

Sintesis Sorbent Ekstraksi Fase Padat dengan Teknik Molecular Imprinting dengan Monomer Akrilamid untuk Ekstraksi Glibenklamid dari Serum Darah

Aliya Nur Hasanah^{1,2}, Rahmana Emran Kartasasmitha¹, dan Slamet Ibrahim¹

ABSTRACT: Glibenclamide is a drugs that has been used for treatment of diabetes mellitus for a long period. Glibenclamide separation efficiency is required for monitoring drug levels in the blood to ensure the effectivity of the drug. This research is conducted to have molecular imprinted solid phase extraction (MI-SPE) for separation of glibenclamide from serum samples by following stages, synthesis with non covalent molecular imprinting technique, characterization of the resulting MISPE and application of the MISPE on serum samples. MI-SPE synthesis was performed using a different ratio of template:monomer:cross-linker in chloroform as a porogen. Results showed that the adsorption of MI-SPE made with ratio 1:6:70 gives 88,47% and 54,33% for molecular imprinted polymer and non imprinted one respectively. Solid phase extraction of the Molecular Imprinted Polymer (MIP) was done on 200 mg of MIP in 3mL SPE cartridge. Serum sample which was spiked with glibenclamide gives recovery of 89,67; 93,75; 92,64 and 82,82% for concentration 0,5; 2; 4 and 6 mg L-1 respectively. The results showed that MI-SPE made from acrylamide monomer with composition of 1:6:70 can be use as pretreatment for extraction of glibenclamide from blood serum.

Keywords: Glibenclamide, solid phase extraction, molecular imprinting polymer, acrylamide, sulfonylurea

ABSTRAK: Glibenklamid merupakan obat yang digunakan dalam penanganan diabetes melitus dan digunakan dalam jangka waktu yang panjang. Efisiensi pemisahan glibenklamid dibutuhkan untuk monitoring kadar obat dalam darah dalam upaya memastikan efektivitas obat. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh sorben *Molecular Imprinted Solid Phase Extraction* (MI-SPE) untuk pemisahan glibenklamid dari sampel serum. Penelitian dilakukan dengan tahapan sintesis metode polimerisasi ruang, karakterisasi MI-SPE yang dihasilkan dan aplikasinya pada sampel serum. Sintesis MI-SPE dilakukan menggunakan dua komposisi rasio template:monomer:cross linker dalam kloroform sebagai porogen. Hasil pengujian menunjukkan bahwa adsorpsi MI-SPE dengan rasio 1:6:70 menghasilkan persentase adsorpsi 88,47% pada Molecular Imprinted Polymer (MIP) dan 54,33% terhadap Non Imprinted Polymer (NIP). Aplikasi sorben MIP dalam ekstraksi fase padat dilakukan menggunakan 200 mg polimer pada cartridge 3 mL. Sampel serum yang ditambahkan glibenklamid kemudian dilewatkan ke dalam MIP menghasilkan nilai persen perolehan kembali sebesar 89,67; 93,75; 92,64 dan 82,82% untuk konsentrasi 0,5; 2; 4 dan 6 mg L-1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MI-SPE yang dibuat dari monomer akrilamid dengan komposisi 1:6:70 dapat digunakan sebagai *pretreatment* untuk ekstraksi glibenklamid dari serum darah.

Kata kunci: Glibenklamid, solid phase extraction, molecular imprinting polymer, akrilamid, sulfonilurea

¹ School of Pharmacy, Bandung Institute of Technology
² Pharmaceutical Analysis and Medicinal Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran

Korespondensi:
Aliya Nur Hasanah
Email: aliya_nh@yahoo.com

PENDAHULUAN

Glibenklamid atau juga dikenal dengan nama gliburid merupakan obat antidiabetes oral yang termasuk golongan sulfonilurea generasi kedua. Glibenklamid bekerja dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel β pankreas dan meningkatkan sensitivitas jaringan perifer terhadap insulin (1,2). Glibenklamid lebih poten dibandingkan dengan obat-obat sulfonilurea generasi pertama dan merupakan obat yang menjadi pilihan untuk pengobatan diabetes melitus tidak tergantung insulin pada saat diet tidak berhasil. Metode analisis yang umum digunakan untuk analisis glibenklamid adalah dengan HPLC, dengan detektor UV atau massa, kromatografi gas dan MEKC menggunakan surfaktan non ionik (3,4,5,6,7). Semua metode tersebut membutuhkan ekstraksi cair-cair sebagai metode ekstraksi glibenklamid dari sampel darah sebelum kemudian dianalisis. Ekstraksi cair-cair merupakan proses yang memakan waktu serta dapat berakibat buruk pada lingkungan akibat banyaknya penggunaan pelarut [8,9]. Ekstraksi Fase Padat (*Solid Phase Extraction/SPE*) merupakan metode preparasi sampel yang banyak digunakan dalam proses analisis karena mampu mengurangi waktu ekstraksi dan jumlah pelarut, serta memiliki persen *recovery* yang tinggi (10). SPE konvensional yang saat ini beredar, memiliki kelemahan dari sisi selektivitas sehingga terdapat kemungkinan komponen lain selain analit ikut terekstraksi dari matriks sampel (11). Peningkatan selektivitas dari SPE konvensional dapat dilakukan dengan menggunakan teknik *Molecular Imprinting Polymer* yang dikenal dengan *Molecular Imprinted Solid Phase Extraction* (MISPE) (12). MIPs (*Molecular Imprinted Polymers*) adalah polimer sintesis yang diperoleh melalui kopolimerisasi monomer dan pengikat silang (*cross-linker*), dengan adanya cetakan molekul (*template*) (8). Setelah proses polimerisasi dan ekstraksi *template*, dihasilkan suatu rongga (*cavities*) yang memiliki ukuran, bentuk, fungsi kimia dan konformasi yang sesuai dengan *template* (13). Keunggulan MISPE terletak

pada kemampuannya yang selektif mengisolasi senyawa spesifik atau analog strukturalnya dari matriks yang kompleks (12). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi selektivitas sorben MIP, salah satunya adalah jenis dan jumlah agen pengikat silang (*cross-linking agent*) yang digunakan pada proses polimerisasi. *Cross-linker* berperan dalam mengontrol morfologi matriks polimer, menstabilkan situs ikatan dan menjaga kestabilan mekanik (13). Kesesuaian jumlah *cross-linker* sangat diperlukan untuk menjaga stabilitas dari rongga dan matriks polimer (13). Derajat *crosslinking* yang terlalu tinggi, dapat menyebabkan kapasitas dari polimer menurun dan difusi substrat ke dalam situs pengenalan terganggu selama proses *rebinding*. Sementara itu, apabila derajat *crosslinking* terlalu rendah, maka spesifisitas ikatan dari MIP dapat menurun (14). Oleh karena itu, sintesis polimer pada penelitian ini dilakukan menggunakan dua konsentrasi *cross-linker* yang berbeda untuk melihat komposisi yang dapat menghasilkan pengikatan terbaik untuk kemudian digunakan dalam ekstraksi glibenklamid dari serum darah.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 2-2-Azobis-isobutyro-nitrile (AIBN) (Aldrich), ammonia (Merck), akrilamid (Fluka), asam asetat (Merck), asam trifluoroasetat (TFA) pro HPLC (Merck), asetonitril pro HPLC (JT Baker), dimetakrilat etilenglikol (EGDMA) (Aldrich), glibenklamid (USV), kalium bromida (Pike Technologies), kloroform (Merck), dan metanol pro HPLC (JT Baker). Semua bahan yang digunakan kecuali dikatakan lain adalah p.a. (pro analytic).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah agitator mekanik (IKA HS 260 Basic), ayakan mesh 60, *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Shimadzu, IR Prestige-21), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Waters 1525 binary HPLC pump dengan detektor *photodiode array* 2998 dan kolom C18

Sunfire 4.6 x 150 mm), oven (*Haraeus*), spektrofotometer UV-Vis (Analytik jena, specord 200), timbangan digital (Mettler Toledo), ultrasonik (NEY 1510), *waterbath* (Memmert) dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Cara kerja

Sintesis Polimer MIP-SPE dengan Metode Polimerisasi Ruah

Glibenklamid (*template*) dan monomer akrilamid dilarutkan dalam pelarut kloroform dalam tabung reaksi tertutup dan disonikasi selama 5 menit. EGDMA dalam dua perbandingan sebagai *cross-linker* dan 0,08 mmol AIBN sebagai inisiator ditambahkan ke dalam campuran larutan. Campuran tersebut disonikasi selama 40 menit untuk menghilangkan oksigen. Selanjutnya tabung reaksi berisi campuran ini ditempatkan dalam *waterbath* bersuhu 60°C selama 18 jam. Polimer yang terbentuk dihancurkan, lalu diayak dengan mesh 60 dan dicuci menggunakan metanol-asam asetat (9: 1), metanol, dan air. Setelah dicuci, polimer dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 18 jam. Dalam rangka memverifikasi retensi dari MIP yang dihasilkan, dibuat juga *Non Imprinted Polymer* (NIP) dengan cara yang sama dengan MIP tetapi tanpa penambahan *template*. Perbandingan rasio *template* : monomer : *cross-linker* dapat dilihat pada Tabel 1.

Ekstraksi *template* Glibenklamid dari MIP-SPE

Ekstraksi *template* glibenklamid dari MIP-SPE dilakukan dengan menggunakan alat soxhlet dan

ultrasonikasi. Sorben MIP-SPE disiapkan dalam *cellulose extraction thimble* dan dimasukkan ke dalam tabung soxhlet. Pelarut dituangkan ke dalam labu alas bulat sampai kurang lebih 1/2-2/3 bagian volume labu. Alat soxhlet dipasang sesuai tempatnya dan *heating mantle* dinyalakan. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali dengan pola pergantian pelarut yaitu kloroform, metanol:asam asetat (9 : 1), dan kloroform. Ekstraksi dilakukan selama 24 jam untuk masing-masing pelarut. Prosedur diulangi hingga hasil pencucian sorben MIP-SPE tidak mengandung *template* pada saat dimonitor menggunakan spektrofotometer UV Visibel dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Evaluasi Kemampuan Adsorpsi MIP-SPE

Evaluasi kemampuan adsorpsi MIP-SPE menggunakan metode *batch* dilakukan dalam pelarut metanol, metanol pH 4, asetonitril, asetonitril pH 4 dan kloroform. pH asam dibuat dengan penambahan asam asetat. Sebanyak 5 mL larutan glibenklamid dimasukkan ke dalam vial yang berisi 20 mg sorben MIP, kemudian dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 3 jam pada suhu ruang. Setelah itu campuran disaring dan filtrat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV. Jumlah glibenklamid yang teradsorpsi dihitung berdasarkan selisih antara konsentrasi glibenklamid awal dan konsentrasi glibenklamid bebas di dalam filtrat. Untuk sorben NIP dilakukan dengan cara yang sama.

Tabel 1 Perbandingan rasio *template* : monomer : *cross-linker* pada sintesis polimer MIP dan NIP

Polimer (<i>template</i> : monomer: <i>cross-linker</i>)	Glibenklamid (<i>template</i>)	Monomer Akrilamid	EGDMA (<i>cross-linker</i>)
MIP 1 (1: 6: 40)	0.25 mmol	1.5 mmol	10.0 mmol
NIP 1 (0: 6: 40)	-	1.5 mmol	10.0 mmol
MIP 2 (1: 6: 70)	0.25 mmol	1.5 mmol	17.5 mmol
NIP 2 (0: 6: 70)	-	1.5 mmol	17.5 mmol
MIP 3 (1:6:60)	0.25 mmol	1.5 mmol	15 mmol
NIP 3 (0:6:60)	-	1.5 mmol	15 mmol

Evaluasi kapasitas adsorpsi MIP-SPE dan penentuan nilai imprinting

Evaluasi kapasitas adsorpsi dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi larutan glibenklamid yaitu 0; 0,05; 0,1; 0,5; 1; dan 2 mg L⁻¹. Sebanyak 1,5 mL larutan glibenklamid dalam asetonitril pH 4 dimasukkan ke dalam vial yang berisi 10 mg sorben MIP, lalu disimpan selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, campuran disaring dan filtrat diukur absorbansinya menggunakan KCKT dengan fase gerak asetonitril : TFA 0,01% (50:50). Untuk sorben NIP dilakukan dengan cara yang sama. Hasil evaluasi kapasitas adsorpsi MIP-SPE ini diplot pada kurva adsorpsi isotherm Langmuir.

Penerapan MI-SPE untuk pemisahan glibenklamid dari sampel serum

1 mL serum ditambahkan dengan larutan analit (glibenklamid) kemudian dilewatkan ke dalam MI-SPE yang telah dibuat dan telah dikondisikan. Elusi analit dilakukan dengan *elution solvent* yang telah diperoleh sebelumnya. Kadar analit ditentukan secara KCKT. Nilai % perolehan kembali (% *recovery*) dihitung dengan persamaan :

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{luas area eluat}}{\text{luas area standar}} \times 100\%$$

Karakterisasi Fisik MIPs

Karakterisasi secara fisik dari MIPs yang dihasilkan dilakukan melalui penentuan gugus fungsi dengan menggunakan Spektrofotometer Infra Merah (FTIR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis polimer MIP-SPE dengan metode polimerisasi ruah

Sintesis polimer MI-SPE glibenklamid dilakukan dengan polimerisasi ruah. Metode ini merupakan metode yang banyak digunakan dalam sintesis MI-SPE karena cepat, sederhana, serta tidak membutuhkan keahlian khusus atau instrumen canggih dalam pembuatannya (12). Pem-

bentukan MIP pada penelitian ini melibatkan kopolimerisasi monomer akrilamid dan *cross-linker* EGDMA, dengan adanya cetakan molekul *template* glibenklamid. Interaksi yang diharapkan terbentuk pada sisi pengikatan MIP selama proses sintesis adalah interaksi non-kovalen. Hal ini dikarenakan proses ekstraksi *template* pada interaksi non-kovalen lebih sederhana dibandingkan dengan interaksi kovalen yang cenderung lebih kuat, sehingga dihasilkan sisi pengikatan dalam jumlah besar dan memiliki afinitas tinggi (14). Perbandingan rasio *template* : monomer : *cross-linker* yang digunakan pada sintesis sorben MIP adalah 1:6:40, 1:6:60 dan 1:6:70. Jumlah *cross-linker* dibuat bervariasi untuk mengetahui pengaruh jumlah *cross-linker* terhadap selektivitas MIP-SPE glibenklamid yang dihasilkan. Selain itu, disintesis pula NIP dengan cara yang sama dengan MIP tetapi tanpa penambahan *template*. NIP dibuat untuk memverifikasi retensi yang dihasilkan oleh MIP. Proses polimerisasi dilakukan dengan metode termolisis yaitu dengan menempatkan tabung di dalam *waterbath* bersuhu 60°C selama 18 jam. Suhu 60°C ini dipilih karena insiator AIBN terdekomposisi pada suhu tersebut (14). Akrilamid dipilih sebagai monomer fungsional karena memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen dengan *template* glibenklamid. Akrilamid memiliki gugus amino (NH₂) yang dapat berikatan dengan gugus karbonil (C=O) pada glibenklamid, begitu pula sebaliknya. Gugus amino berperan sebagai donor ikatan hidrogen, sedangkan atom oksigen pada gugus karbonil berperan sebagai akseptor ikatan hidrogen (15). Pelarut yang digunakan pada proses sintesis harus mampu menyatukan seluruh komponen dalam satu fase polimerisasi. Kloroform dipilih karena dapat melarutkan glibenklamid maupun akrilamid. Selain itu, kloroform mampu meningkatkan pembentukan interaksi non-kovalen seperti ikatan hidrogen antara *template* dan sorben MIP saat pembentukan kompleks, serta mengeliminasi interaksi hidrofobik non spesifik lainnya (14).

Ekstraksi *template* glibenklamid dari MIP

Ekstraksi bertujuan untuk menghilangkan *template* glibenklamid dari matriks polimer MIP, sehingga terbentuk suatu rongga tiga dimensi yang mampu mengikat kembali molekul *template* atau analog strukturalnya secara spesifik. Ekstraksi menggunakan alat soxhlet dipilih karena memberikan berbagai keuntungan antara lain adanya kontak berulang antara polimer MIP dengan pelarut yang selalu baru, pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit, tidak dibutuhkan filtrasi setelah proses ekstraksi serta cukup sederhana (16). Prosedur ini diulang kembali hingga filtrat hasil pencucian polimer tidak mengandung glibenklamid saat dimonitoring dengan spektrofotometer UV dan KCKT. Hasil ekstraksi *template* menggunakan spektrofotometer UV dan KCKT dapat dilihat pada Tabel 2.

Evaluasi Kemampuan Adsorpsi

Dalam rangka mengevaluasi kemampuan adsorpsi sorben MIP dan NIP terhadap glibenklamid serta untuk menentukan kondisi pelarut dan pH yang optimum bagi proses adsorpsi, larutan standar glibenklamid dilarutkan dalam berbagai pelarut berbeda yaitu metanol, metanol pH 4, asetonitril, asetonitril pH 4 dan kloroform. pH asam dibuat dengan penambahan asam asetat. Berdasarkan hasil kemampuan adsorpsi pada

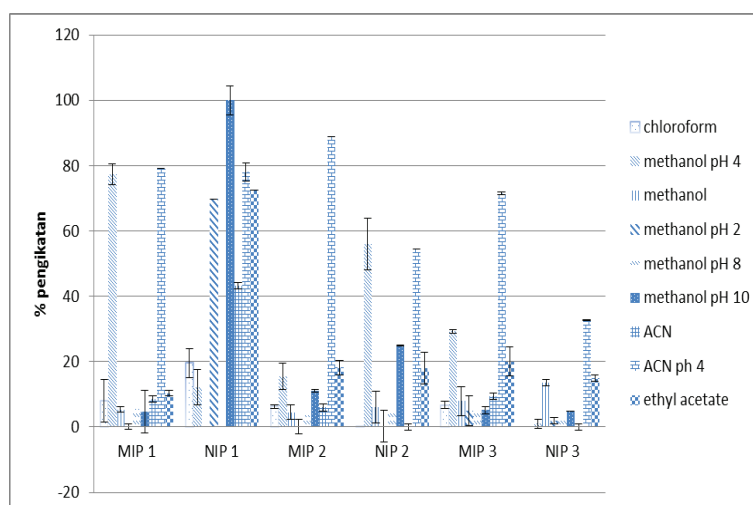
Tabel 2. Hasil Ekstraksi Template Glibenklamid pada MIP Menggunakan Spektrofotometer UV Visibel dan KCKT

Zat	Absorbansi (242nm)	Waktu retensi (menit)
Glibenklamid	+	4,3
MIP 1	-	-
MIP 2	-	-
MIP 3	-	-

Keterangan: (+) ada puncak serapan
(-) tidak ada puncak serapan

Gambar 1 diketahui bahwa kemampuan adsorpsi sorben terhadap glibenklamid menunjukkan persen adsorpsi yang paling baik pada asetonitril pH 4, dimana sorben MIP 2 menunjukkan persen adsorpsi yang lebih baik dibandingkan sorben MIP 1. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Tamayo *et al.* (17) yang menyatakan bahwa kondisi optimum untuk proses pengikatan kembali *template* adalah dalam pelarut yang sama dengan sintesis polimer MIP.

Pada penelitian ini, profil adsorpsi glibenklamid dalam pelarut kloroform justru menunjukkan persentase adsorpsi yang rendah. Fenomena ini dapat terjadi karena kemampuan *swelling* sorben MIP yang lebih baik pada pelarut asetonitril yang menyebabkan kemampuannya dalam menyerap



Gambar 1. Hasil Penentuan Kemampuan Adsorpsi

glibenklamid lebih baik. Hal ini didukung oleh penelitian Lahsini *et.al.* (18) yang melaporkan bahwa adsorpsi glibenklamid pada sorben MIP yang dibuat dari monomer 4-vinilpiridin dan pelarut kloroform justru menunjukkan persen adsorpsi yang optimum pada pelarut asetonitril. Kondisi pH optimum bagi adsorpsi glibenklamid adalah pada pH 4, didasarkan pada kemampuan ionisasi glibenklamid. Glibenklamid adalah asam lemah yang memiliki pKa 5.3 (19). Oleh karena itu peningkatan nilai pH akan meningkatkan kemampuan ionisasi glibenklamid, sehingga semakin kecil bentuk tak terionisasinya. Hal ini menyebabkan semakin kecil kemungkinan interaksi antara glibenklamid dengan situs pengikatan pada sorben MIP, yang menyebabkan efisiensi adsorpsi dari glibenklamid menurun seiring dengan peningkatan pH. Hal ini sesuai dengan penelitian Dai *et al.* (20), yang melaporkan adanya penurunan persen adsorpsi senyawa asam klofibrat (pKa= 3.18) pada kondisi basa kuat akibat sifat ionisasi senyawa tersebut.

Evaluasi Kapasitas Adsorpsi MI-SPE dan penentuan nilai imprinting

Penentuan kapasitas adsorpsi dilakukan untuk mengetahui jumlah sisi ikatan (N) yang mungkin mengikat analit, semakin besar nilai N maka MI-SPE semakin baik. Penentuan kapasitas adsorpsi hanya dilakukan pada MIP 2 dengan komposisi 1:6:70 dengan kemampuan adsorpsi paling besar dibandingkan MIP 1 dan MIP 3. Berdasarkan Tabel 3 diperoleh hasil bahwa nilai N dari MIP 2 adalah 5,06 mg/g sedangkan nilai N dari NIP 2 adalah 3,15 mg/g. Nilai imprinting (β) memperlihatkan apakah *template* tercetak dengan baik pada polimer MIPs yang dibuat sehingga mampu membedakan dengan NIPs pada saat proses pengikatan kembali (21). Nilai *imprinting* dihitung dari rasio antara kapasitas adsorpsi MIPs terhadap kapasitas adsorpsi NIPs (21). Berdasarkan perhitungan nilai imprinting dari nilai kapasitas adsorpsi pada Tabel 3 diperoleh nilai

Tabel 3. Konstanta afinitas (K_a) dan Jumlah sisi ikatan (N) berdasarkan model pengikatan Langmuir (*Hasil Batch Rebinding*)

MI-SPE 2		NI-SPE 2	
K_a (L mol ⁻¹)	N (mg g ⁻¹)	K_a (L mol ⁻¹)	N (mg g ⁻¹)
4.8 x 10 ²	5,06	5.2 x 10 ²	3,15

imprinting MIP 2 terhadap NIP 2 sebesar 1,603. Nilai 1,603 memperlihatkan bahwa *template* tercetak dengan baik dalam polimer tetapi belum cukup baik.

Penerapan MI-SPE untuk Pemisahan Glibenklamid dari Sampel Serum Darah

Dalam upaya mengevaluasi kemampuan MI-SPE yang dibuat untuk pemisahan glibenklamid, sampel serum darah murni di-*spike* dengan glibenklamid standar berbagai konsentrasi menggunakan prosedur yang telah dioptimasi. Akurasi dari MI-SPE yang dibuat ditentukan dengan metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau cara *absolute*. Pada metode ini, sejumlah analit bahan murni (senyawa pembanding kimia) ditambahkan ke dalam sampel blangko, lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya) (22). Serum darah yang telah di-*spike* kemudian dilewatkan ke dalam *cartridge* MI-SPE yang telah dibuat dan dihitung nilai % perolehan kembali analit. Hasilnya dibandingkan dengan NI-SPE. Aplikasi pemisahan sampel serum menggunakan MI-SPE 2 pada konsentrasi 0,5; 2; 4 dan 6 mg L⁻¹, diperoleh hasil % *recovery* masing-masing adalah 89,67; 93,75; 92,64 dan 82,82%. Serum yang di-*spike* dengan glibenklamid pada konsentrasi 0,5; 2; 4 dan 6 mg L⁻¹ menggunakan NI-SPE 2 memberikan hasil % *recovery* masing-masing sebesar 63; 55,42; 49,77 dan 54,35%. Berdasarkan hasil perhitungan nilai persen perolehan kembali, diketahui bahwa nilai persen perolehan kembali ini memenuhi persyaratan untuk perolehan kem-

bali analit dari sampel biologis sebesar 80-120% (22). Linieritas yang dihasilkan oleh sampel serum yang dipreparasi dengan MI-SPE 2 memiliki nilai koefisien korelasi 0,9755 sedangkan NI-SPE 5 adalah 0,8294. Hasil penentuan dapat dilihat pada Gambar 2.

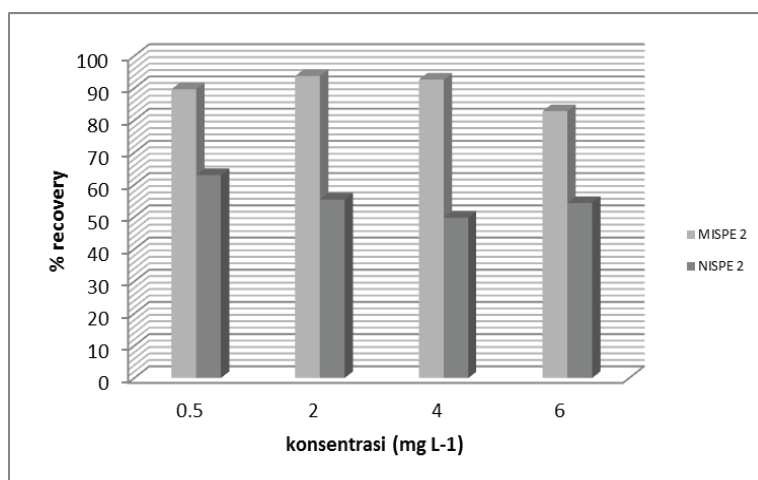
Karakterisasi fisik MIPs

Spektroskopi FTIR adalah metode yang sesuai digunakan untuk menentukan gugus fungsi dan jenis ikatan (23). Karakterisasi fisik dengan menggunakan FTIR dilakukan pada sorben MIP 2 dan NIP 2. Hasil analisis dengan FTIR pada Tabel 4 menunjukkan adanya pergeseran bilangan gelombang pada MIP sebelum dan sesudah ekstraksi. Pada sorben MIP 2 sebelum ekstraksi, gugus N-H dan C=O berada pada bilangan gelombang

3566.89 cm^{-1} dan 1733.54 cm^{-1} dan sesudah ekstraksi pada 3622.47 cm^{-1} dan 1743.72 cm^{-1} . Hal ini menandakan terjadinya interaksi ikatan hidrogen antara *template* dan monomer. Adanya ikatan hidrogen antara glibenklamid dan akrilamid menyebabkan terjadinya penurunan densitas elektron pada NH dan C=O, sehingga terjadi reduksi frekuensi vibrasi (24,25).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa variasi jumlah *cross-linker* berpengaruh terhadap selektivitas sorben MIP-SPE glibenklamid. Peningkatan konsentrasi *cross-linker* menyebabkan peningkatan



Gambar 2. Hasil Penentuan % Recovery Sampel Serum Darah yang ditreatment dengan MI-SPE 2 dan NI-SPE 2

Tabel 4. Hasil Analisis FTIR Sorben MIP 2 dan NIP 2

Bilangan Gelombang (cm^{-1})			Gugus Fungsi
Sorben MIP 2 sebelum ekstraksi	Sorben MIP 2 sesudah ekstraksi	Sorben NIP 2	
3566.89	3622.47	3641,83	- NH <i>Stretching</i>
2992.10	2988.83	3002,71	C-H <i>stretching</i>
1733.54	1743.72	1728.72	C=O <i>stretching</i>
1456.75	1463.07	1456.27	CH ₂ <i>bending</i>
1157.30	1157.34	1160.19	C-O <i>stretching</i>

kemampuan adsorpsi dan selektivitas sorben MIP-SPE. MI-SPE yang dibuat dari monomer akrilamid dengan komposisi 1:6:70 memberikan persen pengikatan terbaik dan dapat digunakan sebagai *pretreatment* untuk ekstraksi glibenklamid dari serum darah dengan nilai persen perolehan kembali yang memenuhi persyaratan pada konsentrasi 0,5; 2; 4 dan 6 mg L⁻¹.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan pengkajian lebih lanjut terhadap aplikasi MI-SPE dengan perbandingan 1:6:70 terhadap sampel biologis lain yaitu urin dan plasma untuk mengetahui kinerjajanya secara lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abd Elbary AA, Salem HF, Maher ME. In vitro and in vivo evaluation of glibenclamide using surface solid dispersion (SSD) approach. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 2010; 2(1): 51-62.
2. Haq N, Alanazi FK, Alsarra IA, Shakeel F. Rapid Analysis of glibenclamide using an environmentally benign stability-indicating RP-HPLC method. *IJPR* 2014; 13(3): 863-872.
3. AbuRuz S, Millership J, McElnay J. The development and validation of liquid chromatography method for the simultaneous determination of metformin and glipizide, gliclazide, glibenclamide or glimeperide in plasma. *J Chromatogr B* 2005; 817(2): 277-286.
4. Gowrisankar D, Rajendra-Kumar JM, Latha PVM. Spectrophotometric estimation of glibenclamide. *Asian J Chem* 2005; 17(2): 1334-1336.
5. Hartvig P, Fagerlund C, Gyllenhaal O. Electron-capture gas chromatography of plasma sulphonylureas after extractive methylation. *J. Chromatogr* 1980; 181(1): 17-24.
6. Maier V, Znaleziona J, Jirovsky D, Skopalova J, Petr J, Sevcik J. Determination of antihyperglycemic drugs in nanomolar concentration levels by micellar electrokinetic chromatography with non-ionic surfactant. *J. Chromatogr A* 2009; 1216(20): 4492-4498.
7. Sohrabi MR, Kamali N, Khakpour M. Simultaneous spectrophotometric determination of metformin hydrochloride and glibenclamide in binary mixtures using combined discrete and continuous wavelet transforms. *Anal Sci* 2011; 27: 1037.
8. Rezaei B, Mallakpour S, Rahmanian O. Application of molecularly imprinted polymer for solid phase extraction and preconcentration of hydrochlorothiazide in pharmaceutical and serum sample analysis. *J Iran Chem Soc* 2010; 7(4): 1004-1011.
9. Khodadadian M, Farhad A. Computer-assisted design and synthesis of molecularly imprinted polymers for selective extraction of acetazolamide from human plasma prior to its voltammetric determination. *Talanta* 2010; 81: 1446.
10. Li XS, Zhu GT, Luo YB, Yuan BF, Feng YQ. Synthesis and applications of functionalized magnetic materials in sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry* 2013; 45: 233-247.
11. Esteban MA. Molecular-Imprinted Polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry* 2013; 45: 169-181.
12. Qiao F, Sun H, Yan H, Row KH. Molecular imprinted polymers for solid phase extraction. *Chromatographia* 2006; 64(11/12): 652-634.
13. Yan H and Row KH. Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer. *Int J Mol Sci* 2006; 7: 155-178.
14. Walsh R. Development and characterisation of molecularly imprinted suspension polymers. PhD thesis 2010, Waterford Institute of Technology.
15. Wagner A. Robustness and evolvability in living systems. Princeton University Press, 2005.
16. Luque-Garcia JL and Luque de Castro MD. Ultrasound: A powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry* 2003; 22(1): 41-47.
17. Tamayo FG, Casillas JL, Martin-Esteban A. Clean up of phenylurea herbicides in plant sample ex-

- tracts using molecularly imprinted polymers. *Anal Bioanal Chem* 2005; 381: 1234-1240.
18. Lashini RYM, Louhaichi MR, Adhoum N, Monser L. Preparation and application of a molecularly imprinted polymer for determination of glibenclamide residues. *Acta Pharm* 2013; 63: 265-275.
19. Lobenberg R, Kramer J, Shah VP, Amidon GL, Dressman JB. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: dissolution behavior of glibenclamide. *J Pharm Res* 2000; 17(4): 439.
20. Dai C, Zhang J, Zhang Y, Zhou X, Liu S. Application of molecularly imprinted polymers to selective removal of clofibric acid from water. *Plos One* 2013; 8(10): 1-8.
21. Ya L, Qiang F, Meng L, Yuan J, Wei D, Chong Y, Jing L, Chun C, Jian L. Separation and enrichment of trace ractopamine in biological samples by uniformly-sized molecularly imprinted polymers. *J Pharm Anal* 2012; 2(6): 395-402.
22. Harmita. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2004; 1(3): 117-135.
23. Yusof NA, Zakaria ND, Maamor NAM, Abdullah AH, Haron J. Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymer as sorbent for melamine isolation. *Int J Mol Sci* 2013; 14(2): 3993-4004.
24. Shekarchi M, Pourfarzib M, Akbari-Adergani MB, Mehramizi A, Javanbakht M, Dinarvand R. Selective extraction of lamivudine in human serum and urine using molecularly imprinted polymer technique. *Journal of Chromatography B* 2013; 931: 50-55.
25. Kartasasmita RE, Hasanah AN, Ibrahim S. Synthesis of selective molecularly imprinted polymer for solid-phase extraction of glipizide by using a pseudo-template. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2013; 5(10): 351-355.