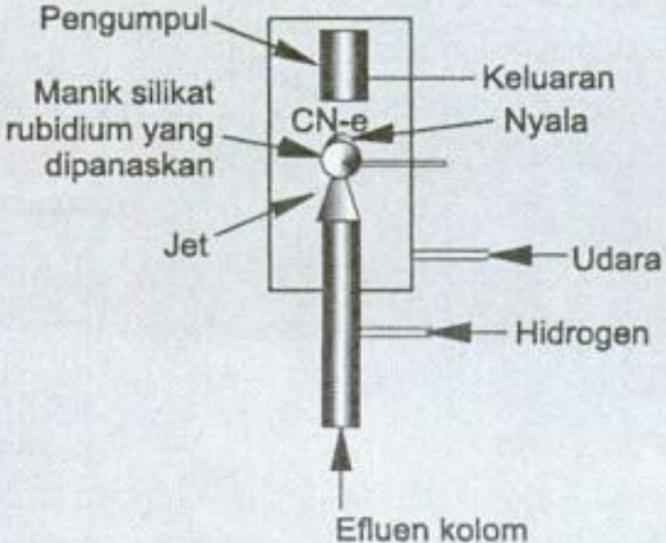


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

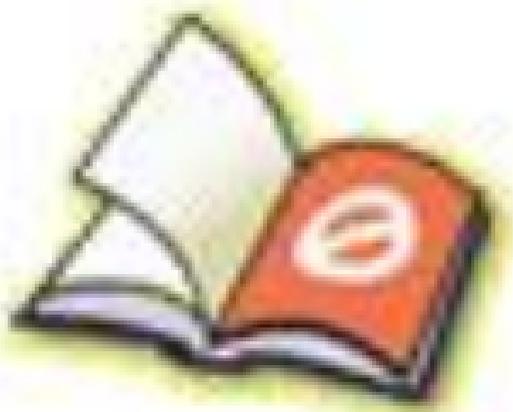


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

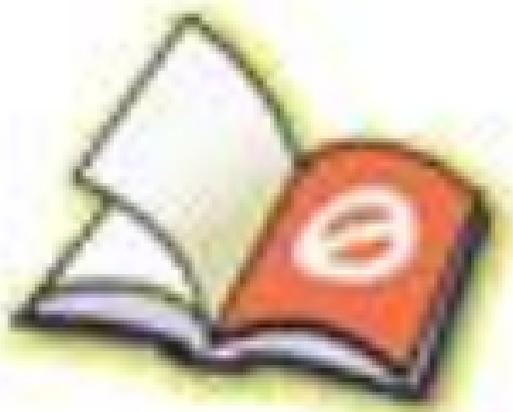
Tabel 11.3 Detektor KG yang umum digunakan

Detektor	Penerapan
<p>Ionisasi nyala</p> 	<p>Senyawa-senyawa dibakar di dalam nyala, menghasilkan ion-ion sehingga meningkatkan arus antara jet dan pengumpul. Mendeteksi senyawa-senyawa yang mengandung karbon/hidrogen. Tidak peka terhadap atom-atom karbon yang menempel pada oksigen, nitrogen, atau klor. Kombinasinya dengan KG kapiler dapat mendeteksi sampai minimal 100 pg–10 ng. Rentang respons linier yang lebar lebih kurang 10^6.</p>
<p>Tangkapan elektron</p> 	<p>Senyawa berafinitas tinggi untuk elektron-elektron memasuki detektor dan menangkap elektron-elektron yang dihasilkan oleh sumber radioaktif sehingga menurunkan arus ke pengumpul. Senyawa-senyawa yang banyak mengandung halogen dapat dideteksi pada kadar 50 fg–1 pg. Memiliki volume-dalam yang besar sehingga beberapa resolusi kromatografi mungkin hilang. Linieritas respons tidak sebesar DIN, misalnya 10^3. Terutama digunakan untuk analisis obat dalam cairan tubuh. Memiliki banyak penerapan dalam pemantauan lingkungan, misalnya klorofluorokarbon dalam atmosfer.</p>
<p>Nitrogen fosfor</p> 	<p>Senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen dan fosfor bereaksi dengan garam logam alkali di dalam detektor untuk menghasilkan spesi-spesi seperti CN^-, berbagai anion atau elektron berfosfor, yang semuanya menghasilkan peningkatan arus yang membangkitkan sinyal. Mendeteksi senyawa fosfor pada kadar pg, senyawa nitrogen pada kadar ng yang rendah. Sangat selektif terhadap senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen dan fosfor. Terutama digunakan dalam analisis obat dan metabolitnya di dalam jaringan dan cairan tubuh.</p>

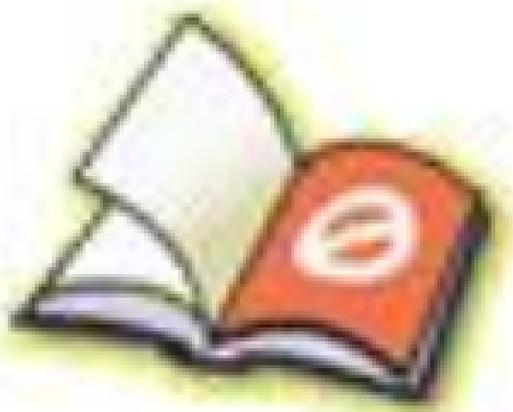
(Berlanjut)



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Contoh perhitungan 11.2

$$\text{Jumlah atropin sulfat dalam Larutan 1} = 0,4092 \times \frac{5}{100} = 0,02046 \text{ g.}$$

$$\text{Faktor respons untuk Larutan 1} = \frac{146363}{118510} = 1,2350.$$

$$\text{Faktor respons untuk Larutan 3} = \frac{117964}{145271} = 0,8120.$$

$$\text{Jumlah atropin sulfat dalam Larutan 3} = \frac{0,8120}{1,2350} \times 0,02046 \text{ g} = 0,01345 \text{ g.}$$

Ini adalah jumlah awal yang terdapat dalam 2 ml tetes mata; oleh karena itu, persentase b/v atropin sulfat dalam tetes mata = $0,01345 \times \frac{100}{2} = 0,6725\% \text{ b/v.}$

Latihan 11.3

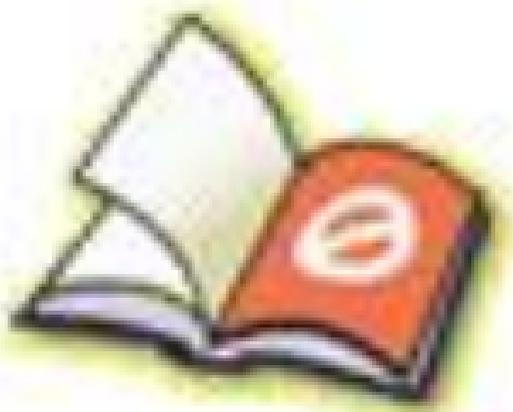
Hitung persentase kandungan hiosin hidrobromida yang dinyatakan dalam tablet untuk mabuk perjalanan dari data berikut ini. Penetapan kadar dilakukan dengan cara yang sama dengan penetapan kadar tetes mata yang dijelaskan di atas. Banyaknya atropin yang ditambahkan sebagai baku internal tidak masuk dalam perhitungan jika kita menganggap bahwa jumlah yang sama ditambahkan ke Larutan 1 dan 3.

- Bobot 20 tablet = 2,1881 g
- Bobot serbuk tablet yang digunakan = 0,9563 g
- Kandungan yang dinyatakan per tablet = 0,6 mg
- Konsentrasi larutan baku hiosin hidrobromida = 0,0341% b/v
- Volume larutan hiosin hidrobromida yang ditambahkan pada Larutan 1 = 15 ml
- Area puncak hiosin dalam Larutan 1 = 147881
- Area puncak atropin dalam Larutan 1 = 159983
- Area puncak hiosin dalam Larutan 3 = 167799
- Area puncak atropin dalam Larutan 3 = 173378.

Jawaban: 102,1%

Kuantifikasi etanol dalam suatu formulasi

Kromatografi gas merupakan salah satu metode yang bermanfaat untuk menghitung bahan-bahan yang sangat atsiri. Dalam hal ini, kolom-kolom diperlukan untuk menahan secara kuat senyawa-senyawa atsiri. Etanol digunakan dalam pembuatan tingtur dan dalam larutan disinfektan. Umumnya etanol dapat dihitung terhadap alkohol sejenis. Dalam penetapan kadar BP 1993 untuk larutan kloroxilenol, etanol dihitung terhadap baku internal propan-1-ol. Kolom yang digunakan dikemas dengan Porapak Q; Porapak adalah salah satu contoh fase diam polimer berpori yang menahan senyawa-



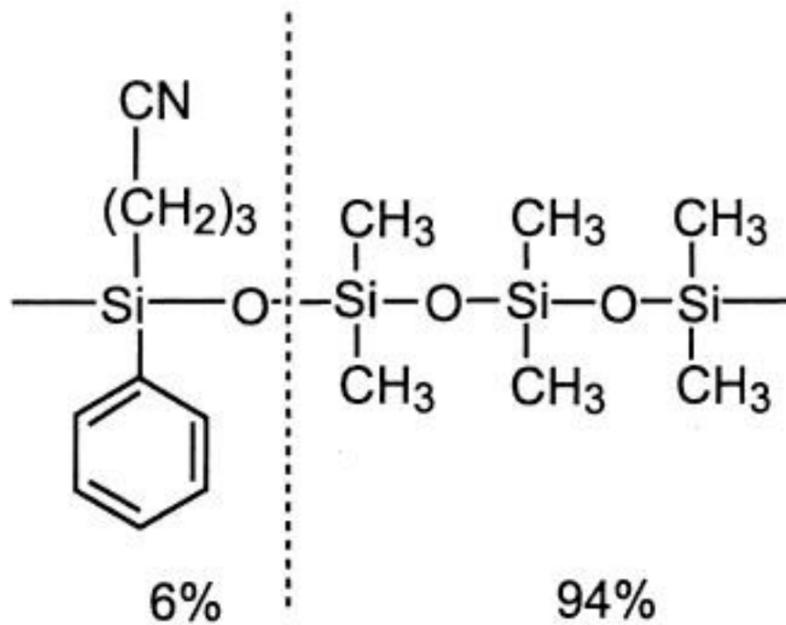
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 11.25
Struktur Rtx-1301,
suatu fase
polar lemah.

Analisis perangkat pembersihan

Bentuk analisis *headspace* lainnya adalah penggunaan alat perangkat pembersihan untuk memerangkap pengotor-pengotor atsiri. Dalam teknik ini, suatu gas, misalnya helium, digelembungkan melalui sampel tersebut, yang dilarutkan dalam pelarut yang cocok (biasanya air), dan pengotor-pengotor atsiri kemudian 'dihilangkan' dari larutan dan dilewatkan dalam aliran gas melalui suatu adsorban polimer, tempat pengotor tersebut menjadi terperangkap dan kemudian dipekatkan. Aliran gas selanjutnya dipindahkan sehingga lewat dengan arah yang berlawanan melalui perangkat polimer, yang dipanaskan agar mendesorpsi bahan-bahan atsiri yang terperangkap dan aliran gas tersebut kemudian dialihkan ke dalam KG. Jenis prosedur ini digunakan dalam analisis lingkungan untuk memekatkan bahan-bahan atsiri yang terdapat pada kadar yang rendah dalam air.

Mikroekstraksi fase-padat (*solid-phase microextraction, SPME*)

SPME telah berkembang pesat selama sepuluh tahun terakhir dan telah cukup banyak digunakan dalam analisis farmasi. SPME dapat digunakan untuk memekatkan sesepora senyawa organik baik dalam *headspace* suatu sampel ataupun dari suatu larutan berair. SPME menggunakan serat silika-terfusi halus yang disalut dengan polimer seperti polidimetilsiloksan. Serat tersebut tertutup di bagian dalam jarum logam sehingga serat dapat menembus melalui sekat karet ke dalam suatu vial. Serat itu kemudian didorong keluar dari ujung jarum logam tersebut dan disetimbangkan dengan sampel tersebut, misalnya jika pengambilan sampel dari fase berair sedang dilakukan, sampel diaduk dan dipanaskan. Serat tersebut kemudian ditarik ke dalam jarum dan selanjutnya jarum itu menembus melalui sekat KG; serat kemudian didorong keluar dari jarum logam sekali lagi sehingga analit-analit dapat didesorpsi secara termal pada kolom KG. Kini beberapa alat pengambil sampel otomatis pada KG menawarkan pilihan-



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



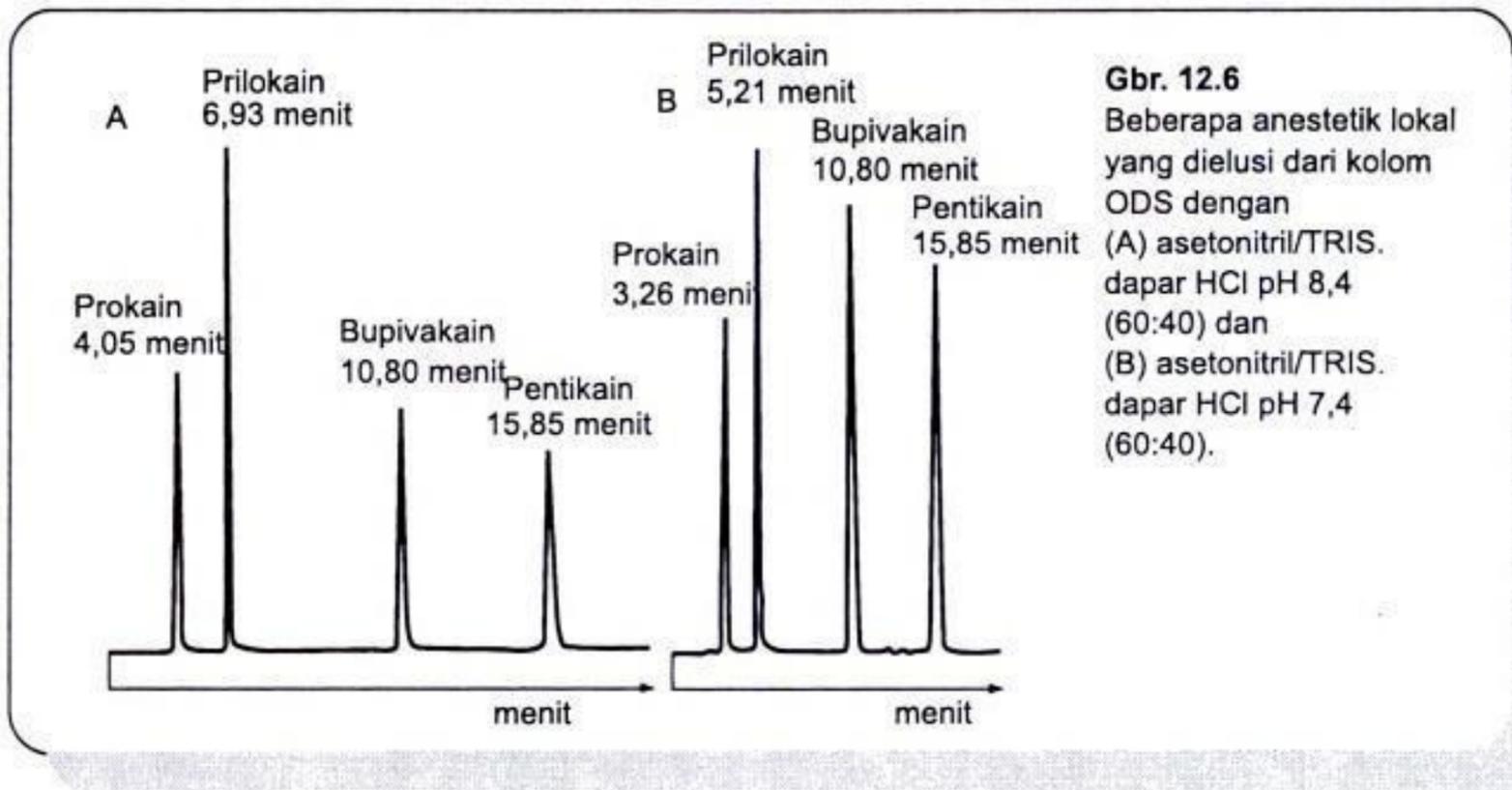
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

**Gbr. 12.6**

Beberapa anestetik lokal yang dielusi dari kolom ODS dengan (A) asetonitril/TRIS, dapar HCl pH 8,4 (60:40) dan (B) asetonitril/TRIS, dapar HCl pH 7,4 (60:40).

Latihan 12.3

Waktu retensi obat yang bersifat asam, naproksen, pada kolom ODS dengan t_0 2,3 menit dalam campuran yang mengandung asetonitril/dapar asetat 0,05 M pH 5,2 (40:60) adalah 9,07 menit. pK_a naproksen adalah 4,2; apakah yang akan terjadi pada efek penurunan pH fase gerak menjadi 4,2?

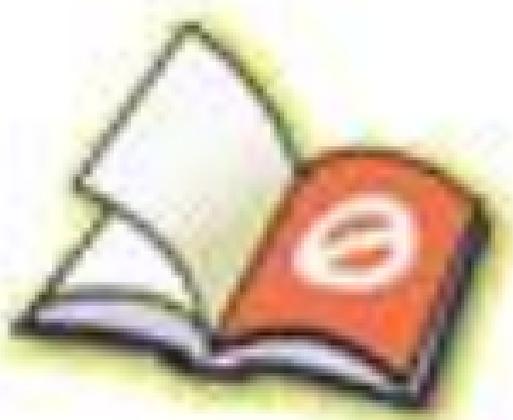
Jawaban: Menurut teori, waktu retensi akan sebesar 39,47 menit (dalam praktik, diketahui sebesar 19,78 menit. pK_a obat ini kemungkinan lebih rendah daripada nilai dalam pustaka di bawah kondisi fase gerak yang digunakan atau obat ini kurang terionisasi pada pH 5,2 daripada yang diharapkan pada fase gerak tersebut, yang memiliki tetapan dielektrik lebih rendah daripada air).

Kotak 12.1 Pertimbangan lain untuk pH fase gerak

Faktor utama yang sering diabaikan dalam penyiapan fase-fase gerak adalah efek penambahan pelarut organik ke dapar. Efek penambahan asetonitril terhadap nilai pK_a asam asetat telah dihitung sebagai berikut:⁶

Persen b/b asetonitril:	0	10	30	40	50
Nilai pK_a asam asetat:	4,75	5,0	5,6	6,0	6,4

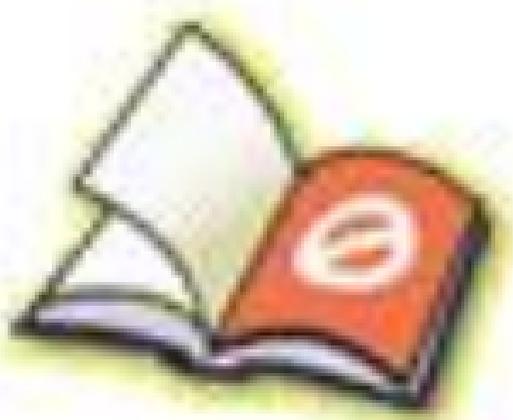
Jadi, penambahan pelarut organik menekan ionisasi asam tersebut, menurunkan $[H^+]$ dalam larutan, dan efeknya secara keseluruhan adalah peningkatan pH. Efek yang sama dapat teramati untuk dapar-dapar lain seperti fosfat dan sitrat, dan dengan pelarut organik 50% pH efektif fase gerak mungkin 1–1,5 unit lebih tinggi daripada pH dapar yang diukur sebelum pencampuran.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

sel aliran tidak diketahui, konsentrasi yang tepat dapat diperkirakan seperti yang ditunjukkan dalam Contoh perhitungan 12.3.

Detektor-detektor selektif cenderung digunakan jika terdapat sedikit analit dalam matriks kompleks seperti prosedur-prosedur bioanalisis, dengan komponen-komponen yang diekstraksi dari matriks biologis bersama dengan analit tersebut dapat menyebabkan interferensi. Beberapa senyawa terformulasi hanya memiliki kromofor yang sangat buruk – ini mencakup: gula, lipid, surfaktan, asam amino, dan beberapa golongan obat, misalnya sejumlah obat antikolinergik yang tidak memiliki kromofor. Dalam kasus-kasus ini, salah satu deteksi UV dapat digunakan sebagai alternatif.

Contoh perhitungan 12.3

Suatu volume elusi tipikal pada volume puncak kromatografi adalah 400 μ l. Jika 20 μ l (0,02 ml) larutan yang mengandung parasetamol pada konsentrasi 1 mg/100 ml diinjeksi ke dalam sistem KCTT dengan sel aliran yang memiliki panjang jalur 10 mm:

Jumlah parasetamol yang diinjeksi = $1 \text{ mg} \times 0,02/100 = 0,0002 \text{ mg}$.

Rata-rata konsentrasi parasetamol dalam volume puncak = $0,0002 \times 100/0,4 = 0,05 \text{ mg/100 ml}$.

Nilai $A(1\%, 1 \text{ cm})$ untuk parasetamol pada 245 nm adalah 668.

Absorbans suatu larutan 0,05 mg (0,00005 g) = $0,00005 \times 668 = 0,0334$.

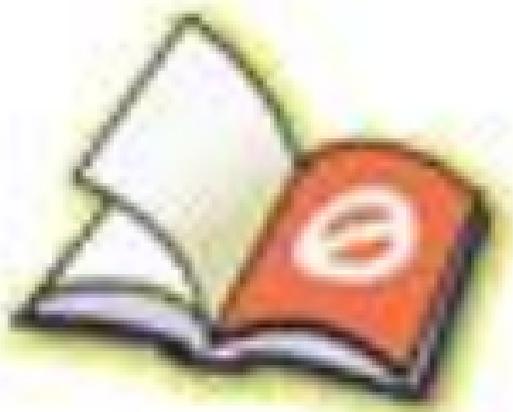
Rata-rata serapan yang melintasi puncak tersebut adalah 0,00334.

Jika puncak tersebut memiliki bentuk Gaussian, serapan maksimum untuk puncak tersebut adalah lebih kurang 1,5 kali rata-rata serapan, yaitu dalam hal ini 0,05 atau 50 unit miliabsorbans (mAU).

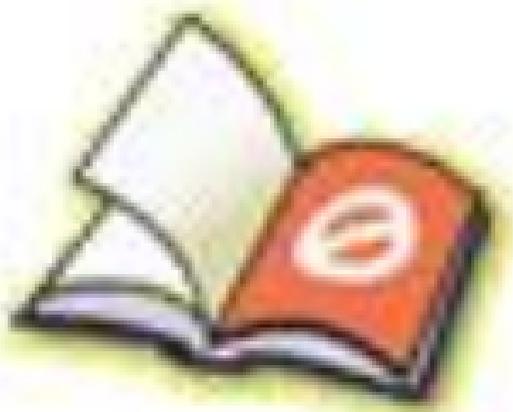
Kinerja detektor *diode array* (*diode array detector*, DAD)

Kadang-kadang mustahil untuk sepenuhnya yakin bahwa KCTT telah memisahkan semua senyawa di dalam suatu sampel secara kromatografis dan dapat diduga bahwa puncak kromatografi tertentu mungkin disebabkan oleh lebih dari satu komponen. DAD telah dikembangkan menjadi alat yang cukup canggih untuk menentukan kemurnian puncak-puncak kromatografi yang berelusi dari kolom KCTT. Karena keseluruhan spektrum UV/visibel diperoleh beberapa kali melewati lebar suatu puncak, ini menjadi cara untuk memeriksa kemurnian puncak tersebut dengan memeriksa variasi-variasi dalam bentuk spektrum serapan yang melewati puncak kromatografi tersebut. Gambar 12.11 memperlihatkan empat metode untuk melihat kemurnian suatu puncak dengan menggunakan informasi yang diperoleh dari DAD.

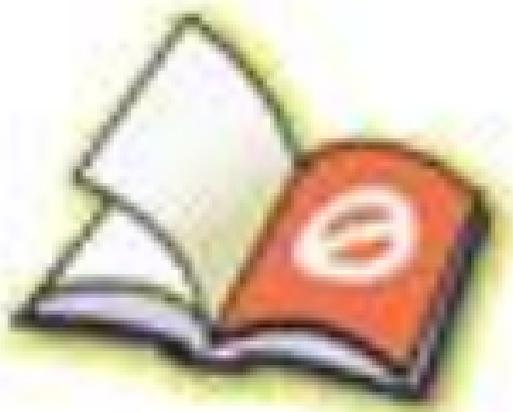
Dalam contoh yang ditunjukkan pada Gambar 12.11, spektrum apeks pada puncak tersebut (A) (dengan interferensi oleh pengotor kemungkinan paling kecil) dibandingkan dengan spektrum dari tepi awal puncak tersebut (B). Perbandingan masing-masing spektrum dari berbagai tempat melewati lebar puncak juga dapat dilakukan



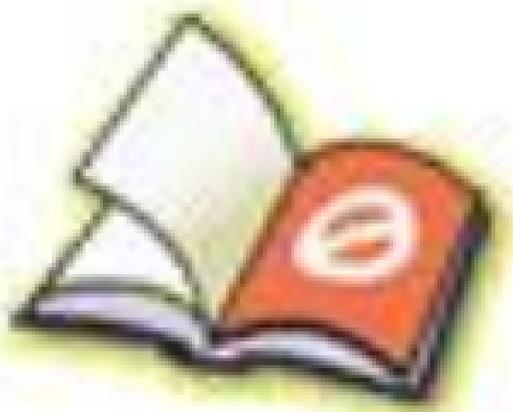
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



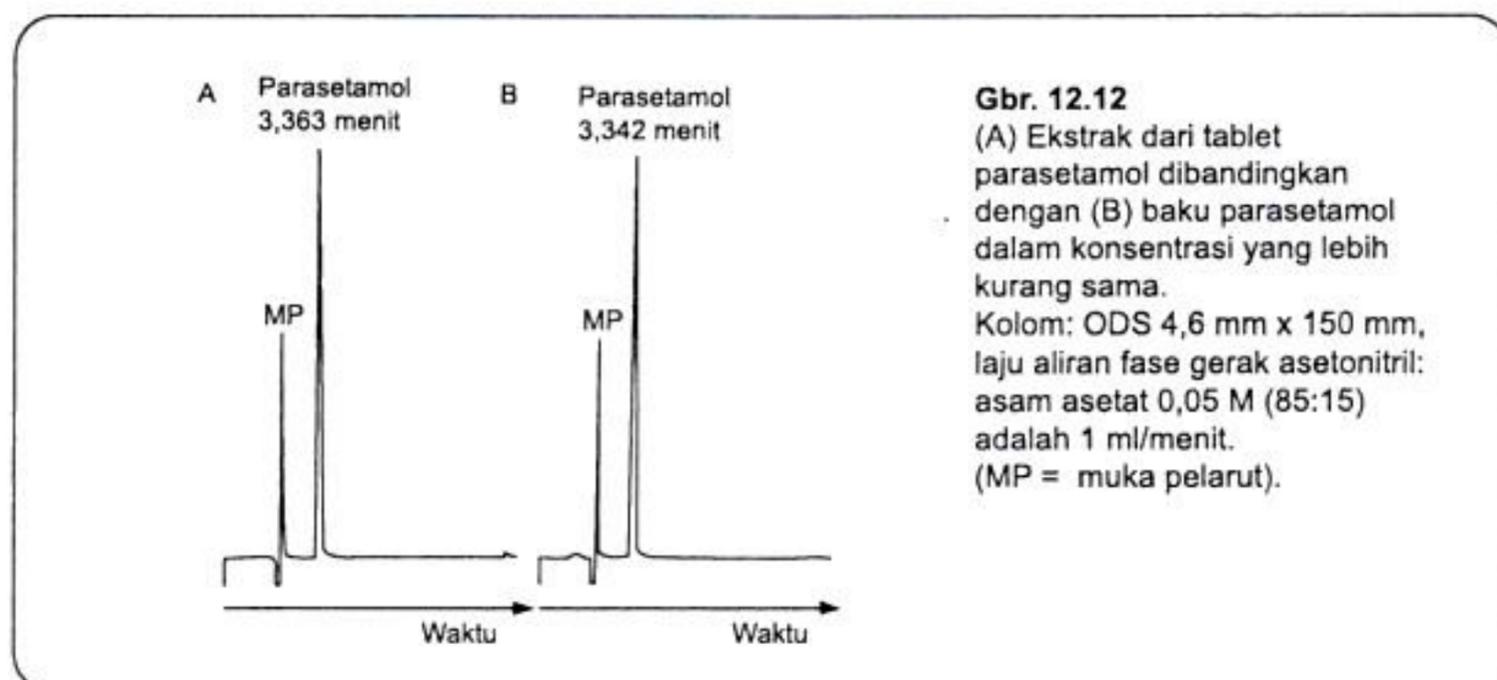
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



dahkan 25 ml alikuot filtrat ke dalam labu tentukur 100 ml dan sesuaikan volumenya menjadi 100 ml dengan asam asetat (0,05 M).

- (vii) Ambil 10 ml ekstrak yang diencerkan dan pindahkan ke dalam labu tentukur 100 ml dan encerkan sampai 100 ml dengan asam asetat 0,05 M.
- (viii) Analisis baku dan ekstrak tersebut dengan menggunakan kondisi kromatografi yang ditentukan sebelumnya.

Data yang diperoleh

- Timbang 20 tablet = 12,1891 g
- Timbang serbuk tablet yang diambil = 150,5 mg
- Timbang baku kalibrasi parasetamol = 126,1 mg.

Area puncak parasetamol yang diekstraksi dari tablet = 45205

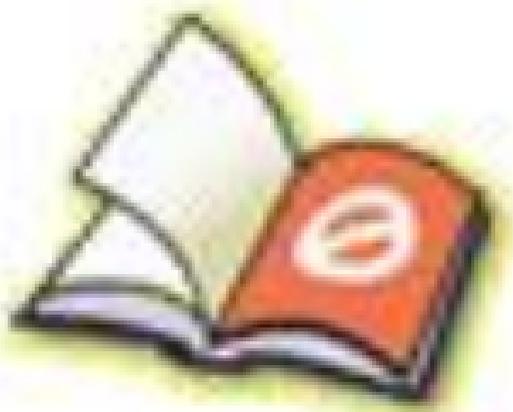
Hitung persentase kandungan parasetamol yang dinyatakan dalam serbuk tablet yang dianalisis.

Grafik yang ditunjukkan dalam Gambar 12.13 diperoleh dari data yang diberikan dalam Tabel 12.4; garis tersebut lurus dengan $r = 1,000$.

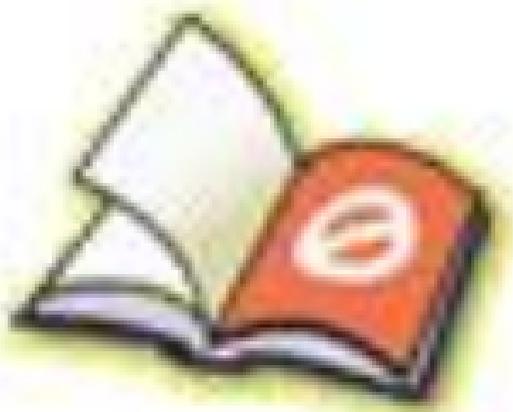
Persamaan garis itu dapat digunakan untuk menghitung jumlah parasetamol dalam ekstrak serbuk tablet yang diencerkan.

Tabel 12.4 Data yang diperoleh dari analisis larutan baku parasetamol dengan KCTT

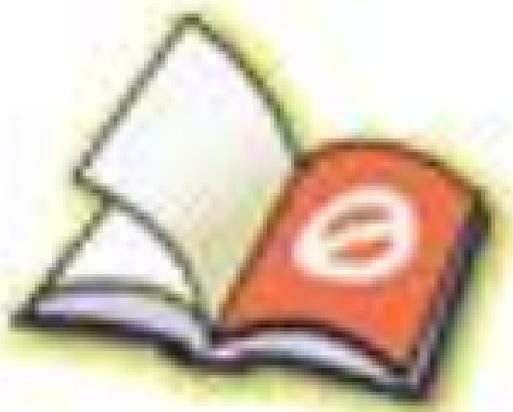
Konsentrasi larutan baku parasetamol mg/100 ml	Area puncak kromatografi
0,5044	17994
1,009	36109
1,513	54121
2,018	71988
2,522	89984



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Kotak 12.2 Sifat-sifat baku internal

- Idealnya harus mirip dengan struktur analit tersebut
- Harus stabil
- Harus secara kromatografi dihasilkan dari analit tersebut dan semua eksipien terdapat dalam kromatogram ekstrak formulasi tersebut
- Harus mengelusi sedekat mungkin dengan analit yang memiliki batasan-batasan di atas
- Untuk bobot tertentu harus menghasilkan respons detektor yang sama dengan yang dihasilkan oleh analit tersebut.

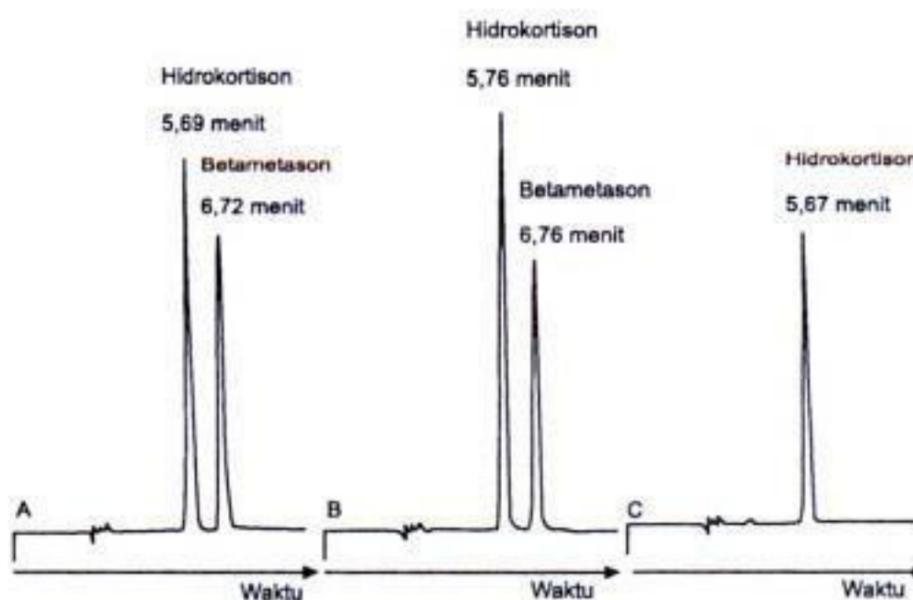
krim akan segera menyumbat kolom tersebut jika tidak dilakukan usaha untuk menghilangkannya. Kortikosteroid cukup polar untuk tetap berada dalam lapisan metanol/air karena golongan obat ini memiliki kelarutan yang rendah dalam heksan, sedangkan eksipien yang berminyak dihilangkan dengan cara ekstraksi ke dalam heksan. Natrium klorida (NaCl) dimasukkan ke dalam larutan ekstraksi sampel untuk mencegah pembentukan emulsi jika ekstrak tersebut dikocok dengan heksan. Larutan 2, dengan baku internal diabaikan, dibuat untuk memeriksa bahwa tidak ada eksipien dalam sampel tersebut yang akan mengganggu puncak kromatogram akibat adanya baku internal.

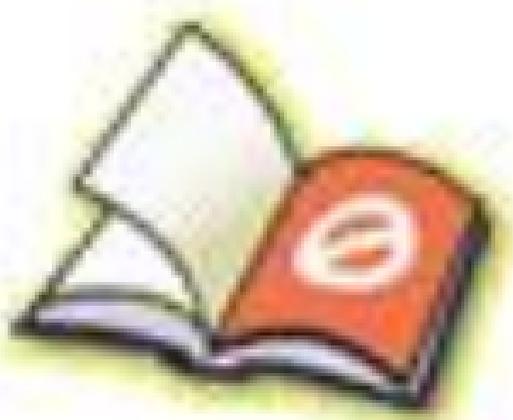
Garis besar singkat tentang penetapan kadar

- Siapkan campuran metanol/larutan NaCl berair 15% (2:1).
- Siapkan Larutan 1 sebagai berikut:
 - Campurkan bersama-sama 10 ml larutan hidrokortison 0,1% b/v dan tambahkan 10 ml larutan betametason 0,1% b/v dalam metanol (larutan baku internal)
 - Tambahkan 20 ml metanol dan kemudian tambahkan air untuk mengencerkan larutan tersebut sampai 100 ml.

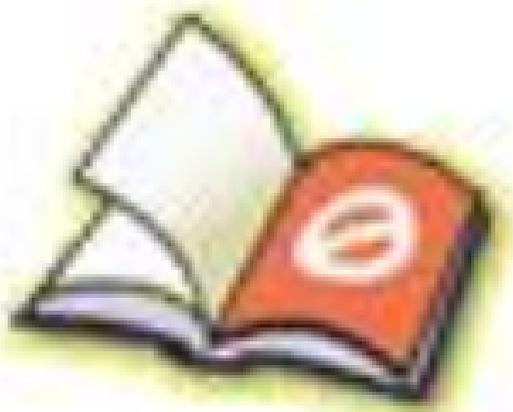
Gbr. 12.16

Kromatogram dari analisis krim hidrokortison dengan betametason sebagai baku internal pada kolom ODS (25 cm x 4,6 mm) dengan metanol/air (70:30) sebagai fase gerak. (A) Baku kalibrasi (Larutan 1). (B) Ekstrak krim + baku internal (Larutan 3). (C) Ekstrak krim tanpa penambahan baku internal (Larutan 2).





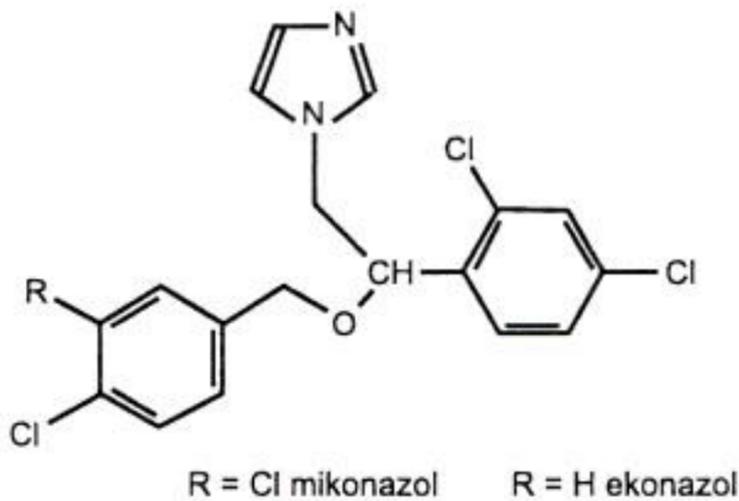
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



Gbr. 12.17
Struktur
mikonazol dan
ekonazol.

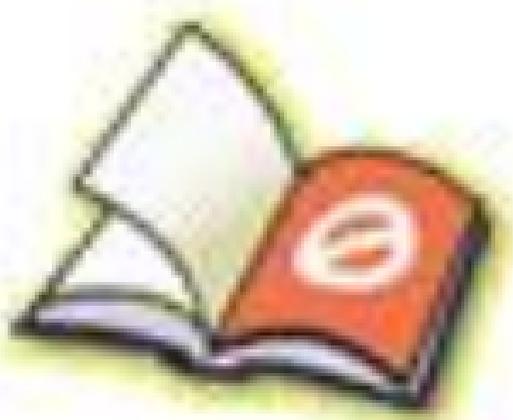
Labu-labu yang mengandung seri kalibrasi diencerkan volumenya dengan fase gerak. Sampel krim yang mengandung 20 mg mikonazol nitrat dikocok dengan 25 ml larutan stok ekonazol nitrat selama 5 menit. Sampel tersebut kemudian diekstraksi dengan 50 ml heksan, dan lapisan heksan tersebut dipisahkan dan dibuang. Gas nitrogen kemudian ditiupkan melalui larutan tersebut selama beberapa menit untuk menghilangkan sisa heksan dan larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam labu tentukur 100 ml, diencerkan volumenya dengan fase gerak dan sebagian (20 ml) disaring sebelum dianalisis. Panjang gelombang deteksi yang digunakan adalah 220 nm karena mikonazol dan ekonazol tidak memiliki kromofor yang kuat. Kolom ODS 15 cm × 4,6 mm pada laju aliran 1 ml/menit, ekonazol mengelusi pada lebih kurang 6 menit dan mikonazol mengelusi pada lebih kurang 10 menit; kelebihan atom klor di dalam struktur mikonazol sangat meningkatkan lipofilisitasnya.

Data yang diperoleh

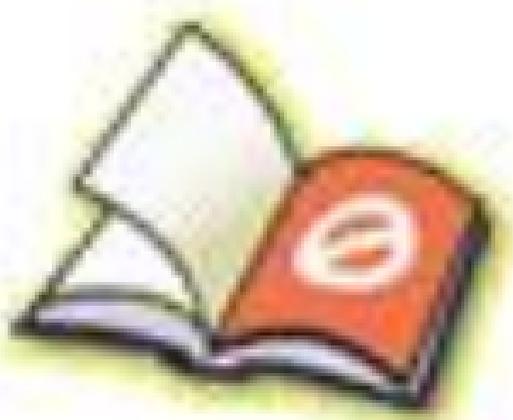
- Bobot mikonazol yang digunakan untuk menyiapkan larutan stok = 201,5 mg
- Bobot krim yang digunakan untuk penetapan kadar = 1,0368 g
- Area puncak mikonazol yang diperoleh dari sampel = 119923
- Area puncak ekonazol yang diperoleh dari sampel = 124118.

Tabel 12.6

Konsentrasi mikonazol dalam larutan kalibrasi mg/100 ml	Area puncak mikonazol	Area puncak ekonazol	$\frac{\text{Area mikonazol}}{\text{Area ekonazol}}$
12,09	70655	123563	0,5718
16,12	96218	125376	0,7674
20,15	119793	126783	0,9449
24,18	151310	127889	1,183
28,21	166673	125436	1,329



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

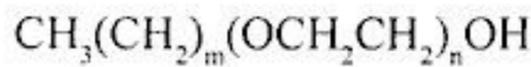


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

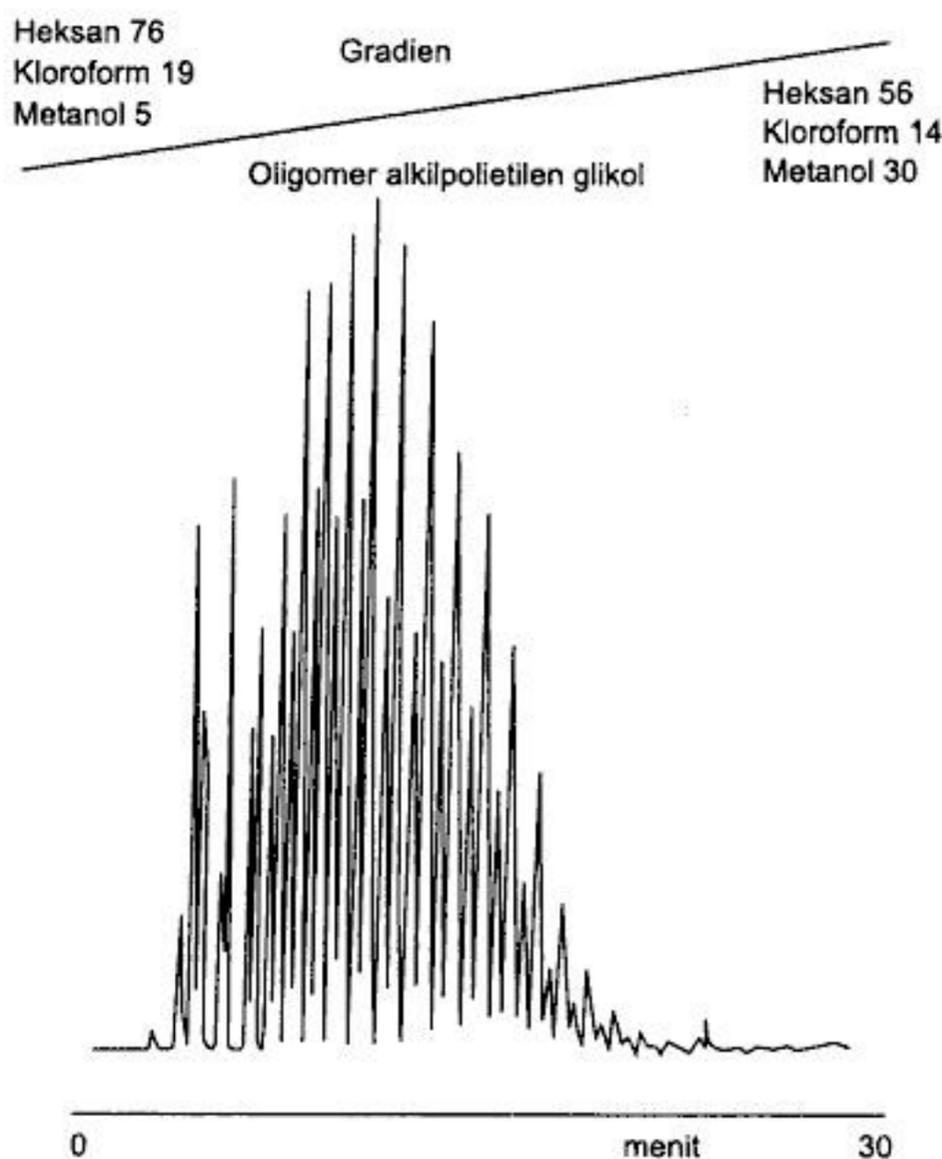


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

ionik biasanya merupakan campuran, misalnya Cetomacrogol 1000, yang memiliki rumus umum:



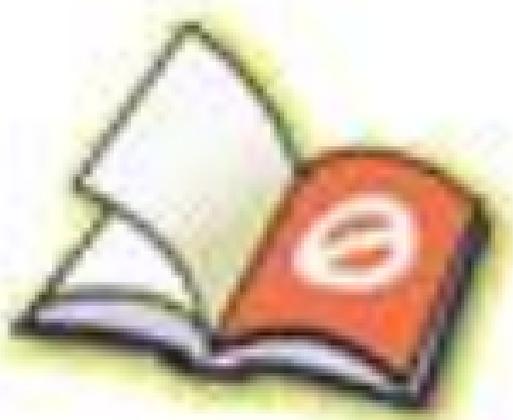
dengan m adalah 15 atau 17 dan n adalah 20 sampai 24. Senyawa-senyawa ini bersifat ampifilik dan memiliki afinitas untuk air dan pelarut organik. Analisis senyawa ini secara KCTT membutuhkan suatu detektor universal yang tidak membutuhkan zat-zat untuk memiliki kromofor agar dapat mendeteksinya. Dahulu detektor RI digunakan untuk tipe analisis ini, tetapi ELSD memungkinkan elusi gradien untuk digunakan, yang memberikan keuntungan karena campuran kompleks mengandung senyawa dengan lipofilisitas atau polaritas yang sangat berbeda. Sebagai contoh, campuran yang sama dengan Cetomacrogol 1000 telah dipisahkan pada kolom aminopropil polar dengan menggunakan gradien antara heksan/kloroform/metanol (76:19:5) dan heksan/kloroform/metanol (56:14:30) selama 30 menit dengan pemantauan ELSD eluen¹⁰ seperti yang diperlihatkan dalam Gambar 12.23. Kandungan metanol pada



Gbr. 12.23
Elusi surfaktan non-ionik dengan panjang rantai yang berbeda-beda dari suatu kolom aminopropil dengan gradien heksan/kloroform/metanol dan deteksi ELSD. Digambar kembali dari Referensi 10.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

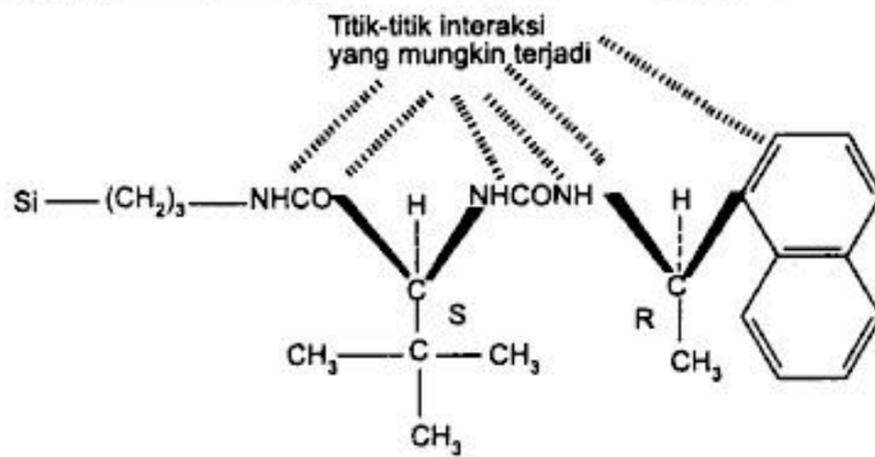


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



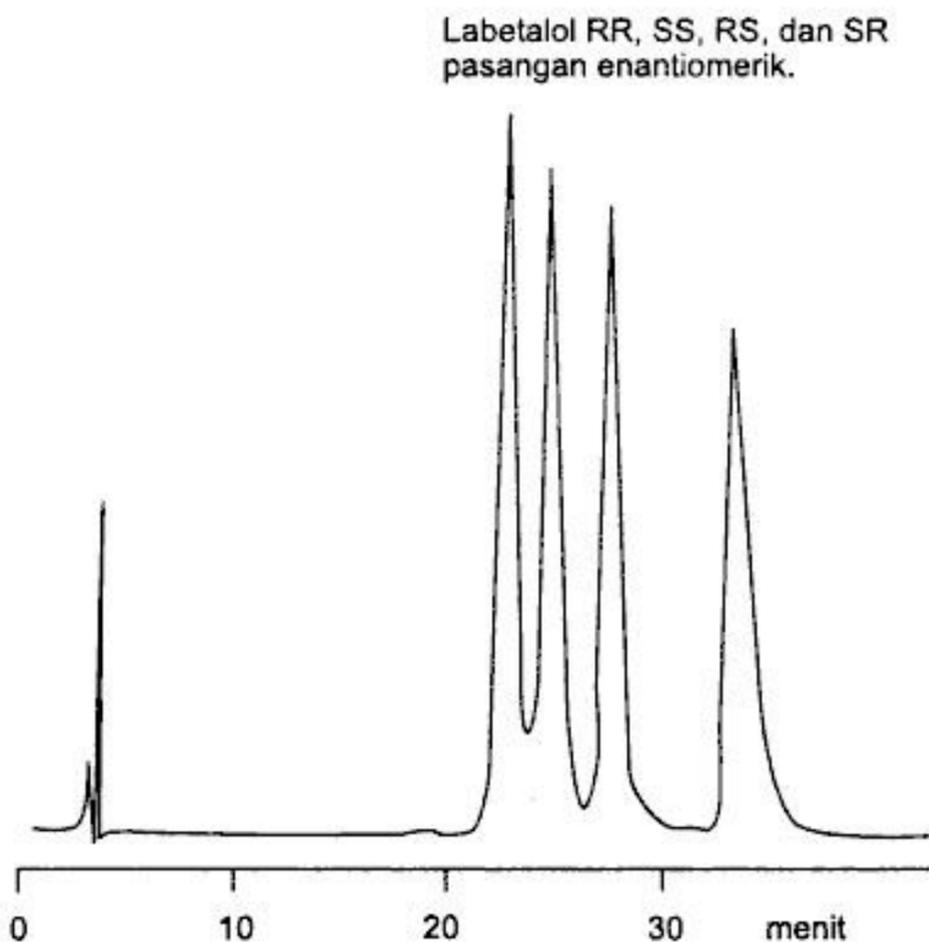
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 12.27
Titik-titik potensial
untuk interaksi
asimetrik dengan
fase KCTT kiral
tipe-Pirkle.
Tipe Pirkle: Chirex 3020

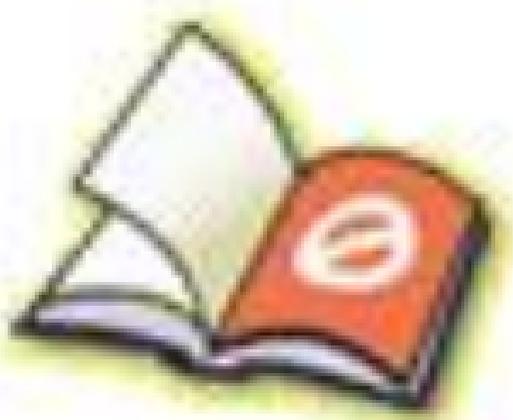


Gambar 12.28 menunjukkan pemisahan dua pasangan enantiomer (RR, SS, dan RS, SR) yang terdapat dalam labetalol (lihat Bab 2, hlm. 54–55) pada Chirex 3020.

Fase KCTT kiral lain yang populer didasarkan pada siklodekstrin yang menempel pada permukaan gel silika. Siklodekstrin terdiri atas 6, 7, atau 8 unit glukosa yang bersama-sama terhubung ke dalam cincin. Siklodekstrin mengikuti bentuk seperti tong dan bagian hidrofobik suatu analit terdapat di dalam rongga tersebut. Untuk pemisahan yang baik, pusat kiral di dalam molekul harus sejajar dengan posisi kiral 2 dan kiral 3 pada unit glukosa, yang terletak mengelilingi pinggiran tong, dan yang membawa gugus hidroksil yang dapat berinteraksi dengan gugus yang dilekatkan pada pusat kiral melalui kontak tiga titik. Gambar 12.29 menunjukkan senyawa β -bloker propranolol, yang dimasukkan ke dalam rongga siklodekstrin.



Gbr. 12.28
Pemisahan empat enantiomer labetalol pada Chirex 3020. Fase gerak heksan/1,2-dikloroetan/etanol (mengandung satu bagian dalam 20 asam trifluoroasetat) (60:35:5). Direproduksi dengan izin dari Phenomenex Inc.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Soal-soal tambahan (Lanjutan)

6. Analisis dilakukan terhadap suatu krim yang dinyatakan mengandung 2% b/b mikonazol dan hidrokortison. Kolom ODS digunakan bersama suatu fase gerak yang terdiri atas asetonitril/dapar asetat pH 4,0 (70:30) dan eluen tersebut dipantau pada 220 nm. Kurva kalibrasi rentang-sempit, dalam $\pm 20\%$ konsentrasi yang diharapkan dari tiap analit dalam ekstrak sampel, disiapkan untuk masing-masing analit dengan cara memplot perbandingan area-area puncak analit terhadap baku internal dalam jumlah yang tetap untuk kedua analit. Baku internal yang digunakan adalah: ekonazol untuk mikonazol dan hidrokortison 21-asetat untuk hidrokortison.

Bagaimana waktu retensi hidrokortison dibandingkan dalam fase gerak yang digunakan dalam penetapan kadar ini dengan fase gerak yang mengandung metanol/dapar asetat pH 4,0 (70:30) dan menurut anda mengapa hidrokortison 21-asetat digunakan sebagai baku internal dan bukan betametason yang digunakan dalam penetapan kadar yang dibahas sebelumnya dalam bab ini?

Sarankan suatu prosedur ekstraksi yang cocok untuk mengekstraksi analit tersebut dari krim dan untuk menghilangkan eksipien berminyak dan tunjukkan sediaan lainnya yang mungkin diperlukan sebelum analisis.

Berikut ini adalah data yang diperoleh:

- Bobot krim yang digunakan untuk penetapan kadar = 1,0223 g
- Volume akhir ekstrak dari krim = 100 ml
- Persamaan garis untuk mikonazol $y = 0,044 x - 0,013$ $r = 0,999$
- Persamaan garis untuk hidrokortison $y = 0,048 x - 0,024$ $r = 0,999$

dengan x dalam mg/100 ml.

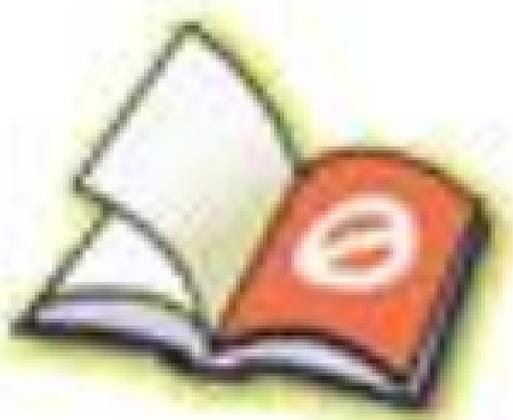
- Area puncak hidrokortison dalam ekstrak sampel = 62114
- Area puncak hidrokortison asetat dalam ekstrak sampel = 64452
- Area puncak mikonazol dalam ekstrak sampel = 35557
- Area puncak ekonazol dalam ekstrak sampel = 38385

Hitung persen b/v mikonazol dan hidrokortison dalam krim tersebut.

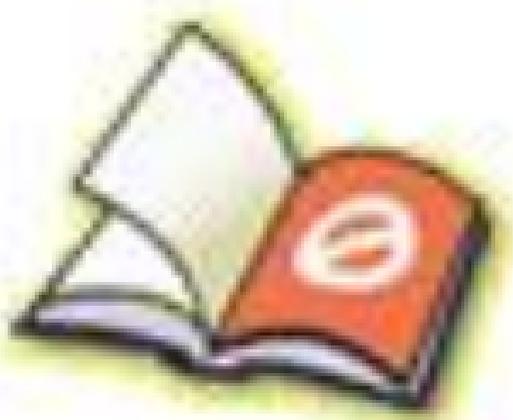
Jawaban: hidrokortison 2,013% b/b; mikonazol 2,088% b/b

Referensi

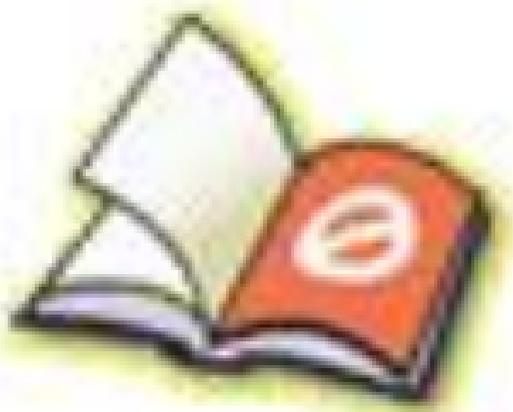
1. V.R. Meyer. Practical High Performance Liquid Chromatography. J. Wiley and Sons, Chichester (1994).
2. K. Robards, P.R. Haddad and P.E. Jackson Principles and Practice of Modern Chromatography. London Academic Press Inc. (1994).
3. G. Lunn and N. Schmuff. HPLC Methods for Pharmaceutical Analysis. Wiley Interscience, Chichester (1997).
4. C.M. Riley, W.J. Lough and I.W. Wainer. Pharmaceutical and Biomedical Applications of Liquid Chromatography. Elsevier, Amsterdam (1994).
5. L.R. Snyder and J.J. Kirkland. Practical HPLC Method Development. Wiley Interscience, Chichester (1997).
6. J. Barbosa and V. Sanznebot. Anal. Chem. Acta. 283, 320–325 (1993).
7. A. Kaibara, M. Hirose and T. Nakagawa. Chromatographia. 30, 99–104 (1990).
8. M.R. Euerby and P. Petersson. J. Chromatogr. 994, 13–36 (2003).
9. R.D. Ricker, L.A. Sandoval, B.J. Permar and B.E. Boyes. J. Pharm. Biomed. Anal. 14, 93–105 (1995).
10. N. Martin. J. Liquid Chromatogr. 18, 1173–1194 (1995).
11. B-M. Eriksson, S. Gusafsson and B.A. Persson. J. Chromatogr. Biomed. Apps. 278, 255–263 (1983).



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

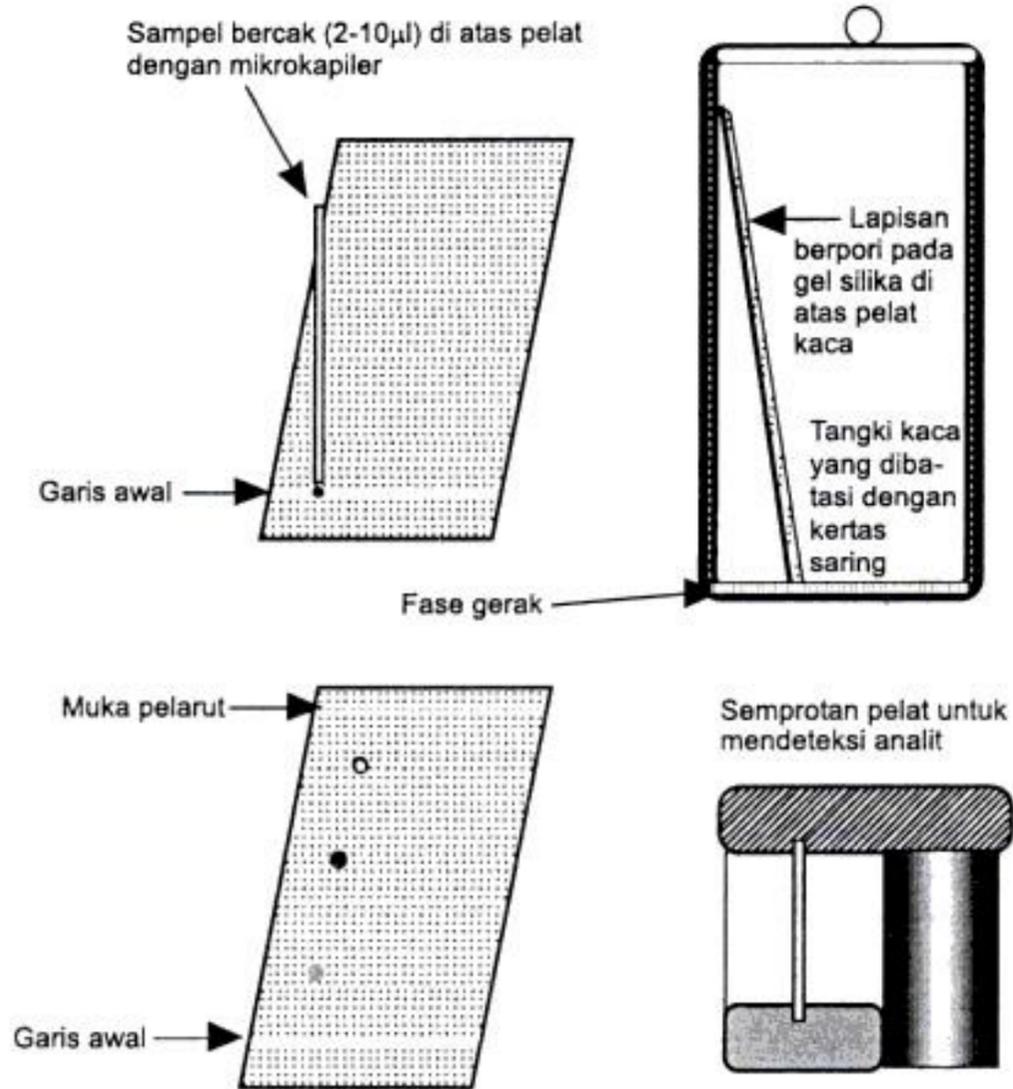


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 13.1
Peralatan dasar
untuk kromatografi
lapis-tipis.



dalam kisaran 2–25 μm . Metode yang digunakan untuk sistem ini adalah sebagai berikut:

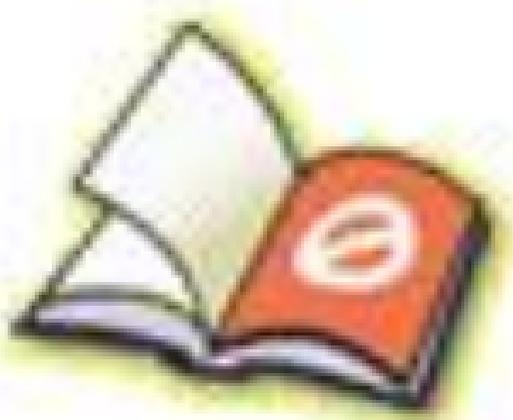
- (i) Beberapa μl larutan sampel ditotolkan secara perlahan pada pelat di garis awal. Jika lebih dari $\pm 1 \mu\text{l}$ digunakan sekaligus, bercak akan menyebar terlalu jauh. Bercak tersebut harus dapat mengering di antara masing-masing penotolan sebanyak 1 μl . Sampel yang dimasukkan biasanya 20 μg .
- (ii) 0,5 cm bagian bawah pelat tersebut dicelupkan ke dalam fase gerak yang terdapat di dalam tangki dan fase gerak cair dapat bergerak naik pada pelat gel silika melalui kerja kapiler.
- (iii) Semakin polar suatu senyawa, semakin besar mengadsorpsi (partisi ke dalam) fase diam gel silika, semakin sedikit waktu yang dibutuhkan fase gerak untuk bergerak menaiki pelat sehingga semakin pendek jarak tempuh senyawa tersebut menaiki pelat pada waktu tertentu.

Kromatogram KLT

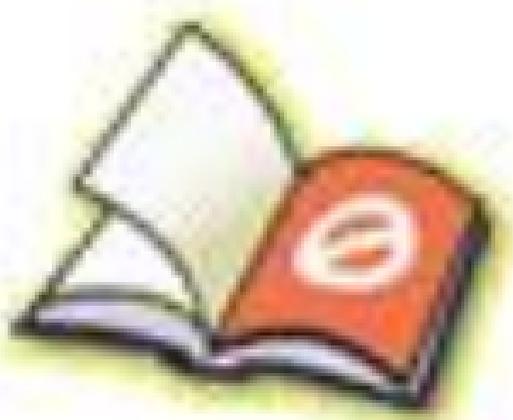
Diagram suatu pelat kromatografi lapis-tipis yang khas setelah dikembangkan dan disemprot untuk menentukan tempat analit-analit ditunjukkan pada Gambar 13.2.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

sistem 3, dengan gugus karboksil dalam strukturnya akan terionisasi karena adanya amonia dalam fase gerak. Juga dapat dilihat bahwa polaritas fase gerak yang mengandung campuran kloroform dan aseton sama dengan polaritas etil asetat murni.

Kisaran uji KLT umum yang tersedia untuk golongan obat yang berbeda telah dikaji baru-baru ini.⁴

Modifikasi adsorban KLT

Penanganan gel silika dengan KOH

Untuk analisis senyawa-senyawa basa, gel silika yang telah disemprot dengan larutan KOH dalam metanol dapat digunakan. Penanganan pelat dengan basa menjamin bahwa senyawa basa dikromatografi sebagai basa-basa bebasnya dan bukan sebagai garamnya. Garam-garam amin memiliki mobilitas yang sangat rendah dalam fase gerak berbasis pelarut organik karena senyawa basa cenderung berinteraksi kuat dengan gugus silanol pada permukaan silika; adanya KOH dalam fase diam menekan interaksi ini. Fase gerak yang digunakan pada tipe sistem ini biasanya juga mengandung komponen basa. Contoh-contoh fase gerak yang digunakan untuk analisis obat yang bersifat basa ini pada gel silika yang diimpregnasi-KOH antara lain:

- (i) Larutan metanol/amonia kuat (100:1,5)
- (ii) Sikloheksan/toluen/dietilamin (75:15:10)
- (iii) Kloroform/metanol (90:10)

Sistem 2 cukup polar dan bermanfaat untuk membedakan antara basa yang sangat lipofilik, yang mencakup banyak antihistamin dan narkotika, dan basa simpatomimetik, yang sering cukup polar dan bergerak sangat sedikit di dalam fase gerak 2. Penggunaan sistem pelarut yang selektif sering dikombinasikan dengan penggunaan bahan lokasi yang selektif untuk obat-obat yang mengandung nitrogen.

Gel silika tersilanisasi

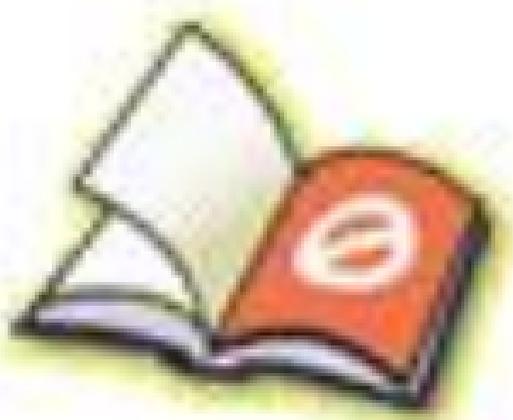
Permukaan gel silika dapat dibuat menjadi nonpolar melalui reaksi dengan diklorodimetilsilan, seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 13.6. Berbagai macam reagen pensilanisasi dapat digunakan untuk tipe reaksi ini termasuk oktadesilsilana, yang menghasilkan gel silika ODS yang analog dengan kolom KCTTODS. BP menggunakan pelat KLT gel silika tersilanisasi dalam uji identifikasi untuk penisilin. Sebagai contoh, larutan bahan uji ampisilin 0,25% b/v digunakan pada pelat gel silika tersilanisasi dengan baku pembanding ampisilin (0,25% b/v), Larutan 2, dan campuran yang mengandung baku pembanding untuk ampisilin dan amoksisilin trihidrat (0,25% b/v), Larutan 3. Pelat tersebut dikembangkan dengan fase gerak yang terdiri atas larutan amonium asetat yang disesuaikan sampai pH 5,0 dengan asam asetat dan aseton (90:10). Setelah dikembangkan, pelat tersebut diwarnai dengan uap iodine; uji identitas menetapkan bahwa bahan uji harus memberikan satu bercak dengan R_f yang sama dengan yang terlihat untuk Larutan 2 dan bahwa Larutan 3 harus menunjukkan dua bercak yang terpisah dengan jelas.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Dalam uji tersebut, larutan kodein encer digunakan sebagai pembanding visual untuk semua pengotor dalam sampel. Pelat dikembangkan dalam etanol/sikloheksan/amonia 13,5 M (72:30:6), dikeringkan dan kemudian disemprot dengan reagen iodobismutat, yang spesifik untuk obat-obat yang mengandung nitrogen. Setelah pengembangan dan penyemprotan, pelat mungkin akan tampak seperti diagram yang ditunjukkan dalam Gambar 13.9. Kondisi-kondisi yang diatur oleh uji batas tersebut antara lain:

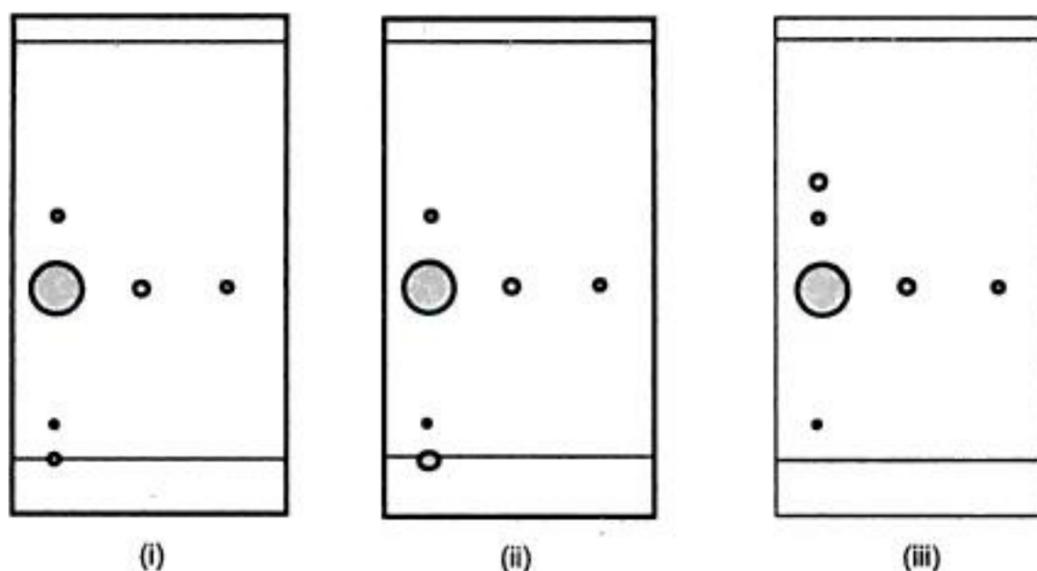
- (i) Tidak boleh ada bercak sekunder pada kromatogram Larutan 1 yang lebih kuat daripada bercak yang diperoleh dengan Larutan 2.
- (ii) Tidak boleh ada lebih dari satu bercak sekunder dengan nilai Rf yang lebih tinggi daripada nilai Rf kodein yang lebih kuat daripada bercak yang diperoleh dengan Larutan 3.

Dalam uji ini, dua batas diatur: $0,06/4 \times 100 = 1,5\%$ dan $0,04/4 \times 100 = 1,0\%$.

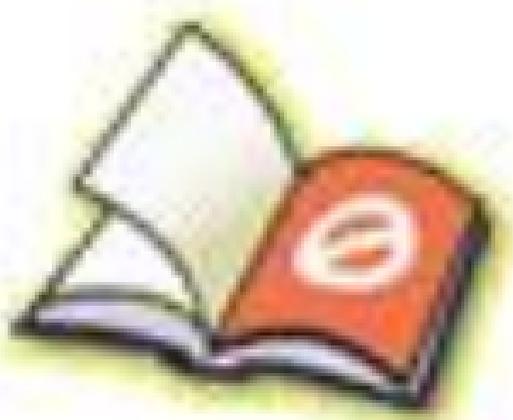
Tipe uji ini pada mulanya sedikit membingungkan karena terdapat sejumlah permutasi yang dapat menyebabkan sampel lulus atau gagal pada uji tersebut.

Latihan 13.5

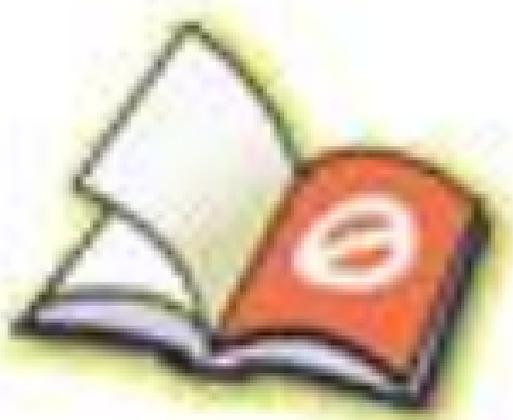
Tiga sampel kodein dianalisis seperti yang dijelaskan sebelumnya. Tunjukkan apakah uji batas KLT yang diperlihatkan di bawah ini dapat meluluskan atau tidak meluluskan sampel tersebut. Larutan 1–3 muncul dalam urutan angka dari kiri ke kanan.



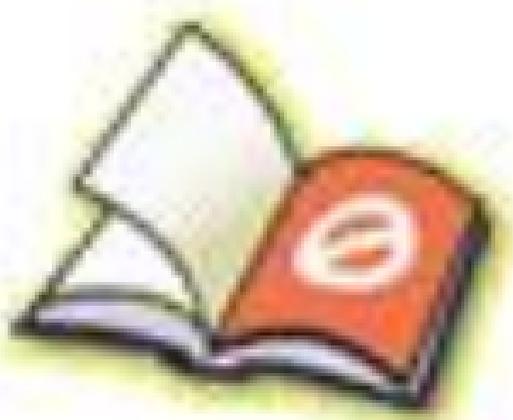
- Jawaban:*
- (i) Lulus karena tidak ada bercak dalam kromatogram Larutan 1 yang lebih kuat daripada bercak yang dihasilkan oleh Larutan 2.
 - (ii) Tidak lulus karena bercak pada garis awal lebih kuat daripada bercak yang dihasilkan oleh Larutan 2.
 - (iii) Lulus karena, meskipun satu bercak di atas kodein lebih kuat daripada bercak yang dihasilkan oleh Larutan 3, tetap tidak ada bercak yang lebih kuat daripada bercak yang dihasilkan oleh Larutan 2.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

14

Elektroforesis kapiler kinerja-tinggi

Poin penting

Pendahuluan

Elektroforesis
EOF
Migrasi pada EK

Instrumentasi

Pengendalian pemisahan

Waktu migrasi
Dispersi

Penerapan EK dalam analisis farmasi

Pemisahan atenolol dan pengotor sejenis yang dominan berdasarkan muatan

Pemisahan yang terutama berdasarkan jari-jari ion

Analisis obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) secara EK dan pemisahan anion berdasarkan jari-jari ion

Pemisahan peptida

Penggunaan bahan tambahan dalam dapar penggerak

Penerapan siklodekstrin dalam menghasilkan perbaikan pada pemisahan

Kromatografi elektrokinetik miselar (MEKC)

Elektroforesis kapiler dengan deteksi taklangsung

Elektroforesis kapiler afinitas

Elektrokromatografi kapiler (*capillary electrochromatography*, CEC)

Soal-soal tambahan

POIN PENTING

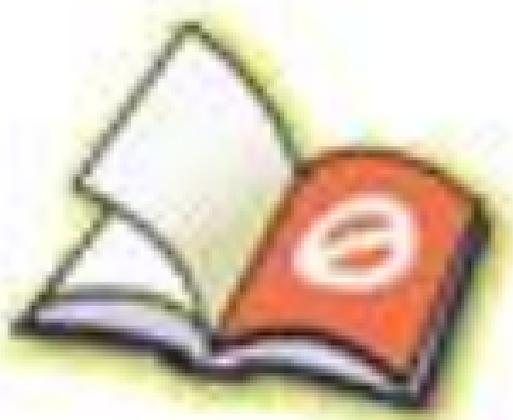
Prinsip

Pemisahan dilakukan dengan pemberian tegangan tinggi (10–30 kV) pada kapiler silika-terfusi yang sempit (25–75 μm) yang diisi dengan fase gerak. Fase gerak biasanya mengandung komponen berair dan harus mengandung elektrolit. Analit-analit bermigrasi di dalam medan listrik yang diberikan pada laju yang bergantung pada muatan dan jari-jari ionnya. Bahkan analit-analit netral bermigrasi melalui kolom akibat aliran elektroosmotik yang biasanya bergerak menuju katoda.

Penerapan

- Suatu teknik yang akurat dan tepat untuk mengukur obat dalam semua tipe formulasi.
- Kelebihan khusus dalam pengendalian mutu obat-obat peptida.
- Sangat selektif dan sangat efektif dalam menghasilkan pemisahan enantiomer.
- Sangat efektif untuk pembuatan profil pengotor karena kekuatan pemisahannya yang kuat.
- Sangat efektif untuk analisis obat-obat dan metabolitnya dalam cairan biologis.

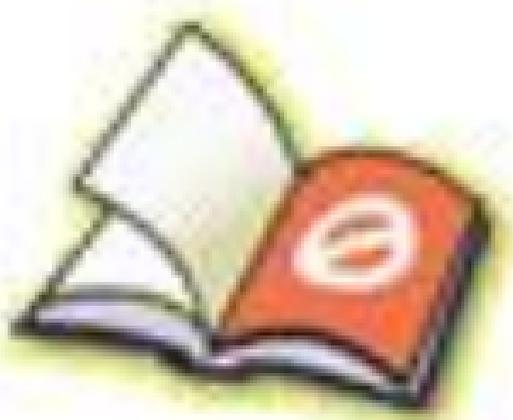
(Berlanjut)



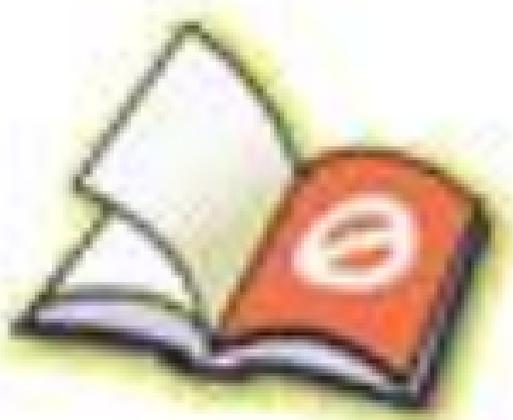
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

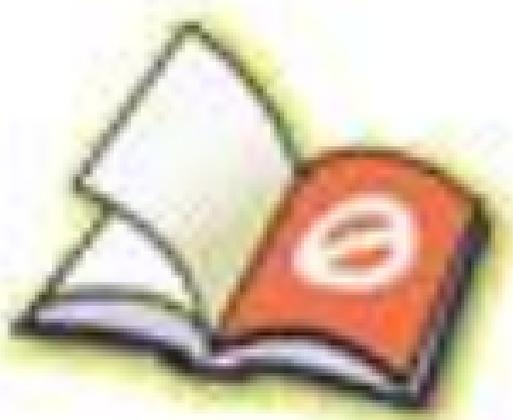
Tabel 14.1 Variabel yang memengaruhi EOF (*Lanjutan*)

Variabel	Efek terhadap EOF	Keterangan
Surfaktan	Menyerap di atas permukaan dinding kapiler	(i) Surfaktan kationik memiliki afinitas yang tinggi untuk gugus silanol sehingga menghalangi akses oleh kation-kation yang lebih kecil dalam larutan, menurunkan EOF. Pada konsentrasi yang tinggi, surfaktan tersebut membentuk lapisan rangkap, menghasilkan dinding kapiler suatu muatan positif yang efektif dan menyebabkan EOF membalikkan aliran menuju anoda
		(ii) Surfaktan anionik mengurangi akses ion yang lebih kecil dalam dapar penggerak terhadap potensial positif di dinding sehingga meningkatkan potensial zeta dan kemudian EOF
Penyalut dinding kovalen	Dapat meningkatkan atau menurunkan EOF tergantung pada penyalutan	(i) Penyalut netral menurunkan muatan negatif pada dinding kapiler sehingga menurunkan EOF
		(ii) Penyalut ionik akan memiliki efek-efek yang nyata terhadap EOF

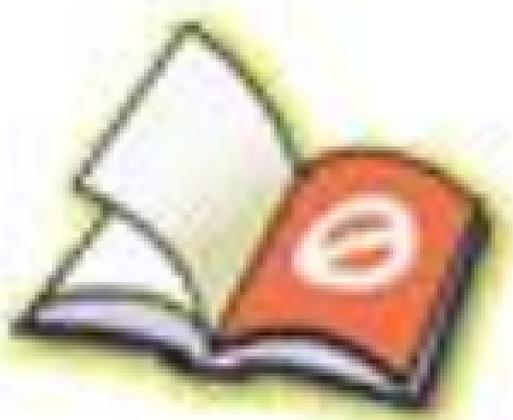
Instrumentasi

Diagram skematik suatu instrumen elektroforesis kapiler ditunjukkan pada Gambar 14.5. Dasar-dasar sistem tersebut adalah sebagai berikut:

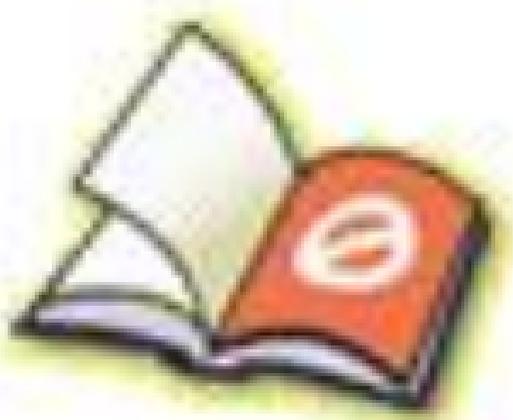
- (i) Injeksi umumnya otomatis dan biasanya dicapai dengan memberi tekanan pada vial yang mengandung sampel dengan udara.
- (ii) Setelah diisi sampel, kapiler tersebut dipindahkan ke vial yang mengandung dapar penggerak. Laju aliran dapar penggerak melewati kapiler tersebut berada dalam rentang nanoliter/menit yang rendah.
- (iii) Kapiler-kapiler seperti kapiler yang digunakan pada kromatografi gas kapiler dengan penyalutan poliamida pada bagian luarnya. Panjang kapiler-kapiler yang digunakan adalah 50–100 cm dengan diameter-dalam 0,025–0,05 mm. Kapiler tersebut biasanya digulung melingkari suatu pegangan kaset sehingga dapat ditekan ke dalam instrumen.
- (iv) Pada ujung detektor, kapiler tersebut memiliki suatu jendela yang dibakar ke dalamnya sehingga dapat ditembus cahaya radiasi yang digunakan untuk mendeteksi analit tersebut.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



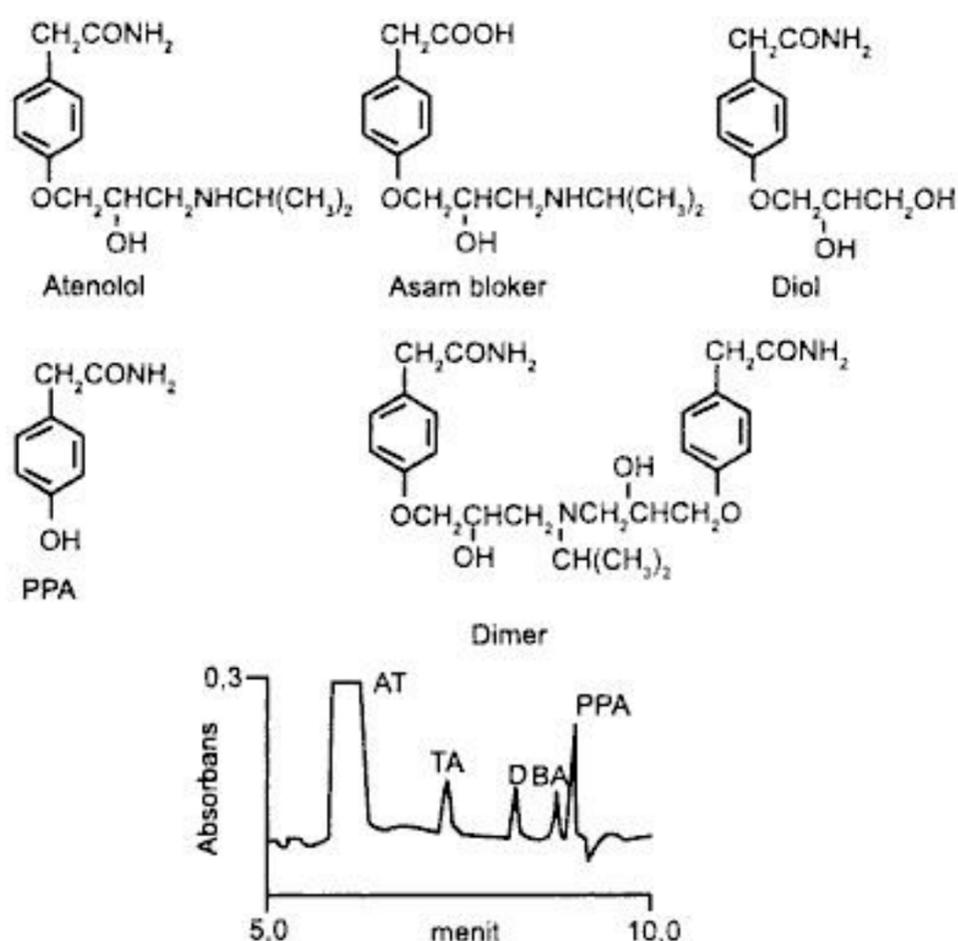
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr 14.6

Pemisahan atenolol dan pengotor utamanya dengan EK. Direproduksi atas izin dari J. Pharm. Biomed. Anal. (lihat Pustaka 1).



sesuai pH; ini mungkin disebabkan oleh pembentukan kompleks dengan senyawa borat dalam dapar penggerak, yang akan cenderung membentuk kompleks bermuatan negatif dengan diol. Asam bloker (*blocker acid*, BA) memiliki satu muatan positif dan negatif, yang kurang lebih dapat menetralkan satu sama lain pada rentang pH yang cukup lebar. Karena pH meningkat ke arah pK_a gugus amin (lebih kurang 9,5), muatan negatif gugus asam menjadi dominan; meskipun molekul tersebut akan tetap memiliki beberapa muatan positif, seluruh muatan negatif akan menyebabkan molekul tersebut melambat di belakang EOF. Terakhir, senyawa fenol (PPA) bersifat netral sampai nilai pK_a -nya (lebih kurang 9,7–10) tercapai dan pada nilai pH yang lebih tinggi, senyawa ini akan menghasilkan muatan negatif, memperlambat laju migrasinya; ini sesuai dengan Gambar 14.6.

Pemisahan yang terutama berdasarkan jari-jari ion

Perubahan yang sangat kecil pada struktur molekul dapat menyebabkan perubahan nyata dalam waktu retensi pada EK. Suatu pemisahan yang mengesankan pada obat antidepresan eksperimental GR50360 dari sejumlah pengotor dicapai dengan menggunakan isopropanol/dapar fosfat 0,01 M pH 7,0 (1:4).² Dalam hal ini, pemisahan sebagian besar disebabkan oleh ukuran atau bentuk molekul karena pada pH 7,0 obat tersebut dan pengotornya akan bermuatan sampai derajat yang sama.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

enantiomer yang berlawanan membentuk kompleks diastereomer sementara dengan siklodekstrin aktif optik, dan dalam pemisahan senyawa nonkiral, ketika senyawa siklodekstrin memengaruhi diastereoisomer dengan tingkat yang berbeda.

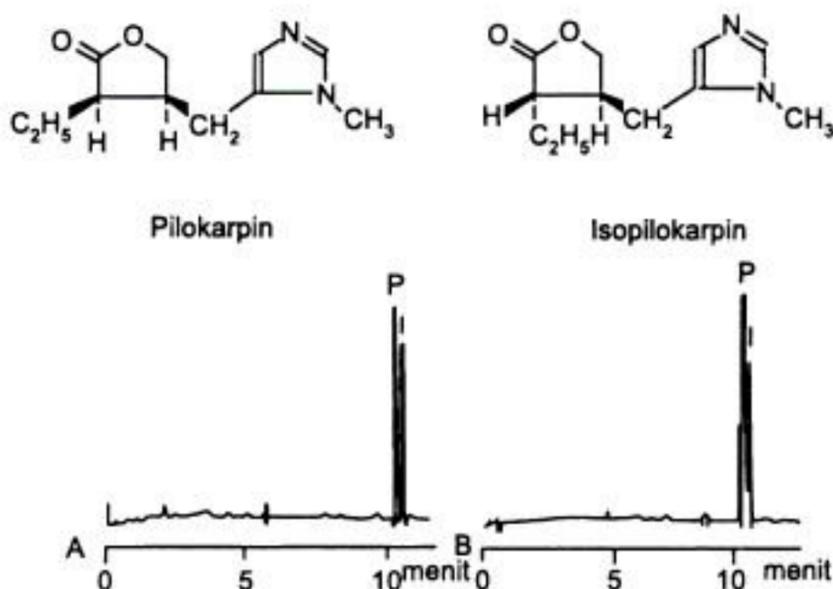
Pemisahan pilokarpin dari epimernya

Pilokarpin (P), suatu obat yang digunakan dalam pengobatan glaukoma, kemungkinan besar dapat mengandung epimernya, isopilokarpin (I), sebagai pengotor. Dalam suatu penelitian, tidak mustahil untuk sepenuhnya memisahkan pilokarpin dan isopilokarpin dengan variasi pH dapar penggerak. pH optimal untuk pemisahan harus 6,9, ketika kedua senyawa tersebut kurang lebih 50% terionisasi, tetapi bahkan pada pH ini pemisahan tidak sempurna.⁵

β -Siklodekstrin 0,01 M yang dimasukkan ke dalam dapar penggerak menghasilkan pemisahan dasar pada diastereoisomer. Gambar 14.10A menunjukkan pemisahan dua epimer yang dicapai setelah penambahan siklodekstrin pada dapar penggerak. Dalam contoh ini, kapiler digunakan jika gugus silanol pada dinding kapiler telah dihambat sebagian dengan penyalutan, menurunkan muatan negatif pada dinding sehingga menurunkan EOF serta memungkinkan waktu yang lebih lama agar pemisahan dapat terjadi. Dalam contoh saat ini, pemisahan tersebut dicapai melalui tingkat perbedaan kompleksasi bahan tambahan β -siklodekstrin dengan dua diastereomer.

Pemisahan anestetik lokal kiral

Senyawa siklodekstrin digunakan dalam KG dan KCTT untuk memengaruhi pemisahan enantiomer dan senyawa ini juga sangat efektif dalam penerapan EK. Penerapan EK pada pemisahan kiral akan mengalami pertumbuhan yang cepat beberapa tahun ke depan karena efisiensi yang tinggi yang dapat dicapai dalam pemisahan tersebut dengan menggunakan teknik ini dan karena murahannya bahan-bahan tambahan kiral dibandingkan dengan biaya kolom KG dan KCTT kiral. Satu seri enantiomer anestetik



Gbr. 14.10

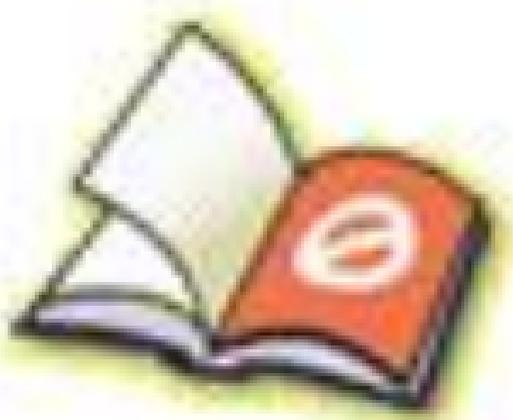
Pemisahan pilokarpin dan isopilocarpin dengan memasukan β -siklodekstrin dalam dapar penggerak. (A) Dengan penambahan siklodekstrin. (B) Tanpa penambahan siklodekstrin. Direproduksi atas izin dari J. Chromatogr. (lihat Referensi 5).



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



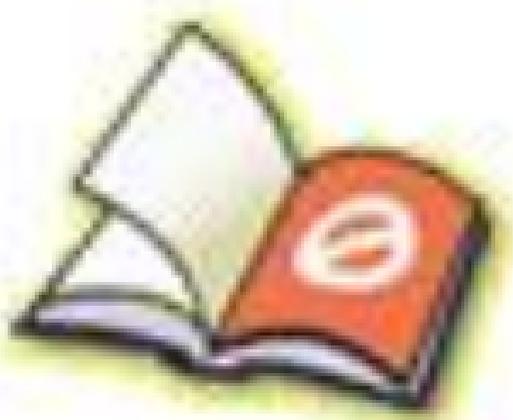
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



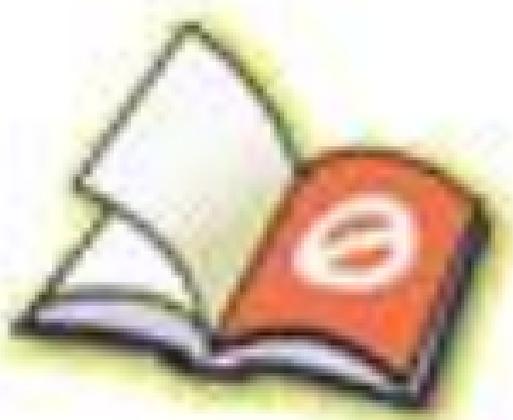
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



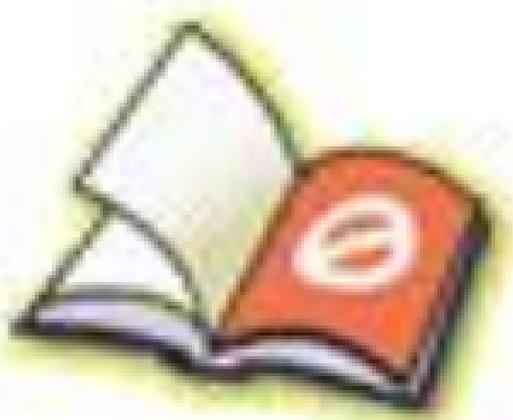
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

POIN PENTING (*Lanjutan*)

Kelebihan

- Suatu metode yang sederhana dan cepat untuk menghilangkan senyawa pengganggu.

Keterbatasan

- Selektivitas terbatas, pilihan pelarut pemartisinya terbatas, volume pelarut yang dibutuhkan juga besar (Lihat poin penting EFP.)

Pendahuluan

Metode-metode ekstraksi dan derivatisasi yang rumit paling sering diterapkan pada prosedur bioanalisis dan pada konsentrasi sedikit pengotor dalam obat dan bukan untuk pengendalian mutu secara langsung pada bahan aktif dalam obat. Pengendalian mutu bahan aktif dalam formulasi biasanya memanfaatkan prosedur ekstraksi yang sederhana dan jika ada masalah gangguan dari eksipien setelah ekstraksi, kromatografi mampu memisahkan bahan aktif dari senyawa pengganggu dan memungkinkan pengukuran. Namun, ada beberapa keadaan dengan formulasi dosis rendah dan formulasi penghantaran obat tingkat lanjut mungkin membutuhkan penanganan sampel yang lebih detail.

Eksipien yang biasa digunakan dalam formulasi

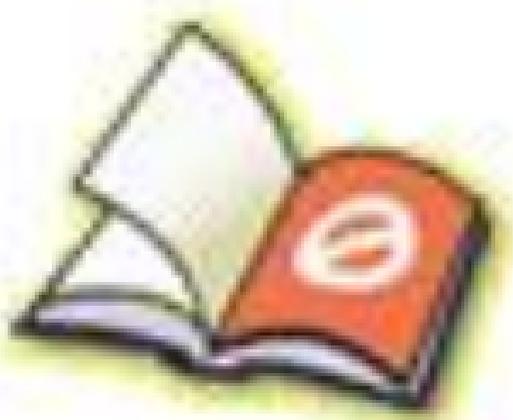
Alasan utama melakukan ekstraksi sebelum analisis adalah untuk menghilangkan bahan-bahan yang dapat mengganggu analisis. Ini adalah syarat utama jika pemisahan kromatografi tidak dilakukan selama analisis tersebut. Beberapa teknik non-kromatografi, seperti NIRA, bertujuan untuk mencegah semua pembuatan sampel dengan menggunakan teknik komputasi yang canggih untuk menapis senyawa pengganggu. Bahkan jika pemisahan kromatografi digunakan, ekstraksi beberapa tipe harus dilakukan sebelum analisis untuk menghilangkan bahan matriks tablet tak-dapat-larut atau eksipien berminyak dalam krim dan salep. Jika obat berkadar rendah dipantau dalam cairan biologis, prosedur ekstraksi harus cukup rinci agar dapat menghilangkan gangguan oleh senyawa-senyawa endogen. Tipe utama senyawa pengganggu dalam formulasi dibahas secara singkat di dalam bab ini.

Tablet dan kapsul

Tablet dan kapsul biasanya sebagian besar terdiri atas pengisi kecuali untuk formulasi dosis tinggi, seperti tablet parasetamol dan tablet obat antiinflamasi nonsteroid lain, yang bahan aktifnya merupakan bagian terbesar dari formulasi tersebut. Pengisi yang paling banyak digunakan dalam tablet adalah laktosa dan pengisi terkenal lainnya seperti gula atau polimer gula lainnya seperti selulosa, amilum, dan manitol. Zat-zat ini bersifat polar dan akan terlarut atau mengembang paling baik di dalam air; jadi, prosedur ekstraksi untuk obat yang dapat larut dalam air paling baik dilakukan dalam media berair sehingga obat dapat diperoleh kembali secara efisien dari matriks sampel.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

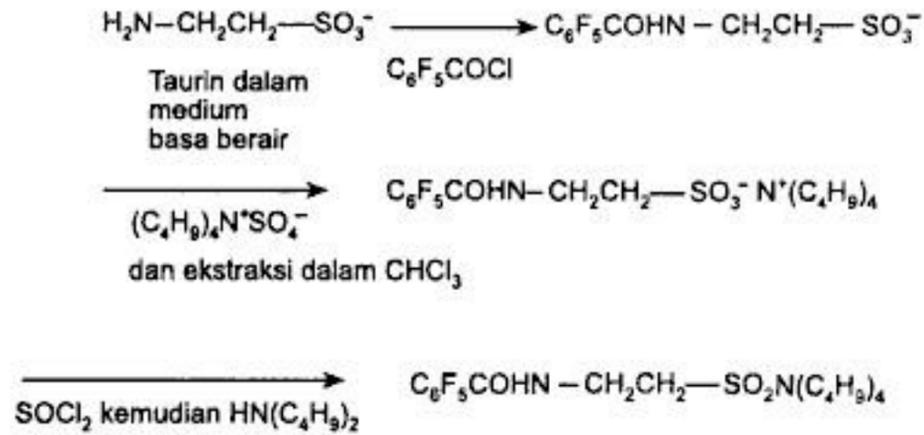


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 15.2
Ekstraksi dan
derivatisasi taurin.



pasangan ion lipofilik berwarna, yang dapat diekstraksi ke dalam pelarut organik seperti kloroform dan pengukuran kuantitatif warna yang diekstraksi dapat dilakukan secara spektrofotometri. Tipe penetapan kadar ini dijelaskan dalam BP untuk Injeksi Klondin dan Tablet Benzheksol.

Ekstraksi pasangan ion juga telah digunakan untuk mengekstraksi analit-analit polar dalam prosedur bioanalisis. Gambar 15.2 menunjukkan penentuan asam amino taurin secara kromatografi gas—spektrometri massa (KG–SM); pada gambar ini juga menunjukkan sifat senyawa amin (dan fenol) yang bermanfaat, yaitu bahwa senyawa tersebut akan bereaksi lebih cepat daripada air dengan suatu reagen pengalkilasi di dalam lingkungan berair sehingga memperbaiki kelarutannya dalam pelarut organik. Setelah asilasi dan ekstraksi pasangan ion dengan tetrabutyl amonium sulfat, taurin diubah menjadi suatu amida sebelum analisis secara KG–SM.

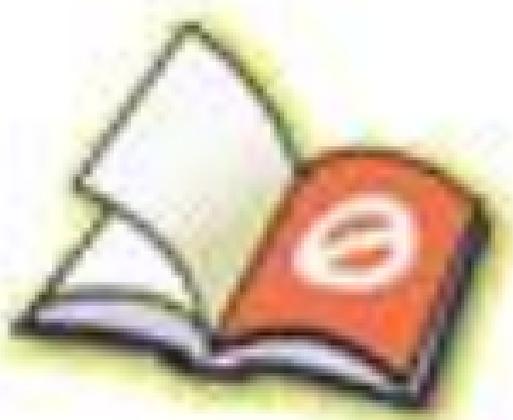
Derivatisasi sebelum ekstraksi

Gambar 15.3 menunjukkan asilasi fase-air adrenalin dalam suatu injeksi dengan anhidrida asetat. Reaksi tersebut dilakukan dengan adanya natrium bikarbonat berair dan digunakan dalam penentuan (–) adrenalin dalam Injeksi Adrenalin BP secara gravimetri.

Ekstraksi cairan superkritis

Gambar 15.4 menunjukkan diagram skematik suatu alat ekstraksi cairan superkritis. Keuntungan-keuntungan ekstraksi cairan superkritis (ECS) adalah sebagai berikut:

- (i) Pelarut-pelarut digunakan di atas suhu dan tekanan kritisnya, tetapi berfungsi hampir sama efektifnya dengan pelarut cair dan memiliki keuntungan bahwa perpindahan massa antara sampel dan pelarut, yaitu laju ekstraksi, sangat cepat.
- (ii) Kekuatan pelarut cairan superkritis dapat ditingkatkan atau diturunkan dengan mengubah tekanan dalam tabung ekstraksi sehingga memberikan suatu cara sederhana untuk menghasilkan ekstraksi yang selektif.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

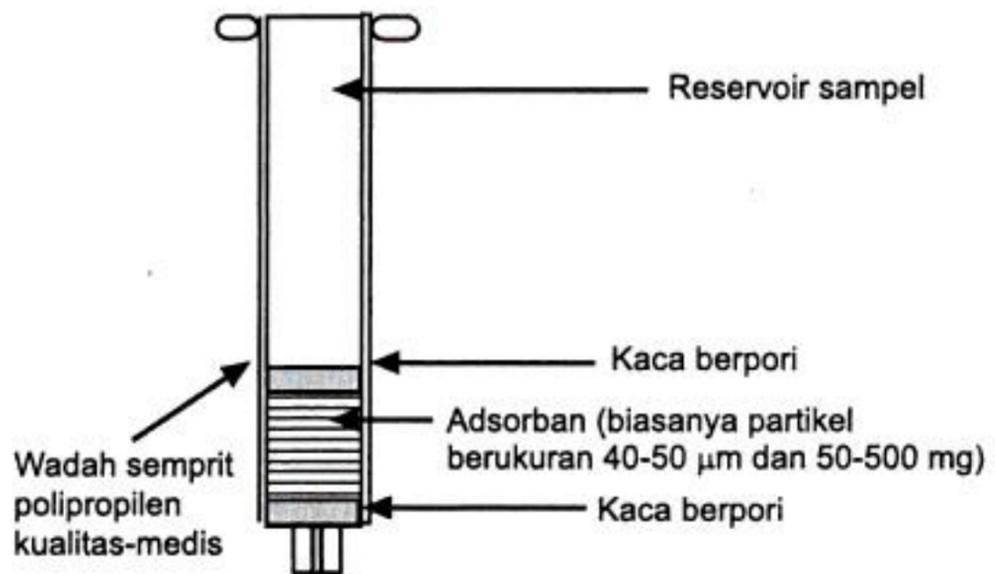


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

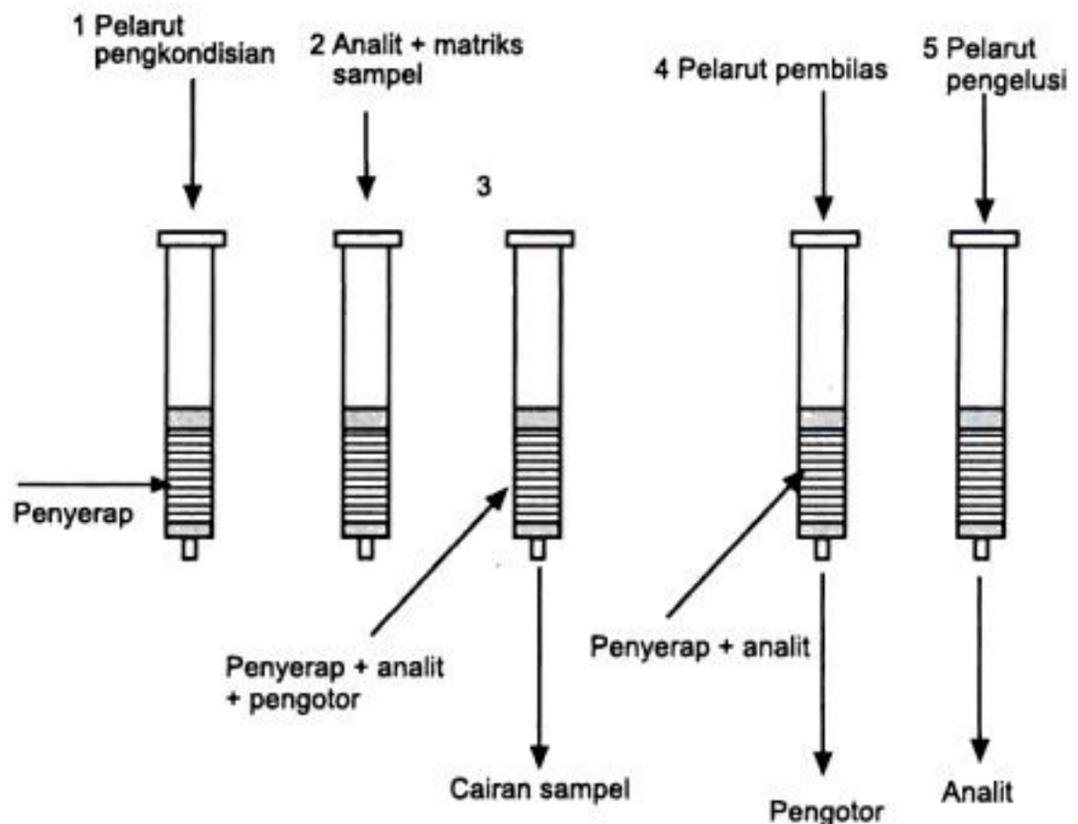


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Gbr. 15.5
Suatu selongsong EFP.

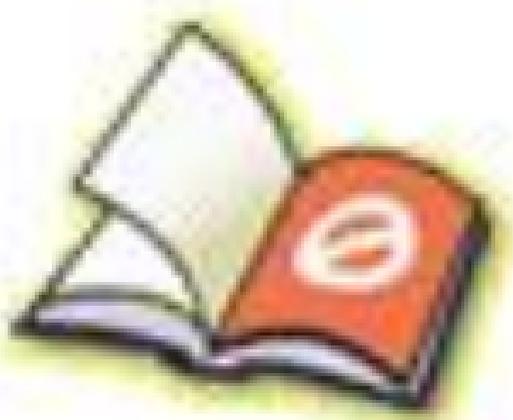


Gbr. 15.6
Prosedur khas
untuk EFP.



- (v) Analit dielusi dengan pelarut yang sesuai, terutama pelarut yang akan meninggalkan pengotor pada kolom.

Suatu pipa hampa udara bercabang banyak dapat digunakan untuk melakukan multipel ekstraksi secara sekaligus, seperti ditunjukkan pada Gambar 15.7.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Metodologi khusus menggunakan adsorban fase-lurus

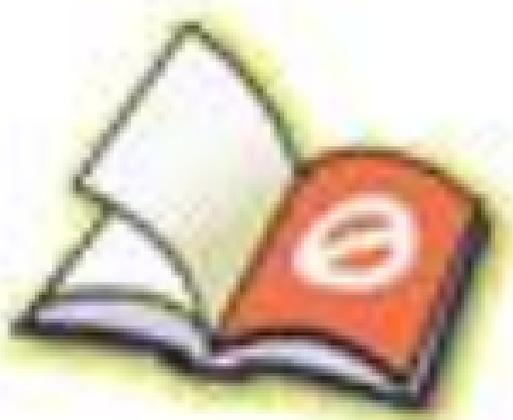
Adsorban-adsorban ini biasanya digunakan untuk senyawa polar yang tidak ditahan dengan baik oleh adsorban fase-balik. Kolom tersebut dikondisikan dengan cara pembilasan dengan 5–10 volume-dasar pelarut yang akan digunakan untuk mengelusi analit. Sampel diisikan ke kolom dalam suatu pelarut yang tidak cukup kuat untuk mengelusinya. Pembilasan kolom sering dilakukan dengan pelarut organik polaritas-sedang, misalnya metilen klorida bebas-alkohol. Senyawa polar kemudian dielusi dengan metanol atau campuran metanol dan dapar asam (untuk senyawa basa) atau metanol dan dapar basa (untuk senyawa asam). Kolom diol telah digunakan untuk memberikan efek yang baik dalam ekstraksi obat-obat polar dari krim obat.^{4,5}

Penukar anion berbasis gel silika termodifikasi-permukaan

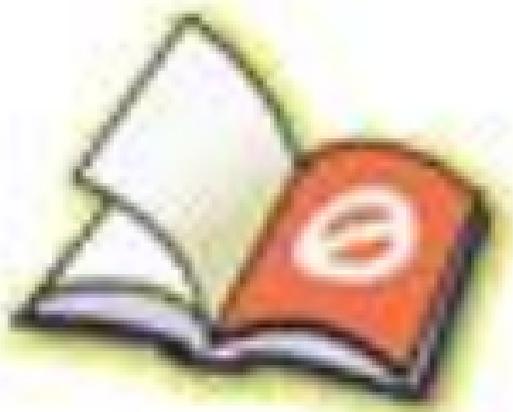
Penukar ion berbasis resin polimerik telah digunakan selama bertahun-tahun. Gel silika yang disalut dengan gugus penukar ion adalah inovasi yang cukup baru. Gel tersebut memiliki keuntungan berupa sifat organosorptif yang lebih kecil daripada resin polimerik sehingga tidak membutuhkan banyak seperti komponen organik dalam pelarut pengelusi untuk menghilangkan senyawa organik setelah adsorpsi. Penukar anion biasanya dikondisikan melalui pembilasan dengan dapar 0,01–0,1 M pada pH larutan sampel tersebut. Dapar tersebut harus mengandung ion-ion yang relatif mudah dipindahkan seperti OH^- , $\text{C}_2\text{H}_5\text{COO}^-$, CH_3COO^- , atau F^- . Ion-ion seperti Cl^- , Br^- , NO_3^- , HSO_4^- , atau sitrat tidak mudah dipindahkan. Sampel asam kemudian dimasukkan dalam dapar (0,1 M) dengan satu atau dua unit pH di atas nilai pK_a -nya, misalnya untuk metisilin ditunjukkan dalam Gambar 15.11, suatu pH dapar 3,8–4,8 akan digunakan. Metisilin dapat diekstraksi dengan penukar kation kuat atau penukar kation lemah karena merupakan asam yang relatif kuat. Adsorban selanjutnya dapat dibilas lagi dengan sejumlah dapar, dengan air deionisasi, atau dengan pelarut organik. Sampel tersebut kemudian dapat dielusi dengan dapar yang mengandung ion lawan pada konsentrasi yang tinggi, misalnya untuk metisilin natrium klorida (NaCl) 1 M atau natrium sitrat 1 M. Banyak senyawa organik kemungkinan besar memiliki afinitas tinggi untuk permukaan lipofilik pada medium EFP dan metanol dapat dimasukkan dalam dapar elusi. Senyawa-senyawa juga dapat dielusi dengan cara menekan ionisasi; jadi, metisilin dapat dielusi pada pH rendah, misalnya dengan asam klorida 1 M/metanol, tetapi hal ini tidak akan dianjurkan dalam contoh ini karena ketidakstabilan penisilin pada pH rendah.

Penukar kation berbasis gel silika termodifikasi-permukaan

Kolom penukar kation dikondisikan dengan cara dibilas dengan dapar 0,01–0,1 M pada pH larutan sampel. Dapar tersebut harus mengandung ion K^+ , Na^+ , atau NH_4^+ , yang mudah dipindahkan dari gel oleh kation-kation organik; ion-ion divalen seperti Ca^{2+} atau Mg^{2+} sulit dipindahkan dari gel tersebut. Sampel itu selanjutnya dimasukkan dalam dapar (0,1 M) dengan satu atau dua unit pH di bawah nilai pK_a -nya, misalnya untuk ekstraksi adrenalin (Gbr. 15.11), dapar amonium klorida (NH_4Cl) pH 8,3 dapat



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



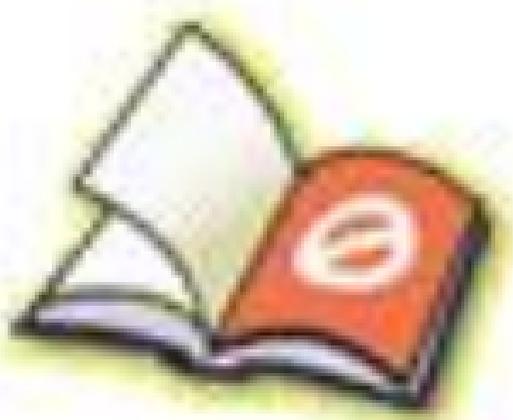
You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Indeks

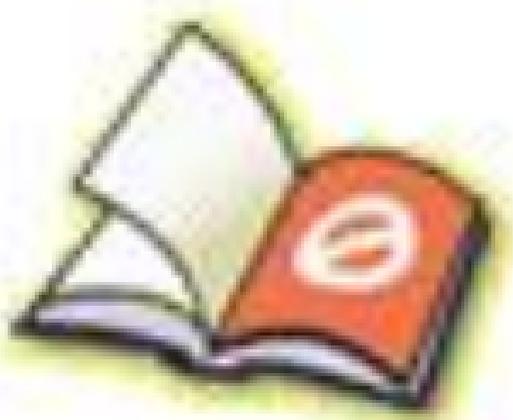
- Adrenalin
dalam urine, kromatografi
penukar ion, 356g
derivatisasi sebelum ekstraksi,
418, 419g
enantiomer R dan S, 51g
fluoresensi, 182, 183t
injeksi lidokain (lignokain), 123
penetapan kadar
kromatografi pasangan-
ion, 350-351
kompleks besi (II), 123, 123g
penetapan kadar
spektrofotometri UV visibel,
123
perubahan menjadi turunan
berfluoresensi, 187t
- Adsorban
ekstraksi fase padat, 423-429
gel imunoafinitas, 428-429
kromatografi lapis-tipis, 375-376
- Air
disosiasi, 30
hilang oleh eliminasi, 231g
penentuan NIRA, 157
tetapan dielektrik, 43
- Aklofenak, EK, 399
- Aktivitas dalam kemasan
analisis inframerah-dekat
(NIRA), 156, 157g
spektroskopi Raman, 191
- Akurasi, 2-8, 10
- Alat gelas, toleransi pabrik, 70
kesalahan acak majemuk, 12-14
- Aliran elektroosmotik (EOF),
elektroforesis kapiler, 389
variable yang memengaruhi,
391, 392t-393t
- Aliran laminar, kinerja kolom pada
KCTT, 390, 391g
- Alkohol, perkiraan dengan anhidrida
asetat, 77-79
- Alumunium, penentuan, 186
- Amitriptilin, isomerisme geometris,
50
- Amonia, ionisasi, 34
- Amonium pirolidinditiokarbamat,
174
- Ampisilin
pelarut residu, KG, 305t
penempatan konfigurasi kiral,
52-53
penetapan kadar
spektrofotometri UV/
visibel, 123g
- Analisis inframerah-dekat (NIRA),
153-160
penerapan, 153
aktivitas dalam kemasan,
156, 157g
aktivitas dari bentuk sediaan
multikomponen, 156
penentuan dalam polimorf,
156, 191
penentuan kelembapan, 157
penentuan keseragaman
campuran, 155
penentuan ukuran partikel,
154-155
prinsip, 153
- Analisis injeksi aliran, 95-99
penerapan, 97-99
titrasi Karl Fischer, 97g
turunan-turunan berfluoresensi,
187
- Analisis kuantitatif
KCTT, obat-obat dalam
formulasi, 334-344
kromatografi gas, 295, 298
spektrofotometri UV/visibel,
118-123
spektroskopi RMI, 217-219
titrimetri dan analisis kimia, 69-
103
- Analisis ruang atas, pelarut residu,
KG, 305-308



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

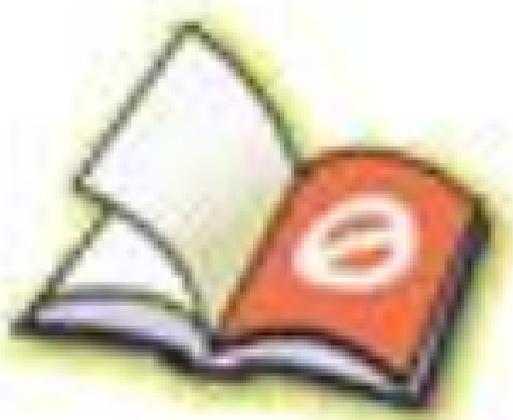


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

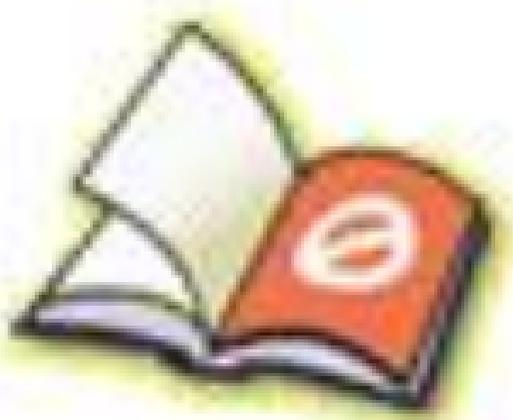


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

- Framisetin, KLT kuantitatif, 378t
- Fruzemid, penetapan kadar spektrofotometri UV/visibel, 119-120
- Garam logam, titrasi kompleksometri, 82
- Gel afinitas, 429g
- Gel borat, 428, 429g
- Gel imunoafinitas, adsorban, 428-429
- Gel silika
diimpregnasi-KOH, 375
ekstraksi fase padat
 adsorban lipofilik, 423-424
 faktor-faktor yang perlu diperhatikan, 428
- Fase diam dalam KLT, 372t
- Fase diam dan fase gerak, 375
- Fase diam fase-balik, 327, 328
- Fase diam pada KCTT, 316-317
- Fase diam pada KLT, 370, 371
- jenis, 326t
- modifikasi-permukaan polar, 316
- ODS, 316, 326t
- termodifikasi-permukaan penukar anion, 426-427
- polar, 425
- tersilanisasi, 375-376
- Gel-gel polimerik divinilbenzen stiren, 424
- Gentamisin
larutan ninhidrin, KLT, 377
pelarut residu, KG, 305t
- Glisin, dalam formulasi, analisis Raman, 191
- Glukosa i.v infus, penetapan kadar, SEA, 167-199
- Glutaraldehida, dalam film polimer, 304
- GR50360, pemisahan berdasarkan jari-jari ion, EK, 397-398
- Guanetidin, sifat fisiokimia, 64-65
- Gugus alkohol
 netral, 63
 serapan IM, 144g
- Gugus amida, 59
 aromatik, 62
 netral, 59, 60, 62
 sekunder, 62
 serapan IM, 144g
- Gugus amin
 aromatik, 109, 144t
 perubahan menjadi turunan berfluoresensi, 187t
 sekunder, 63
 serapan IM, 144g
 tersier, 57, 65
- Gugus benzil alkohol, netral, 63
- Gugus ester
 fenolat, 59
 netral, 57
 titrasi balik, 76
- Gugus eter aromatik, 62
- Gugus guanidin, 65
- Gugus hidroksi fenolat, 59
- Gugus karbamat, 65
- Gugus katekol, 63
- Gugus keton, netral, 64
- Gugus silanol, 328g
- Gugus tioeter, 60
- Gugus trimetilsilil, analisis kuantitatif atropin, 300
- Gula, kandungan timbal, SSA, 173-174
- Hamburan Raman, 182, 188
- Hamburan Rayleigh, 182
- Hamburan Tyndall, 182
- Heroin, analisis Raman, 190, 190g
- Hidralazin, penentu residu hidrazin, 304
- Hidrogen klorida, penyerapan IM, 136-139
- Hidroklorotiazid, dan laktosa, penentuan keseragaman campuran NIRA, 155
- Hidrokortison
 krim, kalibrasi satu-titik pada baku internal, KCTT, 344-348
 kromatografi fase-balik, 324
 serapan IM, penafsiran, 148t
 serapan maksimum, 114, 115t
 spektrum UV, 115g
 struktur, 325g
 KLT, 373L
 uji batas, KLT, 379-381
- Hidrolisis garam, 41
- Holmium perklorat, serapan maksimum, 113, 113g
- Hormon adrenokortikotropik, pemisahan dengan EK, 400-401
- Hubungan bekas partikel, 246t
- Hubungan bombardir atom cepat (FRIT-FAB), 246t
- Hubungan termo semprot, 246t
- Hukum Lambert-Beer, 109-110
 detektor UV panjang gelombang yang bervariasi, 330, 331t
 elektroforesis kapiler dengan deteksi taklangsung, 408
 KLT, 377
- Hukum Faraday, 3
- Ibuprofen
 analisis KCTT, 321
 ionisasi, 35, 35g
 KLT, 374g
- Ikatan karbon-karbon
 jenis, 107
 serapan IM, 138-139
 tingkat energi serapan, 138-139
- Indeks Kovats, dan polaritas kolom, kromatografi gas, 284
- Indeks polaritas, pelarut, 372t
- Indikator jingga metil, 71, 72, 74
- Indikator kanji, titrasi diazotasi, 89
- Indikator pewarna, 80
- Indometasin, EK, 399
- Inhibitor ACE, KLTKT, 384
- Injeksi klonidin, ekstraksi pasangan ion, 418
- Interaksi Van der Waals, 423
- Interferensi anionik, SEA, 166
- Interferometer Michelson, instrument FT-IR, 140g
- Iodin
 sebagai anion lipofilik, titrasi dengan kalium iodat, 88
 titrasi penggantian, 86-87



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

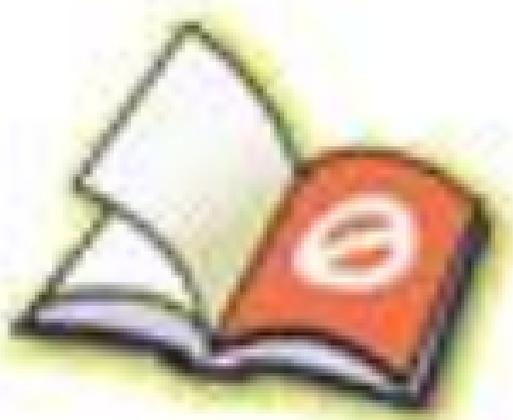


You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

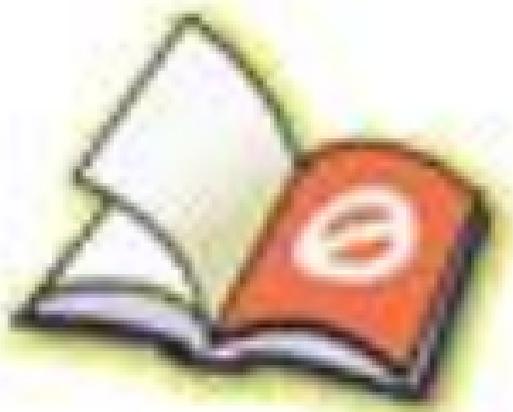
- analisis injeksi aliran, 95-99
otomatisasi, 94-97
- Metode pemisahan ion desorpsi laser yang dibantu matriks disertai waktu lintas (MALDI-TOF), 247t
perangkap ion, 248t
spektrometri massa tandem (SM-SM), 248t
- Metoprolol, struktur, 237L
- Mikonazol
krim, kalibrasi satu-titik pada baku internal, KCTT, 348-350
struktur, 349g
- Mikroprosesor, otomatisasi metode kimia basah, 94
- Minyak
bilangan asam, 76
bilangan penyabunan, 76-77
lemak, analisis KG, 287-288
- Minyak *almond*, komposisi, dan analisis KG, 289, 289g
- Minyak permen
analisis KG, 285-287, 287g, 289g
komponen, struktur, 285g
- Mobilitas ion, 388-389
- Molekul obat
aktivitas, 42-43
bentuk sediaan multikomponen, 156
elusidasi struktur, spektrofotometri IM, 144-152
kelarutan, spektrofotometri UV/visibel, 129
keseragaman campuran, NIRA, 155
pelepasan dari formulasi, 130
spektrum massa TE, 233-239
spektrum RMI proton, 207-212
spektrum UV, 114-117
stabilitas, 47-49
waktu paruh, 49
- Morfin
analisis Raman, 190, 190g
- kiralitas, 53
mobilitas ion, 389
- Nandrolon, struktur dan elusi KCTT, 319L
- Naproxen
dan fase gerak dalam KLT, 374L
Interaksi dengan gel silika di KCTT, 316
- Narigenin, struktur, 407g
- Natrium
metode penambahan baku, 163-165
pada larutan albumin, 169
spektrofotometri emisi atom, 162, 163-165
transisi-transisi elektronik, 162
- Natrium alginat, dalam formulasi, analisis Raman, 191
- Neomisin, derivatisasi, KCTT, 357, 357g
- Nilai Rf, KLT, 370
- Nilai *I*, 284
- Ninhidrin, KLT, 377
- Nitroanilin, spektrum RMI, 202-203
- Nitrobenzen, spektrum RMI, 202
- Nitrogen
cincin diazin, 62
sulfonamida, 62
ureida, 61
- Noradrenalin, fluoresensi, 182, 183t
- Obat antihipertensi, 65
- Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID)
analisis injeksi aliran, 97
Fase gerak dalam KLT, 374
pemisahan berdasarkan jari-jari ion, EK, 397-398
- Obat antikolinergik, 65
- Obat simpatomimetik, 63
- Opiod, teknik sidik jari Raman, 190, 191
- Paap* (koefisien partisi nyata), 45
- Pantulan baur, penyiapan sampel untuk spektrofotometri IM, 142-143
- Pantulan total terlemahkan, penyiapan sampel untuk spektrofotometri IM, 143
- Parasetamol
analisis metode (SOP), 11-12
analisis tablet KCTT dengan kurva kalibrasi, 336-339
dengan aspirin, kalibrasi kurva rentang-sempit, 339-341
pengendalian mutu, 3-5, 8t
serapan IM, penafsiran, 146t, 151L
sifat fisiokimia, 58-59
spektrum RMI proton, 207-208
teknik kuantitatif, 218-219
- Pelarut
Fase diam KCTT, fase lurus dan fase balik, 316
Fase gerak dalam KLT, 375
Indeks polaritas, 372t
metode ekstraksi, 416-420
pemartisian, 416-417
seri elutropik, 372t
- Pelarut residu, KG
analisis ruang atas, 305-308
- Pembalut luka, logam runut, SSA, 175
- Pencitraan resonansi magnetik, 221
- Penentuan kelembapan, NIRA, 157
- Penetapan kadar hialuronat, kromatografi eksklusivitas, 352-354
- Pengaturan ulang McLafferty, 238-239
- Pengenceran, 21-23
- Penggeseran Stokes/Anti-Stokes, spektroskopi Raman, 188-189
- Pengisi, 414
- Pengotor
umum, sumber-sumber, 20k
perhitungan bagian per sejuta (bpj), 25
- Pengujian disolusi terotomatisasi, analisis injeksi aliran, 99



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

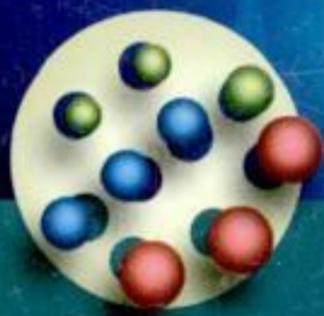
- Teknik sidik jari
spektrofotometri
inframerah, 144, 145,
149-152
spektroskopi Raman, 190
- Teori kromatografi, 261-275
kinerja kolom, parameter
yang digunakan, 268-
273
pembuatan laporan, 274-
275
perhitungan efisiensi
kolom, 262-264
perolehan data, 273-274
sumber-sumber pelebaran
pita pada KCTT, 264-
267
volume hampa dan faktor
kapasitas, 261-262
- Testosteron
struktur
dan elusi KCTT, 320
dan KLT, 373L
tablet, analisis kuantitatif,
298-300
- Tetapan dielektrik, 42-43
Tetapan disosiasi K_a , 30, 31
Tetapan Faraday, 84
Tetes mata
analisis kuantitatif, 300-302
derivatisasi, KCTT, 357
residu pembuatan/
peruraian, 303
- Tetes mata dipiverin, analisis
residu, 303
- Tetrahidrofur, kromatografi
fase-balik, 324
- Tetrametilsilan, RMI, 199
Tetrazolium basa biru, KLT, 378
- Timah, runtu, dalam pembalut
luka, 175
- Timbal, dalam gula, oleh
spektrofotometri serapan
atom, 173-174
- Timolol maleat, rotasi optik
sebagai pemeriksaan
pengendali mutu, 57
- Tingkat energi atom, 162
Fluoresensi, 180
keadaan dasar, 180
resonansi magnetik inti,
196
- Titration agentometri, 81
- Titration asam-basa
bebas air, 79-81
campuran berair/bebas-air,
75
langsung berair, 71-75
taklangsung berair, 75-79
- Titration asam-basa, 71-81
- Titration diazotasi, 89
- Titration iodometri, 85-88
langsung, 85-86
penggantian iodin, 86-88
- Titration Karl Fischer, 93-94
analisis injeksi aliran, 97g
- Titration kompleksometri, 81-82
- Titration pasangan ion, 88-89
- Titration potensiometri, 89-93
menentukan nilai pK_a , 91-
93
- Titration redoks, 82-85
- Titration titik-akhir secara
kulometri, 93-94
- Titration diazotasi sulfonamida,
89
- Titrimetri dan analisis kimia,
69-103
alat gelas, 12-14, 70
analisis, 71
otomatisasi, 95g
prinsip, 69-70
titration asam-basa, 71-81
titration balik, 76
- Tobramisin, rotasi optik sebagai
pemeriksaan pengendali
mutu, 57
- Toluen, dalam larutan heksan,
rasio serapan, 114
- Triamsinolon, uji batas, KLT,
383t
- Trietanolamin, 400g
- Trigliserida
analisis KG, 288
metanolisis, 288g
- Trimetazidin, struktur, 238L
- Tripolidin
isomerisme geometris, 50
kalibrasi satu-titik, KCTT,
341-343
- Turunan berfluoresensi
analisis injeksi aliran, 187
KLTKT, 385
- Urine
K, Na oleh SEA, 169
katekolamin, kromatografi
penukar ion, 356
- Vaksin, Ca oleh SEA, 169
- Validasi prosedur analisis, 8-9
- Violet kristal, 80
- Viskositas, SEA, 166
- Vitamin A, ekstraksi cairan
superkritis, 419
- Vitamin E, ekstraksi cairan
superkritis, 419
- Waktu paruh pada molekul obat,
49
- Warfarin natrium, pelarut
residu, KG, 305t
- Zat-zat pengabsorpsi iodin,
penisilin, 87-88
- Zat-zat pewarna, 415
dalam suspensi dan larutan,
415
- Zimeldin, isomeris geometris,
50g
- Zink, spektrofotometri serapan
atom, 170



You have either reached a page that is unavailable for viewing or reached your viewing limit for this book.

Analisis Farmasi

EDISI 2



Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi

Edisi baru *Analisis Farmasi* Watson akan diterima oleh semua mahasiswa farmasi, kimia, dan bidang lain yang terkait. Buku ini sangat dikenal dan dihargai secara internasional atas gaya dan tampilannya yang jelas. Semua teknik terpenting dalam analisis farmasi – termasuk spektroskopi, spektrofotometri, kromatografi, dan elektroforesis – dibahas secara padat dan singkat. Teori yang relevan dirangkum cukup sederhana, dan tidak menggunakan rincian yang hanya diketahui untuk orang tertentu.

Tampilan buku menarik dan mudah dibaca, disertai lebih dari 400 gambar dan formula kimia. Ringkasan bab, poin penting, dan latihan-latihan soal disesuaikan dengan gaya dan pendekatan untuk para mahasiswa.

Hal-hal yang baru dalam edisi ini

- Bagian tambahan mengenai perhitungan dasar dalam analisis farmasi
- Lebih mendetail mengenai elektroforesis kapiler untuk protein
- Pembahasan beberapa tipe kolom KCTT yang baru dan selektivitas pelarut dalam KCTT
- Materi tambahan yang dimasukkan pada pengendalian mutu metode analisis, spektrometri massa dan kromatografi cair tekanan tinggi
- Banyak latihan soal yang baru

Komentar dari pembaca edisi pertama

'Sangat bermanfaat—jelas & ringkas'

Mahasiswa farmasi tahun ke-2, UK

'Buku ajar yang informatif, dapat digunakan di laboratorium'

Mahasiswa kimia tingkat akhir, UK

'Kami gunakan buku ini untuk program pelatihan'

Staf pelatihan, USA

'Gabungan yang baik antara teori dan aspek praktis'

Mahasiswa PhD tahun pertama, UK

'Buku ajar yang sangat lengkap dan membantu saya saat mengajar'

Dosen, Departemen Farmakologi, Malaysia

Originally published as **Pharmaceutical Analysis, 2nd Ed.** This translation is published under contract with Elsevier.



ELSEVIER



9 789790 440043
ISBN 978-979-044-004-3

Far9798-02D