

Spektrofotometri Derivatif dan Aplikasinya dalam Bidang Farmasi

LILIEK NURHIDAYATI*

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
Jalan Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640.

Diterima 15 Februari 2007, Disetujui 9 Mei 2007

Abstract: Derivative spectrophotometry is a method for the simultaneous determination of drugs mixtures due to their overlapping spectra. Since the practical introduction of the concept of spectral data derivatization, the derivative spectrophotometry technique was applied. This review describes the theoretical and instrumental aspects of derivative spectrophotometry and some of its applications in pharmaceutical analysis since 1999.

Keywords: derivative spectrophotometry, theory, instrumental aspects, pharmaceutical analysis.

PENDAHULUAN

Konsep derivatisasi spektra diperkenalkan pertama kali lebih dari lima puluh tahun lalu. Metode spektrofotometri derivatif atau metode kurva turunan adalah salah satu metode spektrofotometri yang dapat digunakan untuk analisis campuran beberapa zat secara langsung tanpa harus melakukan pemisahan terlebih dahulu walaupun dengan panjang gelombang yang berdekatan. Penggunaan spektrofotometri derivatif sebagai alat bantu analisis meningkat seiring dengan perkembangan dunia elektronik yang pesat terutama teknologi mikrokomputer dalam tiga puluh tahun terakhir. Akhir-akhir ini penggunaan spektrofotometri derivatif makin mudah dengan meningkatnya daya pisah instrumen analitik yang dilengkapi mikrokomputer dengan perangkat lunak yang sesuai sehingga mampu menghasilkan spektra derivatif secara cepat. Fasilitas ini memungkinkan analisis multikomponen dalam campuran yang spektranya saling tumpang tindih⁽¹⁾.

Beberapa keuntungan dari spektrum derivatif antara lain: spektrum derivatif memberikan gambaran struktur yang terinci dari spektrum serapan dan gambaran ini makin jelas dari spektra derivatif pertama ke derivatif keempat. Selain itu, dapat dilakukan analisis kuantitatif suatu komponen dalam campuran dengan bahan yang panjang gelombangnya saling berdekatan⁽²⁾. Bila dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), metode

spektrofotometri derivatif relatif lebih sederhana, alat dan biaya operasionalnya lebih murah dan waktu analisisnya lebih cepat⁽³⁾.

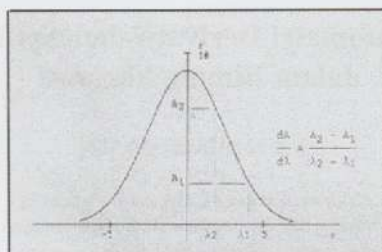
TEORI DAN ASPEK INSTRUMEN

Derivatisasi. Pada spektrofotometri konvensional (derivat kenol), spektrum serapan merupakan plot serapan (A) terhadap panjang gelombang (λ). Spektrum elektronik biasanya memperlihatkan pita yang lebar. Pada metode derivatif, plot A terhadap λ ini ditransformasikan menjadi plot $dA/d\lambda$ untuk derivatif pertama dan $d^2A/d\lambda^2$ terhadap λ untuk derivatif kedua, dan seterusnya. Metode spektrofotometri derivatif merupakan metode manipulatif terhadap spektra pada spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak (uv-vis)⁽⁴⁾.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum yang lebar akan lebih akurat menggunakan derivatisasi spektra. Proses yang terjadi dalam derivatisasi data spektra adalah pendiferensialan kurva secara matematis yang tak lain adalah menentukan kemiringan/gradien serapan antara panjang gelombang tertentu secara menyeluruh seperti tampak dalam Gambar 1.

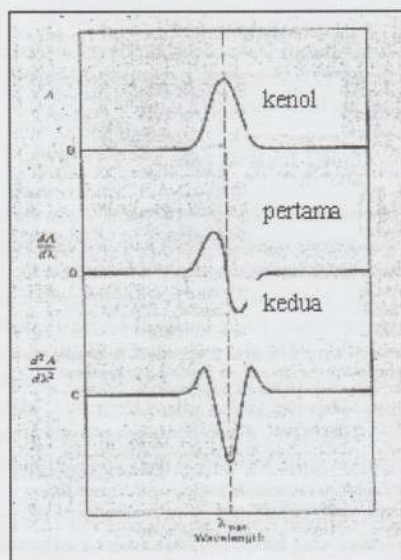
Penentuan besar gradien secara individual adalah plot $dA/d\lambda$ terhadap λ untuk mendapatkan plot derivatif pertama. Plot derivatif pertama ini dapat diturunkan lagi dengan cara yang sama untuk mendapatkan harga $d^2A/d\lambda^2$, yang bila diplotkan terhadap panjang gelombang menghasilkan plot derivatif kedua. Pengulangan proses ini menghasilkan orde yang lebih tinggi, plot derivatif ke- n , atau $d^nA/d\lambda^n$.

* Penulis untuk korespondensi, Hp. 08129602984
e-mail: liliek_nurhidayati@yahoo.com

Gambar 1. Penentuan gradien dari spektrum derivat kenol⁽⁵⁾.

$d\lambda$ terhadap λ . Sebagai ilustrasi proses pengulangan, dari derivat kenol sampai dengan kedua ditunjukkan pada Gambar 2.

Untuk spektrum dengan puncak tunggal, derivatif pertama adalah plot dari gradien $dA/d\lambda$

Gambar 2. Spektrogram derivatif kenol sampai kedua⁽⁴⁾.

$d\lambda$ dari serapan terhadap panjang gelombang dan memperlihatkan sebuah maksimum dan minimum. Jarak vertikal antar keduanya adalah amplitudo yang proporsional dengan konsentrasi analit. Spektra derivatif dapat dihasilkan dengan memproses sinyal spektrofotometer secara elektronik atau diferensiasi numerik atau menggunakan spektrofotometer dengan rancangan optik spesial. Diferensiasi membedakan spektrum yang lebar, mempertegas gambaran yang lebih tajam dengan naiknya orde. Dengan alasan ini kegunaan spektra derivatif dapat menaikkan

sensitivitas deteksi spektra minor dan mengurangi kesalahan yang disebabkan oleh pita serapan spesies lain dalam sampel yang tumpang tindih. Kekurangan utama teknik derivatif adalah *signal-to-noise ratio* (S/N ratio) yang makin rendah dengan meningkatnya orde⁽⁶⁾. Terdeteksinya puncak serapan pada derivatif yang lebih tinggi ditentukan oleh S/N spektrum asal (spektrum derivat kenol). Yang penting adalah menghilangkan atau meminimalkan *noise* tanpa mengurangi sinyal penting. Perlu pendekatan matematika untuk memuluskan sebelum atau selama proses derivatisasi berlangsung⁽⁵⁾.

Spektrum derivatif dihasilkan oleh spektrofotometer yang dirancang untuk melakukan transformasi elektronik. Derivatif $dA/d\lambda$ didekati dengan meningkatnya rasio $\Delta A/\Delta\lambda$, di mana ΔA adalah perubahan serapan terhadap perbedaan $\Delta\lambda$. Makin kecil $\Delta\lambda$, $\Delta A/\Delta\lambda$ makin mendekati derivatif sesungguhnya $dA/d\lambda$. Selalu ada *noise* yang menutupi sinyal sampel sebagai konsekuensi efek elektronik dan instrumen, bila Δ dibuat sangat kecil *noise* akan mendominasi derivatif⁽⁴⁾.

Mode derivatif pertama dan kedua adalah fitur standar *microprocessor* spektrofotometer uv-vis dan beberapa instrumen dilengkapi dengan mode derivatif ketiga, keempat, kelima sampai dengan ketujuh. Perangkat lunak komputer juga tersedia untuk mengolah data spektra uv-vis sampai dengan derivat kesembilan⁽⁵⁾.

Analisis kuantitatif. Panjang gelombang serapan maksimum pada suatu senyawa akan menjadi panjang gelombang *zero-crossing* pada spektrogram derivatif pertama, panjang gelombang tersebut tidak mempunyai serapan atau $dA/d\lambda = 0$. Metode *zero-crossing* memisahkan campuran biner dari spektrum derivatifnya pada panjang gelombang pada saat komponen pertama tidak ada sinyal. Pengukuran pada *zero-crossing* tiap komponen dalam campuran merupakan fungsi tunggal konsentrasi dari yang lainnya.

Bila panjang gelombang *zero crossing* masing-masing senyawa tidak sama, maka penetapan kadar campuran dua senyawa dapat dilakukan tanpa pemisahan terlebih dahulu. Bila kedua pita serapan mempunyai panjang gelombang yang hampir sama akan terjadi pelebaran pita, maka kurva derivatif pertama tidak akan membantu pemisahan spektranya. Pada situasi tersebut maka dicoba derivatif kedua⁽⁵⁾.

Metode spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk analisis kuantitatif zat dalam campuran yang spektrumnya mungkin tersembunyi dalam suatu bentuk spektrum besar yang saling tumpang tindih dengan mengabaikan proses pemisahan zat yang bertingkat-tingkat.

Dasar perhitungan kuantitatif spektrofotometri derivatif mengikuti hukum Lambert-Beer, dimana serapan derivatif ke-n adalah:

$$\frac{d^n A}{d\lambda} = \frac{d^n \epsilon}{d\lambda} \times l \times c$$

Di mana:

A = serapan

ϵ = daya serap molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

c = konsentrasi molar (M)

l = tebal sel (cm)

Secara teoritis $dA/d\lambda$ adalah nol pada λ_{maks} untuk pita pada spektrum normal (spektrum derivat kenol). Spektrum derivatif kedua $d^2A/d\lambda^2$ terhadap λ memiliki dua maksimum dengan sebuah minimum di antara keduanya, pada λ_{maks} pita spektrum asalnya. Pada prinsipnya tinggi puncak (dihitung dari $d^2A/d\lambda^2=0$) yang disebut dengan amplitudo proporsional dengan konsentrasi analit. Untuk analisis kuantitatif, hanya amplitudo terhadap konsentrasi yang diukur^(5,6).

Amplitudo dapat juga diukur dengan metode tangen. Tangen digambar dari pusat sumbu koordinat sampai ke maksimum dan amplitudo diukur vertikal dari puncak (maksimum) ini ke minimum. Metode ini disebut juga dengan mengukur grafik⁽⁶⁾.

Untuk suatu campuran (M) dari dua spesies A dan B yang tidak berinteraksi menyerap di daerah uv-cahaya tampak dengan besar serapan:

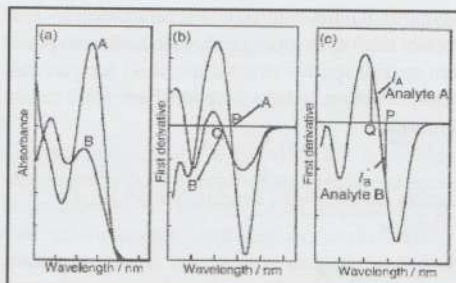
$$A_M = A_A + A_B = \epsilon_A l c_A + \epsilon_B l c_B$$

Sehingga

$$\frac{dA_M}{d\lambda} = \frac{d\epsilon_A}{d\lambda} l c_A + \frac{d\epsilon_B}{d\lambda} l c_B$$

Untuk campuran biner, nilai absolut derivatif dari *crossing* tiap komponen dalam campuran merupakan fungsi tunggal konsentrasi dari yang lainnya⁽⁶⁾.

Gambar 3a memperlihatkan spektra derivat kenol dua analit (A dan B). Derivatif pertama ditunjukkan



Gambar 3.(a) Spektrum serapan zat A dan B, (b) spektrum derivatif pertama yang memperlihatkan *zero-crossing* kedua zat, (c) spektrum derivatif pertama campuran A dan B yang menunjukkan titik pada saat sinyal hanya tergantung pada satu analit⁽⁶⁾.

oleh Gambar 3b. Spektrum derivatif pertama analit A memotong di titik nol (*zero-crossing*) pada panjang gelombang P, sementara spektrum derivatif pertama B memperlihatkan *zero-crossing* pada panjang gelombang Q. Spektrum derivatif pertama campuran A dan B tampak pada Gambar 3c. Amplitudo yang diukur pada panjang gelombang Q (I_A) hanya tergantung pada konsentrasi analit A, dan pengukuran pada P (I_B) hanya ditentukan oleh konsentrasi B; sehingga dengan cara pengukuran yang sama terhadap larutan standar kadar kedua analit bisa ditentukan.

Untuk pengukuran lebih dari dua analit dilakukan penentuan *zero-crossing* berurutan. Atau, kurva kalibrasi dapat dibuat pada panjang gelombang yang sinyal rata-ratanya adalah jumlah atau selisih sinyal individual dari dua atau lebih analit⁽⁶⁾.

Bila campuran biner memiliki panjang gelombang *zero-crossing* lebih dari satu, maka yang dipilih untuk dijadikan panjang gelombang analisis adalah panjang gelombang *zero-crossing* yang serapan pasangannya dan campurannya persis sama, karena pada panjang gelombang tersebut dapat secara selektif mengukur serapan senyawa pasangannya dan memiliki serapan yang paling besar. Pada serapan yang paling besar, serapannya lebih stabil sehingga kesalahan analisis dapat diperkecil⁽³⁾.

Umumnya masalah kuantitatif dapat dibagi dua:

(a) **Senyawa tunggal atau analisis multikomponen dengan puncak serapan saling tumpang tindih.**

Konsentrasi analit memiliki hubungan linier dengan absorbansi pada panjang gelombang tertentu. Pada spektra derivatif, konsentrasi analit memiliki hubungan linier dengan amplitudo pada puncak derivat ke-n pada panjang gelombang tertentu.

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \epsilon}{d\lambda^n} \cdot c \cdot l$$

Menurut hukum additivitas serapan radiasi satu spesies tidak akan dipengaruhi oleh hadirnya spesies lain apakah spesies tersebut memiliki serapan atau tidak. Sehingga hukum Lambert-Beer lebih umum dituliskan:

$$A = \sum_{i=1}^I \epsilon_i c_i l$$

Jumlah dari substansi keseluruhan adalah, i

Sehingga

$$\frac{D_u A}{D_u \lambda} = \sum_{i=1}^I \frac{D_u \lambda}{D_u} \cdot \epsilon_i \cdot l$$

Amplitudo total derivatif ke-n sama dengan jumlah amplitudo individual derivat ke-n pada panjang gelombang tertentu.

Pada kenyataannya, konsentrasi bisa tidak tepat linier dengan serapan terukur atau amplitudo derivatif karena berbagai faktor. Solvasi, ikatan hidrogen, pembentukan pasangan ion, dan reaksi kimia bisa menyebabkan perhitungan konsentrasi sampel yang salah. Ketidaklinieran dapat disebabkan oleh terjadinya pemantulan, hamburan dan celah monokromator yang terlalu lebar dari pada lebar puncak serapan. Faktor instrumen seperti penyimpanan cahaya juga cenderung mengurangi serapan terukur atau amplitudo derivatif pada konsentrasi lebih tinggi⁽⁹⁾.

(b) Analisis zat tunggal atau multikomponen dengan terdapatnya serapan matrik background

Terdapatnya serapan matrik *background* dapat terjadi terutama pada laboratorium klinis, biologi, biokimia dan makanan. Bila *background* mempengaruhi pendekatan fungsi linier dari panjang gelombang $A = m\lambda + k$, diferensiasinya adalah:

$$\frac{dA}{d\lambda} = m$$

Ada adalah slope dari gangguan *background*. Diferensiasi lebih lanjut menghasilkan $\frac{d^2 A}{d\lambda^2} = 0$

Gangguan *background* dibuang dari spektrum. Penyerapan *background* yang mengganggu tidak linier dengan panjang gelombang. Hal ini dapat ditunjukkan oleh persamaan polinomial:

$$A = k + m\lambda + p\lambda^2 + q\lambda^3 + \dots$$

Melalui diferensiasi:

$$\begin{aligned} \frac{dA}{d\lambda} &= m + 2p\lambda + 3q\lambda^2 + \dots \\ \frac{d^2 A}{d\lambda^2} &= 2p + 6q\lambda + \dots \\ \frac{d^3 A}{d\lambda^3} &= 6q + \dots \end{aligned}$$

Kontribusi gangguan serapan *background*, yang dapat digambarkan sebagai polinomial derivatif ketiga hilang pada derivatif keempat. Pada praktiknya matrik pengganggu tidak selalu bisa dihilangkan dengan menaikkan orde. Pada kondisi tertentu metode standar addisi perlu digunakan untuk mengkompensasikan pengaruh matriks⁽⁹⁾. Pemilihan tingkat derivatif (orde) untuk analisis ditentukan oleh senyawanya. Misalnya, suatu senyawa seperti losartan tidak memiliki panjang gelombang serapan maksimum bila spektrum derivat kenol direkam pada 220-320 nm. Spektrum derivat pertamanya memiliki palung pada 232,5 nm dengan sensitivitas dan linearitas yang baik. Spektannya pada derivat yang lebih tinggi memiliki sensitivitas dan linearitas yang rendah, sehingga untuk analisisnya dipilih derivatif pertama dengan mengukur amplitudonya pada 232,5 nm⁽⁷⁾.

Metode *zero-crossing* adalah prosedur yang paling umum untuk menentukan campuran biner yang spektranya saling tumpang tindih. Keunggulan metode *zero-crossing* adalah memerlukan pemilihan komponen yang saling tumpang tindih. Keunggulan teknik ini tidak sesuai untuk campuran tiga pada derivatif pertama dan kedua.

Metode *zero-crossing* dapat digunakan simultan. Metode *zero-crossing* dapat digunakan pada derivatif pertama dan kedua. Pemilihan ini menyebabkan penurunan sensitivitas panjang gelombang kritis untuk pengukuran. Pemilihan ini menyebabkan penurunan sensitivitas dan presisi pada campuran biner. Metode grafik sensitivitasnya lebih besar terhadap sedikit perubahan posisi dari pita yang mengganggu⁽¹¹⁾.

Dalam suatu analisis campuran biner menggunakan metode *zero crossing* urutan langkah yang dikerjakan adalah penentuan panjang gelombang serapan maksimum secara spektrofotometri normal dalam pelarut tertentu, penentuan stabilitas serapan kedua komponen dalam pelarut yang digunakan, uji linearitas dan perhitungan garis regresi dari spektrum normal, penentuan panjang gelombang *zero-crossing* kedua analit secara spektrofotometri derivatif dengan konsentrasi dan perubahan panjang gelombang ($\Delta\lambda$) yang bervariasi, penentuan $\Delta\lambda$ optimum, pembuatan kurva standar untuk menghitung kadar, penetapan kadar contoh sediaan dan uji perolehan kembali untuk mengetahui ketepatan metode^(8,9,12,14,15,17,20). Dari persamaan garis regresi kurva standar bisa dihitung juga limit deteksi (LOD) dan limit kuantitas (LOQ)⁽⁹⁾.

Metode yang lain adalah *derivatif quotient spectra* atau rasio spektra derivatif dengan pembaagi standar bila spektra komponen saling tumpang tindih. Metode ini berdasarkan pada pembagian spektrum campuran menjadi spektrum standar setiap analisis dan mengarahkan *quotient* untuk

mendapatkan spektrum yang tidak tergantung pada konsentrasi analit yang digunakan sebagai pembagi. Bila dibandingkan dengan metode *zero-crossing*, pengukuran menggunakan rasio spektra derivatif lebih mudah dan sinyal analit lebih tinggi. Di samping itu, adanya maksimum dan minimum pada rasio spektra derivatif memberikan kemungkinan untuk penentuan kadar komponen-komponen tersebut bila terdapat komponen aktif dan ekspisipen lain yang mempengaruhi penetapan kadar⁽¹⁾.

RESOLUSI CAMPURAN BINER DAN TERNER MENGGUNAKAN RASIO SPEKTRA DERIVATIF

Bila digunakan sel setebal 1 cm, spektrum serapan campuran tiga komponen A, B, dan C ditentukan dengan persamaan:

$$A_{M\lambda j} = \epsilon_{A\lambda j} C_A + \epsilon_{B\lambda j} C_B + \epsilon_{C\lambda j} C_C$$

$A_{M\lambda j}$ adalah serapan campuran pada λ_j , $\epsilon_{A\lambda j}$, $\epsilon_{B\lambda j}$, $\epsilon_{C\lambda j}$ adalah daya serap molar A, B dan C pada λ_j , C_A , C_B dan C_C adalah konsentrasi molar dari A, B dan C.

Bila spektrum ini dibagi dengan spektrum larutan standar dari komponen A pada konsentrasi C_A^0 ($A_{A\lambda}^0 = \epsilon_{A\lambda} C_A^0$) akan diperoleh:

$$\frac{A_{M\lambda j}}{A_{A\lambda j}^0} = \frac{C_A}{C_A^0} + \frac{C_B}{C_A^0} \frac{\epsilon_{B\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} + \frac{C_C}{C_A^0} \frac{\epsilon_{C\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} \quad (i)$$

Rasio spektrum derivatif pertamanya:

$$\frac{d}{d\lambda} \left[\frac{A_{M\lambda j}}{A_{A\lambda j}^0} \right] = \frac{C_B}{C_A^0} \frac{d}{d\lambda} \left[\frac{\epsilon_{B\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} \right] + \frac{C_C}{C_A^0} \frac{d}{d\lambda} \left[\frac{\epsilon_{C\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} \right] \quad (ii)$$

Bila $C_C=0$, akan merupakan campuran biner A dan B, pada keadaan ini:

$$\frac{d}{d\lambda} \left[\frac{A_{M\lambda j}}{A_{A\lambda j}^0} \right] = \frac{C_B}{C_A^0} \frac{d}{d\lambda} \left[\frac{\epsilon_{B\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} \right] \quad (iii)$$

Dari persamaan tersebut bisa dilihat bahwa rasio spektrum derivatif campuran biner hanya ditentukan oleh besarnya C_B dan C_A^0 , tidak tergantung pada besarnya C_A dalam campuran.

Dengan mengkombinasi teknik *zero-crossing* dan rasio spektra derivatif, kadar campuran terner bisa ditentukan. Persamaan (ii) menunjukkan bahwa rasio spektrum derivatif campuran terner hanya tergantung pada C_B , C_C , dan C_A^0 dan tidak tergantung pada C_A . Konsentrasi B dan C dapat ditentukan menggunakan metode *zero-crossing* dengan mengukur besarnya derivatif pada suatu panjang gelombang.

Derivatif kedua persamaan (i) adalah:

$$\frac{d^2}{d\lambda^2} \left[\frac{A_{M\lambda j}}{A_{A\lambda j}^0} \right] = \frac{C_B}{C_A^0} \frac{d^2}{d\lambda^2} \left[\frac{\epsilon_{B\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} \right] + \frac{C_C}{C_A^0} \frac{d^2}{d\lambda^2} \left[\frac{\epsilon_{C\lambda j}}{\epsilon_{A\lambda j}} \right]$$

Dari persamaan ini bisa diketahui bahwa spektrum hanya ditentukan oleh C_B , C_C dan C_A^0 ⁽¹⁾.

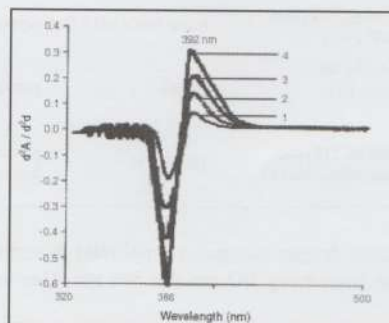
APLIKASI

Spektrofotometri derivatif telah digunakan secara luas pada analisis bahan anorganik, penentuan konstanta ionisasi senyawa kimia, koefisien partisi obat antara lapisan lipid dan air, analisis klinis, analisis makanan, dan penetapan kadar di bidang farmasi

Dalam bidang farmasi, karena terkait dengan terapi, penetapan kadar obat adalah masalah analisis dalam kontrol kualitas pada industri farmasi. Spektrofotometri derivatif adalah teknik analisis dengan kemampuan memisahkan campuran obat yang memiliki spektra tumpang tindih. Selain itu, telah digunakan pula untuk penetapan kadar obat yang tercampur dengan hasil peruraiannya.

Beberapa karakteristik analisis yang menggunakan spektrofotometri derivatif terdapat pada Tabel 1.

Salah satu contoh analisis dari Tabel 1 adalah penetapan kadar fenilpropanolamina dalam sediaan farmasi secara spektrofotometri derivatif kedua. Fenil propanolamina hidroklorida (PPA-HCl) dalam air memiliki panjang gelombang serapan maksimum pada 210 nm dan 256 nm dengan absorptivitas molar 3778 dan 156 l mol⁻¹cm⁻¹. Untuk menaikkan sensitivitas penentuan kadarnya, PPA-HCl direaksikan terlebih dahulu dengan 2-hidroksinaftaldehida (HN) dalam media kloroform-metanol. Analisis dilakukan secara spektrofotometri derivatif kedua karena pereaksinya memiliki serapan pada panjang gelombang maksimum derivatif pertama turunan HN-PPA. Spektrofotometri derivatif kedua pada analisis tersebut memiliki sensitivitas yang lebih besar dari pada derivat kenol. Kadar PPA



Gambar 4. Spektrum serapan derivatif kedua fenilpropanolamina. Konsentrasi: 1) 0,5; 2) 1,0; 3) 1,5 dan 4) 2,0 µg/ml fenilpropanolamina⁽¹⁸⁾.

Tabel 1. Karakteristik analisis secara spektrofotometri derivatif di bidang farmasi.

| Senyawa | Pelarut | Orde derivatif | λ analisis (nm) | Rentang linearitas ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | Pustaka |
|--|-----------------------------------|---------------------------|---|--|---------|
| Amitriptilin HCl (AH) dan perfenazin (P) | HCl 0,1 N | pertama | 254,4 (AH) 239,2 (P) | 10-30 (AH) 2-6 (P) | 8 |
| Asam folat (AF), piridoksin (P) dan tiamin (T) | bufer Na-asetat pH 5,5 | pertama | 266 (AF); 266, 282 dan 334 (P); 282 (T) | 1,02-14,28 (AF); 1,00-16,00 (P) dan 6,00-20,00 (T) | 6 |
| Metampiron (M) dan klordiazepoksida (K) | HCl 0,1 N | pertama | 245,7 (M) 258,2 (K) | 10-30 (M) 2-7 (K) | 9 |
| Fenilbutazon (F) dan metampiron (M) | HCl-metanol 0,1 N | pertama | 239,9 (F) 268,0 (M) | 4-22 (F) 4-20 (M) | 10 |
| Kofein | air | kedua ketiga ketiga | 232,7-245,2 (kola), 268,5-289,5 (kopi), 286,0-300,0 (teh) | 2,0-10,0 | 11 |
| Fenilbutazon (F) dan propifenazon (P) | NaOH 0,1 N | pertama | 246,7 (F) 264,1 (P) | 4-12 (F) 4-12 (F) | 12 |
| Vitamin B1, B6, B12 | HCl 0,1 N | kedua | 228,9 (1), 309,6 (6), 361,7 (12) | 4-20 | 13a |
| Quinollin yellow(E-104), sunset yellow (E-110) | buffer Na-asetat pH 4,5 | kedua | 410,0 (E-104) 533,1 (E-110) | 3-15 | 13b |
| Karbinoksamin maleat (KM) dan triamsinolon (T) | metanol | pertama | 239,8 (KM) 260,0 (T) | 10-50 (KM) 5-25 (T) | 14 |
| Teofilin(T) dan salbutamol (S) | NaOH 0,1N | pertama | 270,4 (T) 275,1 (S) | 3-15,3 (T) 3-15,2 (S) | 15 |
| Losartan | air | pertama | 232,5 | 2-50 | 7 |
| Tripolidina HCl (TH) dan pseudoefedrin HCl (PH) | air | pertama | 227,6 (TH) 230,0 (PH) | 5-50 (TH) 50-800 (PH) | 3 |
| β -karoten (β) dan astaxanthin (A) | aseton-DMSO (2:1) | rasio derivatif pertama | 461 (β) 466 (A) | 0-5 (β), 0-6(A) | 16 |
| Atenolol (A) dan nifedipin (N) | HCl-etanol 0,1N | pertama | 236,6 (A) 227,0 (N) | 8-25 (A) 4-12 (N) | 17 |
| Fenilpropranolamin (PPH) parasetamol (PCT) | kloroform (turunan PPH),air (PCT) | kedua | 386-392 (PPH) 291 (PCT) | 0,5-2,0 (PPH) 65-325 (PCT) | 18 |
| Parasetamol(PCT) dan vitamin C (VC) | bufer fosfat pH 7,0 | pertama | 243,5(VC) 264,5 (PCT) | sampai dengan $1,4 \times 10^{-4}$ (PCT) $1,6 \times 10^{-4}$ (VC) | 19 |
| Atenolol (A) dan klortalidon (K) | etanol | pertama | 270 (A) 251 (K) | 100-500 (A) 25-126 (K) | 20 |
| Promazin HCl (P) dan promazin sulfoksida (S) | HCl 0,1 N | pertama, ketiga | 268 nm (P) 342-344 nm (S) | $1,56 \times 10^6$ - $7,79 \times 10^5$ M (P) $7,42 \times 10^6$ - $7,42 \times 10^5$ M (S) | 21 |

ditentukan dengan mengukur amplitudo di antara panjang gelombang 392 nm dan 386 nm (Gambar 4).

Kurva kalibrasi diperoleh pada rentang kadar 0,5 – 2,0 $\mu\text{g/ml}$ dengan persamaan garis regresi $y = 0,4385x$ dan koefisien korelasi 0,9998. Adanya zat

aktif lain yang sering dikombinasikan dengan PPA-HCl seperti parasetamol, fenitiloksamina sitrat, klemestina hidrogen fumarat dan klorfeniramina maleat serta excipien seperti laktosa, metil paraben, sorbitol dan propilen glikol tidak mempengaruhi penetapan kadar PPA-HCl⁽¹⁸⁾.

SIMPULAN

Spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk penetapan kadar campuran dengan spektrum yang tumpang tindih tanpa pemisahan terlebih dahulu. Peranan spektrofotometri derivatif dalam analisis kimia sangat penting. Karena perangkat lunaknya mudah digunakan untuk instrumentasi analisis dan mikrokomputer, spektrofotometri derivatif banyak digunakan di berbagai bidang analisis kimia terutama bidang farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. El-Sayed AA, El-Salem NA. Recent development of derivative spectrophotometry and their analytical applications. *Anal Sci*. 2005. 21:595-614.
2. Munson JW. Analisis farmasi metode modern. Parwa B. diterjemahkan oleh Harjana. Surabaya: Airlangga University Press; 1991. hal.334-89.
3. Hayun, Haryanto, Yenti, Penetapan kadar tripolidina hidroklorida dan pseudoefedrina hidroklorida dalam tablet antiinfluenza secara spektrofotometri derivatif. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2006. 3(1):94-105.
4. Connors KA. A textbook of pharmaceutical analysis. 3rd ed. New York: Wiley; 1982.p.171-222.
5. Skujins S, Varian AG. Application of uv-visible derivative spectrophotometry. 1986. <http://www.varianinc.com/media/sci/apps/uv31.pdf>. diakses 22 Desember, 2006.
6. Aberásturi F, Jiménez AI, Jiménez F, Arias JJ. uv-visible first-derivative spectrophotometry applied to an analysis of vitamin mixture. *J Chem Educ*. 2007. 78(6):793-5.
7. Ansari M, Kazempour M, Baradaran M, Jalalizadeh H. Derivative spectrophotometric method for determination of losartan in pharmaceutical formulations. *Iranian J Pharmacol Ther*. 2004. 3:21-5.
8. Izzah ER. Penetapan kadar amitriptilin hidroklorida dan perfenazin dalam sediaan tablet secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 1999.
9. Safitri DM. Penetapan kadar metampiron dan klordiazepoksida dalam sediaan tablet [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2001.
10. Hardani D. Penetapan kadar fenilbutazon dan metampiron dalam sediaan tablet secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2001.
11. Alpdogan G, Karabina K, Sungur S. Derivative spectrophotometric determination of caffeine in some beverages. *Turk J Chem*. 2002. 26:295-302
12. Widyanati P. Penetapan kadar fenilbutazon dan propifenazon dalam sediaan tablet secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2002.
13. Ozgur MU, Koyuncu I. Determination of ternary mixtures of vitamins (B1, B6, B12) by zero-crossing derivative spectrophotometry. *Turk J Chem*. 2002a. 26:385-91.
13. Ozgur MU, Koyuncu I. The Simultaneous determination of quinoline yellow (E-104) and sunset yellow (E-110) in syrups and tablets by second derivative spectrophotometry. *Turk J Chem*. 2002b. 26:501-8.
14. Asriyanti. Penetapan kadar karbinoksamin kaleat dan triamsinolon dalam sediaan tablet secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2004.
15. Maya I. Penetapan kadar teofilin dan salbutamol dalam sediaan tablet secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2002.
16. Ni H, He Q, Ruan H, Chen Q, Chen F. Application of derivative ratio spectrophotometry for determination of β -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* extract. *J Zhejiang Univ Sci*. 2005. 6B(6):514-22.
17. Feriningsih W. Penetapan kadar atenolol dan nifedipin dalam sediaan kapsul secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2005.
18. Kruhawar MY, Rind FMA, Rajper A. Determination of phenylpropanolamine in pharmaceutical preparation by second derivative spectrophotometry. *J Food Drug Anal*. 2005. 13(4):388-391.
19. David V, David IG, Dumitrascu V. Analisis of eferalgan tablets by first order-derivative uv-spectrophotometry. diambil dari <http://www.chimie.unibuc.ro/biblioteca/anale/2002b/79-84.pdf>. diakses 4 Desember, 2006.
20. Rahmawati Y. Penetapan kadar atenolol dan klortalidon dalam sediaan tablet secara spektrofotometri derivatif [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2006.
21. Karpinska J. Simultaneous quantitation of promazine hydrochloride and its sulfoxide in pharmaceutical preparations. *Anal Sci*. 2001. 17:249-53.