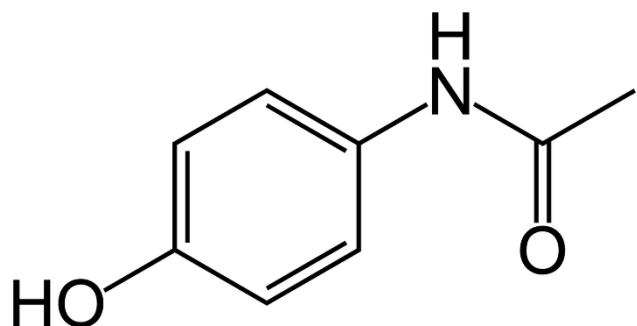


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Paracetamol

Paracetamol (asetaminofen) adalah obat analgesik (penahan rasa sakit atau nyeri) dan anti-piretik (penurun panas atau demam) yang aman, efektif, dapat ditoleransi dengan baik, dan murah dengan efek samping yang relatif sedikit bila digunakan pada dosis terapeutik yang dianjurkan. Paracetamol pertama kali diperkenalkan pada tahun 1955 untuk aplikasi klinisnya dalam menyembuhkan demam, sakit kepala dan rasa nyeri, kemudian sejak saat itu mulai banyak digunakan secara luas hampir di seluruh dunia (Trinh et al., 2015)



Gambar 2. 1 Struktur paracetamol

Paracetamol merupakan senyawa yang mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,1% C₈H₉NO₂ terhadap zat anhidrat..

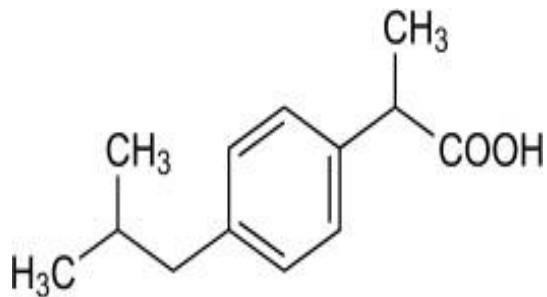
Berat molekul : 151.163

Pemerian : Serbuk hablur putih, tidak berbau, dan memiliki rasa sedikit pahit

Kelarutan : Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam etanol dan natrium hidroksida

2.2 Ibuprofen

Ibuprofen (CAS: 15687-27-1), [2-(4-isobutil-fenil) asam propionat], adalah salah satu obat anti-inflamasi antipiretik, analgesik, dan nonsteroidal yang aktif secara oral (NSAID). Ini digunakan secara luas dalam pengobatan nyeri akut dan kronis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis dan penyakit terkait. Bioavailabilitas oral adalah sekitar 87-100%, dengan konsentrasi puncak plasma rata-rata 25 - 35 $\mu\text{g/mL}$ sekitar 2 jam setelah satu dosis oral 400 mg (Sandhya et al., 2011)



Gambar 2. 2 struktur ibuprofen

Ibuprofen mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% C13H18O2 dihitung terhadap zat anhidrat.

Berat molekul : 206,28

Pemerian : serbuk hablur, putih, hingga hampir putih, berbau khas lemah

Kelarutan : Larut dalam air, etanol dan latur dalam kloroform dan eter.

2.3 Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan yang menggunakan fase diam dalam bentuk padat dan fasa gerak dalam bentuk cair. Prinsip pemisahan pada kromatografi lapis tipis didasarkan pada variasi sifat fisik dan kimia senyawa, yang meliputi kelarutan, kecenderungan penguapan, kemampuan berikatan, dan daya rekat (Kurniawan et al., 2011).

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan yang menggunakan fase diam dalam bentuk padat dan fasa gerak dalam bentuk cair. Prinsip pemisahan pada kromatografi lapis tipis didasarkan pada variasi sifat fisik dan kimia senyawa, yang meliputi kelarutan, kecenderungan penguapan, kemampuan berikatan, dan daya rekat. Kromatografi adalah metode yang digunakan untuk membedakan antara zatfase padat dan fase gerak, sehingga memungkinkan terjadinya pemisahan kimia. Tujuan kromatografi biasanya untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam suatu campuran. Penggunaan peralatan yang relatif sederhana memungkinkan pemisahan kromatografi dengan cepat dan mudah (Emilda & Delfira, 2023).

Dalam kromatografi lapis tipis, fase diam adalah lapisan seragam pada permukaan datar yang didukung oleh pelat kaca, aluminium, atau plastik. Fase gerak dalam TLC juga disebut pelarut referensi, dan fase gerak bergerak bersama dengan fase diam. Hal ini dapat disebabkan oleh pergerakan tabung kapiler dalam flotasi mekanis (ascending) atau gravitasi pengembang saat turun (descending). Kromatografi lapis tipis adalah proses yang mudah, murah, dan mudah diterapkan (Morlock, 2021).

2.3.1 Prinsip KLT

Prinsip kromatografi adalah pemisahan senyawa kimia berdasarkan afinitasnya terhadap fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) (Bittner et al., 2016). Prinsip kerja kromatografi adalah serapan setiap senyawa yang dipisahkan berbeda-beda. Penyerapan senyawa polar oleh gel silika lebih tinggi, sehingga prosesnya lebih lambat, sedangkan senyawa nonpolar. Diserap

dengan laju yang semakin lemah. Ketika senyawa ditempatkan pada kolom yang berbeda, senyawa tersebut menciptakan pita serapan yang sesuai dengan polaritas senyawa dan keluar dari kolom dengan pelarut yang sesuai dengan sifat yang sama (Glavnik & Vovk, 2019)

2.3.2 Fase diam

Sampai saat ini, fase diam yang paling penting untuk KLT adalah silikagel, yang dibuat dengan membuat asam dari larutan natrium silika. Sifat adsorpsi silika gel adalah adanya gugus silanol yang merupakan asam lemah pada permukaannya. Silika gel dapat menambahkan tiga lapisan molekul air, dan dua lapisan teratas dapat dihilangkan secara reversibel dengan pemisahan pada suhu 110 °C, namun air dapat hilang secara permanen pada suhu di atas 200 °C. Ia kehilangan aktivitasnya ketika dipanaskan di atas 1000 °C, karena gugus silanol menghilang. Oleh karena itu, silika gel tidak boleh dipanaskan di atas 180°C (Sriphong et al., 2009).

2.3.3 Fase gerak

Fase gerak dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut yang sesuai dengan perbandingan tertentu. Pelat KLT bervolume rendah dibuat dengan menggunakan pelarut yang sama, dan percobaan pendahuluan dilakukan untuk mengoptimalkan penggunaan pelarut (Wang et al., 2021)

Fase gerak terdiri dari mesitylene yang kurang polar dan benzil alkohol polar (dicampur dengan etil asetat). Pada jarak 40 mm, gradien depan mestitil dapat diamati dengan penurunan konsentrasi benzil alkohol. Penjelasannya sederhana. Benzil alkohol meningkatkan konsentrasi relatif mesitylene dalam fase gerak. Benzil alkohol yang lebih polar akan diabsorpsi secara selektif oleh situs aktif pada lapisan silika gel. Mesityleneteradsorpsi dengan buruk pada silika gel dan oleh karena itu terakumulasi dalam fase gerak, membentuk gradien di bagian depan pelarut (Spangenberg et al., 2011). Ada beberapa petunjuk pemilihan dan mengoptimalkan fase gerak, diantaranya yaitu :

1. KLT termasuk teknik yang sensitif sehingga pada fase gerak harus mempunyai tingkat kemurnian yang tinggi2.
2. Daya elusi dari fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga nilai R_f terletak pada kisaran 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
3. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar dimana seperti silika gel polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan perpindahan solut yang berarti juga menentukan nilai R_f
4. Solut ionik dan solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya seperti campuran metanol dan air dengan perbandingan tertentu

2.4 KLT video densitometry

Video densitometri adalah metode yang mempunyai prinsip kerja dengan pemindaian optik yang berlangsung secara elektronik. Daya tarik utama untuk video densitometri untuk deteksi dalam kromatografi lapis tipis adalah akuisisi data cepat dan simultan. Keuntungan dari metode video densitometri dalam KLT yaitu dapat menghasilkan akuisisi data dengan cepat dan simultan, desain instrumen sederhana, terjadi peningkatan sensitivitas, akuisisi lebih lama dan kompatibilitas dengan analisis data (Phattanawasin et al., 2009).

Metode video densitometri merupakan metode analisis sederhana yang menggunakan gambar dari visualizer untuk diubah menjadi profil kromatogram. Namun, metode ini memiliki kelemahan utama yaitu analisis spektral setiap titik pada pelat KLT tidak dapat dilakukan. Selain itu, metode ini memerlukan perangkat lunak yang mendukung analisis gambar pelat KLT untuk diubah menjadi profil kromatogram (Ramadhani et al., 2023)

2.4.1 Bagian – bagian KLT video densitometri

Menurut (Abou-Donia et al., 2014). Pelaratan KLT video desitometri yaitu :

1. Plat KLT

Dimana plat KLT yang digunakan adalah silika gel. Silika gel perlu ditambahkan

kalsium fosfat untuk memperkuat pelapisannya pada pendukung. Sebagai pendukung biasanya lapisan tipis digunakan dengan kaca yang berukuran 20x20 cm, 10x20 cm, atau 5x10cm. Dimana pendukung yang lain berupa lembaran aluminium atau plastik yang umumnya dibuat oleh pabrik dengan ukuran yang seperti telah dijelaskan diatas. Terkadang silika gel ditambahkan senyawa fluoresensi agar apabila disinari sinar UV dapat berfluoresensi (berpendar).

2. Kamera digital

Setelah plat divisualisasikan dibawah sinar UV kemudian plat difoto menggunakan kamera digital. Dimana foto tersebut diambil dibawah sinar 254 nm dan 366 nm dengan pencahayaan lampu ultraviolet. Harus diperhatikan bahwa untuk menghasilkan kuantifikasi yang baik, plat KLT pada saat difototidak memerlukan pencahayaan yang terlalu banyak pengaturan terbaik untuk kamera dan plat yang akan difoto ditentukan oleh kontras atau cahaya pada kamera tersebut. Pembesaran pada kamera berfungsi untuk memastikan bahwa gambar dari plat sudah 80% eluen yang menarik senyawa dan mengisi sekitar 80% plat KLT.

3. Linieritas data

Untuk mendapatkan kadar dapat dihitung dari kurva yang didapatkan dari beberapa data pada setiap zat aktif dengan menggunakan imagej. Adanya penyerapan cahaya oleh analit pada plat KLT ini mengikuti hukum lambert-beer data yang diperlukan membutuhkan metode matematika untuk menghasilkan kurva standar yang diinginkan pada suatu analisis. Namun tidak mudah untuk mendapatkan kurva standar tersebut karena beberapa faktor. Dimana salah satunya perubahan piksel yang bervariasi ketika menggunakan kamera dan adanya perubahan intensitas dua kali lipat dari daerah gambar yang diperoleh setelah didapatkan data dari berbagai sampel data akan dimasukan ke Microsoft excel.

2.5 Software imagej

Software ImageJ adalah perangkat lunak analisis gambar sumber terbuka yang dikembangkan oleh National Institutes of Health (NIH) dan digunakan untuk analisis kuantitatif yang dikombinasikan dengan TLC di berbagai publikasi. Pemahaman umum tentang pemrosesan gambar adalah bahwa hal itu melibatkan

peningkatan gambar atau ekstraksi data piksel yang berharga. Hal ini memungkinkan pelat TLC mendeteksi area titik karena data piksel untuk setiap wilayah berbeda dengan

informasi di latar belakang. Pengukuran sampel yang terdeteksi dan titik standar dapat dicapai dengan memanfaatkan kepadatan terintegrasi yang dikalibrasi, yang kemudian dapat dikaitkan dengan konsentrasi API. Kepadatan terintegrasi optimal mengacu pada jumlah nilai piksel dalam satu wilayah yang diminati (ROI). Kepadatan yang digabungkan adalah luas ROI dibagi dengan nilai abu-aburata-rata, dan nilai abu-abu rata-rata semua piksel dalam pilihan samadengan jumlah setiap pilihan piksel (Sowers et al., 2022).

Untuk mengevaluasi ukuran partikel pada gambar SEM, harus digunakan Imagej dengan menyesuaikan ukuran piksel gambar dengan ukuran referensi. Biasanya, gambar SEM memperlihatkan ukuran referensi dalam bentuk garis bertingkat yang mewakili tingkat pembesaran. Proses kalibrasi melibatkan membuka gambar yang akan diperiksa dan memilih ikon garis pada toolbar untuk menggambar garis skalar sepanjang ukuran referensi. Lalu klik Analisis > Tetapkan Skala untuk mengatur skala pilihan anda. Tentukan data yang diperlukan dengan mengisi kolom dengan ukuran referensi yang Anda inginkan. Pastikan Daftar Periksa Global berisi pengaturan penyesuaian yang sama dengan yang Anda gunakan hingga Imagej selesai (Kurniawan et al., 2011)

2.5.1 Selektivitas

Selektivitas merupakan kemampuan untuk mengukur eluen secepat dan juga spesifik dengan adanya komponen-komponen lain yangterdapat pada matriks sampel contohnya seperti komponen matrik, ketidakmurnian dan produk degradasi sedangkan untuk selektivitasmerupakan suatu level yang mana suatu metode analisis dapat dikuantifikasianalit secara akurat dengan adanya penggunaan bahwa kondisi uji telah ditentukan untuk matriks sampel yang akan di analisis (Kumssa et al., 2022)

2.5.2 Linierias

Ukuran kualitas kurva kalibrasi adalah linearitas, yang mengacu pada kemampuan

suatu metode atau teknik untuk menghasilkan hasil pengujian yang berbanding lurus dengan konsentrasi analit di dalamnya. Respon (y) dan konsentrasi (x) dihubungkan melalui kurva kalibrasi. Konsentrasi yang berbeda memungkinkan penentuan linearitas dalam satu pengukuran. Untuk mencari nilai kemiringan, koefisien korelasi, dan intersep, maka data yang diperoleh harus diolah dengan menggunakan metode kuadrat terkecil (Dai et al., 2020). Sebagai parameter, adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi (R) pada regresi linier $y = bx + a$, selain itu simpangan baku residual (S_y) juga harus dihitung sebagai parameter.

2.5.3 Sensitivitas

Ada batasan pada deteksi dan kuantifikasi selama pengujian kerentanan, misalnya. Batas detektor digunakan untuk mengidentifikasi sampel mana, bahkan pada konsentrasi terendah, yang menghasilkan respons berbeda baik dari sampel yang mengandung nitrit maupun tanpa sampel. Batas kuantisasi adalah nilai terendah yang dapat diukur dalam kaitannya dengan hasil kuantitatif dengan akurasi dan presisi yang memadai (Tan et al., 2019). Dimana batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung menggunakan rumus di bawah ini :

2.5.4 Akurasi

Akurasi adalah ukuran sejauh mana hasil analisis sesuai dengan konsentrasi analit yang sebenarnya. Akurasi atau presisi adalah ukuran sejauh mana hasil analisis sesuai dengan konsentrasi analisis yang sebenarnya. Kisaran nilai perolehan kembali analit yang dapat diterima adalah 90-110%. Keadaan analit, ukuran sampel, dan kondisi laboratorium merupakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kisaran nilai.

2.5.5 Presisi

Presisi atau kelengkapan merupakan ukuran kemampuan reproduksi suatu metode analisis dari beberapa pengukuran pada sampel yang sama. Akurasi

biasanya dinyatakan sebagai koefisien variasi (KV), jika $KV <$ maka metode tersebut dikatakan sangat akurat 2% (Miniyar et al., 2019).

2.6 Sistem KLT yang digunakan pada paracetamol dan ibuprofen

Sistem KLT yang diberikan di bawah ini adalah penyaringan untuk basa nitrogen (sistem TA, TB, TC, TL, TAE, dan TAF), untuk asam dan senyawanetral (sistem TE, TF, TE, dan, TAD)

Tabel 2. 1 sistem kromatografi

Kromatografi sistem	Paracetamol	Ibuprofen
TA	33	51
TB	54	39
TC	4	20
TD	-	-
TE	17	55
TL	63	6
TP	-	-
TT	-	-
TU	-	-
TV	-	-
TAF	-	30
TAE	9	19
TAJ	-	95
TAK	1	3
TAL	30	69