

PENGEMBANGAN METODE ANALISIS RESERPINA SECARA SPEKTROFOTOMETRI DENGAN PEMBENTUKAN KOMPLEKS PERPINDAHAN MUATAN

DEVELOPMENT OF SPECTROPHOTOMETRIC ASSAY METHOD FOR RESERPINE
BASED ON FORMATION OF A CHARGE TRANSFER COMPLEX

Ibnu Gholib Gandjar
Fakultas Farmasi UGM

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian pengembangan metode penetapan kadar reserpina secara spektrofotometri dengan cara pembentukan kompleks perpindahan muatan dan perbandingan metode yang dikembangkan dengan metode penetapan kadar reserpina menurut Farmakope Indonesia III (secara titrasi bebas air). Dari data penelitian yang diperoleh dilakukan analisis statistik yang meliputi uji ketelitian, ketepatan, serta perbedaan antara kedua metode.

Reserpina dapat ditetapkan kadarnya setelah dibentuk menjadi senyawa kompleks perpindahan muatan dengan larutan iodium. Kompleks yang terjadi mempunyai puncak serapan pada 354 nm, waktu operasional menit ke 9 sampai menit ke 25 setelah reaksi sempurna. Hubungan antara serapan dan kadar merupakan hubungan yang linier dengan batas deteksi $1,25 \times 10^{-5}$ M. Hasil perbandingan metode spektrofotometri perpindahan muatan dengan metode baku Farmakope Indonesia III menunjukkan bahwa kedua metode tidak memberikan hasil analisis yang berbeda secara bermakna. Ketelitian kedua metode juga tidak berbeda secara bermakna, sedang ketepatannya cukup tinggi terbukti dengan harga koefisien variasi yang kecil.

Kata kunci: Reserpina, iodium, kompleks perpindahan muatan, spektrofotometri

ABSTRACT

A study had been performed to develop a spectrophotometric assay method for reserpine based on formation of a charge transfer complex. The present method was also compared with that of Pharmacopoeia of Indonesia III (non-aqueous titration). The data obtained from both methods were statistically analyzed in terms of their precision and accuracy.

The results showed that reserpine could be determined following the formation of a complex with an iodine solution. The complex compound has a maximum absorptivity of 354 nm with an operating time ranges from 9 to 25 minutes after the reaction has completed. The correlation between absorption and concentration is linear with the detection limit of $1.25 \cdot 10^{-5}$ M. Between the present

and the standard Pharmacopoeia methods, a good agreement was obtained, from the accuracy and precision points of view.

Key words : reserpine, iodine, charge transfer complex, spectrophotometry.

PENDAHULUAN

Pengawasan mutu obat, baik bahan baku maupun dalam bentuk sediaan perlu dilakukan dengan ketat terutama untuk menjamin keamanan dan keselamatan pengguna obat. Reserpina banyak digunakan karena mempunyai khasiat menurunkan tekanan darah, transkuiser, dan sedatif. Dosis terapinya sangat rendah yaitu 0,05 mg s/d 1,5 mg per hari untuk penderita hipertensi; 0,5 s/d 5 mg per hari untuk penderita neurosis dan 0,5 s.d 5,0 mg perhari untuk penderita psikosis (Gan, 1987). Mengingat dosis yang rendah dan toksisitas yang ditimbulkannya maka pengawasan obat ini harus dijalankan dengan teliti, tepat dan sungguh-sungguh. Farmakope Indonesia Edisi III (Anonim, 1979) sebagai acuan resmi menyebutkan cara penetapan kadar obat ini yaitu secara titrasi bebas air. Cara ini tidak terlalu spesifik dan tidak memberikan batas deteksi yang rendah. Cara titrasi bebas air banyak gangguannya terutama jika terdapat bahan lain yang mampu mempengaruhi sifat keasaman dan kebasaan.

Pada tahun 1974 Taha *et al.*, mengembangkan suatu cara analisis alkaloid berdasar pada pembentukan senyawa kompleks. Kompleks yang terjadi disebut kompleks perpindahan muatan. Pembentukan kompleks antara pemberi dan penerima elektron adalah suatu fenomena yang penting dan menarik. Banyak senyawa kompleks perpindahan muatan yang berwarna dan memberikan puncak serapan baru pada daerah tampak dan ultra violet yang selanjutnya dikembangkan menjadi metode analisis kuantitatif. Unsur N dalam alkaloid akan bertindak sebagai pemberi elektron dan pembentukan kompleks perpindahan muatan dengan senyawa halogen maupun psedohalogen mudah diperoleh (Foster 1969; Rao *et al.* 1972). Intensitas pita serapan yang kuat pada daerah ultraviolet dari kompleks ini memberi kemungkinan metode yang dikembangkan cukup peka dan teliti.

Reserpina adalah suatu alkaloida yang didalam struktur molekulnya mengandung unsur nitrogen (Stetcher, 1984) yang bersifat sebagai pemberi elektron, sehingga antara reserpina dengan iodium atau pereaksi halogen dan psedohalogen yang lain dapat membentuk senyawa kompleks perpindahan muatan. Senyawa kompleks perpindahan muatan ini mempunyai puncak serapan dan intensitas yang cukup besar dan dapat digunakan untuk model analisis kuantitatifnya.

METODOLOGI

Bahan : Serbuk reserpina baku p.a., iodium resublimasi p.a

Alat : Alat-alat gelas, spektrofotometer Hitachi-200

Jalan penelitian

Pembuatan pereaksi

Larutan reserpina 10^{-3} M. Dibuat dengan cara melarutkan 60,80 mg serbuk reserpina yang telah ditimbang saksama dengan kloroform sampai diperoleh volume sebanyak 50,0 ml. Dari larutan induk ini dapat diencerkan menjadi larutan yang lebih kecil kadarnya.

Larutan iodium 10^{-2} M. Dibuat dengan cara melarutkan 127 mg serbuk iodium yang telah diresublimasi dan telah ditimbang saksama dengan kloroform sampai diperoleh volume sebanyak 50,0 ml. Dari larutan induk kemudian dapat diencerkan menjadi larutan yang lebih kecil kadarnya.

Uji kualitatif pembentukan kompleks perpindahan muatan reserpina dengan larutan iodium.

Sepuluh (10,0) ml larutan baku reserpina 10^{-4} M direaksikan dengan 10,0 ml larutan baku iodium 10^{-5} M. Hasil reaksi dibiarkan dalam termostat pada suhu $(20 \pm 0,5)$ °C selama 15 menit. Diamati terjadinya perubahan warna larutan iodium. Jika terjadi perubahan warna dari violet menjadi kuning hal itu menunjukkan bahwa telah terbentuk kompleks perpindahan muatan. Lebih lanjut larutan digojog dengan asam mineral (HCl 0,1 N) dan diamati timbulnya kembali warna violet dan endapan yang berwarna putih. Endapan putih dipisahkan dan diidentifikasi terhadap reserpina, jika hasilnya positif maka benarlah telah terjadi kompleks perpindahan muatan antara reserpina dengan iodium.

Penetapan panjang gelombang serapan maksimum kompleks reserpina dengan larutan iodium.

Sepuluh (10,0) ml larutan baku reserpina 10^{-4} M direaksikan dengan 10,0 ml larutan baku iodium 10^{-5} M. Hasil reaksi dibiarkan dalam termostat pada suhu $(20 \pm 0,5)$ °C selama 15 menit. Setelah itu serapannya dibaca dengan spektrofotometer, dan ditentukan panjang gelombang serapan maksimumnya.

Penentuan waktu operasional kompleks perpindahan muatan reserpina dengan larutan iodium.

Lakukan seperti pada tahap penetapan panjang gelombang serapan maksimum, diamati perubahan serapannya terhadap waktu, dan dicatat kisaran waktu yang menunjukkan harga serapan yang sama.

Kurva baku hubungan kadar reserpina dengan harga serapan.

Lakukan seperti pada tahap penetapan panjang gelombang serapan maksimum, namun dilakukan variasi kadar larutan reserpina dan selanjutnya diamati serapan pada panjang gelombang maksimum dan pada kisaran waktu operasional. Hitung persamaan hubungan antara kadar reserpina dengan serapan menggunakan metode statistik atau program komputer.

Uji perolehan kembali dan uji perbandingan dengan metode Farmakope Indonesia Edisi III (Anonim, 1979).

Dibuat campuran reserpina dengan bahan tambahan seperti talk dan laktosa. Kadar reserpina dibuat dalam berbagai macam. Kemudian ditetapkan kadar reserpina dalam campuran tersebut dengan metode spektrofotometri pembentukan kompleks perpindahan muatan dan dengan metode Farmakope Indonesia Edisi III (Anonim,

1979). Hasil uji perolehan kembali yang didapat dari kedua metode tersebut dibandingkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

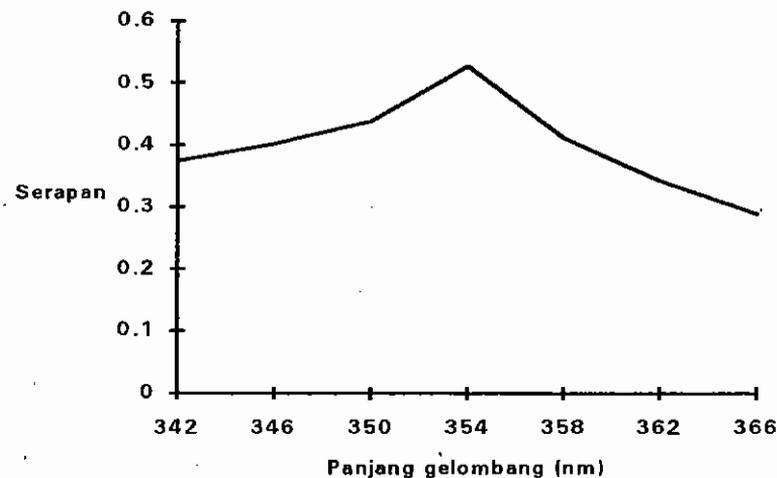
Uji Kualitatif Pembentukan Kompleks Perpindahan Muatan

Perubahan warna ungu larutan iodium dalam kloroform menjadi berwarna kuning agak kehijauan bilamana ditambah dengan larutan alkaloid diyakini sebagai bukti terbentuknya kompleks perpindahan muatan (Foster, 1969). Warna kuning yang terjadi mempunyai puncak serapan pada daerah ultraviolet dekat. Penegasan lebih lanjut bahwa kompleks yang terjadi adalah kompleks perpindahan muatan dapat ditandai dengan mudahnya didapatkan kembali reserpina dari hasil reaksi yang berwarna kuning tersebut jika diekstraksi dengan larutan asam mineral dan timbulnya warna violet dari iodium dalam larutan kloroform. Uji analisis kualitatif menunjukkan hasil positif reserpina untuk larutan dalam asam mineral.

Stabilitas kompleks perpindahan muatan reserpina dengan iodium cukup baik terbukti dari timbulnya kembali warna violet larutan iodium yang cukup lama (kurang lebih 9 menit) atau diperlukannya pemanasan pada penangas air pada suhu 50 °C.

Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Penetapan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan cara mengamati besarnya serapan pada berbagai panjang gelombang. Hasil penertapan panjang gelombang maksimum disajikan dalam gambar 1 berikut



Gambar 1. Panjang gelombang serapan maksimum hasil reaksi larutan reserpina 10^{-4} M dengan larutan iodium 10^{-5} M.

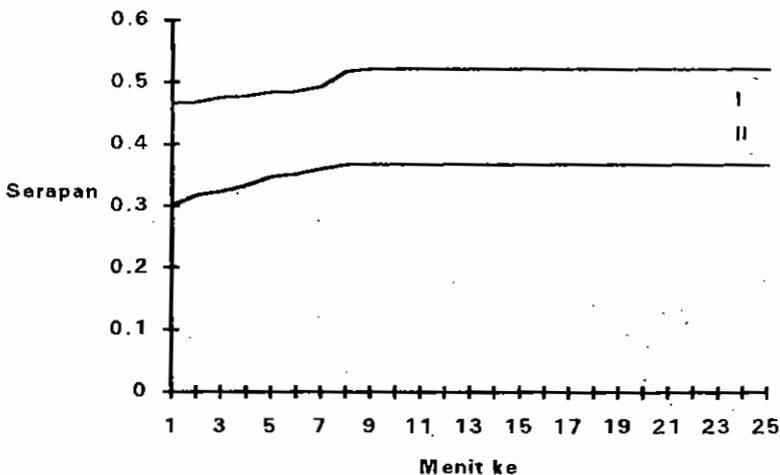
Keterangan : Panjang gelombang serapan maksimum hasil reaksi reserpina dengan larutan iodium adalah 354 nm

Langkah penetapan panjang gelombang serapan maksimum mempunyai arti penting karena semua pengukuran hasil reaksi reserpina dengan larutan iodium harus dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum. Cara tersebut dilakukan karena : kepekaan pengukuran pada panjang gelombang serapan maksimum adalah yang paling tinggi dan hubungan kadar dengan serapan yang sangat mengikuti hukum Lambert-Beer terjadi bilamana pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum.

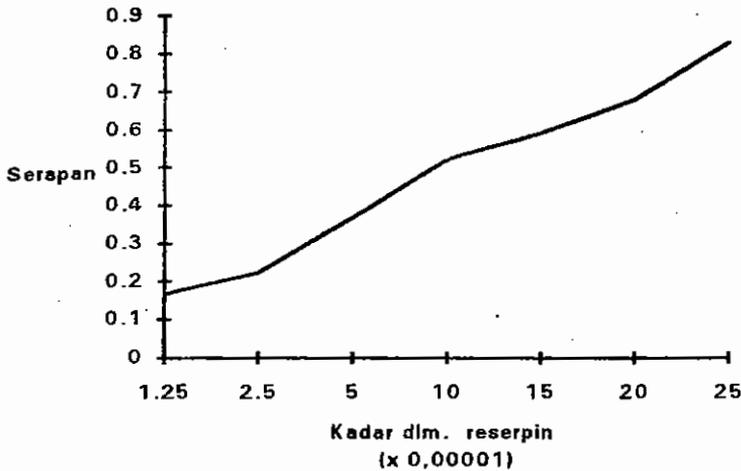
Penetapan Waktu Stabil Serapan

Pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh dari penelitian seperti diatas, diamati perubahan serapan pada waktu-waktu tertentu. Dari tahapan tersebut dapat ditentukan jangka waktu hasil pembacaan serapan yang nilainya hampir sama. Hal ini penting untuk mendapatkan hasil pengukuran yang hampir sama atau reproduibel. Hasil penelitian disajikan dalam gambar 2.

Penentuan waktu stabil pembacaan serapan dilakukan dengan membaca serapan hasil reaksi antara dua macam kadar larutan reserpina dan larutan iodium pada panjang gelombang serapan maksimum. Waktu stabil pembacaan serapan tercapai setelah menit ke 9 sampai dengan menit ke 25 sejak reaksi dimulai atau telah sempurna.



Gambar 2. Waktu stabil pembacaan serapan hasil reaksi larutan reserpina 10^{-4} M (I) dan 5×10^{-5} M (II) dengan larutan iodium 10^{-5} M pada panjang gelombang maksimum (354 nm)



Gambar 3. Hubungan kadar dan serapan

Kurva Hubungan Kadar dan Serapan

Dilakukan analisis dengan menggunakan berbagai macam kadar larutan reserpina yang direaksikan dengan larutan iodium dalam kloroform. Dibiarkan reaksi berlangsung dan setelah 9 menit diamati serapannya pada panjang gelombang 354 nm. Hubungan antara kadar dan serapan seperti gambar 3.

Dengan menggunakan program microsta diperoleh hubungan kadar dan serapan dalam persamaan :

$$Y = 0,261 \cdot 10^{-4} X - 0,188$$

dengan catatan Y = serapan dan X adalah kadar. Koefisien korelasi kedua hubungan adalah 0,9813 sedang uji varian menunjukkan harga F = 130,237. Harga koefisien korelasi yang diperoleh lebih besar dari harga koefisien korelasi tabel untuk taraf kepercayaan 95 %, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa antara kadar reserpina dengan serapan setelah direaksikan menjadi kompleks perpindahan muatan mempunyai hubungan yang linier.

Uji Perolehan Kembali dan Perbandingan dengan Metode Farmakope Indonesia Edisi III

Metode yang dikembangkan dibandingkan dengan metode baku Farmakope Indonesia Edisi III (Anonim, 1979). Bahan yang dianalisis adalah campuran reserpina dengan talk dan laktosa. Hasil uji perbandingan dan perolehan kembali terlihat seperti pada tabel I berikut :

Tabel I. Uji perbandingan dan uji perolehan kembali reserpina (R) dalam campuran dengan talk (T) dan laktosa (L) dengan metode pembentukan kompleks perpindahan muatan dan dengan Farmakope Indonesia III

Campuran reserpina dengan talk			Campuran reserpina dengan laktosa		
Perbandingan R:T	Perolehan kembali*		Perbandingan R:T	Perolehan kembali*	
	FI III	Komplek		FI III	Komplek
9 : 1	97,48	98,64	9 : 1	96,92	99,11
3 : 1	98,07	98,98	3 : 1	98,02	97,74
1 : 1	98,08	97,22	1 : 1	97,22	98,11
1 : 3	98,21	98,32	1 : 3	97,16	96,24
1 : 9	97,82	96,94	1 : 9	97,84	96,56
Purata	97,93	98,02	Purata	97,43	97,55
Simp. baku	0,29	0,89	Simp. baku	0,47	1,17
Koef. variasi	0,29	0,91	Koef. variasi	0,48	1,20

Catatan : *. dinyatakan dalam persen (%) dan dilakukan replikasi sebanyak 5 kali

Membandingkan hasil analisis reserpina dalam campuran dengan talk menurut metode baku Farmakope Indonesia Edisi III dengan metode spektrofotometri perpindahan muatan diperoleh harga uji t student = 0,192, sedang menurut tabel distribusi harga t dengan taraf kepercayaan 95 % dan derajat bebas 8 adalah 2,306. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil analisis menurut metode Farmakope Indonesia Edisi III dan menurut spektrofotometri perpindahan muatan. Sedang untuk perbandingan ketelitian 2 buah metode digunakan nilai uji F (F terhitung = 1,062). Nilai ini lebih kecil dari harga F tabel = 6,16 untuk taraf kepercayaan 95 % dan derajat bebas 4;4, maka ketelitian kedua metode tidak berbeda secara bermakna. Selain itu melihat bahwa nilai koefisien variasi (baik metode Farmakope Indonesia maupun metode spektrofotometri perpindahan muatan lebih kecil dari 5 %) maka dapat disimpulkan bahwa kedua metode mempunyai ketepatan yang cukup baik. Uji ketelitian untuk masing-masing metode dilakukan dengan uji deviasi normal terhadap kadar yang sebenarnya (100 %). Teliti artinya metode dapat menghasilkan nilai rata-rata yang sangat dekat dengan nilai sebenarnya. Ternyata nilai uji deviasi lebih besar (metode FI Edisi III = 16,05 dan spektrofotometri perpindahan muatan = 4,82) dari nilai μ tabel (nilai μ tabel = 1,96 untuk taraf kepercayaan 95 %).

Perbandingan metode Farmakope Indonesia dengan metode spektrofotometri perpindahan muatan untuk penetapan kadar reserpina dalam campuran dengan laktosa menunjukkan bahwa hasil analisis kedua metode tersebut tidak berbeda secara bermakna. Hal ini terbukti dari uji t student yang menunjukkan nilai hasil uji = 0,190 lebih kecil dari t tabel (2,306) untuk taraf kepercayaan 95 % dan derajat bebas 8. Demikian pula untuk membandingkan ketelitian dua metode menunjukkan bahwa kedua metode mempunyai ketelitian yang tidak berbeda secara bermakna terbukti dari nilai uji F yang besarnya 6,097. Hal ini lebih kecil dari nilai F tabel = 6,16 untuk taraf kepercayaan 95 % dan derajat bebas 4;4. Namun uji ketelitian masing-masing metode diperoleh hasil bahwa baik metode spektrofotometri maupun Farmakope Indonesia kurang teliti (uji deviasi normal yang nilainya lebih besar dari nilai μ tabel = 1,96) metode FI Edisi III = 12,24 dan spektrofotometri perpindahan muatan = 4,68) dari nilai μ tabel = 1,96 untuk taraf kepercayaan 95 %.

KESIMPULAN

Berdasar pada hasil penelitian maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Reserpina dapat ditetapkan kadarnya secara spektrofotometri dengan diubah menjadi kompleks perpindahan muatan setelah direaksikan dengan larutan iodium. Panjang gelombang pengukuran 354 nm dan waktu operasional menit ke 9 sampai dengan menit ke 20 setelah reaksi pembentukan kompleks perpindahan muatan.
2. Metode penetapan kadar reserpina secara spektrofotometri setelah pembentukan kompleks perpindahan muatan jika dibandingkan dengan metode baku Farmakope Indonesia menunjukkan hasil analisis yang tidak berbeda secara bermakna. Perbandingan ketelitian kedua metode tidak berbeda secara nyata. Kedua metode menunjukkan ketepatan yang baik.

Saran

Perlu dilakukan penelitian penerapan metode yang dikembangkan untuk analisis sediaan farmasi mengingat dalam sediaan farmasi biasanya ditambah bahan-bahan tambahan lain seperti bahan pengisi, pengikat, dan penghancur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ditujukan kepada Pemimpin Proyek OPF UGM yang telah menyetujui dan membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia Edisi III*, Dep. Kes. RI, Jakarta, hal 554
- Foster R., 1969, *Organic charge transfer complexes*, Academic Press., London.
- Gan, S., 1987, *Farmakologi dan Terapi*, edisi 3, Bagian Farmakologi FK-UI, Jakarta
- Rao, C.N.R., Bhat. S.N., Dwivedi, P.C., *Applied Spectroscopy Review, Vol 5*, Marcel Dekker, New York, p 1-170
- Stetcher, 1984, *The Merck Index*, 12th. ed., Merck & Co Inc., Rahway.
- Taha, A.M., Ahmad, A.K.S., Gomaa, C.S., El-fatatry, H.M., 1974, Charge transfer complexes in alkaloid assay, *J. Pharm Sci.*, 63, p 1853.