

**LAPORAN TUGAS AKHIR**  
**UJI KUALITAS *METRONIDAZOLE MICRONIZED* SEBAGAI**  
**BAHAN BAKU OBAT DI PT. FERRON PAR**  
**PHARMACEUTICALS CIKARANG**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh**  
**derajat Ahli Madya Sains (A.Md.Si) Analis Kimia**  
**Program Studi Diploma III Analisis Kimia**



**Disusun oleh:**

**Adjeng Nursafitri**

**17231084**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**  
**YOGYAKARTA**

**2020**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**UJI KUALITAS *METRONIDAZOLE MICRONIZED* SEBAGAI  
BAHAN BAKU OBAT DI PT. FERRON PAR  
PHARMACEUTICALS CIKARANG**

*QUALITY ANALYSIS OF METRONIDAZOLE MICRONIZED AS A DRUG RAW  
MATERIAL AT PT. FERRON PAR PHARMACEUTICALS CIKARANG*



**Disusun oleh:**

**Adjeng Nursafitri  
17231084**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2020**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**UJI KUALITAS *METRONIDAZOLE MICRONIZED* SEBAGAI  
BAHAN BAKU OBAT DI PT. FERRON PAR  
PHARMACEUTICALS CIKARANG**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

**Adjeng Nursafitri**

**NIM: 17231084**

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan

**Program Studi Diploma III Analisis Kimia**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Universitas Islam Indonesia**

**pada tanggal 14 Agustus 2020**

**Menyetujui,**

**Ketua Program Studi**

**Pembimbing**



**Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.  
NIK. 132311102**



**Bayu Wiyantoko, S.Si., M.Sc.  
NIK. 132311101**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**UJI KUALITAS METRONIDAZOLE MICRONIZED SEBAGAI  
BAHAN BAKU OBAT DI PT. FERRON PAR  
PHARMACEUTICALS CIKARANG**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

**Adjeng Nursafitri**

**NIM: 17231084**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 25 Juli 2020

**Susunan Tim Penguji**

**Pembimbing/ Penguji**



**Bayu Wiyantoko, S.Si., M.Sc.**

**NIK. 132311101**

**Penguji I**



**Puji Kurniawati, S.Pd.Si., M.Sc.**

**NIK. 132311103**

**Penguji II**



**Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.**

**NIK. 132311102**

**Mengetahui,**

**Dekan Fakultas MIPA UII**



**Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.**

**NIK. 006120101**

## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir ini tidak pernah terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Science atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Saya memperbolehkan sebagian pengutipan karya ini sebagai materi praktikum setelah penerbitan karya ini.



Lampung, 11 Agustus 2020  
Penyusun,



Adjeng Nursafitri

## MOTTO

Rasulullah *Shallallahu 'alaihi wasallam* bersabda: “Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia.”

Hadits dihasankan oleh Al-Albani didalam Shahihul Jami' (no. 3289)

“Amanah terembankan kepada pundak yang semakin lemah, bukan sebuah keluhan, ketidakterimaan, keputusasaan, terlebih surut ke belakang. Ini adalah awal pembuktian siapa di antara kita yang beriman. Orang-orang besar lahir karena beban perjuangan! Bukan menghindari peperangan.”

-Ustadz Rahmat Abdullah Rahimahullah-



## HALAMAN PERSEMBAHAN

### **Alhamdulillahirabbil'alamin...**

Sujud serta syukur kepada Allah *Subhanahu wa Ta'ala* atas Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga memberikan kekuatan, kepercayaan, dan semangat dalam menuntut ilmu di program studi Diploma III Analisis Kimia FMIPA UII. Berkat kekuasaannya saya dapat menyelesaikan studi dan laporan Tugas Akhir semaksimal mungkin untuk mendapatkan gelar Ahli Madya Science (Amd.Si.).

### **Bapak, Ibu, dan Adik Saya yang Tercinta**

Terimakasih ibu, yang setiap hari mendo'akan kebaikan, dan kesuksesan untuk saya. Terimakasih bapak yang sudah bekerja keras untuk memberikan saya pendidikan sampai saat ini. Syukur alhamdulillah saya bisa kuliah di Universitas Islam Indonesia, menemukan pengalaman baru, dapat belajar ilmu agama, mengembangkan minat di bidang kimia, hingga sampai mendapatkan teman-teman yang baik. Kalian adalah alasan untuk selalu melakukan yang terbaik. Adik-adikku, Ageng, Yugo, Ana, dan Khadijah, Terimakasih telah sabar dengan keterbatasan, terimakasih selama ini bisa mengerti keadaan dan kebutuhan kakak kalian. Tidak semua orang bisa hidup sederhana ditengah megahnya dunia. Doa'kan agar kakakmu dapat menjadi orang yang bermanfaat, untuk keluarga kita, agama kita, dan bangsa kita. Semoga Allah menyayangi keluarga kita.

### **Dosen dan Staff Program Studi Diploma III Analisis Kimia serta Almamater UII yang Saya Banggakan**

Terimakasih yang sebesar-besarnya saya ucapkan kepada dosen-dosen dan staff program studi Diploma III Analisis Kimia yang banyak memberikan ilmunya untuk menuntun saya lebih banyak mengetahui banyak pengetahuan khususnya dibidang kimia terapan. Terimakasih Pak Bayu dan Ibu Kuntari selaku dosen pembimbing Tugas Akhir dan pembimbing aademik, yang telah membimbing dengan baik dan sabar, sudah memberikan ilmu yang bayak untuk saya. Ibu kuntari yang selalu bisa dijadikan tempat solusi terbaik jika ada kendala selama

kuliah. Semoga Allah membalas kebaikan ibu dan bapak. Analisis Kimia Jaya. Semoga Allah meridhoi UII.

### **Ibu Dumairi, Teman-teman Asrama Qur'an Azhar, Teman Seperjuangan Angkatan 2017 Diploma III Analisis Kimia**

Terimakasih banyak kepada Ibu Dumairi yang sudah membantu saya selama kuliah, yang sudah memfasilitasi saya untuk belajar dan menghafal Al-Quran di Asrama Azhar. Terimakasih Yayuk Afif, ustadzah Sarah, ustadzah Aminah, dan Mba Izzah yang telah mengajarkan Al-Qur'an, mengajarkan kedisiplinan dan peduli terhadap masyarakat. Teman asrama yang selalu membantu dan memotivasi untuk selalu menjadi pribadi yang baik yang sudah banyak membantu baik dalam penyusunan laporan Tugas Akhir maupun semangat dan motivasi. Semoga Allah membalas kebaikan kalian.

### **Manusia-manusia Terbaik di Klan Bumi**

Alhamdulillah dan jazaakumullahu khairan untuk Azizah, Hilda, Ulul, Dinda, Rini, dan Kamu yang sudah sabar, baik, dan terus bantuin Adjeng sampai detik ini. Mungkin karakter Raib dalam novel Tereliye sangat beruntung punya Selly dan Ali, tapi aku lebih beruntung karena punya kalian. Semoga *until* jannah ya, aamiin.

### **Bapak dan Ibu di PT. Ferron Par Pharmaceuticals Cikarang**

Terimakasih kepada pemimpin PT. Ferron Par Pharmaceuticals yang telah memberikan kesempatan bagi saya untuk melakukan Praktik Kerja Lapangan (PKL), kepada Ibu Cahyani, S.Si., Apt. selaku pembimbing PKL terimakasih atas bimbingan, arahan, dan ilmunya selama saya melakukan Praktik Kerja Lapangan. Terimakasih kepada Mas Jo selaku supervisor laboratorium kimia, dan Mba Boni dan Mba Ipeh selaku Labtek yang telah banyak memberi arahan dan ilmunya untuk bisa melakukan pengujian di PT. Ferron Par Pharmaceuticals.

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahiim...*

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, telah memberikan nikmat iman, nikmat islam, dan meneguhkan hati diatas agama yang diridhoi. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW dan para sahabat yang senantiasa istiqomah menjalankan agama-Nya. Berkat pertolongan dan rahmat Allah SWT penulis dapat menyelesaikan Laporan Praktik Kerja Lapangan yang menguraikan tentang **“Uji Kualitas *Metronidazole Micronized* Sebagai Bahan Baku Obat di PT. Ferron Par Pharmaceuticals Cikarang”**.

Laporan Praktik Kerja Lapangan disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan derajat Ahli Madya Sains (A.Md.Si) pada Program Studi Diploma III Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta. Selama proses penyusunan laporan ini penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan Laporan Tugas Akhir ini sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikannya. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Ibu Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Diploma III Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Kuntari, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang banyak memberi nasihat, perhatian, bimbingan dan saran. Semoga Allah membalas kebaikan ibu.
4. Bapak Bayu Wiyantoko, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan yang banyak memberi nasihat, perhatian, bimbingan dan saran.

Semoga segala bantuan dan bimbingannya mendapat imbalan yang lebih baik disisi-Nya.

5. Dosen-dosen dan Staff Program Studi Diploma III Analisis Kimia FMIPA UII atas semua bantuan dan ilmu yang telah diberikan.
6. Ibu pimpinan Balai Pengujian Mutu Barang Jakarta atas penyediaan tempat untuk Praktik Kerja Lapangan.
7. Ibu Cahyaning, S.Si., Apt., Mas Jo, Mba Boni, dan Mba Ipeh yang memiliki andil besar dalam proses penelitian dan penyelesaian tugas akhir ini.
8. Seluruh analis dan karyawan laboratorium kimia PT. Ferron Par Pharmaceuticals yang telah membantu penulis dengan memberikan wawasan, arahan, dan nasihat selama melaksanakan Praktik Kerja Lapangan.
9. Kedua orang tua, saudara, teman-teman dan semua pihak yang telah memberikan dukungan baik moral maupun spiritual serta telah membantu dalam proses melaksanakan dan penyusunan laporan Praktik Kerja Lapangan yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan arahan, bimbingan, kritik dan saran yang membangun demi terciptanya laporan yang lebih baik untuk kedepannya. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri maupun semua pihak yang terkait.

*Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Lampung, 11 Agustus 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	vii
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
INTI SARI .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan .....	5
1.4 Manfaat .....	5
<b>BAB II DASAR TEORI</b>	
2.1 Profil Singkat PT. Ferron par Pharmaceuticals .....	6
2.1.1 Sejarah singkat perusahaan .....	6
2.1.2 Visi .....	7
2.1.3 Misi .....	8
2.2 <i>Metronidazole Micronized</i> .....	8
2.3 Uji Kualitatif .....	10
2.3.1 Spektrofotometer Infra Red .....	10
2.3.2 Spektrofotometer UV-Vis .....	13
2.3.3 Logam Berat (Pb) .....	16
2.3.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	17
2.4 Uji Kuantitatif .....	20

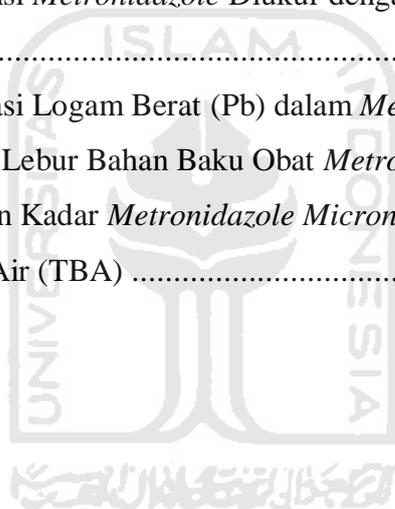
2.4.1	Susut Pengerinan .....	20
2.4.2	Sisa Pijar .....	21
2.4.3	Titration Bebas Air (TBA) .....	21
2.4.4	Presisi .....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>		
3.1	Alat .....	24
3.2	Bahan .....	24
3.3	Prosedur Kerja Uji Kualitatif .....	24
3.3.1	Pemerian.....	24
3.3.2	Kelarutan .....	24
3.3.3	<i>Purity Index</i> .....	25
3.3.4	Spektrum Serapan UV .....	26
3.3.5	Identifikasi Logam Berat (Pb).....	26
3.3.5.1	Larutan Standar .....	26
3.3.5.2	Larutan Sampel .....	26
3.3.5.3	Prosedur Pembacaan .....	27
3.3.6	Waktu Tambat (Rf) .....	27
3.3.6.1	Kondisi Kromatografi.....	27
3.3.6.2	Larutan Sampel .....	27
3.3.6.3	Larutan Standar .....	27
3.3.6.4	Prosedur Pembacaan.....	27
3.4	Prosedur Kerja Uji Kuantitatif .....	28
3.4.1	Susut Pengerinan .....	28
3.4.2	Sisa Pijar.....	28
3.4.3	Suhu Lebur .....	29
3.4.4	Penentuan Kadar <i>Metronidazole</i> dengan Metode Titration Bebas Air (TBA) .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
4.1	Uji Kualitatif .....	30
4.1.1	Pemerian .....	30
4.1.2	Kelarutan .....	30

4.1.3	<i>Purity Index</i> .....	32
4.1.4	Spektrum Serapan UV .....	35
4.1.5	Identifikasi Logam Berat (Pb).....	37
4.1.6	Waktu Tambat (Rf).....	39
4.2	Uji Kuantitatif .....	41
4.2.1	Susut Pengeringan .....	41
4.2.2	Sisa Pijar .....	42
4.2.3	Suhu Lebur .....	43
4.2.4	Penentuan Kadar Metronidazole dengan Metode Titrasi Bebas Air (TBA) .....	44
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
5.1	Kesimpulan .....	48
5.2	Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....		50



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Gugus Fungsi Senyawa Organik .....	11
Tabel 2.2	Daerah Frekuensi Bilangan Gelombang Gugus Fungsi .....	12
Tabel 2.3	Polaritas Fase Diam .....	18
Tabel 3.1	Prosedur Uji Kelarutan <i>Metronidazole Micronized</i> .....	25
Tabel 4.1	Hasil Pemerian <i>Metronidazole Micronized</i> .....	30
Tabel 4.2	Klasifikasi Kelarutan .....	31
Tabel 4.3	Hasil Uji Kelarutan <i>Metronidazole Micronized</i> .....	32
Tabel 4.4	Hasil Interpretasi Spektrum Serapan FTIR-ATR .....	33
Tabel 4.5	Hasil Absorbansi <i>Metronidazole</i> Diukur dengan Spektrofometri UV-Visibel .....	36
Tabel 4.6	Hasil Identifikasi Logam Berat (Pb) dalam <i>Metronidazole</i> .....	38
Tabel 4.7	Hasil Uji Suhu Lebur Bahan Baku Obat <i>Metronidazole</i> .....	44
Tabel 4.8	Hasil Penentuan Kadar <i>Metronidazole Micronized</i> dengan Metode Titrasi Bebas Air (TBA) .....	46



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Logo PT. Ferron Par Pharmaceuticals .....	7
Gambar 2.2 Struktur <i>Metronidazole</i> .....	9
Gambar 2.3 Daerah Spektrum Elektromagnetik yang Menunjukkan Hubungan Vibrasi Infra Merah dengan Tipe Radiasi Lain .....	10
Gambar 2.4 Instrumentasi dalam Spektrofotometri UV-Vis .....	15
Gambar 2.5 Kisi-kisi Monokromator.....	16
Gambar 2.6 Silicon Fotodiodida (PIN) dan Susunan Diodida .....	16
Gambar 2.7 Pengaruh Penjenuhan <i>Chamber</i> pada Jarak Migrasi dan Waktu Pemisahan metode KLT .....	18
Gambar 2.8 Kelompok Kepolaran Fase Gerak.....	19
Gambar 2.9 Pengaruh Efisiensi pada Pemisahan dalam Kromatografi Lapis Tipis .....	20
Gambar 4.1 Spektrum Serapan IR-ATR <i>Metronidazole</i> dan Standar <i>Metronidazole</i> .....	33
Gambar 4.2 Kurva Korelasi antara Absorbansi <i>Metronidazole</i> Vs. Standar <i>Metronidazole</i> .....	34
Gambar 4.3 Bentuk dan Ukuran Plat KLT .....	39
Gambar 4.4 Reaksi antara <i>Metronidazole</i> dengan $\text{HClO}_4$ .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Analisa Kuantitatif.....	53
Lampiran 2 Spektrum Serapan FTIR-ATR <i>Metronidazole</i> dan Standar <i>Metronidzole</i> .....	55
Lampiran 3 Spektrum Serapan UV <i>Metronidazole Micronized</i> .....	56
Lampiran 4 Hasil Elusi <i>Metronidazole Micronized</i> metode KLT .....	58



# UJI KUALITAS *METRONIDAZOLE MICRONIZED* SEBAGAI BAHAN BAKU OBAT DI PT. FERRON PAR PHARMACEUTICALS CIKARANG

Adjeng Nursafitri

Program Studi Diploma III Analisis Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia  
Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta  
Email : 17231084@students.uii.ac.id

## INTISARI

Telah dilakukan pengujian kualitas *metronidazole micronized* sebagai bahan baku obat di PT Ferron Par Pharmaceuticals Cikarang. Pengujian ini dilakukan untuk memastikan kualitas bahan baku yang digunakan oleh PT. Ferron Par Pharmaceuticals untuk membuat suatu obat antibiotik. Pengujian *metronidazole* ini dilengkapi dengan pengujian kualitatif dan kuantitatif. Parameter uji kualitatif meliputi pemerian, kelarutan, *purity index*, spektrum serapan UV, identifikasi logam berat (Pb), dan waktu tambat (Rf) masing-masing menggunakan metode organoleptik, *solubility*, FTIR-ATR, spektrofotometer UV-Visibel, kolorimetri, dan kromatografi lapis tipis (KLT). Parameter uji kuantitatif meliputi susut pengeringan, sisa pijar, suhu lebur, dan penetapan kadar masing-masing menggunakan metode gravimetri untuk susut pengeringan dan sisa pijar, peleburan, dan volumetri. Hasil yang didapatkan yaitu senyawa ini agak sukar larut dalam air dan alkohol, dan sukar larut dalam eter dan kloroform. Senyawa ini memiliki spektrum yang sama antara sampel dan standar *metronidazole* saat diuji dengan FTIR-ATR dengan nilai *purity index* sebesar 0,9867. Senyawa ini memberikan panjang gelombang maksimum yang sama antara sampel dan standar yaitu 276,7 nm absorbansi sampel dan standar masing-masing 0,3755; 0,3752 diuji dengan spektrofotometer UV-Visibel. Kandungan logam berat Pb  $\leq$  50 ppm dan memberikan nilai Rf sebesar 1 dimana nilai Rf bahan baku sama dengan standar. Sisa pijar *metronidazole* sebesar 0,056% dengan susut pengeringan sebesar 0,4%. Senyawa ini melebur sempurna pada suhu 162,6 °C. Kadar *metronidazole* yang diuji dengan metode TBA sebesar 100,065 dengan presisi 0,85%. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa *metronidazole micronized* memiliki kualitas yang baik, sesuai dengan spesifikasi yang tercantum dalam Farmakope Indonesia Edisi V Tahun 2014.

Kata Kunci : *Metronidazole micronized*, uji kualitatif, uji kuantitatif



# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Menurut Peraturan Kementrian Republik Indonesia nomer 1799 tahun 2010, industri farmasi merupakan salah satu industri yang berjalan di Indonesia atas izin dari Mentri Kesehatan Indonesia untuk memproduksi dan memenuhi kebutuhan obat-obatan untuk masyarakat. Menurut Undang-undang Republik Indonesia nomer 36 tahun 2009 tentang kesehatan, obat merupakan bahan atau campuran bahan yang digunakan untuk mempengaruhi atau mengobati keadaan patologi tubuh, mendiagnosis, mencegah, atau menyembuhkan sistem fisiologi, sehingga terjadinya peningkatan kesehatan pada manusia. Obat yang baik dibuat dari bahan baku yang baik, sehingga kualitas obat juga dipengaruhi oleh kualitas bahan bakunya. Untuk menjamin kualitas bahan baku, diperlukan pengujian yang panjang untuk menetapkan kualitas bahan baku, baik secara fisik maupun kimia.

*Metronidazole* merupakan salah satu obat antibiotik yang dapat mengatasi infeksi bakteri *H. Pylori* dalam lambung, juga dapat mengatasi infeksi akibat bakteri atau parasit di sistem reproduksi, saluran pencernaan, kulit, jantung, tulang, paru-paru, darah, sistem saraf dan bagian tubuh lainnya dengan cara menghentikan pertumbuhan bakteri dan parasite (Lacy *et. al.*, 2009). Obat ini juga berguna untuk mengobati vaginosis bakterialis pada wanita. Kualitas *metronidazole* diuji untuk memastikan kualitas dari bahan baku yang akan digunakan untuk pembuatan obat antibiotik. Suatu obat dapat dikatakan berkualitas apabila hasil uji obat memenuhi persyaratan baku mutu atau spesifikasi hasil yang tertera disetiap parameter uji dalam Farmakope Idonesia.

Christiana (2012) telah mempelajari validasi dari penentuan kadar *metronidazole* murni yang diuji dengan titrasi bebas air, hasil pengujian menunjukkan kadar sebesar 99,8% yang diuji secara duplo, hasil ini dikatakan baik karena sesuai dengan spesifikasi kadar zat aktif *metronidazole* yaitu 99-101%, sehingga pengujian Christiana dapat dijadikan bahan evaluasi untuk membandingkan kadar *metronidazole* (murni) yang dihasilkan dalam penelitian

ini apabila hasil kadar *metronidazole* yang didapatkan tidak sesuai dengan spesifikasi. Penelitian yang dilakukan kali ini merupakan pengujian kualitas dari *metronidazole* secara kualitatif dan kuantitatif. Prosedur dan syarat keberterimaan pengujian mengacu pada Farmakope Indonesia Edisi V Tahun 2014.

Uji kualitatif dilakukan dengan parameter pemerian, kelarutan, *purity index*, spektrum serapan UV, identifikasi logam berat Pb, dan waktu tambat ( $R_f$ ) masing-masing menggunakan metode organoleptik, *solubility*, FTIR-ATR, spektrofotometer UV-Visibel, kolorimetri, dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi V Tahun 2014, pemerian dilakukan untuk memastikan sifat fisik dari *metronidazole*. Pengujian kelarutan dilakukan untuk memastikan kelarutan dari bahan baku yang akan digunakan untuk pembuatan obat dan memastikan absorpsi obat berlangsung dengan baik pada akseptor setelah obat dikonsumsi. Uji *purity index* dilakukan untuk mengetahui kesesuaian *metronidazole* dengan standar *metronidazole*, sehingga dapat diketahui kemurnian dari *metronidazole*. Pengujian spektrum serapan UV dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dan absorbansi dari *metronidazole*, sehingga dapat diketahui keberadaan *metronidazole* dan kemurniannya. Pemisahan senyawa dengan metode KLT dilakukan untuk mengkonfirmasi keberadaan dan kemurnian *metronidazole*.

Pemerian *metronidazole* dilakukan secara organoleptik yaitu dengan menganalisa secara visual bagaimana bentuk, bau, warna, dan kestabilan di udara dari *metronidazole*. Uji kelarutan dilakukan berdasarkan klasifikasi kelarutan yang tertera dalam Farmakope Indonesia yang didasarkan pada jumlah pelarut yang dibutuhkan untuk melarutkan satu bagian zat. Nilai *purity index* didapatkan dari nilai korelasi kurva korelasi antara absorbansi *metronidazole* dengan standar *metronidazole* yang dihasilkan dari spektrum serapan FTIR-ATR, nilai *purity index* menunjukkan kemurnian dari *metronidazole* dengan syarat korelasi tidak kurang dari 0,98. Identifikasi *metronidazole* dengan spektrofotometer UV-Visibel dilakukan dengan melarutkan sejumlah *metronidazole* dan standarnya dengan pelarut HCl 0,1 N yang kemudian diukur dengan panjang gelombang  $277 \pm 0,76$  nm, sehingga diketahui panjang gelombang maksimum dan absorbansi dari

*metronidazole* dan standar *metronidazole*. Uji logam berat timbal (Pb) dilakukan dengan cara membandingkan warna larutan *metronidazole* dengan standar, preparasi sampel dilakukan dengan cara destruksi kering, yaitu *metronidazole* ditambahkan asam kuat dan dipijarkan pada suhu 500 – 600°C, penambahan *thioacetamide-glicerine Base* TS digunakan untuk pembentukan warna dari larutan *metronidazole* dan standar *metronidazole*. Pemisahan *metronidazole* dengan metode KLT dilakukan dengan membandingkan nilai Rf antara *metronidazole* dengan standar *metronidazole*, preparasi dilakukan dengan melarutkan sampel dan standar dengan aseton pekat, larutan dielusi dengan fase gerak kloroform : etanol : dietil amina : air (80 : 10 : 10 : 1) (v/v/v/v).

Uji kuantitatif dilakukan dengan parameter susut pengeringan, sisa pijar, suhu lebur, dan penetapan kadar masing-masing menggunakan metode gravimetri untuk susut pengeringan dan sisa pijar, peleburan, dan volumetri. Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengontrol kandungan air yang ada dalam bahan baku, agar tidak mudah rusak oleh bakteri karena air merupakan medium yang dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Uji sisa pijar dilakukan untuk mengontrol kandungan senyawa anorganik (logam) yang terdapat dalam bahan baku, sesuai dengan pengujian yang dipersyaratkan dalam Farmakope Indonesia agar bahan baku tidak memiliki pengotor yang berlebih. Uji suhu lebur dilakukan untuk memastikan kemurnian dari *metronidazole*, memastikan tidak ada zat pencemar yang ditandai dengan penurunan atau kenaikan dari rentang suhu lebur *metronidazole* yang tertera dalam Farmakope Indonesia. Penetapan kadar *metronidazole* dilakukan untuk mengetahui berapa kadar zat aktif *metronidazole* yang terkandung dalam bahan baku, hal ini penting dilakukan agar obat yang beredar di masyarakat memiliki kandungan zat aktif yang sesuai dengan yang dipersyaratkan. Apabila kandungan zat aktif yang dikonsumsi kurang dari Dosis Lazim (DL) maka obat tidak dapat memberikan efek mengobati atau mengurangi rasa sakit, sedangkan apabila kandungan zat aktif melebihi dosis maka konsumen akan mengalami over dosis (Tanzil dkk, 2016).

Uji susut pengeringan dilakukan dengan metode gravimetri, *metronidazole* dioven pada suhu  $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama dua jam, selisih antara bobot awal dengan

bobot akhir dihitung sebagai %susut pengeringan. Uji sisa pijar juga dilakukan dengan metode gravimetri, dengan bantuan destruksi kering yaitu penambahan asam kuat dalam *metronidazole* dan dipijarkan dalam tanur pada suhu  $800 \pm 25^{\circ}\text{C}$ . Selisi antara bobot awal *metronidazole* dengan bobot akhir dihitung sebagai %sisa pijar. Penentuan kadar dilakukan dengan Titrasi Bebas Air (TBA), yaitu dengan tidak adanya kandungan air dalam pelarut, titran, maupun alat gelas yang digunakan untuk mempertajam titik akhir titrasi. Pelarut yang digunakan yaitu asam asetat glasial, titran yang digunakan adalah  $\text{HClO}_4$ , 0,1 N, dan indikator yang digunakan adalah kristal violet.

Penjaminan kualitas *metronidazole* harus dilakukan dengan pengujian secara keseluruhan berdasarkan parameter uji yang disyaratkan dalam Farmakope Indonesia (tidak ada parameter uji yang dihilangkan), sebab apabila ada parameter uji yang tidak dilakukan maka dapat menimbulkan resiko yang serius seperti penurunan fungsi obat dalam tubuh, menyebabkan ketidaknyamanan pasien, menyebabkan cacat pada pasien, membahayakan jiwa, dan produk obat tidak bisa diedar ke masyarakat (CPOB, 2018).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut, rumusan masalah yang dapat dijabarkan yaitu:

1. Bagaimana kualitas bahan baku *metronidazole micronized* yang diuji secara kualitatif dengan parameter pemerian, kelarutan, *purity index*, spektrum serapan UV, identifikasi logam berat Pb, dan waktu tambat ( $R_f$ ) masing-masing menggunakan metode organoleptik, *solubility*, FTIR-ATR, spektrofotometer UV-Visibel, kolorimetri, dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
2. Bagaimana kualitas bahan baku *metronidazole micronized* yang diuji secara kuantitatif dengan parameter susut pengeringan, sisa pijar, suhu lebur, dan penetapan kadar masing-masing menggunakan metode gravimetri untuk susut pengeringan dan sisa pijar, peleburan, dan volumetri.

### 1.3 Tujuan

Tujuan yang ingin dicapai melalui penelitian tugas akhir ini yaitu :

1. Menentukan sifat fisik dan kimia *metronidazole micronized* diuji secara kualitatif dengan parameter pemerian, kelarutan, *purity index*, spektrum serapan UV, identifikasi logam berat Pb, dan waktuambat (Rf) masing-masing menggunakan metode organoleptik, *solubility*, FTIR-ATR, spektrofotometer UV-Visibel, kolorimetri, dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
2. Menentukan sifat fisik dan kimia *metronidazole micronized* diuji secara kuantitatif dengan parameter susut pengeringan, sisa pijar, suhu lebur, dan penetapan kadar masing-masing menggunakan metode gravimetri untuk susut pengeringan dan sisa pijar, peleburan, dan volumetri.

### 1.4 Manfaat

Manfaat yang didapatkan dari penelitian tugas akhir di PT. Ferron Par Pharmaceuticals adalah :

1. Bagi mahasiswa (peneliti)  
Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan mengenai analisis kimia dibidang farmasi terutama dalam menganalisis bahan baku obat.
2. Bagi ilmu pengetahuan  
Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan rujukan untuk penelitian mengenai pengujian *metronidazole micronized* dengan menggunakan Bahan Pembanding Farmakope Indonesia (BPFI).
3. Bagi instansi  
Penelitian yang telah dilakukan ini diharapkan dapat berguna bagi instansi sebagai evaluasi hasil validasi metode pengujian *metronidazole micronized* dan memberikan informasi terkait *metronidazole micronized* yang dianalisis berdasarkan acuan batas maksimum dari Farmakope Indonesia edisi kelima tahun 2014.

## **BAB II**

### **DASAR TEORI**

#### **2.1 Profil Singkat PT. Ferron Par Pharmaceuticals**

##### **2.1.1 Sejarah Perusahaan**

PT. Ferron Par Pharmaceuticals (FPP) merupakan perusahaan farmasi yang tergabung dalam Grup Dexa Medica. Sejak didirikan pada tanggal 27 September 1970 oleh Rudy Soetikno, Hetty Soetikno, dan Lydia Siptiani Dexa Medica telah tumbuh menjadi salah satu industri besar farmasi di Indonesia. Perkembangan ini dan tuntutan globalisasi perindustrian, membuat PT. Dexa Medica membutuhkan fasilitas manufaktur baru dengan kemampuan memproduksi bentuk-bentuk sediaan farmasi yang lebih kompleks dibawah operasional perusahaan yang berbeda. PT. FPP berdiri secara inkorporasi dibawah hukum pada 5 Desember 1994 dan proses operasionalnya dimulai sebagai perusahaan pemasaran pada 24 Januari 2001. Pembangunan FPP direncanakan pada bulan Juli 2000, mulai dibangun pada Oktober 2000 dan selesai dibangun pada bulan Juli 2002, dan mulai menjalankan proses produksi.

Produk yang diproduksi adalah produk PT. Dexa Medica, produk perusahaan lain yang melakukan *toll in*, serta produk FPP sendiri. Distribusi dilakukan oleh PT. Anugrah Argon Medica (PT. AAM), sebuah perusahaan distribusi yang juga tergabung dalam Dexa Medica Group. Perusahaan lain yang juga bergabung dalam Dexa Medica Group yaitu Equilab yang merupakan laboratorium BABE (*Bioavailability and Bioequivalent*), Inmark yang bergerak dalam penyediaan jasa *Medical Representative* dan DLBS (*Dexa Laboratory and Biomolecule Science*) yang berperan dalam riset produk biomolekul dan vaksin. PT. FPP mempunyai motto yaitu inovasi (*Innovation*), kualitas (*Quality*), dan Pelayanan (*Care*), dengan moto ini FPP telah mampu memproduksi berbagai sediaan farmasi dan menerapkan strategi diferensiasi segmen terapeutik dengan pengelompokan produknya menjadi 5 kategori yaitu Opta (sediaan farmasi untuk mata), Derma (sediaan farmasi untuk kulit), *Oncology* (sediaan farmasi untuk penyakit kanker), serta Kualita dan Inova

yang merupakan produk-produk campuran obat lainnya selain 3 kategori tersebut yaitu kardiovaskular, antineoplastik, antidiabetes, analgesik dan vitamin. FPP mempunyai logo berwarna merah berbentuk segitiga seperti ditunjukkan Gambar 2.1.



**Gambar 2.1 Logo PT. Ferron Par Pharmaceuticals**

Pada logo tersebut terdapat tulisan “fe” dalam segitiga merah yang merupakan simbolisasi dari unsur *ferrum* (besi), asal nama “Ferron”. Besi merupakan salah satu unsur penting dalam kehidupan, karenanya diharapkan FPP memiliki sifat yang sama dengan besi dalam hal kekuatan, kegunaan dan keberadaannya. Kata “Par” berasal dari istilah dalam olah raga golf yang berarti target yang harus dicapai. Oleh karena itu kata “Par” menunjukkan bahwa perusahaan selalu berusaha untuk memenuhi standar yang telah ditetapkan baik dalam hal kualitas produk maupun dalam hal praktek bisnisnya. Sedangkan “Pharmaceuticals” menunjukkan bahwa perusahaan ini bergerak di bidang industri farmasi. Pada 7 November 2002, FPP berhasil memperoleh sertifikasi CPOB dan pada 14 Mei 2003 mendapatkan sertifikat ISO 9001 edisi tahun 2000 (Resertifikasi pada tanggal 17-19 Mei 2006). ISO 9000 bukan merupakan standar produk, tetapi merupakan sistem standar manajemen dalam menghasilkan suatu produk.

### **2.1.2 Visi**

Perusahaan ini mempunyai visi untuk menjadi perusahaan terkemuka dengan tekad memberikan nilai tambah yang tinggi bagi setiap pelanggan dan para *stakeholder* dengan :

1. Produk inovatif dan berkualitas tinggi
2. Pelayanan yang unggul melalui proses yang efektif dan efisien
3. Penyempurnaan yang berkesinambungan

4. Demi menciptakan kesehatan bagi semua di tingkat nasional, regional maupun global.

### **2.1.3 Misi**

Untuk mewujudkan visi tersebut, FPP mempunyai misi untuk memantapkan kapasitas dan kompetensi untuk berperan dalam meningkatkan kualitas pelayanan kesehatan melalui:

1. Inovasi dalam produk dan proses
2. Perbaikan berkesinambungan untuk kepentingan *stakeholder*
3. Produk dan layanan bernilai tambah bagi pelanggan
4. Kemitraan regional dan global demi pertumbuhan dan eksistensi.

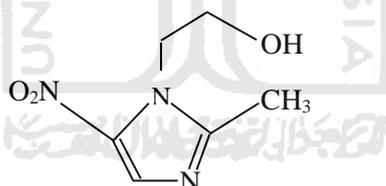
Dalam menerapkan visi dan misi perusahaan, FPP menerapkan 5R yaitu Ringkas, Rapi, Resik, Rawat, dan Rajin. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi kerja, produktivitas, peningkatan moral, disiplin kerja, dan kenyamanan kerja. Selain itu juga terdapat program *Ferron Suggestion System* (FeSS) yang merupakan sarana bagi para karyawan Ferron dalam menyampaikan ide-ide kreatif dan saran untuk kemajuan Ferron. Ide dan saran dari para karyawan disampaikan ke komite saran dan kemudian di lombakan tiap 3 bulanan/tahunan. Dengan adanya program ini, diharapkan karyawan dapat ikut berpartisipasi secara aktif dalam perkembangan Ferron.

## **2.2 *Metronidazole Micronized***

*Metronidazole* adalah obat yang digunakan untuk pencegahan dan pengobatan infeksi anaerobik dan infeksi ganda anaerobik dengan eretik, trikomoniasis, amubiasis, giardiasis, dan lambiasis (Tanu *et al.*, 1995). Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi kelima tahun 2014, *metronidazole* atau 2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol berbentuk kristal kuning gading dan sedikit larut dalam air dan alkohol. Kelarutan menjadi hal yang penting dalam industri farmasi, karena kelarutan pada obat akan mempengaruhi adsorpsi obat dalam tubuh. Kelarutan suatu zat sangat dipengaruhi oleh polaritas pelarut, senyawa polar akan terlarut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non polar akan terlarut dalam pelarut non polar (Patel *at al*, 2012). Berdasarkan

Farmakope Indonesia edisi kelima tahun 2014, Senyawa *metronidazole* memiliki rumus  $C_6H_9N_3O_3$  dengan bobot molekul 171,15 g/mol, tidak lebur sebesar 159 - 163°C. Senyawa ini bersifat fotosensitif yang berarti senyawa ini tidak dapat terkena langsung oleh cahaya karena akan mempergelap warna. Kadar bahan baku *metronidazole* tidak kurang dari 99% dan tidak lebih dari 101,0%.

Pembuatan obat *metronidazole* tentu saja membutuhkan bahan baku yang terdiri dari bahan baku obat yang bersifat zat aktif dan eksepian. Bahan baku zat aktif merupakan bahan baku yang memiliki efek terapi terhadap tubuh manusia, sedangkan bahan baku eksepian adalah bahan baku yang telah dievaluasi dengan benar keamanannya dan termaksud dalam sistem pengantaran obat (*drug delivery system*) untuk membantu dalam memproses sistem pengantaran obat tersebut seperti melindungi, mendukung, atau meningkatkan stabilitas, efeksifitas, dan kemampuan obat selama penyimpanan atau penggunaan (CPOB, 2018). Struktur *metronidazole* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



**Gambar 2.2 Struktur *Metronidazole***

*Metronidazole* merupakan produk turunan dari nitromidazole yang digunakan untuk membasmi bakteri *Trichomoniasis Vaginalis*, *Amoebiasis*, dan *Giardiasis* (Tjay dan Raharja, 2007).

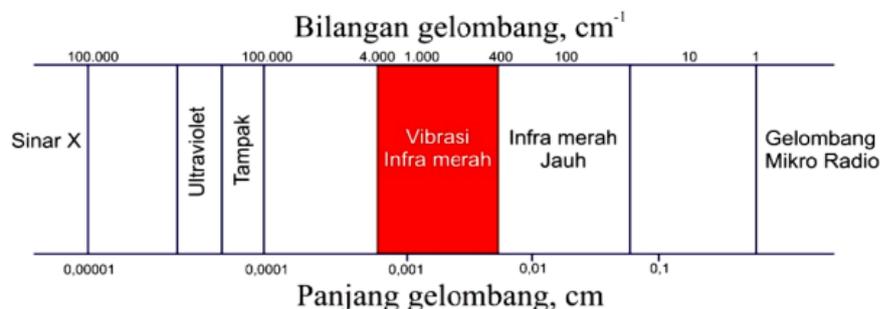
Menurut Shargel *et al.* (2004), berdasarkan *Biopharmaceutics Classification System (BCS)*, *metronidazole* merupakan obat kelas kedua yaitu jenis obat yang memiliki tingkat disolusi yang terbatas dan permeabilitas yang baik, dimana bioavailabilitasnya dikontrol dengan dosis formula dan tingkat pelepasan dari bahan obat. *Metronidazole* menyerap dengan sempurna pada saluran cerna apabila diberikan secara oral dengan kadar serum tinggi dicapai dalam 1 – 2 jam setelah pemberian obat dengan waktu paruh plasma kurang

lebih 8 jam (Siswandono dan Bambang, 1995). Menurut Tjay dan Rahardja (2007), konsumsi obat *metronidazole* dapat menimbulkan efek yang berupa gangguan saluran cerna, pusing atau sakit kepala, mulut terasa kering dan rasa logam, air kemih menjadi coklat kemerah-merahan yang disebabkan oleh zat warna yang terbentuk, dan sewaktu-waktu menyebabkan leukopenia.

## 2.3 Uji Kualitatif

### 2.3.1 Spektrofotometer FTIR-ATR

Sebagian besar senyawa organik maupun anorganik memiliki ikatan kovalen, dimana senyawa ini dapat menyerap radiasi elektromagnetik pada daerah spektrum inframerah. Hubungan antara daerah inframerah dengan spektrum elektromagnetik dapat dilihat pada Gambar 2.3 yang menjelaskan bahwa panjang gelombang berbanding terbalik dengan frekuensi ( $\nu$ ) yang dinyatakan sebagai  $\nu = c/\text{panjang gelombang}$ , dimana  $c$  adalah kecepatan cahaya, sedangkan energi berbanding lurus dengan frekuensi:  $E = h\nu$ , dimana  $h$  adalah tetapan *planch*. Energi dikatakan berbanding terbalik dengan panjang gelombang :  $E = hc/n \cdot \text{panjang gelombang}$ ,  $n$  adalah indeks bias (dalam hampa harga  $n=1$ ). Berdasarkan persamaan ini diketahui bahwa energi yang paling tinggi adalah sinar-X dimana energi ini cukup kuat dalam memutuskan ikatan molekul. Spektrum sebelah kanan memiliki energi yang sangat rendah seperti radiofrekuensi yang hanya dapat mengakibatkan transisi inti (NMR) dalam molekul.



**Gambar 2.3 Daerah Spektrum Elektromagnetik yang Menunjukkan Hubungan Vibrasi Inframerah dengan Tipe Radiasi Lain (Sastrohamidjodjo, 2018)**

Molekul-molekul organik dalam keadaan suhu ruang akan mengalami vibrasi yang tetap. Setiap ikatan pada molekul memiliki frekuensi rentang (*stretching*) dan bengkok (*bending*) yang sesuai dengan karakteristik masing-masing yang dapat menyerap sinar pada frekuensi tertentu. Vibrasi dua atom yang memiliki ikatan kimia dapat dianalogikan dengan dua massa /bola yang dihubungkan dengan pegas. Berdasarkan analogi ini, tenaga yang digunakan untuk merentangkan pegas akan lebih besar daripada tenaga untuk membengkokkan pegas, begitu pula dengan serapannya. Serapan rentang ikatan akan muncul pada frekuensi yang lebih tinggi pada spektrum inframerah daripada serapan bengkok dari ikatan yang sama.

Molekul dua atom dalam senyawa organik tidak lain adalah gugus fungsi. Gugus fungsi adalah gugus yang menentukan sifat-sifat senyawa, sehingga dapat disimpulkan bahwa kegunaan spektrofotometri inframerah secara kualitatif adalah untuk menentukan gugus fungsi (Sastrohamidjojo, 2018). Gugus fungsi senyawa organik dan daerah frekuensi bilangan gelombang gugus fungsi ditunjukkan pada Tabel 2.1 dan 2.2.

**Tabel 2.1 Gugus Fungsi Senyawa Organik (Sastrohamidjojo, 2018)**

No	Nama	Rumus	Gugus Fungsi
1	Alkana	$C_nH_{2n+2}$	$\begin{array}{c} C & C \\   &   \\ -C & -C- \\   &   \\ C & C \end{array}$ ;ikatan $\sigma$
2	Alkena	$C_nH_{2n}$	$C = C$ ;ikatan $\pi$
3	Alkuna	$C_nH_{2n-2}$	$C \equiv C$ ; ikatan $\pi$
4	Alkohol	$R-OH$	$-O-H$ ; Hidroksi
5	Aldehida	$\begin{array}{c} O \\ // \\ R-C-H \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ // \\ -C- \end{array}$ ; karbonil
6	Keton	$\begin{array}{c} O \\ // \\ -C- \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ // \\ -C- \end{array}$ ; karboksil
7	Asam karboksilat	$\begin{array}{c} O \\ // \\ R-C-OH \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ // \\ -C-OH \end{array}$ ; karboksil
8	Ester	$\begin{array}{c} O \\ // \\ R-C-OR' \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ // \\ -C-OR' \end{array}$
9	Amida	$\begin{array}{c} O \\ // \\ R-C-N-H \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ // \\ -C-NH \end{array}$
10	Amina	$R-NH_2$	$-N-H$
11	Ester	$R-O-R'$	$C-O-C$

**Tabel 2.2 Daerah Frekuensi Bilangan Gelombang Gugus Fungsi dalam Spektrum Inframerah (Skoog *at al.*, 1998)**

Ikatan	Tipe Senyawa	Daerah Frekuensi (cm <sup>-1</sup> )	Intenitas
C – H	Alkana	2850 - 2970	Kuat
		1340 - 1470	Kuat
C – H	Alkena	3010 – 3095	Sedang
		675 - 995	Kuat
C – H	Alkana	3300	Kuat
C – H	Cincin aromatik	3010 – 3100	Sedang
		690 - 900	Kuat
O – H	Fenol, monomer alokol.	3590 - 3650	Berubah-ubah
	Alkohol ikatan hidrogen.	3200 – 3600	Berubah-ubah, kadang melebar
	Monomer asam karboksilat.	3500 - 3650	Sedang
	Ikatan hidrogen asam karboksilat.	2500 - 2700	Sedang
N – H	Amina, amida	3300 – 3500	Sedang
C = C	Alkena	1610 – 1680	Berubah-ubah
C = C	Cincin aromatik	1500 – 1600	Berubah-ubah
C ≡ C	Alkana	2100 - 2260	Berubah-ubah
C - N	Amina, amida	1180 - 1360	Kuat
C ≡ N	Nitril	2210 - 2280	Kuat
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1050 – 1300	Kuat
	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester	1690 - 1760	Kuat
NO <sub>2</sub>	Senyawa nitro	1500 - 1370 1300 - 1370	Kuat

Interaksi energi Infra Red (IR) terhadap molekul menyebabkan terjadinya vibrasi molekuler. Ketika radiasi IR dilewatkan melalui suatu cuplikan, maka molekulnya dapat mengabsorpsi energi dan terjadilah transisi diantara tingkat vibrasi dasar dan tingkat vibrasi tereksitasi. Energi yang terserap ini akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul kembali ke keadaan dasar. Agar molekul dapat menyerap energi IR, maka gerakan vibrasi atau rotasinya harus disertai perubahan momen dwi kutub/dipol. Jika frekuensi sinar tepat sama dengan salah satu *natural vibrational frequency* dari molekul, maka sinar akan diserap sehingga terjadi perubahan amplitudo vibrasi dari molekul.

Prinsip kerja spektrofotometer IR yaitu radiasi dari sumber radiasi IR dipecah oleh pencacah sinar menjadi dua bagian yang sama dengan arah yang saling tegak lurus. Kemudian kedua radiasi tersebut dipantulkan kembali ke dua cermin sehingga bertemu kembali di pencacah sinar untuk saling berinteraksi. Dari sini sinar dipancarkan ke cuplikan yang dapat menyerap energi, setelah itu terjadilah transisi diantara tingkat energi vibrasi dasar dan tingkat vibrasi tereksitasi berupa berkas radiasi IR yang ditangkap oleh detektor, kemudian signal yang dihasilkan dari detektor direkam sebagai spektrum IR yang berbentuk puncak-puncak absorpsi berupa grafik. Sebagian sinar dari pencacah akan dibalikan ke sumber gerak. Maju mundur cermin akan menyebabkan sinar mencapai ke detektor berfluktuasi tetapi terkendali.

Identifikasi bahan baku *metronidzole* pada spektrofotometer IR menggunakan teknik ATR (*Attenuated Total Reflectance*). Teknik ATR didasarkan pada fenomena refleksi internal total, mengukur perubahan yang terjadi pada sinar infra merah yang dipantulkan saat berinteraksi dengan sampel melalui *Zink Selenium* (ZnSe) kristal (Stathopoulou *et al.*, 2008). Ketika sampel ditempatkan dan mengalami kontaklangsungdengan kristal ATR, gelombang IR yang dihasilkan melemah karena sampel menyerap energi (Bruno, 1999). Pengujian spektrum IR dengan teknik ATR tidak rumit karena tidak perlu menggunakan KBr (Kalium Bromida) sehingga perbedaan ukuran partikel bisa diabaikan dan variasi spektrum bisa lebih lebar dari teknik transmisi FTIR (Thompson *et al.*, 2009).

### **2.3.2 Spektrofotometer UV-Visibel**

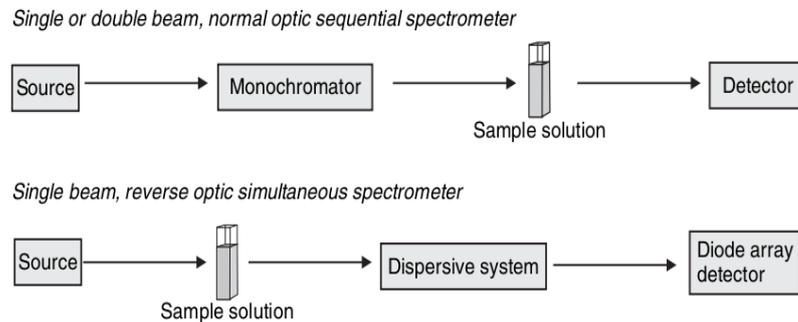
Spektrofotometri UV-Visibel merupakan teknik analisa dengan memanfaatkan sumber sinar radiasi elektromagnetik ultraviolet dan sinar tampak yang memiliki rentang panjang gelombang tertentu yang berinteraksi pada suatu materi untuk menentukan suatu komposisi dari sampel baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Mulja dan Suharman, 1995). Sinar ultraviolet memiliki panjang gelombang 190-380 nm dan sinar tampak memiliki panjang gelombang antara 3800-780 nm (Kristianingrum, 2014).

Analisis spektrofotometer UV-Visibel digunakan untuk suatu senyawa yang memiliki gugus kromofor dan/atau gugus auksokrom. Kromofor adalah gugus fungsional yang tidak terkonjugasi dengan group lain yang dapat mengabsorpsi spektrum pada daerah visibel atau ultraviolet. Menurut Rouessac (2007), gugus kromofor adalah kelompok fungsional senyawa organik (keton, amina, turunan nitrogen, dll.) yang bertanggung jawab untuk peyerapan UV atau Visibel. Gugus kromofor mencakup nitro, nitroso, azo, azo amino, azoxy, karbonil, dan tiokarbonil. Jika gugus kromofor terkonjugasi dengan gugus lain dan membentuk kromofor *multipe* yang membentuk pita absorpsi yang baru dan membentuk panjang gelombang yang lebih besar. Gugus auksokrom dapat mengadsorpsi pada panjang gelombang 200 - 800 nm dan memberikan warna yang lebih intensif dimana beberapa gugus auksokrom adalah OH, NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, dan NO<sub>2</sub>.

Menurut Rouessac (2007), Spektrofotometer dirancang dalam tiga bagian dasar, yaitu sumber cahaya, sistem dispersif dan monokromator, dan detektor. Sumber sistem dispersi (digabungkan dalam monokromator), yang merupakan optik bagian dan sistem deteksi. Komponen-komponen ini biasanya terintegrasi dalam kerangka kerja yang unik untuk membuat spektrometer yang digunakan untuk analisis kimia. Sebuah kompartemen sampel dimasukkan kejalur optik baik sebelum atau sesudah sistem disersif, tergantung pada desain instrumen.

1. Sumber cahaya

Lebih dari satu jenis sumber dapat digunakan di instrumen yang sama secara otomatis bertukar lampu pada saat memindai diantara UV dan visibel. Bagian wilayah spektrum yang terlihat, lampu pijar yang dilengkapi dengan sebuah filamen *tungsten* disimpan dalam gelas silika. Bagian wilayah UV, lampu busur deuterium bekerja dibawah sedikit tekanan untuk mempertahankan kontinum emisi (panjang gelombang < 350 nm). Sebagian alternatif untuk seluruh wilayah panjang gelombang 200- 1100 nm, lampu busur xenon digunakan untuk peralatan rutin.



**Gambar 2.4 Instrumentasi dalam Spektrofotometer UV-Vis (Rouessac, 2007)**

Dua skema optik yang ditampilkan dalam Gambar 2.4 menghasilkan spektrum dengan mengikuti dua prosedur yang berbeda. spektrum spektrofotometer *single beam* diperoleh secara berurutan sebagai fungsi waktu didetik detektor mendeteksi semua panjang gelombang secara serentak.

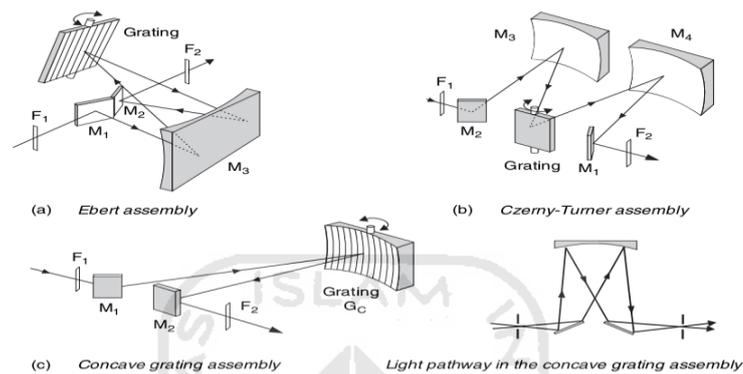
2. Sistem Dispersif dan Monokromator

Cahaya yang dipancarkan pada *sequential instruments* tersebar melalui kisi planar atau yang merupakan bagian dari rakitan monokromator. Alat ini memungkinkan ekstraksi interval sempit dari spektrum emisi. Panjang gelombang atau lebih tepatnya lebar pita spektral, yaitu fungsi lebar celah, dapat divariasikan secara bertahap dengan memutar kisi (lihat Gambar 2.5). Jalur optik dengan fokus panjang (0,2 – 0,5 m) menghasilkan resolusi terbaik. Sinar cahaya pada *simultaneous instruments* memiliki prinsip yang sama dengan spektogram, yaitu sinar difraksi berpencar melalui sel pengukur (lihat Gambar 2.6).

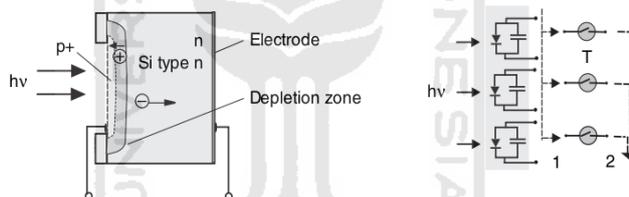
3. Detektor

Detektor merubah intensitas cahaya menjadi sinyal listrik. Secara umum, perangkat saluran tunggal menggunakan dua jenis detektor, baik tabung *photomultiplier* atau semikonduktor (perangkat transfer muatan atau fotodioda elektron). Sensitifitas tergantung pada panjang gelombang. Instrumen simultan (sistem dispersif) yang tidak memiliki monokromator, intensitas cahaya disemua panjang gelombang diukur

secara praktis dengan menyelaraskan sejumlah besar detektor dalam bentuk dioddida (lihat Gambar 2.6). Efisiensi tabung *photomultiplier*-perangkat yang sangat sensitif linearitas respon mencapai tujuh dekade, tergantung pada *photocathode* yang bervariasi dengan panjang gelombang, dan pada kekuatan sinyal.



**Gambar 2.5 Kisi-kisi Monokromator (Rouessac, 2007)**



**Gambar 2.6 Silicon Fotodiodida (PIN) dan Susunan Diodida (Detektor CCD – Perangkat Berpasangan Bermuatan) (Rouessac, 2007)**

### 2.3.3 Identifikasi Logam Berat Pb

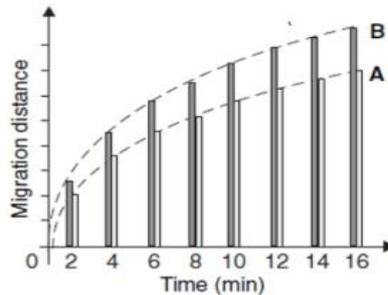
Timbal atau timah hitam merupakan salah satu logam berat yang berbahaya dalam tubuh manusia dalam jumlah berlebih karena bersifat karsinogenik, menyebabkan mutasi, beracun, dan lama terurai didalam tubuh (Rohman, 2014). Toksisitas logam berat Pb pada tubuh manusia dapat terjadi secara terus menerus hingga mengakibatkan anemia, kemandulan, penyakit ginjal, kerusakan syaraf, dan kematian. Timbal dalam tubuh menghambat aktivitas kerja enzim dalam tubuh, menghambat absorpsi Ca (kalsium) dalam tulang belakang karena adanya Pb akan menggantikan posisi Ca dalam tulang sehingga tulang akan mengalami kekurangan ion Ca dan terjadinya penarikan deposit timbal dari tulang (Sudjadi dan Abdul Rahman, 2018). Kandungan Pb

dalam obat *metronidazole* dilakukan karena obat ini akan dikonsumsi oleh wanita yang berkemungkinan dalam masa kehamilan, sedangkan kandungan Pb dapat meningkatkan resiko keguguran, kelahiran prematur, dan melambatkan pertumbuhan bayi dalam kandungan. Ketika memasuki tubuh, timbal akan menyebar ke berbagai organ tubuh, sehingga kandungan timbal dalam obat harus selalu dikontrol.

Identifikasi logam timbal dalam bahan baku obat dibutuhkan untuk tetap menjaga kualitas bahan baku dari cemaran logam berat yang dapat membahayakan manusia. Analisa kualitatif logam berat dalam bahan baku *metronidazole* dilakukan dengan membandingkan larutan sampel dengan larutan standarnya. Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi V tahun 2014 dalam zat aktif *metronidazole* disebutkan bahwa kandungan logam berat tidak lebih dari 50 ppm. Larutan standar dan sampel dilakukan destruksi kering dalam tanur pada suhu 500°C – 600°C dan direaksikan dengan *thioasetamide-glyserin base TS* sebagai senyawa pengkompleks.

#### **2.3.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis termasuk dalam golongan kromatografi partisi. Prinsip kerja dari pemisahan dengan metode KLT ini didasarkan pada pemanfaatan fase gerak dan fase diam sebagai media pemisah komponen-komponen pada suatu senyawa, dimana perbedaan kelarutan (*solubility*) komponen-komponen dalam fase diam dan fase gerak sebagai kunci utama pemisahan senyawa. Sebelum dilakukan proses pemisahan, *chamber* dijenuhkan terlebih dahulu karena akan memiliki dampak pada jarak migrasi. Perbandingan jarak migrasi pada plat KLT saat *chamber* dijenuhkan terlebih dahulu dan tidak dijenuhkan ditunjukkan pada Gambar 2.7.



**Gambar 2.7 Pengaruh Penjenuhan *Chamber* pada Jarak Migrasi dan Waktu Pemisahan Metode KLT (Rouessac, 2007)**

Menurut Rouessac (2007), *chamber* yang dijenuhkan akan memiliki jarak migrasi lebih besar dibanding yang tidak dijenuhkan, sehingga jarak pemisahan atau jarak tempuh sampel akan semakin besar untuk *chamber* yang dijenuhkan terlebih dahulu. Hal ini mengartikan bahwa semakin besar jarak tepuh maka semakin baik pula pemisahannya, sehingga menjenuhkan *chamber* menjadi hal yang penting dalam pemisahan dalam metode kromatografi lapis tipis. Polaritas pada fase diam sangat mempengaruhi pemisahan yang terjadi. Berikut tabel kepolaran dari fase diam. Tabel polarisitas fasa diam dapat dilihat pada Tabel 2.3.

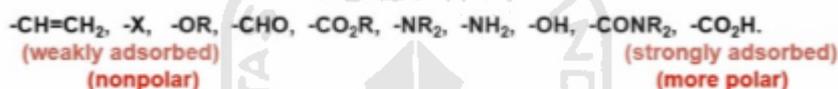
**Tabel 2.3 Polaritas Fasa Diam (Rouessac, 2007)**

No	Jenis Fasa Diam
1	Silika Si - OH
2	Diol Si - (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - O - CH <sub>2</sub> - CH - CH <div style="margin-left: 200px;">             OH    OH </div>
3	Amina Si - (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - NH <sub>2</sub>
4	Siano Si - (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> - C≡N
5	Rp - 2 Si $\begin{cases} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{cases}$
6	Rp - 8 Si - (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> - CH <sub>3</sub>
7	Rp - 18 Si - (CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> - CH <sub>3</sub>

Polaritas fasa diam yang ditunjukkan pada tabel yaitu semakin ke bawah maka sifat fase diam semakin non polar. Sehingga pada Tabel 2.3, fase diam

yang paling polar yaitu silika, sedangkan yang paling non polar yaitu RP-18. Misalkan kita ingin memisahkan dengan prinsip polar non polar, bila kita memakai fasa diam RP-8 Si-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH<sub>3</sub> yang bersifat non polar, maka fasa gerak yang dipilih adalah fasa gerak yang bersifat polar, begitupun sebaliknya. Jika fasa diam non polar dan fasa gerak juga non polar maka prinsip polar non polar tidak berlaku sehingga tidak akan terjadi pemisahan (Rouessac, 2007).

Kekuatan elusi tergantung pada fase gerak yang digunakan, dimana semakin non polar fase gerak maka kekuatan elusinya akan semakin kecil. Absorpsi dari pelarut juga tergantung dari kepolarannya. Berikut beberapa kelompok kepolaran dari fasa gerak atau pelarut yang disajikan pada Gambar 2.8.



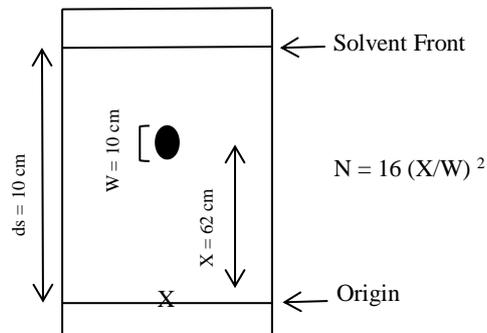
**Gambar 2.8 Kelompok Kepolaran Fase Gerak (Rouessac, 2007)**

Analisa kualitatif pada kromatografi lapis tipis memiliki beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai R<sub>f</sub>. Menurut Rouessac (2007) Faktor yang mempengaruhi nilai R<sub>f</sub> yaitu:

1. Stuktur kimia senyawa cuplikan
2. Sifat penyerap dan derajat aktifitasnya (pemanasan dalam oven untuk menghilangkan molekul air)
3. Ketebalan dan homogenitas distribusi penyerap
4. Derajat kemurnian pelarut dan fasa gerak
5. Derajat kejenuhan uap dalam chamber
6. Teknik percobaan (metode aliran elusi)
7. Jumlah cuplikan
8. Temperatur
9. Kesetimbangan

Setiap fase gerak, memiliki nilai R<sub>f</sub> tersendiri sesuai pada metode dan sistem kromatografi. Menurut Rouessac (2007), untuk mengetahui adanya suatu zat dalam suatu sampel dapat dilakukan dengan membandingkan nilai R<sub>f</sub>

pada sampel dan standar, sesuai dengan senyawa yang ingin diidentifikasi. Efisiensi dari pemisahan juga dipengaruhi oleh beberapa faktor. Berikut adalah proses penentuan efisiensi yang dijabarkan dalam Gambar 2.9.



**Gambar 2.9 Pengaruh Efisiensi pada Pemisahan dalam Kromatografi Lapis Tipis (Rouessac, 2007)**

Sejumlah senyawa yang dipisahkan dari titik awal. Dimana terjadi pemisahan dengan jarak tempuh tertentu. Jarak awal sampel ke akhir pemisahan disebut dengan  $X$ , dan lebar dari pemisahan ditandai dengan  $W$ . Semakin besar  $X$  maka jumlah sampel yang kemungkinan dipisahkan atau yang biasa disebut dengan *plate number* akan semakin besar, sedangkan apabila semakin besar nilai  $W$  maka semakin kecil *plate number* yang dihasilkan.

## 2.4 Uji Kuantitatif

### 2.4.1 Susut Pengerinan

Susut pengeringan adalah nilai yang menunjukkan banyaknya zat yang menguap pada temperatur dan waktu tertentu (Sukarti, 2008). Susut pengeringan berkaitan dengan kadar air yang menguap dalam proses penguapan. Kadar air menunjukkan banyaknya kandungan air yang terdapat pada suatu senyawa. Penentuan ini dilakukan pada bahan baku obat *metronidazole* yang diuji dengan keadaan kering, sehingga sampel diuji susut pengeringannya sebagai nilai yang termaksud dalam rumus penentuan kadar *metronidazole* menggunakan metode titrasi bebas air.

Kandungan air dalam bahan baku obat perlu dibatasi untuk menjamin kualitas dari bahan baku. Kandungan air yang berlebih akan mempercepat pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme lainnya, juga akan mempengaruhi

bentuk fisik dari suatu senyawa. Penentuan susut pengeringan ini digunakan untuk mengontrol mutu dari bahan baku yang akan digunakan untuk membuat obat. Metode yang digunakan untuk menentukan susut pengeringan adalah metode gravimetri dengan pengeringan dalam oven pada suhu 105 °C selama 2 jam. Kandungan air yang hilang merupakan air bebas yang berikatan secara kimia dengan molekul air bebas lainnya (Skoog *at al.*, 2004). Air yang terikat secara kimia akan menguap, selisih dari bobot awal dengan bobot akhir dihitung sebagai nilai susut pengeringan. Penentuan susut pengeringan yang dilakukan dengan metode gravimetri memiliki beberapa faktor agar penentuan dapat berlangsung dengan baik, diantaranya kerataan dari sampel pada botol timbang, tidak ada kandungan air yang terendap secara makro, dan senyawa masih dalam keadaan murni (Day dan Underwood, 2000).

#### **2.4.2 Sisa Pijar**

Selain bebas dari logam berat, bahan baku obat juga harus dipastikan bebas dari pengotor dengan batasan tertentu yang ditentukan dengan uji sisa pijar. Uji sisa pijar dilakukan untuk mengontrol banyaknya pengotor atau zat anorganik lainnya seperti logam dalam bahan baku obat. Pemanasan dalam *hot plate* atau oven digunakan untuk menghilangkan kadar air saja, sedangkan pemijaran dengan tanur dapat menghilangkan senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam sampel, sehingga hanya menyisahkan senyawa anorganik. Pengotor yang ada dalam bahan baku akan mempengaruhi kinerja obat dalam tubuh, mengganggu peak atau spektrum apabila diuji dengan instrumen seperti HPLC. Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi ke V tahun 2014, prinsip dari pengujian ini yaitu dengan dilakukan pemijaran dalam furnace pada suhu  $800^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap. Nilai % sisa pijar yang baik untuk pengujian *metronidazole* tidak lebih dari 0,1%. Nilai sisa pijar dihasilkan dari hasil bobot sampel yang sudah dipijarkan dibagi dengan bobot awal sampel sebelum dipijarkan.

#### **2.4.3 Titrasi Bebas Air (TBA)**

Menurut Cairns (2008), titrasi bebas air adalah titrasi yang dilakukan tanpa adanya kandungan air, baik pada titran, sampel, pelarut, maupun pada

alat-alat yang digunakan dalam melakukan proses titrasi. Prinsip dari titrasi bebas air ini adalah titrasi yang tidak menggunakan air dalam prosesnya namun menggunakan pelarut organik yang bertujuan untuk mempertajam titik akhir titrasi. Titrasi bebas air digunakan untuk penentuan senyawa basa atau asam yang sangat lemah. Ionisasi pada basa atau asam yang sangat lemah akan terhambat apabila terdapat kandungan air didalamnya. Air yang bersifat amfoterik akan sangat cepat untuk memperlambat ionisasi dari senyawa asam atau basa lemah, sehingga untuk menentukan kadar dari suatu obat-obatan yang memiliki sifat asam atau basa yang sangat lemah harus dihindarkan dari kandungan air.

Sebagian besar obat-obatan bersifat asam lemah atau basa lemah. Obat yang memiliki sifat asam lemah dapat dititrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida ( $N(Bu^4)OH$ ) atau kalium metoksida ( $CH_3OK$ ) dalam dimetil formamida (DMF) sebagai pelarut, sedangkan basa lemah dititrasi dengan asam perklorat ( $HClO_4$ ) dengan pelarut asam asetat glasial (AAG). Asam perklorat termasuk jenis asam kuat, sedangkan asam asetat memiliki tingkat keasaman yang lebih lemah dari asam perklorat. Secara alamiah, saat asam perklorat bereaksi dengan asam asetat yang lebih lemah, maka asam asetat akan berubah peran menjadi basa lemah dan secara paksa menerima proton karena dihasilkannya ion *onium* pada reaksi yang terjadi. Reaksi antara bahan baku obat *metronidazole* yang bersifat basa Bronsted-Lowry yang dilarutkan dalam dalam pelarut  $CH_3COOH$  yang bersifat asam. Reaksi ini menunjukkan bahwa asam perklorat bertindak sebagai asam monoprotik, dimana 1 mol asam perklorat ~ 1 mol bahan baku obat *metronidazole*. Penentuan kadar obat *metronidazole* dengan metode titrasi bebas air ini dilakukan dalam keadaan kering.

#### **2.4.4 Presisi**

Menurut ICH (2005), presisi adalah suatu keterulangan yang diukur secara statistik pada metode analisis yang disebut simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda secara signifikan. Presisi dilakukan dengan 3 tingkatan yang berbeda yaitu: keterulangan (*repeatability*) yaitu ketepatan pada kondisi percobaan

yang sama baik personil, peralatan yang digunakan, tempat dan waktu; presisi antara (*intermediate precision*) yaitu adalah ketepatan pada saat kondisi percobaan yang berbeda, baik orang, peralatan, tempat, dan waktu; dan ketiruan (*reproducibility*) yang biasanya diambil dari hasil percobaan dari laboratorium yang lain.

Presisi akan menunjukkan kedekatan anatar hasil uji satu dengan uji lainnya yang diukur dengan penyebaran hasil individual dari rata-rata nilai yang diambil secara berulang dan homogen. Presisi diukur sebagai simpangan baku (SD) atau simpangan baku relatif (RSD) dalam satuan persen (Harmita, 2006). Pengujian yang memiliki presisi yang baik, yaitu apabila  $RSD \leq 2\%$  (Riyanto, 2014).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu labu ukur 10; 50; dan 100 mL, pipet volume 1; 2; 4; 10; dan 30 mL, beaker 100 mL, erlenmeyer 250 mL, buret 25 mL, botol timbang, *flakon* 100 mL, *chamber* KLT, plat KLT, *siringe* 25; 10 mL, cawan krusibel, oven UN 110 Memmert, desikator, tanur, spatula, *hot plate* Nabertherm, mikro pipet dan tip, balp, statip dan klem, *melting point* B-540 BUCHI, lampu sinar UV CAMAG, spektrofotometer IR *Reacer* 100, spektrofotometer Uv-Visibel 2600 *Shimadzu*, *sentrifuce* HETTICH EBA 280, neraca analitik Mettler Toledo XPE26, *sonicate ultrasonic* 104H.

#### **3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: Air, alkohol EMSURE p.a, eter EMSURE p.a, kloroform EMSURE p.a, standar *metronidazole*, larutan HCl 0,1 N EMSURE p.a, larutan stok timbal (II) nitrat 159,8 ppm, larutan *thioasetamide* 40000 ppm.

#### **3.3 Prosedur Kerja Uji Kualitatif**

##### **3.3.1 Pemerian**

Sampel dianalisa berdasarkan fisiknya, berbentuk sebuk atau serbuk hablur, berwarna putih atau kuning pucat, tidak berbau, stabil di udara, tetapi lebih gelap bila terpapar oleh cahaya.

##### **3.3.2 Kelarutan**

Sampel dilarutkan dalam pelarut air, alkohol, eter, dan kloroform, kemudian diperhatikan kelarutannya. Prosedur uji kelarutan ditunjukkan pada Tabel 3.1.

**Tabel 3.1 Prosedur Uji Kelarutan *Metronidazole Micronized***

No	Parameter	Prosedur
1	<b>Sangat Mudah Larut</b> Kurang dari 1	Ditimbang 1 g bahan baku, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut 1 mL, dikocok, dilihat larut atau tidak (Tabung 1) - Jika larut : MS - Jika tidak larut : TMS
2	<b>Mudah Larut</b> 1 sampai 10	Ditambahkan pelarut 9 mL ke dalam tabung 1, dikocok, dilihat larut atau tidak (Tabung 2) - Jika larut : MS - Jika tidak larut : TMS
3	<b>Larut</b> 10 sampai 30	Ditambahkan pelarut 20 mL ke dalam tabung 2, dikocok, dilihat larut atau tidak (Tabung 3) - Jika larut : MS - Jika tidak larut : TMS
4	<b>Agak Sukar Larut</b> 30 sampai 100	Ditambahkan pelarut 70 mL ke dalam tabung 3, dikocok, dilihat larut atau tidak (Tabung 4) - Jika larut : MS - Jika tidak larut : TMS
5	<b>Sukar Larut</b> 100 sampai 1000	Ditimbang 100 mg bahan baku, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut 100 mL, dikocok, dilihat larut atau tidak (Tabung 5) - Jika larut : MS - Jika tidak larut : TMS, lanjutkan ke uji berikutnya
6	<b>Sangat Sukar Larut</b> 1000 sampai 10.000	Ditimbang 25 mg bahan baku, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut 250 mL, dikocok, dilihat larut atau tidak (Tabung 6) - Jika larut : MS - Jika tidak larut : TMS, masuk parameter kelarutan $\geq 10.000$
7	<b>Praktis Tidak Larut</b> $\geq 10.000$	

### 3.3.3 *Purity Index*

*Background* (BKG.irs) terlebih dahulu dibaca pada instrument FTIR. Serbuk standar diletakkan pada daerah kerja sampel dengan rata, dilakukan pengukuran spektrum dengan memilih *measurement* sampel, ditunggu sampai spektra dari FTIR muncul. Dilakukan hal yang sama untuk sampel seperti langkah yang dilakukan pada standar. *Overlay* spektrum sampel dibandingkan dengan

standar, hasil dikatakan positif apabila sampel menunjukkan spektrum yang sama dengan standar.

### **3.3.4 Spektrum Serapan UV**

Sampel ditimbang sebanyak 50 mg, dimasukan kedalam labu ukur 50 mL, dilarutkan dengan larutan HCl 0,1N hingga tanda batas kemudian dikocok hingga homogen. Larutan diatas dipipet sebanyak 1 mL dimasukan kedalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan HCl 0,1N hingga tanda tera, dikocok hingga homogen. Larutan standar dibuat dengan perlakuan yang sama dengan larutan sampel. Serapan maksimum larutan sampel dan standar diukur pada panjang gelombang  $277 \pm 0,76$  nm. Hasil positif apabila panjang gelombang maksimum dan minimum sampel sama dengan standar.

### **3.3.5 Identifikasi Logam Berat (Pb)**

#### **3.3.5.1 Larutan Standar**

Larutan baku timbal 10  $\mu$ g Pb dipipet sebanyak 1,0 mL, dimasukan ke dalam *flakon*, diencerkan dengan air hingga 25 mL. Larutan diatur sampai pH antara 3,0 dan 4,0 dengan larutan asam asetat 1N atau amonium hidroksida 6N kemudian dicek menggunakan pH universal. Larutan diencerkan dengan air hingga volume 40 mL untuk dihomogenkan.

#### **3.3.5.2 Larutan Sampel**

Sampel sebanyak 0,4 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan krusibel, ditambahkan asam sulfat pekat 1 mL untuk membasahi. Sampel dipijarkan hati-hati pada suhu rendah hingga menjadi arang (selama pemijaran krus tidak boleh ditutup rapat). Asam nitrat pekat sebanyak 2 mL dan 5 tetes asam sulfat pekat ditambahkan pada bagian arang. Larutan dipanaskan hati-hati hingga asap putih tidak terbentuk lagi. Sampel dipijarkan dalam tanur pada suhu 500-600°C sampai arang habis terbakar. Sampel didinginkan dan ditambahkan 4 mL larutan HCl 6N, ditutup, dan didigesti selama 15 menit, dibuka dan diuapkan hingga kering. Sampel yang tersisa dibasahi dengan 1 tetes HCl pekat, ditambahkan 10 mL air panas, digesti selama 2 menit. Larutan amonium hidroksida 6N ditambahkan tetes demi tetes hingga larutan sampel bereaksi basa dengan lakmus. Larutan sampel diencerkan dengan air hingga volume 25 mL,

diatur pH antara 3 dan 4 dengan asam asetat 1N. Larutan diencerkan dengan air hingga volume 40 mL untuk dihomogenkan.

### 3.3.5.3 Prosedur Pembacaan

Larutan dapar asetat pH 3,5 sebanyak 2 mL ditambahkan ke dalam masing-masing tabung yang berisi larutan standar dan larutan sampel. Larutan sampel dan standar ditambahkan 1 mL larutan *thioacetamide* dan 1 mL larutan *glycerin base TS*, kemudian ditambahkan air sampai 50 mL untuk dihomogenkan dan didiamkan 2 menit. Warna larutan diamati dari atas tabung yang dialasi kertas putih: warna pada larutan sampel tidak lebih gelap dari larutan standar.

### 3.3.6 Waktu Tambat (Rf)

#### 3.3.6.1 Kondisi Kromatografi

*Plate* yang digunakan adalah *silica gel, loop* 5,0  $\mu\text{L}$ , fase gerak yang digunakan adalah kloroform pekat : etanol pekat : dietilamina pekat : air (80 : 10 : 10 : 1) (v/v/v/v).

#### 3.3.6.2 Larutan Sampel

Sebanyak 400 mg sampel ditimbang dengan seksama, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan aseton pekat sampai tanda batas volume, kemudian disonikasi hingga larut.

#### 3.3.6.3 Larutan Standar *Metronidazole*

Sebanyak 120 mg *metronidazole* standar ditimbang dengan seksama, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan aseton pekat sampai tanda batas, kemudian disonikasi hingga larut (**larutan Standar A**). Larutan standar A dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan aseton pekat sampai tanda batas, digojok hingga homogen (1,2 mg/mL). Larutan dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan aseton hingga tanda batas volume, kemudian digojok hingga homogen (**larutan standar B**).

#### 3.3.6.4 Prosedur Pembacaan

Larutan sampel, larutan standar A, dan larutan standar B ditotolkan pada plat KLT, dibiarkan kering di udara. *Plate* dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhi dengan fase gerak dan dibiarkan merambat

sampai  $\frac{3}{4}$  plate. Plate diangkat dan diberi tanda batas fase gerak dan dibiarkan menguap lalu diamati bercak pada plate. Harga Rf bercak utama yang diperoleh dari larutan sampel sesuai dengan yang diperoleh dari larutan standar A dan tidak ada bercak selain bercak utama dari larutan sampel lebih besar dan lebih intensif dari bercak utama larutan standar B.

### 3.4 Prosedur Kerja Uji Kuantitatif

#### 3.4.1 Susut Pengerinan

Botol timbang dangkal bersumbat kaca yang telah dikeringkan selama 30 menit ditimbang untuk dicatat bobotnya (A). Sampel ditimbang seksama sebanyak 1-2 g (B), dimasukkan ke dalam botol timbang yang sudah ditara. Sampel diratakan hingga setinggi  $\pm 5$  mm dengan cara menggoyangkan botol perlahan-lahan. Sampel dimasukkan ke dalam oven, dibuka penyumbat dan dibiarkan penyumbat dalam oven. Sampel dipanaskan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama 2 jam. Botol timbang ditutup setelah suhu dan waktu tercapai, lalu dibiarkan dalam desikator hingga suhunya mencapai suhu kamar, kemudian botol ditimbang dan dicatat bobotnya (C). Nilai % susut pengerinan dihitung dengan persamaan (1).

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{B-(C-A)}{B} \times 100\% \quad (1)$$

Dimana:

A = Bobot botol timbang dangkal bersumbat kaca kosong (g)

B = Bobot sampel (1-2 g)

C = Bobot akhir (botol timbang dangkal bersumbat kaca + sampel) (g)

#### 3.4.2 Sisa Pijar

Cawan pijar kosong dipanaskan dan dipijarkan terlebih dahulu, didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (A). Sebanyak 5 g sampel ditimbang dalam cawan pijar yang telah ditara (B). Sampel dipanaskan dalam cawan sampai menjadi arang, dibasahi residu dengan 1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, dipijarkan pada suhu  $800 \pm 25^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap lalu ditimbang (C). Sampel dipanaskan hati-hati sampai tidak berasap lagi. Sampel dibasahi lagi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat jika jumlah sisa melebihi jumlah yang ditentukan, dipanaskan, dan dipijarkan lagi seperti diatas. Nilai % sisa pijar dihitung dengan persamaan (2).

$$\% \text{ Sisa Pijar} = \frac{C-A}{B} \times 100\% \quad (2)$$

Dimana:

A = Bobot cawan kosong (g)

B = Bobot sampel (5,0 g)

C = Bobot akhir (cawan + sampel) (g)

### 3.4.3 Suhu Lebur

Zat uji disiapkan, dimasukkan ke dalam pipa kapiler. Tangas dipanaskan hingga suhu  $\pm 10^{\circ}\text{C}$  dibawah suhu lebur yang diperkirakan, dan suhu dinaikkan dengan kecepatan  $1^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  dibawah suhu terendah yang diperkirakan, dilanjutkan pemanasan hingga melebur sempurna, dan dicatat jarak lebur.

### 3.4.4 Penentuan Kadar *Metronidazole* dengan Metode Titrasi Bebas Air (TBA)

Sebanyak 100 mg sampel ditimbang seksama, dilarutkan dalam 40 mL asam asetat galsial, kemudian disonikasi hingga larut dan didinginkan. Larutan dititrasi dengan  $\text{HClO}_4$  0,1 N menggunakan indikator kristal violet, lalu ditentukan titik akhir titrasi. Penetapan blanko dilakukan dengan menggunakan asam asetat glasial. Setiap mL  $\text{HClO}_4$  0,1 N setara dengan 17,12 mg *metronidazole* ( $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$ ). Standardisasi  $\text{HClO}_4$  0,1 N dilakukan dengan menimbang KHP (kalium bifthalat) 700 mg. Serbuk KHP yang sudah ditimbang kemudian dilarutkan dengan 40 mL asam asetat glasial, dan dititrasi dengan  $\text{HClO}_4$  0,1 N menggunakan indikator kristal violet. Kadar sampel dan presisi dihitung dengan persamaan (3) dan (4):

$$\text{Kadar} = \frac{(V_s - V_b) \times N \times 17,12}{0,1 \times W \times (1 - \text{LOD})} \times 100\% \quad (3)$$

Dimana:

$V_s$  = Volume titrasi sampel (mL)

$V_b$  = Volume titrasi blanko (mL)

N = Normalitas  $\text{HClO}_4$

W = bobot sampel (mg)

LOD = Susut pengeringan sampel

$$\% \text{RPD} = \frac{(\text{Hasil pengukuran} - \text{Duplikat pengukuran})}{(\text{Hasil Pengukuran} + \text{Duplikat Pengukuran})/2} \times 100\% \quad (4)$$

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji Kualitatif

#### 4.1.1 Pemerian

Sifat fisik bahan baku sangat penting diperhatikan karena apabila ada sesuatu dari sifat fisik bahan baku yang tidak sesuai dengan spesifikasinya, maka bisa dikatakan bahwa bahan baku sudah terkontaminasi sehingga kemurniannya turun. Bahan baku yang sifat fisiknya rusak bias saja menjadikan zat aktif yang ada didalam bahan baku juga rusak. Menurut Farmakope Indonesia edisi ke V volume 1 tahun 2014, *metronidazole* memiliki bentuk serbuk kristal atau hablur, berwarna putih atau kuning pucat, tidak berbau, stabil di udara, tetapi lebih gelap bila terpapar oleh cahaya. Hasil pemerian bahan baku *metronidazole* ditunjukkan pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Hasil Pemerian *Metronidazole Micronized***

Parameter	Spesifikasi	Hasil
Bentuk	Serbuk kristal atau hablur	Serbuk hablur
Warna	Putih atau kuning pucat	Putih
Bau	Tidak berbau	Tidak berbau
Kestabilan di udara	Stabil di udara	Stabil di udara
Warna apabila terpapar oleh cahaya	Lebih gelap dari warna sebelumnya	Lebih gelap dari warna sebelumnya

Hasil analisa sifat fisik dari bahan baku ini didapatkan bahwa *metronidazole* yang dianalisa memiliki bentuk serbuk hablur, berwarna putih, tidak berbau, stabil di udara, tetapi lebih gelap bila terpapar oleh cahaya karena *metronidazole* memiliki sifat fotosensitif. Berdasarkan hasil analisa, maka sampel ini dikatakan baik dari segi fisik.

#### 4.1.2 Kelarutan

Berdasarkan Farmakope Indonesia jilid 1 bagian monogram zat aktif *metronidazole* dikatakan bahwa senyawa ini agak sukar larut dalam air dan alkohol, sukar larut dalam eter dan kloroform. Kelarutan *metronidazole* dispesifikan menjadi beberapa bagian yaitu sangat mudah larut, mudah larut,

larut, agak sukar larut, sukar larut, dan praktis tidak larut. Klasifikasi kelarutan bahan baku *Metronidazole* disajikan pada Tabel 4.2

**Tabel 4.2 Klasifikasi Kelarutan**

No	Istilah Kelarutan	Jumlah Bagian pelarut yang Diperlukan untuk Melarutkan 1 Bagian Zat
1	Sangat Mudah larut	Kurang dari 1
2	Mudah Larut	1 sampai 10
3	Larut	10 sampai 30
4	Agak Sukar Larut	30 sampai 100
5	Sukar larut	100 sampai 1000
6	Sangat Sukar Larut	1000 sampai 10.000
7	Praktis Tidak Larut	Lebih dari 10.000

Berdasarkan Tabel 3.1, langkah pertama untuk melakukan uji kelarutan ini yaitu dengan menimbang *metronidazole* masing-masing sebanyak 1 g ke dalam tabung 1; 2; 3; dan 4 yang akan dilarutkan secara berurutan dengan pelarut yang berbeda yaitu air, alkohol, eter, dan kloroform, kemudian ditambahkan masing-masing pelarut 1 mL pada tabung reaksi, dikocok dan dilihat larut atau tidak. Apabila sampel tidak larut, maka ditambahkan lagi 9 mL masing-masing pelarut, dikocok, dan dilihat kelarutannya. Apabila masih tidak larut, maka dilanjutkan uji ke tahap berikutnya sesuai dengan Tabel 3.1. *Metronidazole* berhasil dilarutkan pada tahap ke empat (IV) untuk tabung 1 dan 2, yaitu dengan menambahkan 100 mL pelarut air pada tabung 1 dan 100 mL pelarut alkohol pada tabung 2. Hal ini menunjukkan bahwa *metronidazole* masuk spesifikasi (MS) agak sukar larut dengan pelarut air dan alkohol. Kemudian untuk tabung 3 dan 4 belum dapat larut hanya dengan penambahan 100 mL pelarut eter dan kloroform.

Langkah berikutnya adalah menimbang masing-masing 100 mg sampel ke dalam tabung yang berbeda yaitu tabung 5 dan 6, dilarutkan dengan 100 mL pelarut eter dan kloroform, dikocok dan dilihat kelarutan sampel. Setelah tahap ini, *metronidazole* berhasil dilarutkan setelah penambahan 100 mL pelarut eter dalam 100 mg *metronidazole*, juga pada tabung 6 yang larut setelah penambahan 100 mL pelarut kloroform dalam 100 mg *metronidazole*. Hal ini menunjukkan bahwa *metronidazole* masuk spesifikasi (MS) sukar larut pada pelarut eter dan kloroform. Hasil uji kelarutan bahan baku *metronidazole* disajikan pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3 Hasil Uji Kelarutan *Metronidazole Micronized***

<b>Pelarut</b>	<b>Hasil</b>	<b>Volume Pelarut (mL)</b>	<b>Spesifikasi</b>
Air	Agak sukar larut	100 mL untuk melarutkan 1 g sampel	Agak sukar larut
Etanol	Agak sukar larut	100 mL untuk melarutkan 1 g sampel	Agak sukar larut
Eter	Sukar larut	100 mL untuk melarutkan 100 mg sampel	Sukar larut
Kloroform	Sukar larut	100 mL untuk melarutkan 100 mg sampel	Sukar larut

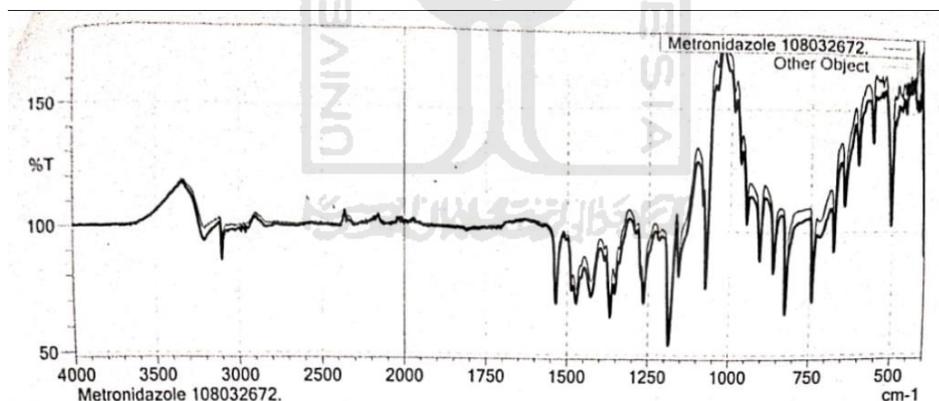
Berdasarkan Tabel 4.3, bahan baku *metronidazole* memiliki kelarutan yang baik dan sesuai dengan yang tertera di Farmakope Indonesia bahwa *metronidazole* memiliki sifat agak sukar larut dalam air dan alkohol, sukar larut dalam eter dan kloroform. Uji kelarutan dari bahan baku dilakukan guna mengetahui pelarut apa yang cocok digunakan untuk proses pembuatan obat. Obat yang memiliki kelarutan yang baik dalam tubuh akan mempermudah absorpsi zat aktif yang diterima oleh akseptor, apabila obat tidak terlarut dan terabsorpsi secara baik dalam tubuh maka obat tersebut tidak bisa menjalankan fungsinya untuk mengurangi atau menyembuhkan rasa sakit.

#### **4.1.3 Purity Index**

Pembacaan spektrum *infra red* (IR) pada *metronidazole* dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang ada pada bahan baku, demikian juga digunakan untuk menentukan kemurnian dari *metronidazole* dengan menentukan nilai korelasi antara absorbansi yang dihasilkan *metronidazole* dengan standar *metronidazole*. Bahan baku harus dipastikan bebas dari kontaminasi. Apabila bahan baku terkontaminasi atau sudah dalam keadaan tidak murni, maka bahan baku tidak dapat digunakan karena akan mempengaruhi kandungan zat aktif yang ada dalam obat dan dapat mengkontaminasi produk obat, sehingga obat tidak dapat memberikan efek menyembuhkan dan tidak aman dikonsumsi oleh masyarakat.

Spektrofotometri *infra red* yang digunakan dalam pengujian ini berjenis ATR (*Attenuated Total Reflection*), sehingga pengukurannya tidak lagi menggunakan serbuk KBr (kalium bromida). Bahan baku diuji untuk mengetahui

gugus fungsi apa saja yang ada dalam sampel, dan untuk mengetahui kemurnian dari *metronidazole*. *Metronidazole* memiliki gugus fungsi C – N, C-C, NO<sub>2</sub>, C-H, - OH. Deseswaran *et al* (2011) telah mempelajari spektrum serapan *Infra Red* (IR) pada *metronidazole* murni, hasil menunjukkan puncak yang tajam pada bilangan gelombang 1076,21; 1477,37; 3217,04; dan 1431,08 cm<sup>-1</sup> yang mengonfirmasi keberadaan peregangan gugus fungsi C – N, N = O, C – H, O – H, dan C – C. Pergeseran bilangan gelombang dari gugus fungsi yang dihasilkan sangatlah wajar terjadi, hal tersebut dikarenakan suatu zat yang mengalami perbedaan kondisi pembuatan dan penyimpanan yang berbeda. Oleh karena itu, bilangan gelombang suatu gugus fungsi dinyatakan dalam suatu rentang bilangan gelombang, yang diartikan suatu gugus fungsi dapat ditemukan dalam rentang panjang gelombang tertentu. Daerah frekuensi bilangan gelombang dapat dilihat pada Tabel 2.2. Hasil spektrum serapan IR-ATR *metronidazole* dengan standar *metronidazole* pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan hasil interpretasi gugus fungsi pada spektrum serapan IR-ATR ditunjukkan pada Tabel 4.4.



**Gambar 4.1** Spektrum Serapan IR-ATR *Metronidazole* dan Standar *Metronidazole*

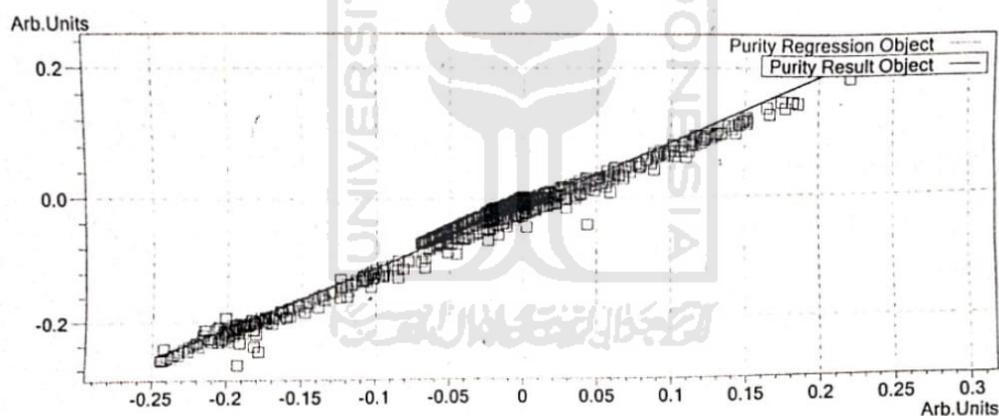
**Tabel 4.4** Hasil Interpretasi Spektrum Serapan FTIR-ATR *Metronidazole*

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )
C – N	1360 - 1180
NO <sub>2</sub>	1370 – 1500
C – C	1500 – 1600
C – H	3095 – 3010
-OH	3600 – 3200

Kemurnian *metronidazole* ditentukan dari persamaan korelasi antara absorbansi *metronidazole* dan standar *metronidazole*. Nilai korelasi menunjukkan kemiripan antara absorbansi *metronidazole* dengan standar *metronidazole*, sehingga nilai korelasi dapat menunjukkan kemurnian dari *metronidazole*. Data yang diambil untuk menentukan kemurnian *metronidazole* adalah *purity index* (diambil dari nilai korelasi). Hasil %Transmitasi (T) yang dihasilkan oleh *metronidazole* dan standar *metronidazole* dikonversi menjadi Absorbansi (A), sesuai dengan Hukum Lambert beer yang ditunjukkan pada persamaan (5).

$$A = - \log T \quad (5)$$

Absorbansi yang dihasilkan kemudian dibuat menjadi kurva korelasi untuk mengetahui nilai *purity index*. Kurva korelasi antara absorbansi *metronidazole* (sebagai sumbu x) dengan standar *metronidazole* (sebagai sumbu y) dapat dilihat pada Gambar 4.2.



**Gambar 4.2 Kurva Korelasi antara Absorbansi *Metronidazole* Vs. Standar *Metronidazole***

Kurva korelasi absorbansi *metronidazole* (sumbu x) Vs. standar *metronidazole* (sumbu y) menghasilkan korelasi (r) sebesar 0,9857. Korelasi antara absorbansi *metronidazole* dan standar *metronidazole* merupakan *Purity index* dari *metronidazole* Vs. Standar *metronidazole*, oleh karena itu dapat diketahui bahwa nilai *purity index* sebesar 0,9857. Kesesuaian absorbansi *metronidazole* dengan absorbansi standar *metronidazole* akan menghasilkan korelasi yang baik. Semakin mirip absorbansi bahan baku dengan standar, maka akan semakin besar nilai korelasi, dan semakin baik pula *purity index* yang dihasilkan.

Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi ke V vol. 1 tahun 2014, sampel dikatakan positif *metronidazole* apabila sampel menunjukkan spektrum yang sama dengan standar. Menurut spesifikasi pabrik, sampel yang memiliki kemurnian yang baik atau masih dalam keadaan murni yaitu sampel yang memiliki nilai *purity index* tidak lebih kecil dari 0,98. Nilai *purity index metronidazole* yang dihasilkan menunjukkan bahwa sampel bahan baku ini masuk kedalam spesifikasi, sehingga *metronidazole* dikatakan masih dalam keadaan murni (tidak terkontaminasi). *Purity index* yang lebih kecil dari 0,98 menunjukkan bahwa senyawa ini telah terkontaminasi oleh senyawa pengotor yang dapat menurunkan kemurnian suatu bahan baku. Spekturm serapan IR akan menunjukkan bilangan gelombang yang sesuai dengan gugus fungsi *metronidazole*, namun kelimpahan gugus fungsi *metronidazole* yang sudah terkontaminasi (tidak murni) akan lebih kecil dan juga akan terdapat gugus fungsi selain gugus yang dimiliki *metronidazole*. Hal tersebut yang menunjukkan bagaimana serapan yang terjadi pada *metronidazole* yang tidak lagi murni.

#### 4.1.4 Spektrum Serapan UV

Identifikasi senyawa *metronidazole* menggunakan spektrofotometri UV-Visibel berdasarkan pada serapan cahaya oleh molekul dari suatu analit. Prinsip dari pengujian ini yaitu interaksi sumber sinar radiasi elektromagnetik ultraviolet dan sinar tampak yang memiliki rentang panjang gelombang tertentu yang dengan suatu materi. Senyawa *metronidazole* memiliki gugus aoksokrom seperti OH, CH<sub>3</sub>, dan NO<sub>2</sub> sehingga senyawa ini dapat diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Visibel.

Identifikasi *metronidazole* dengan spektrofotometer UV-Visibel bertujuan untuk mengetahui keberadaan zat aktif *metronidazole*, dengan membandingkan panjang gelombang maksimum dari larutan *metronidazole* dengan larutan standar *metronidazole*. Kemurnian dari *metronidazole* tidak dapat ditentukan hanya dengan identifikasi dengan spektrofotometer UV-Visibel, namun keberadaan *metronidazole* dikatakan tidak terkontaminasi apabila hasil dari serapan UV menunjukkan absorbansi yang memenuhi

persyaratan. Apabila larutan *metronidazole* telah berhasil diidentifikasi (positif *metronidazole*) maka dilakukan penetapan kadar untuk menentukan kadar *metronidazole*.

Larutan dipreparasi dari 500,0 mg *metronidazole* yang dilarutkan dalam HCl 0,1N sampai volume 50 mL. Larutan kemudian diencerkan dengan memipet 1 mL larutan kedalam labu 100 mL. Larutan standar dilakukan dengan perlakuan yang sama dengan preparasi sampel bahan baku. Larutan sampel dan standar yang tidak berwarna kemudian diukur pada panjang gelombang 277 nm, dengan larutan HCl 0,1N sebagai blanko. Berdasarkan farmakope Indonesia dan spesifikasi pabrik, *metronidazole* memiliki rentang absorbansi sebesar 0,365 - 0,395. Hasil dikatakan positif apabila panjang gelombang maksimum sampel sama dengan standar. Absorbansi yang dihasilkan pada larutan standar sebesar 0,3752, dan sampel sebesar 0,3755. Spektrum hasil pengujian dapat dilihat pada Lampiran 3. Berikut adalah hasil absorbansi *metronidazole* yang disajikan dalam Tabel 4.5

**Tabel 4.5 Hasil Absorbansi *Metronidazole* diukur dengan Spektrofotometer UV-Visibel**

Hasil	Spesifikasi	Kesimpulan
$\lambda$ maksimum standar = 276,7 nm	$\lambda$ max $\pm$ 277 nm	
$\lambda$ maksimum sampel = 276,7 nm		Diterima
Absorbansi standar = 0,3752	Absorbansi = 0,365 – 0,398	(Sesuai spesifikasi)
Absorbansi sampel = 0,3755		

Sampel dan standar yang dihasilkan memiliki *peak* yang sama bila dilihat pada Lampiran 3, juga memiliki  $\lambda$  maksimum yang sama, dan absorbansi yang dihasilkanpun masuk kedalam spesifikasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel positif mengandung *metronidazole*. Apabila absorbansi sampel tidak masuk dalam *range* absorbansi *metronidazole*, maka dapat dikatakan bahwa senyawa yang terukur bukanlah senyawa *metronidazole*, melainkan senyawa yang lain. Hal ini mungkin saja terjadi bila sampel mengalami kontaminasi oleh senyawa yang memiliki serapan yang lebih tinggi dari serapan *metronidazole* sehingga panjang gelombang maksimum yang terdeteksi akan lebih besar. Apabila *metronidazole* mengalami kontaminasi, maka *peak* dari *metronidazole* akan mengalami perubahan (tidak sama dengan *peak* standar

*metronidazole*) juga panjang gelombang maksimum dan absorbansi yang dihasilkan tidak sesuai dengan spesifikasi.

#### 4.1.5 Identifikasi Logam Berat (Pb)

Uji logam berat dalam bahan baku maupun obat penting dilakukan untuk mengontrol logam berat masih dibawah ambang batas. Kandungan logam berat membahayakan kesehatan pada manusia, sehingga obat yang digunakan untuk meringankan dan mengobati rasa sakit harus memiliki kandungan logam berat sekecil mungkin (dibawah ambang batas) agar obat tidak memperburuk penyakit pada pasien. *Metronidazole* merupakan antibiotik yang berfungsi untuk menahan dan membasmi mikroorganisme seperti *flagyl*, bakteri, dan amoeba sehingga dengan menjamin kandungan logam berat yang sesuai dengan persyaratan, antibiotic ini tidak membahayakan atau menambah penyakit pada pasien.

Identifikasi logam berat Timbal (Pb) dilakukan dengan membandingkan larutan sampel yang telah dipreparasi dengan larutan standar. Larutan standar dibuat dari 1 mL larutan baku timbal 10 µg/mL yang diencerkan dengan air hingga 25 mL. Larutan asam asetat 1N dan amonium hidroksida 6N digunakan untuk mengatur pH larutan standar antara pH 3 - 4, karena logam Pb hanya dapat dianalisa dan larut dalam suasana asam. Semakin asam larutan maka pengionannya semakin tinggi dan kelarutannya semakin besar, sedangkan semakin larutan basa larutan Pb maka larutan akan semakin mengendap sehingga tidak dapat dianalisa (Tangio, 2013).

Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang 0,4 g *metronidazole*. Penambahan asam sulfat pekat dan asam nitrat pekat berfungsi untuk mendestruksi sampel sehingga melarutkan logam timbal kedalam ionnya. Hasil kali kelarutan  $PbSO_4$  sebesar  $2,13 \times 10^{-8}$  (20°C), sedangkan  $Pb(NO_3)_2$  tidak memiliki nilai  $K_{sp}$  karena larut sempurna, atau dapat dikatan bahwa garam yang berikatan dengan anion nitrat memiliki kelarutan yang tidak terbatas dalam air. sehingga dapat dikatakan bahwa ion  $Pb^{2+}$  memiliki kelarutan lebih tinggi dalam  $NO_3^-$  dibandingkan dengan  $SO_4^{2-}$ . Bahan baku didestruksi dengan penambahan  $H_2SO_4$  terlebih dahulu sehingga ion  $Pb^{2+}$  berikatan dengan  $SO_4^{2-}$  menjadi  $PbSO_4$ , kemudian sampel yang sudah menjadi arang dilarutkan kembali dengan  $HNO_3$

untuk melarutkan  $Pb^{2+}$  yang mungkin saja belum terlarut semua dalam  $SO_4^{2-}$ . Destruksi kering pada sampel dilakukan untuk menghilangkan kandungan senyawa organik yang ada dalam sampel, karena hasil akhir yang ingin didapatkan adalah pembentukan warna dari logam Pb, oleh karena itu interferensi dari warna senyawa lain dihilangkan dengan cara destruksi agar tidak mengganggu pembentukan warna logam Pb yang diinginkan.

Selama pemanasan ini cawan tidak boleh ditutup rapat agar penguapan air dan gas dari asam sulfat tidak terhambat hingga asap putih dari asam pekat tidak terlihat lagi. Setelah dipijarkan pada suhu rendah, cawan krusibel dipijarkan dalam tanur pada suhu 500 °C hingga 600 °C. Selama pemijaran, senyawa-senyawa organik yang ada dalam sampel hilang hingga menyisakan senyawa anorganik atau logam. Setelah selesai dipijarkan, cawan krusibel didinginkan dalam desikator. Sisa sampel yang dihasilkan setelah pemijaran kemudian diatur kembali pH nya dengan penambahan larutan asam asetat 1N agar kondisi sampel tetap dalam suasana asam.

Larutan standar *metronidazole* dan larutan sampel kemudian dibandingkan, namun sebelum dibandingkan larutan sampel dan standar ditambahkan 2 mL larutan dapar asetat pH 3,5 agar pH larutan tidak terpengaruh apabila ditambah asam atau basa dalam volume tertentu. Ditambahkan larutan *thioacetamide-glycerin base TS* sebagai senyawa pengompleks (untuk membanding warna) pada larutan standar dan sampel. Hasil identifikasi logam timbal disajikan pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6 Hasil Identifikasi Logam Berat (Pb) dalam *Metronidazole***

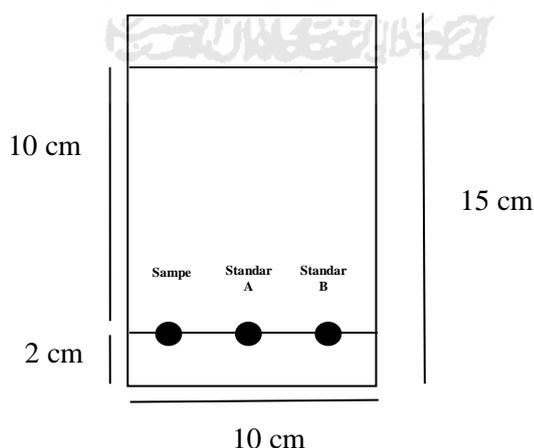
Hasil Uji Standar	Hasil Uji Sampel	Spesifikasi
Larutan berwarna kuning	Larutan berwarna kuning, namun tidak lebih intensif dari warna larutan standar	$\leq 50$ ppm (warna pada larutan sampel tidak lebih intensif dari larutan standar)

Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi ke V vol. 1 tahun 2014, bahwa kadar logam berat tidak lebih besar dari 50 ppm. Hasil identifikasi kandungan logam berat timbal  $\leq 50$  ppm dengan spesifikasi warna kuning pada larutan uji tidak

lebih intensif dari warna kuning pada larutan standar, sehingga *metronidazole* dikatakan tidak mengandung logam berat Pb melebihi ambang batas kandungan Pb dalam bahan baku obat. Apabila kandungan logam berat Pb pada *metronidazole* tidak melebihi ambang batas maka bahan baku ini dikatakan baik berdasarkan kandungan logam beratnya.

#### 4.1.6 Waktu Tambat (Rf)

Analisa kromatografi (pemisahan) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengidentifikasi zat aktif *metronidazole* sekaligus mengetahui kemurniannya dengan membandingkan nilai Rf antara *metronidazole* dengan standar *metronidazole* berdasarkan sistem yang terjadi didalamnya. Kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam berupa padatan dan fase gerak berupa cairan sehingga termasuk kedalam kategori interaksi yang berupa adsorpsi, yaitu senyawa diserap oleh permukaan padatan dan terjadi kesetimbangan jumlah solut pada fasa diam dan fasa gerak (Rouessac, 2007). Plat KLT dibuat dengan ukuran 15 x 10 cm, garis tepi bawah dibuat 2 cm, garis batas atas dibuat 3 cm, sehingga jarak tempuhnya 10 cm. Penotolan plat terdiri dari 3, yaitu larutan standar A, larutan standar B, dan sampel. Bentuk dan ukuran plat KLT ditunjukkan dalam Gambar 4.3



**Gambar 4.3 Bentuk dan Ukuran Plat KLT**

Preparasi larutan standar A dilakukan dengan melarutkan *metronidazole* 120 mg dalam aseton pekat pada labu ukur 10 mL, kemudian larutan disonikasi sampai larut sempurna. Larutan standar B dibuat dengan mengencerkan larutan

standar A dengan pengenceran 10 kali. Preparasi larutan sampel dilakukan sama dengan larutan standar dengan menimbang sampel sebanyak 400 mg standar *metronidazole*. Kondisi kromatografi dibuat dengan menggunakan *plate silica gel*, volume sampel yang ditotol sebanyak 5,0 µl, fase gerak yang digunakan adalah kloroform pekat: etanol pekat : dietilamina pekat : air (80:10:10:1) (v/v/v/v). *Chamber* yang akan digunakan untuk elusi dijenuhkan terlebih dahulu dengan fase gerak dalam lemari asam yang bertujuan untuk meningkatkan elusi pada plat KLT. Fase gerak yang digunakan bersifat volatil, sehingga banyak uap yang terbentuk. Tekanan uap yang dihasilkan selama penjenuhan akan mendorong fase gerak untuk melewati fase diam lebih cepat, sehingga *chamber* yang telah dijenuhkan akan memiliki waktu yang lebih cepat dalam proses elusi dibandingkan *chamber* yang tidak dijenuhkan. Setelah sampel selesai dipisahkan, plat kemudian dikeringkan dan dilihat bercak noda dibawah sinar UV 254 nm karena bercak ini tidak bisa dilihat langsung pada daerah visibel, kemudian diberi tanda bercak sampel dan standar.

Hasil elusi dapat dilihat pada Lampiran 4. Nilai Rf *metronidazole* yang dihasilkan sampel sebesar 1, dan nilai Rf dari larutan standar A sebesar 1, dan bercak dari larutan standar B sangat tipis bahkan hampir seperti tidak ada, hal tersebut dikarenakan memang konsentrasi dari larutan standar B sangat kecil. Menurut spesifikasi pabrik dan Farmakope Indonesia edisi ke V tahun 2014, pengujian ini memenuhi syarat apabila harga Rf bercak utama yang diperoleh dari larutan sampel sesuai dengan yang diperoleh dari larutan standar A, dan tidak ada bercak selain bercak utama dari larutan sampel lebih besar dan lebih intensif dari bercak utama larutan standar B. Berdasarkan hasil uji, maka *metronidazole* dikatakan memenuhi syarat spesifikasi pabrik, karena hasil elusinya didapatkan bahwa nilai Rf antara larutan standar A dengan sampel sama, sedangkan larutan standar B tidak memberikan bercak. Hasil ini tentu saja dipengaruhi oleh kondisi kromatografi seperti fase gerak dan kejenuhan *chamber*. Apabila sistem atau kondisi kromatografi berbeda maka Rf yang dihasilkan juga akan berubah, begitu pula dengan kejenuhan *chamber* akan memperlancar dan memperjelas pemisahan, sehingga sangat penting untuk memperhatikan kondisi dari kromatografi.

Identifikasi dengan KLT ini hanya untuk memastikan adanya kandungan *metronidazole*, dan sebagai pendukung bahwa zat aktif *metronidazole* memiliki kemiripan nilai Rf dengan standar *metronidazole*. Selanjutnya, untuk memastikan kadar dari *metronidazole* maka dilakukan penetapan kadar.

## **4.2 Uji Kuantitatif**

### **4.2.1 Susut Pengerinan**

Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui kadar air pada *metronidazole*. Pengujian ini perlu dilakukan untuk menjamin kualitas dari bahan baku obat. Kandungan air yang berlebih akan mempercepat kerusakan dari sediaan obat, karena air dapat menjadi tempat pertumbuhan bakteri. Uji kadar air juga dilakukan untuk proses penentuan kadar pada *metronidazole* dengan metode titasi bebas air, karena *metronidazole* yang diuji harus atas dasar kering, sehingga informasi kadar air dibutuhkan dalam perhitungan kadar dari *metronidazole*.

Botol timbang dangkal bersumbat dikeringkan sebelum digunakan agar tidak ada kandungan air yang akan mempengaruhi hasil uji. Sampel ditimbang sebanyak 1,0308 g dan dimasukkan kedalam botol timbang yang sudah dikeringkan, kemudian diratakan permukaannya agar sampel menyusut dengan rata disetiap permukaannya. Sampel dioven pada suhu  $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Suhu dan waktu ini merupakan suhu yang dibutuhkan untuk menguapkan air pada sampel. Ketika botol timbang yang berisi sampel dimasukkan dalam oven maka botol timbang diletakkan dalam keadaan terbuka, agar kandungan air dapat menguap saat terkena panas, kemudian saat botol timbang dikeluarkan dari oven, maka botol timbang ditutup dan kembali dibuka saat ditaruh di dalam desikator. Hal ini dilakukan agar tidak ada air yang terikat kedalam sampel atau uap air yang menempel di sisi botol timbang karena akan mempengaruhi hasil analisa. Botol timbang dangkal tersumbat juga tidak dibolehkan untuk tersentuh dengan tangan langsung agar tidak ada air atau minyak yang menempel di botol timbang dangkal tersumbat.

Spesifikasi susut pengeringan pada *metronidazole* adalah  $\leq 0,5\%$ , apabila pengujian dilakukan kurang dari suhu  $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  maka bisa jadi nilai susut pengeringan akan lebih dari 0,5%. Hasil uji susut pengeringan *metronidazole*

sebesar 0,4% yang menunjukkan bahwa kadar air *metronidazole* dikatakan baik karena masuk kedalam spesifikasi yaitu  $\leq 0,5\%$ . Kandungan air yang kecil dalam bahan baku *metronidazole* ini menunjukkan bahwa kualitas bahan baku baik karena tidak mengandung air yang berlebihan. Apabila kandungan air berlebih maka akan mempengaruhi kemurnian serta ketahanan bahan baku obat dari jamur dan bakteri.

#### 4.2.2 Sisa Pijar

Pengujian sisa pijar dalam bahan baku obat dilakukan untuk mengetahui bobot senyawa anorganik dalam sampel yang dinyatakan dalam persen (%). Senyawa anorganik yang terdapat dalam obat penting diuji untuk mengontrol kandungan senyawa anorganik atau zat pencemar yang terdapat dalam bahan baku. Pengujian sisa pijar dengan metode gravimetri dilakukan melalui proses destruksi untuk mengionkan logam berat yang terdapat dalam sampel, logam tersebut kemudian berikatan dengan asam kuat yang ditambahkan sebelum sampel di masukkan dalam tanur.

Tahap pertama pengujian ini yaitu dengan memanaskan dan memijarkan cawan krusibel yang bertujuan untuk membersihkan dan memastikan bahwa cawan yang dipakai tidak mengandung air dan senyawa organik lainnya yang akan mempengaruhi bobot akhir sampel. Sampel ditimbang sebanyak 5,0 g dan dimasukkan kedalam cawan krusibel yang telah dipijarkan. Sampel kemudian ditambahkan 1 mL  $H_2SO_4$  pekat, dan dipanaskan sampai menjadi arang. Penambahan  $H_2SO_4$  pekat pada sampel bertujuan untuk mendestruksi logam menjadi ionnya saat dilakukan pemijaran. Setelah sampel tidak lagi mengeluarkan asap (gas) yang berasal dari penambahan  $H_2SO_4$  pekat, tahap berikutnya yaitu sampel dipijarkan pada suhu  $800^\circ C \pm 25^\circ C$  hingga bobot tetap. Suhu ini cukup untuk membakar habis senyawa organik dalam sampel sehingga hanya tersisa senyawa anorganiknya saja.

Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi ke V vol 1 tahun 2014 dikatakan bahwa sisa pijar bahan aktif *metronidazole*  $\leq 0,1\%$ . Apabila hasil perhitungan sisa pijar melebihi spesifikasi, maka sampel dibasahi lagi dengan  $H_2SO_4$  pekat dan dipijarkan kembali. Bobot sisa pijar yang besar menunjukkan banyak senyawa

anorganik yang terkandung dalam sampel. Dalam pembuatan obat, bahan baku harus memiliki kandungan senyawa anorganik atau logam berat seminimal mungkin, kecuali memang obat yang digunakan untuk menambah mineral tubuh (tetap dalam dosis yang dipersyaratkan). Apabila nilai sisa pijar melebihi batas maka bahan baku dikatakan tidak baik karena memiliki cemaran yang tinggi, hal tersebut dapat berbahaya bagi pasien. Hasil sisa pijar yang didapatkan sebesar 0,056% yang tidak melebihi spesifikasi sehingga bahan baku dikatakan baik dalam hal sisa pijarnya. Proses selanjutnya yang akan dilakukan apabila sudah diketahui berapa kandungan senyawa anorganik yang terdapat pada bahan *metronidazole*, maka dilakukan pengujian logam berat untuk memastikan kandungan logam berat yang terdapat dalam *metronidazole* tidak melebihi ambang batas baku mutu.

#### **4.2.3 Suhu Lebur**

Sifat fisik bahan baku juga dilihat dari suhu lebur senyawa tersebut. Pengujian suhu lebur dalam bidang farmasi biasa digunakan untuk mengetahui kemurnian dari suatu senyawa. Suatu senyawa memiliki suhu leburnya sendiri, mulai dari awal melebur, tengah melebur, dan melebur sempurna. Suhu lebur suatu padatan murni mempunyai titik lebur yang spesifik yang dipengaruhi oleh bentuk dan sifat ikatan atom-atom penyusunnya, sehingga dapat juga digunakan sebagai cara mengetahui kemurnian suatu zat. Apabila suatu senyawa terkontaminasi oleh suatu zat pengotor, maka suhu lebur dari senyawa tersebut akan berubah. Misalkan bahwa *metronidazole* tercemar oleh suatu logam berat, maka suhu lebur akan bergeser ke suhu lebur logam berat tersebut yang lebih tinggi. Pengujian suhu lebur dilakukan dengan memasukkan sampel kedalam pipa kapiler secara duplo dengan tinggi sampel yang sama. Tangas yang akan digunakan dipanaskan hingga suhu  $\pm 10$  °C dibawah suhu lebur yang diperkirakan, kemudian suhu dinaikkan dengan kecepatan  $1^{\circ}\text{C} \pm 0,5$  °C per menit. Kenaikan suhu tersebut digunakan untuk mengontrol bila adanya perubahan sampel yang tidak lazim dari proses pemanasan, dengan begitu bisa diamati perubahan bentuk senyawa uji dari awal melebur sampai melebur sempurna.

Apabila suhu sudah mencapai 5°C dibawah suhu lebur terendah yang diperkirakan, dilanjutkan pemanasan sampai suhu lebur dengan sempurna.

Berdasarkan Farmakope Indonesia edisi ke V vol. 1 tahun 2014, suhu lebur *metronidazole* sebesar 159°C hingga 163 °C. Hasil uji suhu lebur disajikan dalam Tabel 4.7.

**Tabel 4.7 Hasil Uji Suhu Lebur *Metronidazole***

Percobaan ke-	Suhu (°C)			Spesifikasi (°C)
	Awal Melebur	Tengah Melebur	Melebur Sempurna	
1	160,5	161,7	162,5	159-163
2	160,5	161,7	162,7	
Rata-rata	160,5	161,7	162,6	

Pengujian suhu lebur dilakukan dengan bertahap, mulai dari awal melebur, tengah melebur, dan melebur sempurna. Hal ini bertujuan untuk mengetahui jarak lebur zat, yaitu jarak antara suhu awal dan suhu akhir peleburan zat. Suhu awal dicatat pada saat zat mulai menciut atau membentuk tetesan pada dinding pipa kapiler, suhu akhir dicatat pada saat hilangnya fase padat, sedangkan suhu lebur zat ditentukan saat zat tepat melebur seluruhnya yang ditunjukkan pada saat fase padat hilang. Berdasarkan Tabel 4.7, dapat diketahui bahwa bahan baku *metronidazole* memiliki rata-rata suhu lebur sebesar 162,6 °C. Suhu lebur pengujian masuk dalam spesifikasi suhu lebur *metronidazole* yang berkisar 159 °C - 163 °C. Hal ini menunjukkan bahwa kemurnian sampel ini baik dalam hal suhu leburnya, dan bahan baku *metronidazole* dikatakan masih dalam keadaan murni. Namun untuk menjamin kemurnian dari metronidazole, proses berikutnya harus dilakukan penetapan kadar untuk mengetahui kadar zat aktif metronidazole.

#### **4.2.4 Penentuan Kadar *Metronidazole Micronized* dengan Metode Titrasi Bebas Air (TBA)**

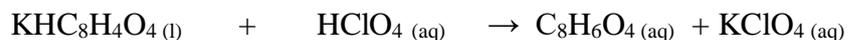
Penentuan kadar *metronidazole* dilakukan untuk mengetahui kandungan zat aktif *metronidazole* sesuai dengan spesifikasi Farmakope Indonesia. Memastikan bahan baku untuk pembuatan obat harus terjamin kualitasnya dengan kadar yang sesuai dengan yang dipersyaratkan. Penentuan kadar *metronidazole* dilakukan dengan metode titrasi bebas air, dikarenakan metode ini

cocok untuk penentuan kadar bahan organik yang agak sukar larut dalam air, dan untuk menganalisa analit yang kadarnya tinggi dalam sampel. Preparasi sampel terlebih dahulu dilakukan sebelum melakukan pengujian dan dipastikan semua alat yang digunakan bebas dari air, dengan mencuci semua alat gelas seperti buret, erlenmeyer, pipet, dan gelas beaker dengan etanol, lalu dioven sampai etanol menguap. Alat gelas, pelarut, maupun titran yang mengandung air akan mempersulit pembacaan titik akhir titrasi, sehingga bisa saja terjadi kesalahan penentuan volume titrasi (mempengaruhi nilai kadar) dan juga resiko presisi uji yang buruk mungkin terjadi. Pelarut yang digunakan yaitu asam asetat glasial karena asam asetat dapat menggantikan peran air sebagai pelarut organik, dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Kelarutan *metronidazole* dalam air pada suhu 20°C sebesar 1 g/100 mL, sedangkan dalam pelarut asam dengan pH 1 sebesar 3,06 g/ 100 mL dan pada pH 7 sebesar 1 g/100 mL (Rediguieri dkk, 2011). Hal tersebut menjadikan asam asetat glasial lebih dipilih menjadi pelarut *metronidazole*, karena memiliki kelarutan lebih tinggi dari air.

Asam asetat juga termasuk dalam pelarut protogenik, yaitu pelarut yang bersifat asam yang dapat memberikan proton pada saat terdisosiasi. Titran yang digunakan adalah  $\text{HClO}_4$  0,1N sebagai senyawa organik pengganti air. Tidak adanya kandungan air akan mempertajam titik akhir titrasi dengan intensitas warna yang dihasilkan, oleh karena itu air sangat dihindari pada pengujian titrasi bebas air. Konsep dasar titrasi ini adalah titrasi asam basa. Teori Bonsted-Lowry digunakan dalam titrasi bebas air, menurut teori ini asam adalah senyawa yang memberikan (donor) proton ( $\text{H}^+$ ) dan basa adalah senyawa yang menerima (akseptor) proton. Berdasarkan reaksi yang terjadi menunjukkan bahwa  $\text{HClO}_4$  merupakan asam Bonsted-Lowry karena menyumbangkan ion  $\text{H}^+$  kepada  $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$ , sedangkan  $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$  bersifat basa Bonsted-Lowry karena menerima  $\text{H}^+$  dari  $\text{HClO}_4$ .

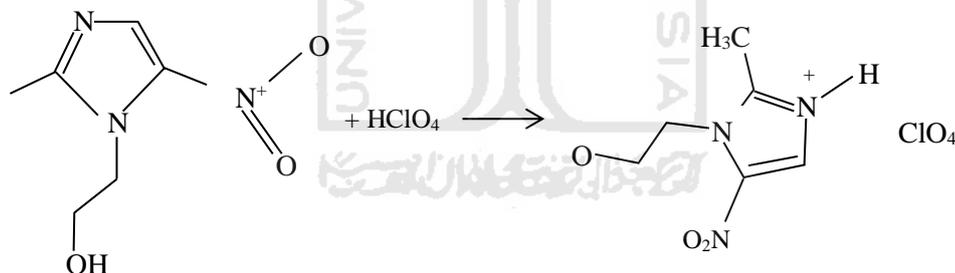
Langkah awal pengujian yaitu larutan titran distandardisasi terlebih dahulu dengan KHP ( $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ ) yang dilarutkan dengan 40 mL asam asetat glasial, indikator yang digunakan adalah kristal violet. Standardisasi dilakukan untuk memastikan berapa konsentrasi dari titran yang akan dipakai. Apabila standarisasi

tidak dilakukan maka hasil kadar dari *metronidazole* dapat diragukan karena tidak diketahui pasti berapa konsentrasi titran yang sebenarnya dipakai. Reaksi yang terjadi pada standarisasi ini yaitu sebagai berikut.



Hasil standarisasi dihasilkan normalitas  $\text{HClO}_4$  sebesar 0,1008N dengan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi kuning kehijauan. Perubahan warna terjadi saat senyawa berada di titik ekuivalen, dimana mol kalium biphthalat sebanding dengan mol  $\text{HClO}_4$ .

Langkah selanjutnya yaitu melarutkan 100 mg bahan baku obat *metronidazole* dengan 40 mL asam asetat glasial, kemudian dititrasi dengan  $\text{HClO}_4$  0,1008N menggunakan indikator kristal violet. Titik akhir titrasi ditunjukkan saat terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi kuning kehijauan, dimana mol *metronidazole* sebanding dengan mol  $\text{HClO}_4$ . Setiap Reaksi yang berlangsung antara bahan baku obat dengan  $\text{HClO}_4$  ditunjukkan pada Gambar 4.4 dan hasil penentuan kadar *metronidazole* dapat dilihat pada Tabel 4.8



**Gambar 4.4 Reaksi *Metronidazole* dengan  $\text{HClO}_4$**

**Tabel 4.8 Hasil Penentuan Kadar *Metronidazole Micronized* Metode Titrasi Bebas Air (TBA)**

Sampel	V. Titrasi (mL)	Kadar (%)
1	5,85	99,63
2	5,9	100,5
Rata-rata	5,875	100,065
%RSD	0,87	

Berdasarkan Tabel 4.8, kadar *metronidazole* memenuhi syarat Farmakope Indonesia edisi ke V tahun 2014 yaitu tidak lebih kecil dari 90,0% dan tidak lebih besar dari 101,0%. Berdasarkan hasil analisa, maka kadar *metronidazole*

dikatakan baik karena masuk kedalam spesifikasi kadar *metronidazole*. Apabila kadar yang dihasilkan tidak masuk spesifikasi, maka dapat dikatakan bahwa sampel sudah mengalami kontaminasi dengan senyawa lain sehingga menurunkan konsentrasinya, atau bisa saja dikarenakan masih ada kandungan air dalam pengujiannya sehingga titik akhir susah ditentukan.

Presisi sebuah pengujian menunjukkan nilai berterulangan. Pengujian ini dilakukan secara duplo sehingga nilai presisi dinyatakan dalam %RPD dan juga dilakukan pada waktu yang berdekatan dengan alat yang sama, sehingga presisi ini merupakan jenis presisi *repeatability*. Hasil presisi dari pengujian ini sebesar 0,87% yang menunjukkan bahwa keterulangan pengujian ini baik karena presisinya kurang dari 10%.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan di PT Ferron Par Pharmaceuticals, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. *Metronidazole* memenuhi spesifikasi Farmakope Indonesia edisi kelima tahun 2014 sebagai acuan pabrik dengan sifat fisik dan kimia berdasarkan uji kualitatif yaitu:
  - Berbentuk serbuk hablur, berwarna putih, tidak berbau, stabil di udara, tetapi lebih gelap bila terpapar oleh cahaya.
  - Agak sukar larut dalam air dan alkohol, sukar larut dalam eter dan kloroform.
  - Memberikan hasil positif (menunjukkan spektrum yang sama dengan standar) saat diuji dengan FTIR dengan *purity index* 0,9867
  - Memberikan hasil yang positif ( $\lambda$  maksimal sampel sama dengan standar) saat diuji dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 276,7 nm dan absorbansi sampel dan standar masing-masing 0,3755; 0,3752
  - Kandungan logam berat ( $Pb^{2+}$ )  $\leq 50$  ppm
  - Memberikan hasil yang memenuhi syarat dengan samanya nilai Rf antara sampel dengan standar A
2. *Metronidazole* memenuhi spesifikasi Farmakope Indonesia edisi kelima tahun 2014 sebagai acuan pabrik dengan sifat fisik dan kimia berdasarkan uji kuantitatif yaitu:
  - Nilai % Susut pengeringan sebesar 0,4 %
  - Nilai % Sisa pijar sebesar 0,056 %
  - Suhu lebur sempurna 162,6°C
  - Kadar *metronidazole* sebesar 100,065% dengan %RPD sebesar 0,87%

## 5.2 Saran

Saran yang direkomendasikan yaitu dilakukan pengujian *metronidazole micronized* dengan instrumentasi seperti HPLC agar proses analisis lebih cepat dan hasilnya bisa dibandingkan dengan metode volumetri yaitu titrasi bebas air.



## DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM RI., 2018, *Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomer 34 Tahun 2018 Tentang Perubahan Atas Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Nomer HK.03.1.33.12.128195 Tentang Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik*, Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan RI.
- Bruno, T. J., 1999, Sampling Accesories for Infrared Spectrometri, *Applied Spectroscopy Reviews*, 34(1&2), 91-120.
- Cairns, D., 2008, *Intisari Kimia Farmasi*, Edisi Kedua, Alih Bahasa: Rini Maya Puspita, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Christiana, T., 2012, The Use of Surrogate Reference Standards in Quantitative Hight Performance Liquid Chromatography: A Case Study of The Analysis of Chlorpheniramine Maleate Tablets and Metformin Hydrochloride Tablets, *Disertasi*, Kumasi: Kwame University of Science and Technology.
- Day, R. A dan Underwood A. L., 2000, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi Keenam. Jakarta: Erlangga.
- Deveswaran, R., Bodempudi S., S. Bharath, B.V. Basavaraj and V. Madhavan, 2011, Studies on Vigna Mungo Mucilage as a Pharmaceutical Excipient, *J.chem.Pharm. Res.*, 3(2), 118-125
- Farmakope Indonesia, 2014, *Farmakope Indonesia*, Edisi V, Jilid 1, Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Harmita, A.P. T., 2006, *Analisa Fisiokimia*, Jakarta: UI Press.
- International Conference on Harmonisation (ICH), 2005, Validation of Analytical Procedures: Text and Methotodology Q2 (R1), *International Conference on Harmonization Tripartite Guideline*, June 1995, London: EMEA, 5-6.
- Kristianingrum, S., 2014, *Spektroskopi Ultra Violet dan Sinar Tampak (Spektroskopi UV-Vis)*, Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta Press.
- Lacy, C., Amstrong L.L., Goldman M. P., Lance L.L., 2009, *Drug Information Handbook*, 1 st. Edition, USA: American Pharmacist Association.
- Menkes RI, 2010, *Industri Farmasi*, Peraturan Menteri Kesehatan Indonesia No. 1799/MENKES/PER/XII, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Mulja, M. dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Edisi 1, Surabaya: Airlangga University Press.
- Rhoihana, D. M., 2008, *Perbandingan Avaibilitas in Vitro Tablet Metronidazol Produk Generik dan Produk Dagang*, Dissertasi, Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Riyanto, 2014, *Validasi dan Verifikasi Metode Uji: sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*, Yogyakarta: Deepublish.
- Rohman, A., 2014, *Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia*, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Rouessac, F. and Annick R., 2007, *Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques*, Secound Edition, Translate by: Francis and Annick Rouessac and Steve Brooks, France: Wiley.
- Sastrohamidjodjo, H., 2018, *Dasar-Dasar Spektroskopi*, Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- Shargel, L. W., Susanna dan Yu B. C. A., 2004, *Biofarmasetika dan Farmakokenitika Terapan*, Edisi Kelima, Alih Bahasa: Fasich, Budi Suprapti., Surabaya: Pusat Penerbitan dan Percetakan Universitas Airlangga.
- Siswandono dan Bambang S., 1995, *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Skoog, D. A., West D. M. and Hollen, F. J., 1998, *Principles of Instrumental Analysis*, Fifth Edition, Universitas Michigan: Saundres Collage Publication.
- Skoog, D. A., West D. M. and Hollen, F. J., 2004, *Fundamental of Analytical Chemistry*, New York: Sounders Collage Publishing.
- Stathopoulou, E. T., V., Psycharis G. D., Chryssikos V., Gionis and G. Theodorou, 2008, Bone Diagenesis: New Data from Infrared Spectroscopy and X-Ray Diffraction, *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 266(3), 168-174.
- Sudjadi dan Abdul R., 2018, *Analisis Kuantitatif Obat*, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sukarti, T., 2008, *Kimia Analitik Pengantar Lengkap Analisa Kimia Bahan*, Bandung: Widya Padjadjaran.

- Tangio, J. S., 2013, Adsorpsi Logam timbal (Pb) dengan Menggunakan Biomassa Eceng Gondok (*Eichhorniacrassipes*), *Jurnal Entropi*, 8(1), 501- 506.
- Tanu, I., Vincent H. S. G. dan Sulistia G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Penerbit FK Universitas Indonesia.
- Tanzil, L., Astuti, S. I. dan Rachmawati, S. R, 2016, Pengujian Mutu Tablet Metronidazol 500 mg Generik Berlogo dan Bermerek Dagang yang Beredar Di Wilayah Pasar Minggu Jakarta Selatan, *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 412-419.
- Thompson, T. J. U., M. Gauthier, and M. Islam, 2009, The Application of A New Method of Fourier Transform Infrared Spectroscopy to The Analysis of Burned Bone. *Journal of Archaeological Science*, 36(3), 910-914.
- Tjay, T. H. dan Rahardja K., 2007, *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta: Gramedia.
- Dapartemen Kesehatan RI., 2009, *Undang-Undang Republik Indonesia Nomer 36 Tahun 2009 Tentang Kesehatan*, Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.



## LAMPIRAN 1

### Perhitungan Analisa Kuantitatif

#### 1. Susut Pengeringan

$$A = 18,8206 \text{ g}$$

$$B = 1,0308 \text{ g}$$

$$C = 19,8468 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Susut Pengeringan} &= \frac{B-(C-A)}{B} \times 100\% \\ &= \frac{1,0308 - (19,8468 - 18,8206)}{1,0308} \times 100\% \\ &= \frac{0,0046}{1,0308} \\ &= 0,4\% \end{aligned}$$

#### 2. Sisa Pijar

$$A = 16,4959 \text{ g}$$

$$B = 5,0000 \text{ g}$$

$$C = 16,4987 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Sisa Pijar} &= \frac{C-A}{B} \times 100\% \\ &= \frac{16,4987 - 16,4959}{5,0000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0028}{5,0000} \times 100\% \\ &= 0,056\% \end{aligned}$$

#### 3. Penetapan Kadar

Standarisasi  $\text{HClO}_4$

Massa Kalium biftalat (KHP) (1) = 700 mg

Massa Kalium biftalat (KHP) (2) = 700 mg

Volume titrasi (1) = 34,5 mL

Volume titrasi (2) = 33,5 mL

$$N \text{ HClO}_4 = \frac{\text{massa kalium biftalat (KHP)}}{0,20423 \times V \text{ titrasi}}$$

$$N1 \text{ HClO}_4 = \frac{0,7 \text{ g}}{0,20423 \times 34,5} = 0,09935 \text{ N}$$

$$N2 \text{ HClO}_4 = \frac{0,7 \text{ g}}{0,20423 \times 33,5} = 0,1023 \text{ N}$$

$$N \text{ HClO}_4 = \frac{0,09935 + 0,1023}{2} = 0,1008 \text{ N}$$

Kadar *Metronidazole*

$$W = 1. 100 \text{ mg}$$

$$2. 100 \text{ mg}$$

$$V_s = 1. 5,85 \text{ mL}$$

$$2. 5,9 \text{ mL}$$

$$V_b = 0,1 \text{ mL}$$

Kadar Sampel 1:

$$\begin{aligned} K1 &= \frac{(V_s - V_b) \times N \times 17,12}{0,1 \times W \times (1 - \text{LOD})} \times 100\% \\ &= \frac{(5,85 - 0,1) \times 0,1008 \times 17,12}{0,1 \times 100,0 \times (1 - 0,004)} \times 100\% \\ &= \frac{5,75 \times 0,0008 \times 17,12}{0,1 \times 99,6} \times 100\% \\ &= 99,63 \% \end{aligned}$$

Kadar Sampel 2:

$$\begin{aligned} K2 &= \frac{(V_s - V_b) \times N \times 17,12}{0,1 \times W \times (1 - \text{LOD})} \times 100\% \\ &= \frac{(5,9 - 0,1) \times 0,1008 \times 17,12}{0,1 \times 100,0 \times (1 - 0,004)} \times 100\% \\ &= \frac{5,8 \times 0,0008 \times 17,12}{0,1 \times 99,6} \times 100\% \\ &= 100,5 \% \end{aligned}$$

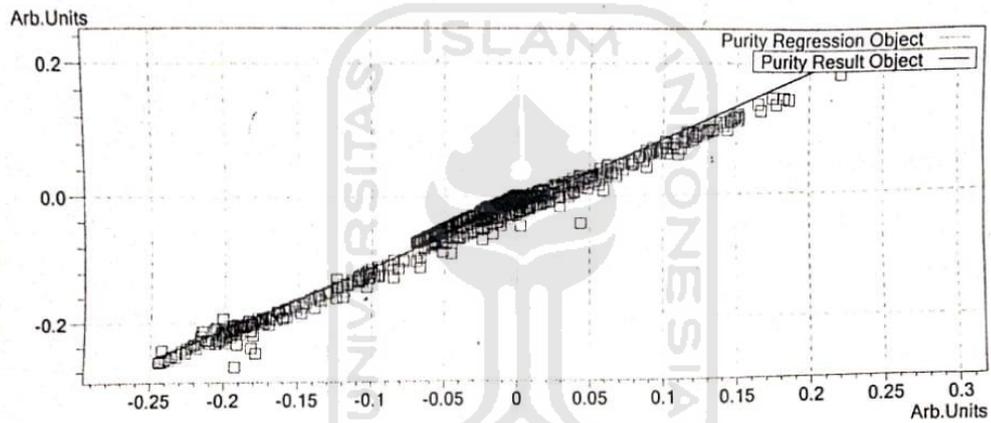
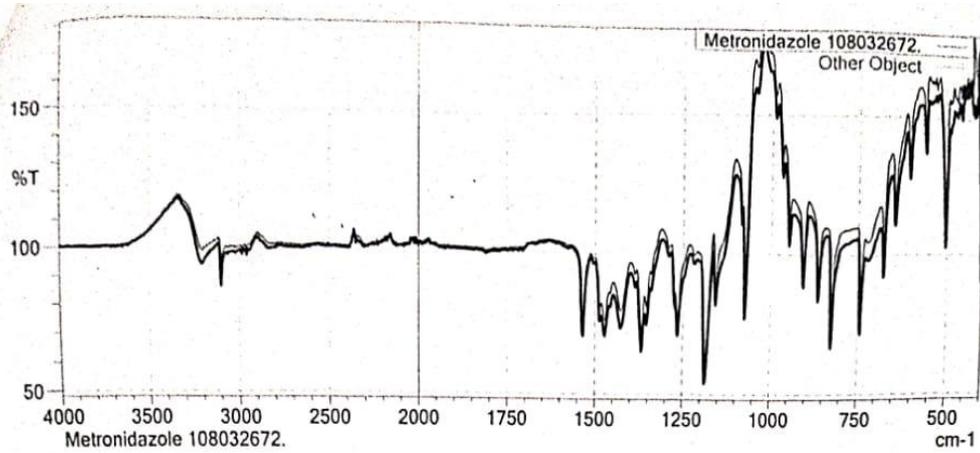
Rata-rata kadar = 100,065 %

#### 4. Penentuan Nilai Presisi

$$\begin{aligned} \% \text{RPD} &= \frac{(\text{Hasil pengukuran} - \text{Duplikat pengukuran})}{(\text{Hasil Pengukuran} + \text{Duplikat Pengukuran})/2} \times 100\% \\ &= \frac{(99,63 - 100,5)}{(99,63 + 100,5)/2} \times 100\% = 0,87\% \end{aligned}$$

### LAMPIRAN 2

### Spektrum Serapan IR-ATR Metronidazole dan Standar Metronidazole



Purity index for Metronidazole 108032672. vs. Metronidazole standar.

Date: 06/02/2020

Time: 11:28:56

Username: Wilah Dwi Vazriah

Normalization: None

Peak purity: Correlation

Threshold: 0.000000

Smooth: No smoothing

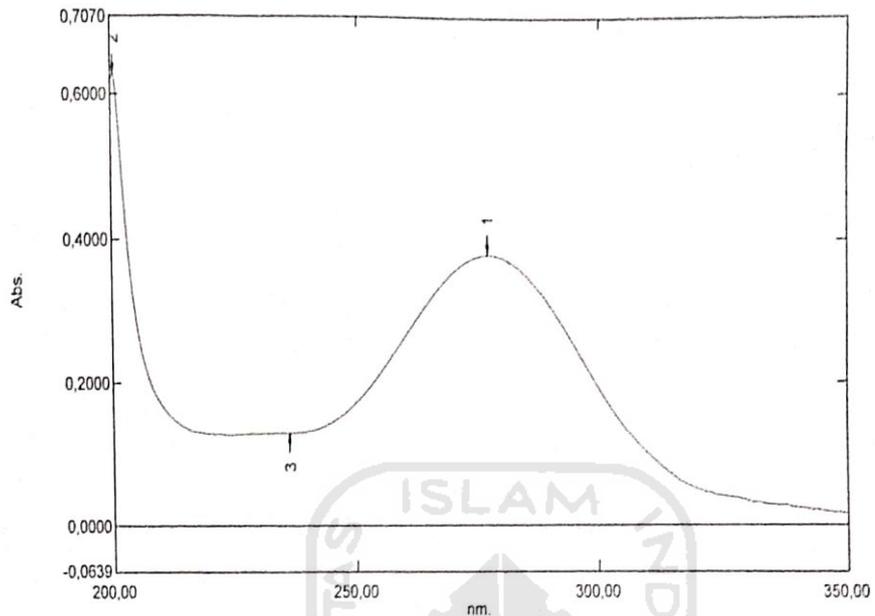
Purity index: 0.9857

Slope: 1.0094

Intercept: -0.0100

WDV  
06/02/20

## 1. Spektrum Serapan UV Standar *Metronidazole*



[Measurement Properties]  
 Wavelength Range (nm.):  
 Scan Speed:  
 Sampling Interval:  
 Auto Sampling Interval:  
 Scan Mode:

200.00 to 350.00  
 Fast  
 0,1  
 Enabled  
 Auto

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	Ⓢ	276.70	0.3752	Metronidazole sta
2	Ⓢ	200.60	0.6257	

[Instrument Properties]

Instrument Type: UV-2600 Series  
 Measuring Mode: Absorbance  
 Slit Width: 2.0  
 Accumulation time: 0,1 sec.  
 Light Source Change Wavelength: 323,0 nm  
 Detector Unit: Direct  
 S/R Exchange: Normal  
 Stair Correction: OFF

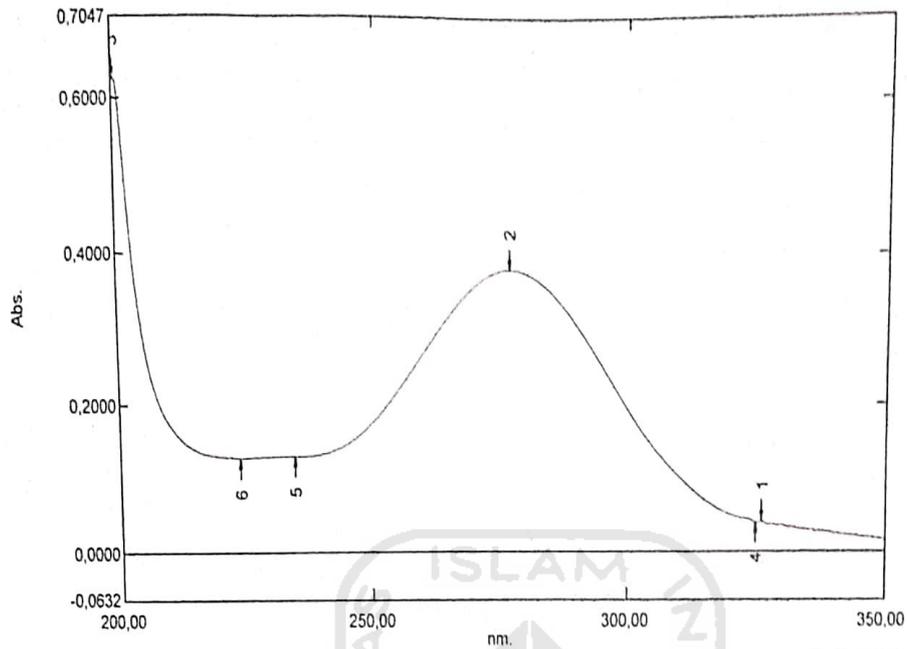
Software Information

Software Name: UVProbe  
 Version: 2.50  
 Mode: GLP Mode

Data Information

Data is: Original  
 Analyst: Wilah Dwi Vazriah  
 Date/Time: 07/02/2020 15:03:18  
 Comments:

## 2. Spektrum Serapan UV *Metronidazole Micronized*



[Measurement Properties]

Wavelength Range (nm.): 200.00 to 350.00  
 Scan Speed: Fast  
 Sampling Interval: 0,1  
 Auto Sampling Interval: Enabled  
 Scan Mode: Auto

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	326.10	0.0413	
2	⊕	276.70	0.3755	metronidazole 108032672
3	⊕	200.40	0.6247	

[Instrument Properties]

Instrument Type: UV-2600 Series  
 Measuring Mode: Absorbance  
 Slit Width: 2,0  
 Accumulation time: 0,1 sec.  
 Light Source Change Wavelength: 323,0 nm  
 Detector Unit: Direct  
 S/R Exchange: Normal  
 Stair Correction: OFF

Software Information

Software Name: UVProbe  
 Version: 2.50  
 Mode: GLP Mode

Data Information

Data is: Original  
 Analyst: Wilah Dwi Vazriah  
 Date/Time: 07/02/2020 15:28:32  
 Comments:

**Hasil Elusi *Metronidazole Micronized* Metode KLT**

