

Penetapan kadar sefadroxil secara spektrofotometri visibel menggunakan pereaksi etil asetoasetat dan formaldehid

Visible spectrophotometric determination of Cefadroxil using ethyl acetoacetate and formaldehyde reagents

Ratna Asmah Susidarti *), Andrih Rianti dan Sudibyo Martono

Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Abstrak

Metode spektrofotometri visibel dapat digunakan sebagai alternatif untuk menentukan kadar sefadroksil dalam sediaan farmasi. Metode ini didasarkan pada terbentuknya produk berwarna kuning (λ_{maks} 367 nm) dari reaksi antara sefadroksil dengan hasil kondensasi 2 mol etil asetoasetat dan 1 mol formaldehid dalam suasana asam (pH 3,5) pada 45°C selama 20 menit.

Kadar sefadroksil dihitung menggunakan kurva baku $Y = 1,6063 X + 0,1634$, $r = 0,9932$, $p = 0,001$ dan $V_{\text{xo}} = 9,7\%$. Hasil aplikasi metode tersebut untuk penentuan kadar sefadroksil dalam kapsul sefadroksil "X" dengan bobot rata-rata isi 562,4 mg/kapsul diperoleh kadar sefadroksil 490,5 mg/kapsul dengan CV = 0,89% dan perolehan kembali 102,88% (CV = 0,67%).

Kata kunci : sefadroksil, spektrofotometri visibel, etil asetoasetat, formaldehid

Abstract

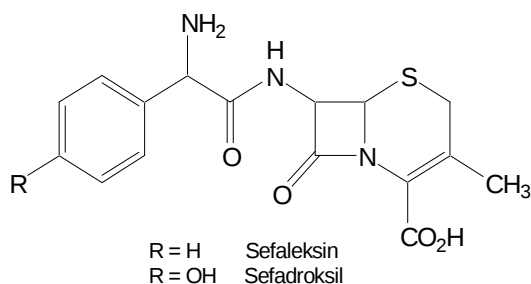
Visible spectrophotometric method can be used to determine cefadroxil in the pharmaceutical dosage form. The reaction of cefadroxil with the condensation product of 2 mol ethyl acetoacetate and 1 mol formaldehyde in acidic condition (pH 3,5) at 45°C for 20 minutes yielded yellow product giving absorption at 367 nm. The concentration of Cefadroxil was calculated by using standard curve $Y = 1.6063 X + 0.1634$, $r = 0.9932$, $p = 0,001$ and $V_{\text{xo}} = 9,7\%$. Determination of cefadroxil capsule "X" (562.4 mg/capsule) showed that the concentration of cefadroxil observed is 490.5 mg/capsule (CV = 0.89%) and recovery value is 102.88% (CV = 0.67%).

Key words: visible spectrophotometry, Cefadroxil, ethyl acetoacetate, formaldehyde

Pendahuluan

Dalam bidang farmasi, pemeriksaan mutu obat mutlak diperlukan agar obat dapat sampai pada titik tangkapnya dengan kadar yang tepat, sehingga dapat memberikan efek terapi yang dikehendaki. Makna tersebut akan bertambah penting apabila obat yang digunakan dalam terapi termasuk golongan antibiotika. Hal ini disebabkan karena pemakaian antibiotika dengan kadar atau dosis yang tidak tepat dapat menyebabkan bakteri atau mikroba menjadi resisten terhadap antibiotika tersebut.

Sefadroksil (Gambar 1) termasuk golongan antibiotika β -laktam generasi pertama dari sefalosporin. Spektrum kerjanya aktif terhadap Gram positif seperti *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* dan *Pneumonia sp.*. Senyawa tersebut juga aktif terhadap bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoea*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis* dan *Haemophilus influenzae*. Antibiotika tersebut dianjurkan pula penggunaannya untuk pengobatan radang hulu kerongkongan atau sakit tenggorokan, infeksi saluran kemih dan



Gambar 1. Struktur sefaleksín dan sefadroksil

infeksi kulit (Tjay dan Rahardja, 2002). Sefadroksil bersifat tahan terhadap asam dan potensi ikatan dengan serum relatif rendah sehingga sangat efektif untuk membunuh bakteri (Foye, 1981).

Metode penentuan kadar sefadroksil yang telah dikembangkan antara lain adalah titrasi alkalimetri, titrasi bebas air, titrasi iodometri, spektrofotometri UV dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Dasar dari metode spektrofotometri UV untuk penetapan kadar sefadroksil ini adalah adanya gugus fenil yang berlaku sebagai kromofor dan gugus hidroksil yang berfungsi sebagai auksokrom.

Sefadroksil mempunyai kemiripan struktur kimia dengan Sefaleksín yang juga merupakan antibiotika sefalosporin generasi pertama. Perbedaannya adalah terdapatnya gugus *p*-OH pada cincin fenil sefadroksil. Sefaleksín dapat ditetapkan kadarnya secara spektrofotometri visibel (Patel dkk., 1992) dengan mendasarkan pada terbentuknya gugus kromofor baru yang memberikan serapan pada 400 nm dari reaksi antara gugus amina primer sefaleksín dengan hasil kondensasi 2 mol asetilaseton dan 1 mol formaldehid (Gambar 2).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode penetapan kadar sefadroksil secara spektrofotometri visibel dengan menggunakan pereaksi etil asetoasetat dan formaldehid. Etil asetoasetat dipilih untuk menggantikan asetilaseton karena harganya lebih murah. Disamping itu, adanya gugus etoksi (berasal dari etil asetoasetat) pada hasil reaksi akan dapat meningkatkan intensitas serapan, karena gugus tersebut merupakan auksokrom.

Metodologi

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah baku standar sefadroksil (Acs dogfar, PT Hexpharm Jaya), etil asetoasetat (p.a. E. Merck), formaldehid (p.a. E. Merck), asam asetat glasial (p.a. E. Merck), natrium asetat (p.a. E. Merck), tablet sefadroksil "X" dan akuades.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer ultraviolet/visibel (Milton Roy, Spectronic Genesys 5), pH meter (Hanna instruments, pH 209), neraca analitik (Swiss Quality, Precisa 125 A SCS), penangas air, kertas saring dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis.

Cara kerja

Pembuatan larutan baku sefadroksil dan larutan pereaksi

- 1) Pembuatan larutan baku sefadroksil
Larutan baku sefadroksil 0,0052 M dan 0,0105 M berturut-turut dibuat dengan melarutkan 100,0 dan 200 mg sefadroksil dalam akuades hingga volume 50,0 mL.
- 2) Pembuatan larutan pereaksi berbagai pH
Sejumlah 4,0 mL larutan natrium asetat 0,2 M ditambah dengan 8,5 mL larutan asam asetat 0,2 M. Larutan ini kemudian ditambahkan pada larutan 2,0 mL (2 mol) etil asetoasetat dan 3,8 mL (1 mol) formaldehid yang dibuat baru. Larutan terakhir (disebut larutan pereaksi) ditambah asam asetat 0,2 M bila larutan terlalu basa atau NaOH 0,2 M bila larutan terlalu asam hingga pH larutan menjadi 2,0; 2,5; 3,0 dan 3,5, kemudian diencerkan dengan akuades sampai 100,0 mL.

Pencarian kondisi untuk penetapan kadar sefadroksil dengan metode spektrofotometri visibel.

- 1) Penentuan panjang gelombang maksimum
Sebanyak 1,0 mL larutan baku sefadroksil 0,0052 M dimasukkan ke dalam labu takar 25,0 mL, kemudian ditambah 4,0 mL larutan pereaksi dengan pH 3,0. Larutan didiamkan selama 20 menit pada suhu 45°C, didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Larutan menjadi berwarna kuning dan di-scanning pada panjang gelombang 200-500 nm. Panjang gelombang maksimum yang terpilih adalah panjang gelombang yang memberikan serapan sefadroksil yang paling tinggi di daerah visibel.
- 2) Penentuan pH optimum larutan pereaksi.
Sejumlah 1,0 mL larutan baku sefadroksil

0,0052 M dimasukkan ke dalam labu takar 25,0 mL, kemudian ditambah 4,0 mL larutan pereaksi (pH = 2,0; 2,5; 3,0 dan 3,5). Larutan didiamkan selama 20 menit pada suhu 45°C, didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Masing-masing larutan diukur serapannya pada λ_{maks} yang diperoleh pada butir B₁. Nilai pH optimum adalah pH larutan pereaksi yang memberikan serapan paling tinggi.

- 3) Penentuan volume larutan pereaksi optimum
Sejumlah 1,0 mL larutan baku sefadroksil 0,0105 M dimasukkan ke dalam labu takar 25,0 mL, kemudian ditambah larutan pereaksi pH optimum (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 10,0 dan 15,0 mL). Larutan didiamkan selama 20 menit pada suhu 45°C, didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Masing-masing larutan diukur serapannya pada λ_{maks} . Volume larutan pereaksi optimum adalah volume larutan pereaksi yang memberikan serapan paling tinggi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.
- 4) Penentuan waktu reaksi optimum
Sebanyak 1,0 mL larutan baku sefadroksil 0,0105 M dimasukkan ke dalam labu takar 25,0 mL, kemudian ditambah larutan pereaksi (volume dan pH optimum). Larutan didiamkan selama selang waktu yang berbeda (5, 10, 15, 20 dan 30 menit) pada suhu 45°C, didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Masing-masing larutan diukur serapannya pada λ_{maks} . Waktu reaksi optimum adalah waktu reaksi yang memberikan serapan paling tinggi.

Penentuan persamaan regresi linier dan koefisien korelasi kurva baku sefadroksil.

Sejumlah 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 mL larutan baku sefadroksil 0,0052 M masing-masing dimasukan ke dalam labu takar 25,0 mL, kemudian ditambah 4,0 mL larutan pereaksi pH optimum, didiamkan selama waktu inkubasi optimum pada suhu 45°C. Larutan reaksi kemudian didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Larutan berwarna kuning yang terjadi kemudian diukur serapannya pada λ_{maks} . Kurva hubungan antara kadar *versus* serapan dibuat kemudian ditentukan persamaan regresi linier serta koefisien korelasinya.

Penetapan kadar sefadroksil dalam kapsul "X"

- 1) Pengujian presisi
Sampel sefadroksil "X" (112,5 mg) dari 10 tablet yang memenuhi keseragaman bobot dan telah digerus homogen dilarutkan dalam akuades hingga volumenya 50,0 mL lalu disaring.

Sejumlah 3,0 mL filtrat diencerkan dengan akuades hingga volumenya 10,0 mL. Sejumlah 5,0 mL larutan diambil dan dimasukkan dalam labu takar 10,0 mL, kemudian ditambah 4,0 mL larutan pereaksi pH optimum, didiamkan selama waktu inkubasi optimum pada suhu 45°C, didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Larutan berwarna kuning yang terjadi diukur serapannya pada λ_{maks} . Kadar sefadroksil dihitung dengan memasukkan nilai serapan yang diperoleh ke dalam persamaan regresi linear kurva baku sefadroksil.

2) Penentuan *recovery*

Sejumlah 112,5 mg sampel kapsul sefadroksil "X" dan 10,0 mg baku sefadroksil dilarutkan dengan akuades dan diencerkan secara kuantitatif dalam labu ukur 50,0 mL, disaring kemudian dipipet 3,0 mL diencerkan dengan akuades dalam labu takar 10,0 mL. Dari larutan ini dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, ditambah 4,0 mL larutan pereaksi dengan pH optimum, didiamkan selama 20 menit pada suhu 45°C, didinginkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda. Larutan ini menjadi berwarna kuning, yang kemudian diukur serapannya pada λ_{maks} . Kadar sefadroksil dihitung dengan memasukkan nilai serapan yang diperoleh ke persamaan regresi linear kurva baku sefadroksil.

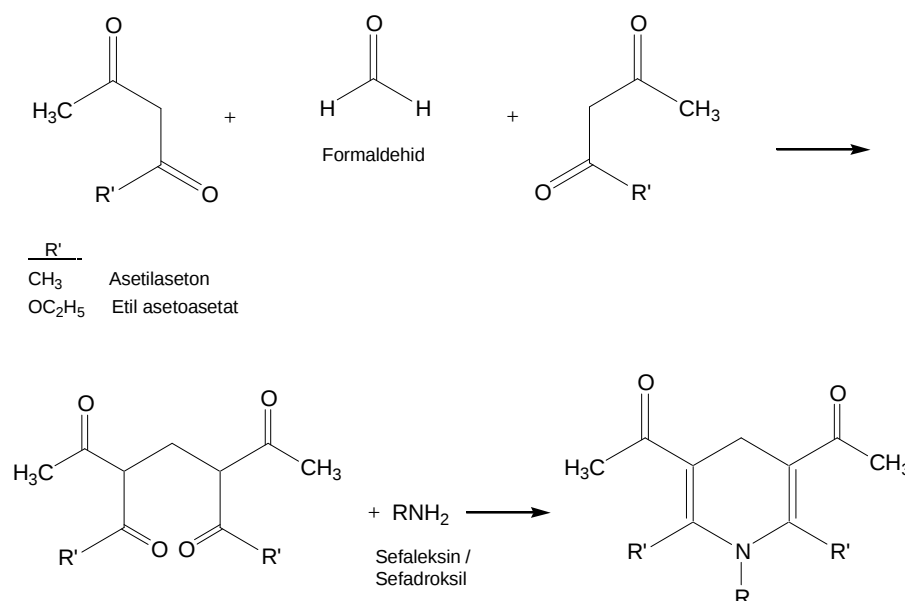
Hasil Dan Pembahasan

Penentuan panjang gelombang maksimum

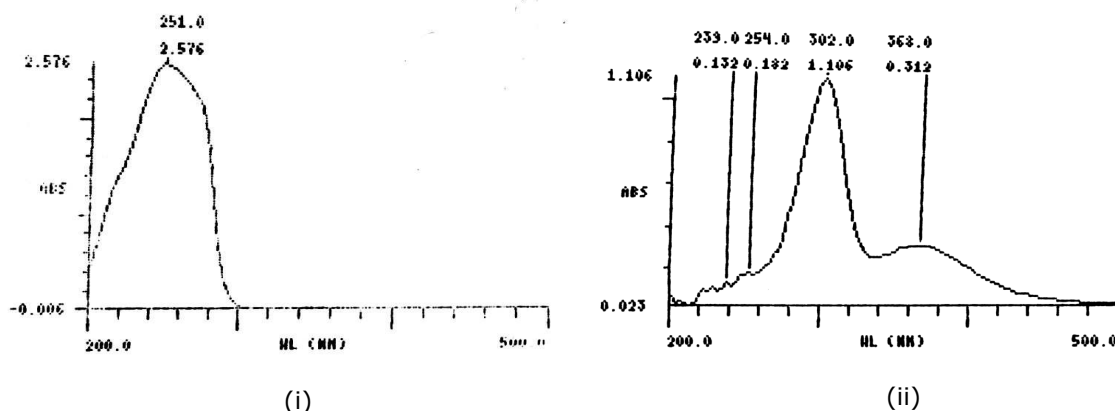
Reaksi antara sefadroksil dengan hasil kondensasi antara 2 mol etil asetoasetat dan 1 mol formaldehid menghasilkan kromofor baru yang memberikan warna kuning (Gambar 2). Pemilihan panjang gelombang analisis sangat penting untuk menentukan sensitivitas dan selektivitas metode. Hasil *scanning* menunjukkan bahwa produk reaksi tersebut mempunyai panjang gelombang maksimum antara 365 – 368 nm (rata-rata 367 nm) (Gambar 3). Dengan demikian, panjang gelombang 367 nm dipilih sebagai panjang gelombang maksimum produk kondensasi sefadroksil tersebut.

Penentuan pH dan volume optimum larutan pereaksi serta waktu reaksi optimum

Terbentuknya produk reaksi yang maksimum sangat dipengaruhi oleh pH dan volume larutan reaksi serta lamanya inkubasi. Berdasarkan pengamatan dapat diketahui bahwa larutan pereaksi pH 3,5 memberikan



Gambar 2. Reaksi terbentuknya gugus kromofor baru yang memberikan serapan pada 400 nm dari reaksi antara gugus amina primer sefaleksin dengan hasil kondensasi 2 mol asetilaseton dan 1 mol formaldehid

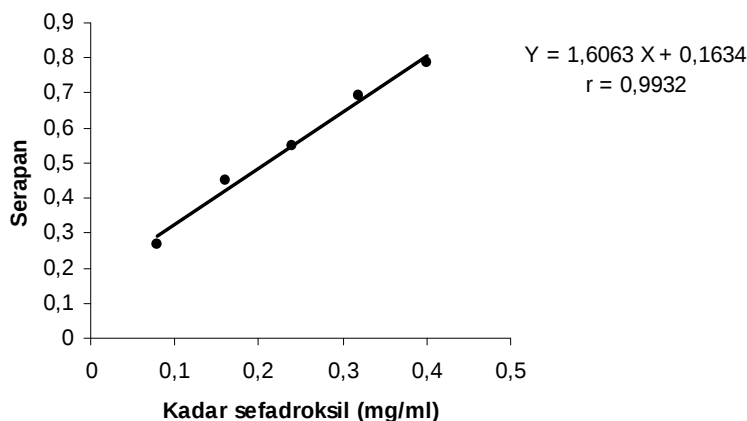


Gambar 3. Spektrum larutan baku (i) sefadroksil $6,0 \times 10^{-4}$ M dan (ii) hasil reaksi antara sefadroksil $2,0 \times 10^{-4}$ M dengan hasil kondensasi 2 mol etil asetoasetat dan 1 mol formaldehid dalam bufer asetat

serapan paling tinggi pada 367 nm. Nilai serapan produk reaksi pada penggunaan larutan pereaksi pH 2,0; 2,5; 3,0 dan 3,5 berturut-turut adalah 0,052; 0,055; 0,131 dan 0,227.

Penggunaan 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 10,0 dan 15,0 mL larutan pereaksi pH 3,5 menghasilkan serapan pada 367 nm sebesar 0,174; 0,311; 0,360; 0,385; 0,410; 0,470 dan 0,445. Dengan demikian hasil reaksi maksimum bila digunakan 10,0 mL larutan pereaksi.

Diperlukan waktu inkubasi yang optimum agar produk reaksi yang terbentuk maksimal. Dari hasil pengamatan diketahui bahwa pembentukan produk maksimal setelah inkubasi selama 20 menit. Bila inkubasi dilakukan kurang dari 20 menit kemungkinan belum terbentuk produk yang optimum, dan bila reaksi dijalankan lebih dari 20 menit dimungkinkan produk reaksi akan terdegradasi yang menyebabkan hilangnya kromofor.



Gambar 4. Kurva baku sefadroksil

Nilai serapan produk reaksi pada inkubasi 5, 10, 15, 20 dan 30 menit berturut-turut adalah 0,107; 0,144; 0,203; 0,271 dan 0,265. Serapan maksimum terlihat pada menit ke 20, yaitu 0,271.

Uji selektivitas terhadap kemungkinan bila ada amina primer lain (turunan sefalosporin) tidak dilakukan. Selektif pada penelitian ini dilihat dari pemilihan λ_{maks} 367 nm yang digunakan untuk pengukuran berbeda jauh dari λ_{maks} sefadroksil (302 nm) (Gambar 3).

Penentuan persamaan regresi linier, koefisien korelasi kurva baku sefadroksil, koefisien variasi fungsi serta limit deteksi (LOD).

Linieritas merupakan salah satu parameter untuk menilai kesahihan metode analisis dengan melihat nilai hubungan respon dari berbagai konsentrasi zat baku pada suatu kurva baku yang dilihat sebagai nilai koefisien korelasi (r). Garis regresi (Gambar 4) dengan $Y = 1,6063 X + 0,1634$, $r = 0,9932$, $p = 0,001$ memiliki koefisien variasi fungsi $V_{\text{xo}} = 9,7\%$ (Yuwono dan Indrayatno, 2005).

Limit deteksi (LOD) adalah konsentrasi analit terendah yang masih dapat ditentukan dengan metode yang digunakan. Limit deteksi dihitung berdasarkan garis regresi linier dari kurva baku dan digunakan untuk mengetahui sensitivitas suatu metode analisis. Dari hasil perhitungan didapat nilai limit deteksi metode spektrofotometri visibel ini adalah 0,05 mg/mL.

Uji presisi

Presisi adalah ukuran kedekatan nilai data satu dengan yang lainnya dalam suatu

pengukuran pada kondisi analisis yang sama. Presisi menunjukkan distribusi masing-masing hasil uji di sekitar nilai rata-rata. Presisi sering kali dinyatakan sebagai persen *Relative Standard Deviation* (RSD) atau *Coefficient of Variation* (CV) untuk sejumlah sampel yang berbeda bermakna secara statistik (Hong dan Shah, 2000). Suatu metode dikatakan mempunyai presisi yang baik jika nilai koefisien variasinya lebih kecil dari 5 % (Peter dan Richard, 2000). Tabel I. menunjukkan hasil penetapan kadar sefadroksil dalam kapsul "X". Nilai koefisien korelasi (CV) yang diperoleh adalah 0,89%. Dengan demikian metode spektrofotometri visibel yang dikembangkan pada penelitian ini mempunyai ketelitian yang baik untuk penetapan kadar sefadroksil.

Uji akurasi

Akurasi adalah suatu ukuran keterdekatan hasil analisis yang diperoleh menggunakan metode tersebut dengan harga yang sebenarnya. Akurasi metode analisis biasanya dinyatakan dengan persen perolehan kembali (% *recovery*) terhadap sampel yang kadarnya telah diketahui pasti. Persyaratan perolehan kembali anjuran *Food and Drugs Administration* (FDA) untuk suatu metode analisis adalah 80-120% dari kadar tertera pada label. Rentang perolehan kembali yang dipersyaratkan FDA tersebut cukup lebar sebab dimaksudkan untuk analisis kadar yang sangat rendah dan melalui prosedur analisis yang cukup panjang (Mulja dan Suharman, 1995). Tabel II. memperlihatkan hasil perolehan kembali sefadroksil dalam kapsul sefadroksil

Tabel I. Hasil penetapan kadar sefadroksil dalam sediaan kapsul "X" dengan metode spektrofotometri

Sampel (mg)	Serapan pada $\lambda=367\text{nm}$			Kadar (mg/sampel)			Kadar rata-rata (mg/sampel)	Kadar rata-rata (mg/kapsul)	CV (%)
	I	II	III	I	II	III			
112,5	0,639	0,630	0,625	98,7	96,8	95,8	97,1	485,4	1,51
113,0	0,644	0,640	0,639	99,7	98,9	98,7	99,1	493,2	0,53
112,4	0,639	0,640	0,635	98,7	98,9	97,9	98,5	492,8	0,54
Rata-rata:							98,2	490,5	0,89

Keterangan : kandungan sefadroksil pada label = 500 mg/kapsul

Tabel II. Hasil penetapan perolehan kembali sefadroksil dalam kapsul sefadroksil "X" secara spektrofotometri

Bobot (mg)		Sefadroksil teoritis (mg/kapsul)	Serapan pada $\lambda=367\text{nm}$	Sefadroksil terukur (mg)	Perolehan Kembali (%)	Perolehan Kembali rata-rata (%)	CV (%)
Sampel	Baku						
112,5	10,0	107,1	0,699	111,2	103,83	102,30	1,39
			0,690	109,3	102,05		
			0,685	108,2	101,03		
			0,714	114,3	104,86		
113,0	9,9	109,0	0,710	113,4	104,04	103,64	1,41
			0,699	111,2	102,02		
			0,699	111,2	102,30		
			0,710	113,4	104,32		
112,4	10,2	108,7	0,695	110,3	101,47	102,70	1,43
Rata-rata:						102,88	0,67

"X". Hasil rata-rata perolehan kembali sefadroksil dalam kapsul "X" adalah 102,88%. Berdasarkan hasil ini dapat dikatakan bahwa metode spektrofotometri visibel yang dikembangkan pada penelitian ini memiliki akurasi yang baik untuk menetapkan kadar sefadroksil dalam sediaan kapsul.

Kesimpulan

Kadar sefadroksil dapat ditetapkan secara spektrofotometri visibel berdasarkan pada terbentuknya gugus kromofor baru

berwarna kuning yang menyerap pada 367 nm dari reaksi antara sefadroksil dengan hasil kondensasi 2 mol etil asetoasetat dan 1 mol formaldehid.

Kondisi optimal yang diperlukan untuk pembentukan kromofor baru tersebut adalah: pH larutan pereaksi 3,5; volume larutan pereaksi yang ditambahkan adalah 10,0 mL dan lama inkubasi 20 menit.

Metode spektrofotometri visibel yang dikembangkan dapat diaplikasikan pada penetapan sediaan kapsul sefadroksil.

Daftar Pustaka

- Foye, W. O., 1981, *Principles of Medicinal Chemistry*, 767-768, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hong, D. D. dan Shah, M., 2000, Development and Validation of HPLC Stability Indicating Assay, sit. Kharma, S., 2003, *Perbandingan Metode Penetapan Kadar Vitamin C dalam Tablet secara Spektrofotometri Ultraviolet dan Kolorimetri dengan Pereaksi 1-kloro-2,4-dinitrobenzena*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Mulja, H. M. dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, 6-11, 26-40, Airlangga University Press, Surabaya.
- Patel, I. T., Divani, M. B., dan Patel T. M., 1992, Spectrophotometric method for determination of cephalixin in its dosage form, *J. AOAC Int.*, 75, 6.

- Peter, C. M. and Richard, E. Z., 2000, *Statistical Methods in Analytical Chemistry*, 2nd Ed., 9, John Wiley & Sons Inc., New York.
- Tjay, T. H. dan Rahardja, K., 2002, *Obat-obat Penting*, Edisi V, 68-71, PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Yuwono, M. dan Indrayatno, G., 2005, Validation of Chromatographic Methods of Analysis, in: (Brittain, H., Ed.): *Profile of Drugs Substances, Excipients and Related Methodology*, Volume 32, 243-258, Elsevier.

* Korespondensi : Dr. Ratna Asma Susidarti, MS., Apt.
Fakultas Farmasi UGM, Sekip Utara Yogyakarta, 55281
Telp. : (0274) 542907,
E-mail: susidarti@yahoo.com