

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Asam asetilsalisilat (asetosal) adalah obat yang mempunyai aktivitas farmakologik sebagai anti-inflamasi, analgesik dan anti-piretik. Asetosal disintesis pertama kali oleh Dr Felix Hoffmann tahun 1897 sudah dalam bentuk stabil dan murni di laboratorium *Farbentabrik Freidrich Bayer* di kota Elberfeld, Jerman. Dan akhirnya asetosal diproduksi secara massal oleh Bayer yang terkenal dengan *brandname*-nya adalah aspirin hingga hari ini. Nama tersebut diperoleh dari singkatan “a” untuk asetil dan “spir” untuk nama famili tanaman *Spirea* yang mengandung senyawa turunan asam salisilat (Anonim, 2008; Clarke, 2005; Matias *et al.*, 2004).

Dewasa ini, selain pada awalnya asetosal berkhasiat sebagai anti-piretik dan analgesik yang tidak perlu diragukan lagi, ternyata juga berkhasiat anti-inflamasi pada dosis yang dinaikkan. Bukti terakhir menyatakan bahwa asetosal juga dapat digunakan sebagai anti-platelet untuk mengobati penyakit jantung dan gangguan sistem pembuluh darah (Anonim 2007; Matias *et al.*, 2004; Mousa, 2004; Rainsford, 2004)

Konsumsi asetosal selalu meningkat bahkan tahun 1997 di Amerika diperkirakan mencapai 20 ribu ton setahun. Di Indonesia obat bermerek yang mengandung asam asetilsalisilat dalam bentuk sediaan tablet saja telah mencapai lebih dari 30 nama, belum lagi bentuk sediaan lainnya, dan ditambah lagi sediaan generik yang banyak beredar di pasaran. Jika dihitung, jumlah obat yang mengandung asetosal yang beredar di masyarakat sudah demikian banyaknya (hingga saat ini penulis belum menemukan data yang valid) dan hal ini memerlukan pengawasan mutu yang tidak mudah untuk dilakukan (Anonim, 2007; Matias *et al.*, 2004).

Metabolit utama dari asetosal adalah asam salisilat yang dihasilkan dari proses hidrolisis asetosal dan metabolit ini dapat ditetapkan kadarnya secara tidak langsung dengan melihat hasil kualitatifnya. Penetapan kadar asetosal dalam sediaan obat sangatlah penting untuk uji kualitas produk sebelum, selama proses produksi dan/atau setelah menjadi produk akhir, serta selama produk tersebut berada di pasaran sebelum digunakan oleh konsumen. Tak lupa juga penting untuk mengetahui kadar

metabolit asetosal dalam serum darah untuk mengatur dosis terapi (Matias et al., 2004, Rainsford, 2004).

Metode penetapan kadar asetosal telah banyak dikembangkan, diantaranya titrasi asam basa, spektrofotometri sinar ultraviolet dan tampak yang memanfaatkan reaksi Trinder yang didasari atas reaksi hidrolisis asetosal yang tahap berikutnya dalam prosedurnya tersebut akan menghasilkan senyawa yang berwarna ungu-biru kuat yang terbentuk antara asam salisilat dan besi(III). Beberapa penelitian juga telah mengembangkan metode otomatisasi metode spektrofotometri sinar tampak dengan menggunakan metode *flow injection analysis* pada tahap hidrolisisnya (Matias et al., 2004; Rainsford, 2004).

Metode spektrofotometri, inframerah, kromatografi utamanya HPLC dan GC, dan Spektrofotometri Serapan Atom pun juga telah dikembangkan dan dideskripsikan secara detail untuk menetapkan kadar asetosal dan metabolitnya, asam salisilat. Yang mungkin terbaru adalah metode immunoassay dan spektrofotometri NMR. Beberapa metode tersebut telah jarang digunakan, hal ini dimungkinkan karena tingkat kesulitan dalam pengerjaannya dan prosedur preparasi sampel yang terlalu melelahkan, beberapa metode diantaranya membutuhkan peralatan yang mahal dan tak jarang memerlukan prosedur ekstraksi (Matias et al., 2004; Rainsford, 2004).

Produk sediaan obat yang mengandung asetosal tidak terhitung lagi banyaknya yang beredar di pasaran Indonesia, yang seharusnya dalam kualitas prima hingga sampai di tangan konsumen dan siap dikonsumsi. Untuk menjaga kualitas tersebut dengan melihat jumlah sampel yang sangat besar, diperlukan pengembangan suatu metode penetapan kadar yang cepat, murah dan sederhana tanpa menggunakan alat yang rumit dan dapat memberikan hasil yang diinginkan. Namun sebagai langkah pendahuluan penulis menggunakan bantuan *TLC Scanner* dalam menganalisis bercak yang dihasilkan, Dalam hal ini, prosedur uji bercak dapat menjadi alternatif yang menjanjikan (Matias et al., 2004).

Uji kualitatif penampakan bercak didasarkan atas reaksi perubahan warna melalui reaksi kimia antara analit dan pereaksi. Perubahan warna ini terjadi secara proporsional terhadap konsentrasi dari analit sehingga metode penetapan kadar berdasar reaksi bercak dapat diajukan untuk dikembangkan. Dalam penelitian ini nantinya, beberapa konsentrasi asetosal dari beberapa sediaan obat bermerek

ditetapkan kadarnya menggunakan metode refleksi sinar kembali berdasar pada reaksi pembentukan warna ungu-biru mantap antara asam salisilat dan besi(III) (Matias *et al.*, 2004).

## B. Perumusan Masalah

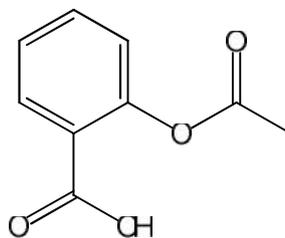
Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu: apakah metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dalam sediaan obat memanfaatkan sinar reflektan terukur dari bercak yang dihasilkan dapat memenuhi validitas suatu metode analisis?

## C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validitas metode penetapan kadar asam asetilsalisilat dalam sediaan obat memanfaatkan sinar reflektan terukur dari bercak yang dihasilkan.

## D. Tinjauan Pustaka

### a. Asam Asetilsalisilat



Gambar 1. Struktur Kimia dari Asam Asetilsalisilat (Clarke, 2005)

Asam asetilsalisilat mempunyai nama sinonim asetosal, asam salisilat asetat dan yang paling terkenal adalah aspirin (*brandname product* dari Bayer). Serbuk asam asetilsalisilat dari tidak berwarna atau kristal putih atau serbuk atau granul kristal yang berwarna putih. Asam asetilsalisilat stabil dalam udara kering tapi terdegradasi perlahan jika terkena uap air menjadi asam asetat dan asam salisilat. Nilai titik lebur dari asam asetilsalisilat adalah 135°C. Asam asetilsalisilat larut dalam air (1:300), etanol (1:5), kloroform (1:17) dan eter (1:10-15), larut dalam larutan asetat dan sitrat dan dengan adanya senyawa yang terdekomposisi, asam asetilsalisilat larut dalam larutan hidroksida dan karbonat (Clarke, 2005).

Keberadaan asam asetilsalisilat dapat dideteksi secara kualitatif melalui tes warna setelah mengalami reaksi hidrolisis terlebih dahulu, antara lain dengan menggunakan pereaksi McNally akan memberikan warna merah (Clarke, 2005), dan dengan besi(III) akan memberikan warna ungu-biru mantap (Anonim, 1991; Matias *et al.*, 2004). Asam asetilsalisilat mempunyai nilai pKa 3,5 (25°C) dan nilai logP (oktanol/dapar pH 7,4) sebesar -1,1, dengan nilai  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  dalam larutan asam adalah 466 (230 nm), 68 (278 nm), sedangkan dalam larutan basa adalah 409 (231 nm), dan 190 (298 nm) (Clarke, 2005).

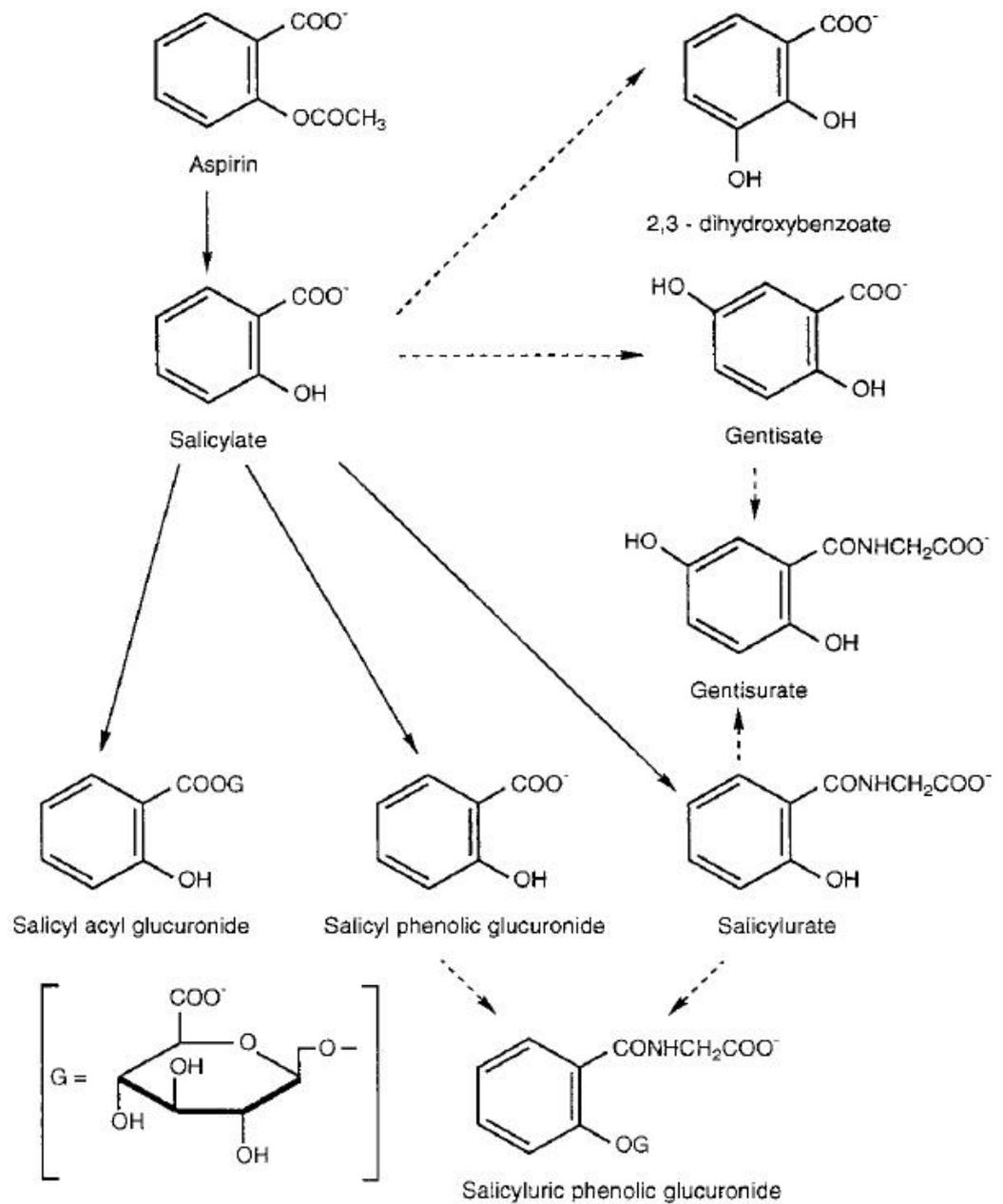
Kilas balik sejarah dari asam asetilsalisilat dapat ditelusuri dari berbagai pustaka baik dalam bentuk buku, jurnal atau pun artikel *online*. Dimulai dari seorang ahli kimia Perancis, Charles Frederich von Gerhardt telah menggunakan reaksi asetilasi dan menghasilkan asam asetilsalisilat tahun 1853 dari reaksi antara natrium salisilat dengan asetil klorida, tetapi ditemukan oleh Kraut bahwa produk hasil tidak murni dan ditemukan pula reaksi hidrolisis alkalin dari asam asetilsalisilat menjadi asam asetat dan asam salisilat (Rainsford, 2004)

Akhirnya dalam pencariannya untuk anti-reumatik yang efektif dan lebih baik tingkat toleransinya untuk ayahnya, Dr. Felix Hoffmann berhasil mensintesis asam asetilsalisilat, kandungan aktif dari Aspirin, yang murni dan stabil untuk pertama kalinya melalui reaksi asetilasi fenol (Anonim, 2008; Rainsford, 2004).

Asam asetilsalisilat dalam bentuk tak terionnya cukup dapat larut dalam lemak dengan nilai LogP antara oktanol dan air adalah 1,19, dimana asam salisilat lebih larut dalam lemak dengan nilai LogP sebesar 2,26 sehingga keduanya mudah terabsorpsi dalam lambung jika dalam bentuk terionnya. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan nilai pH lambung yang memberikan kesempatan mukosa lambung menyerap bentuk tak terionnya asam asetilsalisilat. Kesulitan absorpsi dalam lambung menyebabkan segera seluruh asam asetilsalisilat ditransfer ke dalam usus halus dan dengan cepatnya asam asetilsalisilat akan terabsorpsi (Rainsford, 2004).

Metabolit utama asam asetilsalisilat dalam tubuh adalah asam salisilat setelah melalui proses eliminasi-hidrolisis (Gambar 2). Dikarenakan reaksi hidrolisisnya yang cepat, hanya sedikit saja asam asetilsalisilat yang diekskresikan tidak berubah dalam urin dan secara esensinya, seluruh asam asetilsalisilat tereliminasi menjadi asam salisilat dalam urin dan beberapa metabolit lainnya (Rainsford, 2004).

Beberapa metode penetapan kadar dari asam asetilsalisilat dan metabolitnya asam salisilat dapat dilihat pada **Tabel 1**.



Gambar 2. Jalur metabolisme asam asetilsalisilat dan asam salisilat (Rainsford, 2004)

Tabel 1. Penetapan kadar asetosal dan asam salisilat untuk penelitian dan klinik (Rainsford, 2004)

Metode Analisis	Senyawa	Untuk/Sampel	Batas minimal penetapan kadar
Kolorimetri – Fe(III)	Salisilat	Klinik/Plasma	50 mg/L
Fluoroscene	Salisilat		1 mg/L
HPLC	Salisilat		50 µg/L
	Metabolit	Urin	2 mg/L
GC	Asetosal	Penelitian/Plasma	10 µg/L

Asam asetilsalisilat menurut Farmakope Indonesia edisi IV (1995) ditetapkan kadarnya menggunakan metode HPLC dengan ketentuan: fase gerak yang digunakan adalah larutan 2 gram natrium 1-heptanasulfonat P dalam campuran 850 mL air dan 150 mL asetonitril P yang ditambahkan asam asetat glacial P hingga pH 3,4; dan fase diam adalah kolom dengan bahan pengisi L1 yang berukuran 4,0 mm x 30 cm dengan laju alir 2 mL per menit dan panjang gelombang detector UV pada 280 nm. Larutan baku disiapkan dengan cara timbang seksama sejumlah asam asetilsalisilat BPI dan larutkan dalam larutan pengencer (asetonitril P : asam format P dengan perbandingan 99 : 1) hingga kadar lebih kurang 0,5 mg/mL. Larutan uji disiapkan dengan cara timbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Timbang seksama sejumlah serbuk setara dengan lebih kurang 100 mg asam asetilsalisilat, masukkan ke dalam wadah yang sesuai. Tambahkan 20,0 mL larutan pengencer dan lebih kurang 10 manik kaca, kocok kuat-kuat selama lebih kurang 10 menit dan sentrifuse (larutan persediaan). Ukur seksama sejumlah volume larutan persediaan, encerkan secara kuantitatif dalam 9 volume larutan pengencer. Prosedur pengerjaannya adalah suntikkan secara terpisah masing-masing lebih kurang 1,0 µL larutan baku dan larutan uji ke dalam alat dan ukur respon puncak utama. Hitung jumlah dalam mg, asam asetilsalisilat,  $C_9H_8O_4$ , dalam bagian tablet yang digunakan dengan rumus:

$$200 C \times (r_u/r_s)$$

Dimana C adalah kadar asam asetilsalisilat BPI dalam mg per mL larutan baku;  $r_u$  dan  $r_s$  berturut-turut adalah respon puncak dari larutan uji dan larutan baku (Anonim, 1995).

Penetapan kadar asam asetilsalisilat menggunakan metode kolorimetri dengan asumsi semua asam asetilsalisilat telah terhidrolisis sempurna sehingga prosedur yang digunakan sama dengan prosedur untuk penetapan kadar asam salisilat secara kolorimetri mengikuti langkah berikut:

Pembuatan kurva baku, sejumlah 200 mg asam salisilat baku dipanaskan selama 1 jam pada suhu 100°C, kemudian ditimbang dan dilarutkan dalam 15 mL etanol dan diencerkan dengan air hingga 1 L. Secara kuantitatif diambil sejumlah 5, 10, 15, 20, dan 25 mL masing-masing dimasukkan dalam labu takar 100 mL, kemudian ditambahkan besi(III) nitrat 1% dalam larutan asam nitrat 1%. Larutan kemudian diencerkan hingga tanda dengan air dan pH larutan dijaga antara 5-6. Larutan ini masing-masing diukur dengan spektrometri pada 525 nm. Hasil yang diperoleh dibuat dalam grafik kurva baku antara konsentrasi larutan baku dan absorbansi yang diperoleh (Higuchi dan Hanssen, 1961).

Prosedur penetapan kadar, sampel yang telah diserbukkan pada metode HPLC sebelumnya ditimbang sejumlah tertentu setara dengan 200 mg asam salisilat kemudian dihidrolisis dengan 15 mL NaOH 0,5M menggunakan pemanasan perlahan sehingga reaksi sempurna dan pH larutan dibuat hingga 5 – 6 dengan asam nitrat 0,1M. Larutan ini diencerkan dengan air hingga 1 L dan jika perlu dilakukan penyaringan dimana 50 mL filtrat yang pertama dibuang. Secara kuantitatif ambil sejumlah 25 mL dan dimasukkan dalam labu takar 100 mL, tambahkan 5 mL besi(III) nitrat 1%. Larutan kemudian diencerkan dengan air hingga tanda dan diukur dengan spectrometer pada 525 nm, kemudian hasil yang diperoleh diplotkan pada kurva baku sehingga diperoleh kadar yang sebenarnya dari sampel (modifikasi dari Higuchi dan Hanssen, 1961).

#### b. Analisis Uji Bercak

Uji bercak (*spot test*) telah lama dikenal di kalangan ilmuwan kimia. Namun penggunaan uji bercak sebagai metode penetapan kadar rupanya baru dikenalkan pertama kali oleh Winslow dan Liebhafsky (1949) setelah 10 tahun lamanya mereka bergelut dalam pertanyaan: dapatkah hasil uji bercak diukur dengan menggunakan spektrometer tanpa mengabaikan hukum Lambert-Beer yang digunakan pada uji bercak ion tembaga dengan  $\alpha$ -benzoin oxime dan identifikasi perak melalui proses dekomposisi menjadi ion perak. Hasil yang diperoleh sangat menjanjikan dan ternyata metode ini

dapat digunakan untuk penetapan kadar secara kuantitatif memanfaatkan sinar reflektan dan sinar transmisi terhadap bercak yang dihasilkan pada uji bercak (Winslow dan Liebhafsky, 1949).

Kemudian pengembangan metode analisis kuantitatif menggunakan uji bercak terus dilakukan, tahun 1954, McCready dan McComb melakukan uji kuantitatif gula pada kertas kromatogram memanfaatkan bercak yang dihasilkan yang kemudian diukur sinar yang terrefleksikan kembali sehingga dikenal sebagai metode sinar reflektan pada bercak (McCready dan McComb, 1954). Disusul oleh Feigl (1955) yang melakukan uji bercak secara kuantitatif terhadap beberapa senyawa organik diantaranya adalah fenol, turunan asil-amina aromatic, arilurethane, monoarilurea, dan penggunaan asam sulfonat dan iodine sebagai pereaksi uji bercak (Feigl, 1955).

Perkembangan metode ini semakin menjanjikan dengan banyaknya penelitian yang dilakukan diantaranya adalah analisis kuantitatif menggunakan uji bercak pada glisin dengan piridin dan p-nitrobenzoil klorida (Umberger dan Fiorese, 1963), hidrolisis eskulin (Edberg *et al.*, 1976), *Stannous* pada sediaan radiofarmasi (Zimmer dan Spies, 1981), karbohidrat-enzim pemisah dalam meconium (Hsieh, 1981), Kation dalam air (Ghauch *et al.*, 2000), dipiron dalam sediaan farmasi (Pezza *et al.*, 2000), Merkuri (Götzl dan Riepe, 2001), *Lithium-intercalated carbons* (Xie dan Lu, 2001), kontaminasi logam dalam tanah setelah pertambangan (Kemper dan Sommer, 2002), Timbal (Zaporozhets dan Tsyukalo, 2002), besi(III) dengan *hand-scanner* (Zareh *et al.*, 2002), Sianida (Favero dan Tubino, 2003), Furosemide (Gotardo *et al.*, 2004), Kalium dalam serum darah (Tubino *et al.*, 2004), Metildopa (Ribeiro *et al.*, 2006), Diklofenak (Tubino dan Souza, 2006), dan Tioketon (Ferreira *et al.*, 2007).