

**EDITOR:**

Dr. apt. Lukman La Basy, S.Farm., M.Sc.

apt. Yuri Pratiwi Utami, S.Farm., M.Si.



# ANALISIS BAHAN BAKU FARMASI

Rahmah Mustarin

Dwi Lestari

Suhartini

Nur Ida

Tahirah Hasan

Yatri Hapsari

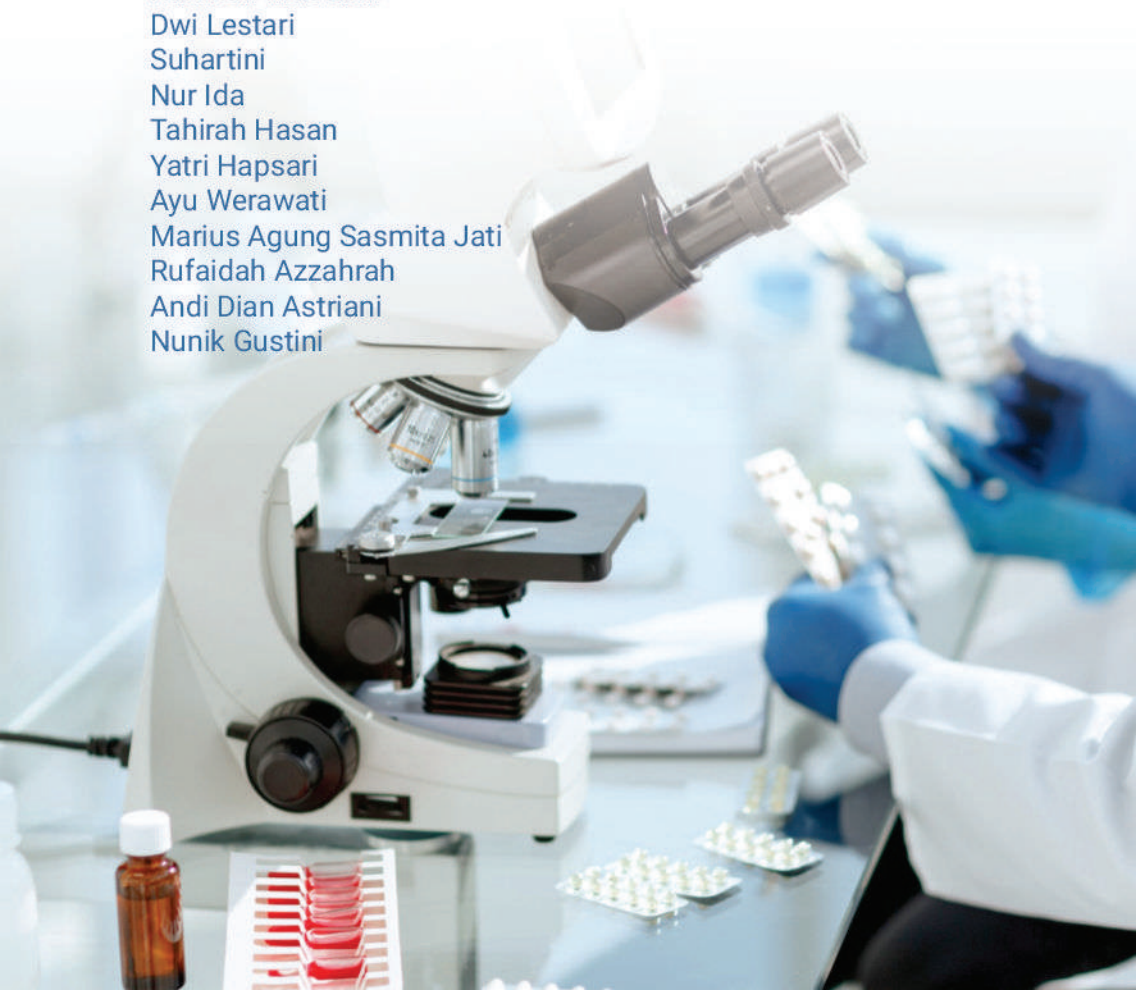
Ayu Werawati

Marius Agung Sasmita Jati

Rufaidah Azzahrah

Andi Dian Astriani

Nunik Gustini



# ANALISIS BAHAN BAKU FARMASI

Buku Analisis Bahan Baku Farmasi yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 11 Bab:

- Bab 1 Dasar-Dasar Analisis Farmasi
- Bab 2 Teknik Penanganan Sampel Farmasi
- Bab 3 Uji Organoleptis
- Bab 4 Uji Kelarutan
- Bab 5 Uji Reaksi Kimia
- Bab 6 Analisis Volumetri
- Bab 7 Pengujian Cemaran
- Bab 8 Spektroskopi
- Bab 9 Uji Stabilitas
- Bab 10 Penentuan Titik Lebur
- Bab 11 Uji Kadar Air

# **ANALISIS BAHAN BAKU FARMASI**

## **Penulis:**

**apt. Rahmah Mustarin, S.Farm., MPH.**  
**Dr. apt. Dwi Lestari, S.Farm., M.Si.**  
**apt. Suhartini, S.Farm., M.Tr.Adm.Kes.**  
**apt. Nur Ida, S.Si., M.Si.**  
**Dr. Tahirah Hasan, M.Si.**  
**Yatri Hapsari, M.Si.**  
**apt. Ayu Werawati, S.Si., M.Farm.**  
**Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc.**  
**apt. Rufaidah Azzahrah, S.Farm., M.Farm.**  
**apt. Andi Dian Astriani, S.Farm., M.Si.**  
**Nunik Gustini, M.Si.**

## **Editor:**

**Dr. apt. Lukman La Basy, S.Farm., M.Sc.**  
**apt. Yuri Pratiwi Utami, S.Farm., M.Si.**



**PENERBIT CV. EUREKA MEDIA AKSARA**

## **ANALISIS BAHAN BAKU FARMASI**

**Penulis** : apt. Rahmah Mustarin, S.Farm., MPH.  
Dr. apt. Dwi Lestari, S.Farm., M.Si.  
apt. Suhartini, S.Farm., M.Tr.Adm.Kes.  
apt. Nur Ida, S.Si., M.Si.  
Dr. Tahirah Hasan, M.Si.  
Yatri Hapsari, M.Si.  
apt. Ayu Werawati, S.Si., M.Farm.  
Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc.  
apt. Rufaidah Azzahrah, S.Farm., M.Farm.  
apt. Andi Dian Astriani, S.Farm., M.Si.  
Nunik Gustini, M.Si.

**Editor** : Dr. apt. Lukman La Basy, S.Farm., M.Sc.  
apt. Yuri Pratiwi Utami, S.Farm., M.Si.

**Desain Sampul** : Eri Setiawan

**Tata Letak** : Sela Puspita Maharani

**ISBN** : 978-634-271-130-9

Diterbitkan oleh : **EUREKA MEDIA AKSARA,**  
**DESEMBER 2025**  
**ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH**  
**NO. 225/JTE/2021**

### **Redaksi:**

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari  
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992  
Surel : eurekamediaaksara@gmail.com  
Cetakan Pertama : 2025

### **All right reserved**

Hak Cipta dilindungi undang-undang  
Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh  
isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun,  
termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman  
lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan buku ini. Penulisan buku merupakan buah karya dari pemikiran penulis yang diberi judul “Analisis Bahan Baku Farmasi”. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan buku ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih pada semua pihak yang telah membantu penyusunan buku ini. Sehingga buku ini bisa hadir di hadapan pembaca.

Buku Analisis Bahan Baku Farmasi yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 11 Bab:

- Bab 1 Dasar-Dasar Analisis Farmasi
- Bab 2 Teknik Penanganan Sampel Farmasi
- Bab 3 Uji Organoleptis
- Bab 4 Uji Kelarutan
- Bab 5 Uji Reaksi Kimia
- Bab 6 Analisis Volumetri
- Bab 7 Pengujian Cemar
- Bab 8 Spektroskopi
- Bab 9 Uji Stabilitas
- Bab 10 Penentuan Titik Lebur
- Bab 11 Uji Kadar Air

Akhir kata penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga buku ini akan membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iv</b>
<b>BAB 1    DASAR-DASAR ANALISIS FARMASI</b>	
<b>Oleh: apt. Rahmah Mustarin, S.Farm., MPH. ....</b>	<b>1</b>
A. Pendahuluan.....	1
B. Pengenalan dan Defenisi.....	3
C. Fungsi Kritis Analisis Bahan Baku Obat (API).....	5
D. Klasifikasi Metode Analisis.....	7
E. Prinsip Dasar Kualitas Data Analisis.....	9
F. Kesimpulan .....	12
DAFTAR PUSTAKA.....	13
<b>BAB 2    TEKNIK PENANGANAN SAMPEL FARMASI</b>	
<b>Oleh: Dr. apt. Dwi Lestari, S.Farm., M.Si. ....</b>	<b>14</b>
A. Pendahuluan.....	14
B. Metode Pengambilan Sampel.....	16
C. Preparasi Sampel.....	19
D. Pertimbangan Kritis dalam Penanganan Sampel .....	20
E. Teknik Penanganan Sampel untuk Analisis Halal ....	22
DAFTAR PUSTAKA.....	28
<b>BAB 3    UJI ORGANOLEPTIS</b>	
<b>Oleh: apt. Suhartini, S.Farm., M.Tr.Adm.Kes.....</b>	<b>30</b>
A. Pendahuluan.....	30
B. Prinsip Dasar Uji Organoleptis.....	34
C. Metodologi Uji Organoleptis .....	37
D. Kesimpulan .....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	43
<b>BAB 4    UJI KELARUTAN</b>	
<b>Oleh: apt. Nur Ida, S.Si., M.Si. ....</b>	<b>45</b>
A. Pendahuluan.....	45
B. Dasar Teori dan Prinsip Kelarutan .....	47
C. Klasifikasi Obat Berdasarkan Kelarutan	
( <i>Biopharmaceutics Classification System – BCS</i> ).....	51
D. Desain Eksperimen Uji Kelarutan.....	55
E. Metode Uji Kelarutan .....	58

	F. Parameter Eksperimen dan Standar Farmakope .....	61
	DAFTAR PUSTAKA .....	66
<b>BAB 5</b>	<b>UJI REAKSI KIMIA</b>	
	<b>Oleh: Dr. Tahirah Hasan, M.Si. ....</b>	<b>72</b>
	A. Pendahuluan .....	72
	B. Penggolongan Bahan Baku Farmasi .....	73
	C. Konsep dan Jenis Uji Reaksi Kimia dalam Analisis Farmasi.....	75
	D. Peranan Uji Reaksi Kimia dalam Pengendalian Mutu dan Identifikasi Bahan Baku Farmasi .....	79
	E. Penerapan Analisis Kimia dalam Industri Farmasi.....	81
	F. Manfaat Penerapan Analisis Kimia dalam Industri Farmasi.....	82
	DAFTAR PUSTAKA .....	84
<b>BAB 6</b>	<b>ANALISIS VOLUMETRI</b>	
	<b>Oleh: Yatri Hapsari, M.Si.....</b>	<b>85</b>
	A. Pendahuluan .....	85
	B. Prinsip Dasar Analisis Volumetri.....	86
	C. Preparasi Larutan Standar.....	86
	D. Jenis-Jenis Titrasi dalam Analisis Bahan Baku Farmasi.....	87
	E. Prosedur Umum Analisis Volumetri .....	90
	F. Validasi Metode Volumetri dalam Bahan Baku Farmasi.....	92
	G. Kelebihan dan Kekurangan Metode Volumetri .....	92
	H. Aplikasi pada Bahan Baku Obat.....	93
	DAFTAR PUSTAKA .....	94
<b>BAB 7</b>	<b>PENGUJIAN CEMARAN</b>	
	<b>Oleh: apt. Ayu Werawati, S.Si., M.Farm. ....</b>	<b>95</b>
	A. Pendahuluan .....	95
	B. Standar dan Regulasi terkait Pengujian Cemaran dalam Analisis Bahan Baku Farmasi.....	97
	C. Klasifikasi Cemaran dalam Bahan Baku Farmasi .....	99
	D. Cemaran Logam Berat .....	102
	E. Residu Pelarut dalam Bahan Baku Farmasi.....	104
	F. Cemaran Pestisida .....	105

	G. Cemaran Nitrosamine .....	107
	DAFTAR PUSTAKA.....	109
<b>BAB 8</b>	<b>SPEKTROSKOPI</b>	
	<b>Oleh: Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc. ....</b>	<b>112</b>
	A. Pendahuluan.....	112
	B. Prinsip Dasar Spektroskopi .....	114
	C. Spektroskopi UV-Vis .....	116
	D. Spektroskopi Inframerah (IR & FTIR) .....	120
	E. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) .....	123
	F. Spektrometri Massa (MS) .....	126
	G. Spektroskopi Atom (AAS & ICP).....	130
	H. Spektroskopi Lain yang Relevan.....	134
	I. Validasi Metode Spektroskopi .....	137
	DAFTAR PUSTAKA.....	139
<b>BAB 9</b>	<b>UJI STABILITAS</b>	
	<b>Oleh: apt. Rufaidah Azzahrah, S.Farm., M.Farm. ....</b>	<b>144</b>
	A. Pendahuluan.....	144
	B. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Stabilitas .....	144
	C. Jenis-Jenis Stabilitas dalam Sediaan Farmasi.....	151
	D. Metode Uji Stabilitas .....	154
	E. Kesimpulan .....	157
	DAFTAR PUSTAKA.....	158
<b>BAB 10</b>	<b>PENENTUAN TITIK LEBUR</b>	
	<b>Oleh: apt. Andi Dian Astriani, S.Farm., M.Si. ....</b>	<b>159</b>
	A. Pendahuluan.....	159
	B. Dasar Teori .....	160
	C. Metode Penentuan Titik Lebur.....	162
	D. Faktor Kritis dalam Pengukuran.....	163
	E. Aplikasi.....	164
	F. Ringkasan .....	164
	G. Soal .....	164
	DAFTAR PUSTAKA.....	167
<b>BAB 11</b>	<b>UJI KADAR AIR</b>	
	<b>Oleh: Nunik Gustini, M.Si.....</b>	<b>168</b>
	A. Pendahuluan.....	168
	B. Jenis-Jenis Air.....	169



C. Metode Pengukuran Kadar Air .....	170
DAFTAR PUSTAKA .....	184
<b>TENTANG PENULIS .....</b>	<b>187</b>



## ANALISIS BAHAN BAKU FARMASI

### Penulis:

apt. Rahmah Mustarin, S.Farm., MPH.  
Dr. apt. Dwi Lestari, S.Farm., M.Si.  
apt. Suhartini, S.Farm., M.Tr.Adm.Kes.  
apt. Nur Ida, S.Si., M.Si.  
Dr. Tahirah Hasan, M.Si.  
Yatri Hapsari, M.Si.  
apt. Ayu Werawati, S.Si., M.Farm.  
Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc.  
apt. Rufaidah Azzahrah, S.Farm., M.Farm.  
apt. Andi Dian Astriani, S.Farm., M.Si.  
Nunik Gustini, M.Si.

### Editor:

Dr. apt. Lukman La Basy, S.Farm., M.Sc.  
apt. Yuri Pratiwi Utami, S.Farm., M.Si.



# BAB

# 1

## DASAR-DASAR ANALISIS FARMASI

apt. Rahmah Mustarin, S.Farm., MPH.

### A. Pendahuluan

Obat adalah produk yang berdampak langsung pada kesehatan dan keselamatan manusia, bukan barang biasa. Akibatnya, jaminan kualitas obat menjadi prioritas utama dalam ilmu farmasi dan industri kesehatan di seluruh dunia. Kontrol kualitas (QC) dan pemastian kualitas (QA) industri bergantung pada analisis farmasi.

Tidak mungkin untuk memastikan bahwa produk terakhir—apakah itu tablet, kapsul, atau injeksi—aman, stabil, dan efektif tanpa prosedur analisis yang andal dan tervalidasi. Kesalahan dalam pemeriksaan dapat menyebabkan obat yang tidak sesuai standar, dosis yang tidak tepat, atau kontaminan yang berbahaya, yang dapat menyebabkan kematian pasien.

Fokus buku ini adalah analisis Bahan Baku Farmasi (BBO), juga dikenal sebagai bahan kimia aktif farmasi (API). API adalah zat kimia yang memiliki efek terapeutik pada obat. Kualitas bahan baku tidak akan pernah melebihi kualitas produk jadi. Oleh karena itu, setiap API yang masuk ke fasilitas produksi harus diuji secara analitik untuk memastikan tiga elemen utama: Identitas untuk memastikan bahwa zat tersebut sesuai dengan kenyataannya. Kemurnian Ini dimaksudkan untuk memastikan bahwa tidak ada zat pengotor, sisa pelarut, atau produk degradasi yang dapat membahayakan atau mengurangi efikasi. Kandungan (*Assay*) yakni memastikan bahwa konsentrasi zat

aktif berada di bawah batas yang diizinkan, biasanya antara 99,0 persen dan 101,0 persen.

Peran Farmakope dan Regulasi. Semua proses analisis farmasi tidak dapat dilakukan secara sembarangan. Metode dan standar kualitas harus mengikuti standar yang ditetapkan oleh otoritas resmi dan badan regulasi internasional diantaranya yaitu : Farmakope yang publikasi resmi (seperti Farmakope Indonesia, USP, Ph. Eur.) yang memberikan monografi standar, batas spesifikasi, dan prosedur analitik yang harus digunakan. Menurut Prinsip Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB/ cGMP) saat ini, semua pengujian harus dilakukan dengan metode yang tervalidasi dan instrumen yang terkalibrasi.

Pembaca dikenalkan dengan bahasa dan prinsip-prinsip utama yang digunakan di seluruh buku melalui bab ini. Variasi antara metode klasik (seperti titrasi, yang digunakan untuk konsentrasi tinggi) dan metode instrumental (seperti HPLC, yang digunakan untuk pemisahan dan analisis impuritas). Pengetahuan tentang prinsip-prinsip kualitas data analitik, seperti akurasi, presisi, dan selektivitas, merupakan dasar untuk semua proses validasi metode. Sebelum beralih ke penggunaan teknik instrumental canggih untuk analisis API dalam dunia nyata, tujuannya adalah untuk memberi pembaca dasar teoretis yang kuat.

Sebelum membahas metode instrumental tertentu, tujuan dari Bab 1 adalah untuk membangun fondasi konseptual. Diskusi akan mencakup analisis farmasi diantaranya definisi dan tujuan, diferensiasi antara metode klasik, yang mencakup titrasi, dan metode instrumental, yang mencakup kromatografi dan spektroskopi. Kualitas data (akurasi, presisi, dan sensitivitas) adalah syarat utama untuk pengujian API. Setelah pembaca memahami dasar-dasar ini, mereka akan dapat memahami kesulitan teknik analisis yang akan dibahas dalam bab-bab berikutnya.

## **B. Pengenalan dan Defenisi**

### **1. Defenisi dan Tujuan Analisis Farmasi**

Analisis Farmasi, juga dikenal sebagai Kimia Analitik Farmasi, adalah bidang ilmu yang menggunakan prinsip Kimia Analitik untuk menemukan, menentukan kemurnian, dan mengukur kandungan atau kuantitas senyawa obat. Studi ini berkonsentrasi pada pengembangan, validasi, dan penerapan teknik pengujian yang memastikan integritas kimiawi produk farmasi. Termasuk pengujian mulai dari bahan baku hingga produk akhir.

- a. Peran Utama: Menjamin Kualitas, Keamanan, dan Efikasi (QSE)
- b. Tujuan utama dari analisis farmasi adalah untuk memastikan pelaksanaan tiga pilar utama keselamatan dan efektivitas obat:
  - 1) Kualitas (Quality): memastikan bahwa produk obat memenuhi spesifikasi yang ditetapkan, seperti dosis, keseragaman kandungan, dan laju disolusi yang tepat. Kontrol Kualitas, juga dikenal sebagai QC, bergantung pada analisis ini.
  - 2) Keamanan (Keselamatan): Memastikan bahwa produk tidak mengandung zat asing yang berbahaya, seperti zat pengotor toksik, sisa pelarut berlebihan, atau kontaminan logam berat.
  - 3) Efikasi (Efektivitas): Menjamin bahwa obat tetap efektif dan stabil hingga akhir masa kedaluwarsa. Uji stabilitas dan disolusi sangat penting untuk memastikan efikasi.

### **2. Klasifikasi Senyawa Farmasi**

Senyawa farmasi dikategorikan menurut fungsinya dalam pembuatan obat.

#### **a. Bahan Baku Obat (BBO)**

- 1) Zat Aktif Farmasi (API) adalah zat atau campuran zat yang dimaksudkan untuk memiliki fungsi farmakologis atau efek langsung lainnya.

- 2) Komponen API bersifat biologis aktif. Identitas, kemurnian (karena batas pengotor yang sangat rendah), dan ketepatan kadar adalah tiga aspek yang sangat diperhatikan dalam analisis BBO.

**b. Zat Tambahan**

- 1) **Definisi:** Item yang termasuk dalam formulasi selain API Meskipun eksipien sangat penting untuk proses pembuatan, stabilitas, dan pelepasan obat, mereka tidak memiliki efek terapeutik pada dosis yang digunakan.
- 2) **Peran:** Berfungsi sebagai pengisi, pengikat, penghancur, atau penambah stabilitas. Sebelum digunakan, eksipien juga harus diuji untuk memastikan kemurniannya.

**c. Produk Jadi (*Finished Pharmaceutical Product*)**

- 1) **Definisi:** Sediaan akhir dalam bentuk apa pun, seperti tablet, injeksi, atau kapsul, yang mengandung campuran API dan eksipien, dikemas, dan siap digunakan oleh pasien.
- 2) **Fokus Analisis:** Keseragaman kandungan, uji dispersi, dan stabilitas keseluruhan adalah bagian dari pengujian produk jadi.

**3. Standar Regulasi dan Farmakope**

Semua kegiatan Analisis Farmasi harus dilakukan dalam kerangka hukum dan ilmiah yang ketat untuk menjamin konsistensi global dalam kualitas obat.

- a. Pentingnya Kepatuhan Farmakope: Farmakope adalah publikasi resmi yang menetapkan standar hukum dan ilmiah untuk identitas, kekuatan, kualitas, dan kemurnian obat. Monografi farmakope, yang disebut dengan nama seperti USP—United States Pharmacopeia, Ph. Eur.—European Pharmacopoeia, atau FI—Farmakope Indonesia, adalah wajib untuk dipasarkan di wilayah yurisdiksi yang bersangkutan.

- b. Regulasi CPOB/cGMP: Protokol Pembuatan Obat yang Baik (cGMP) adalah sistem yang memastikan bahwa produk diproduksi dan dikendalikan secara konsisten sesuai dengan standar kualitas. Dalam analisis farmasi, cGMP harus:
  - 1) Setiap metode pengujian harus divalidasi untuk memastikan bahwa mereka memenuhi tujuannya.
  - 2) Semua alat analisis harus dikalibrasi secara berkala. Kepatuhan terhadap cGMP/CPOB memastikan bahwa hasil analisis yang dilaporkan adalah yang dapat dipertanggungjawabkan dan dapat diandalkan.

### C. Fungsi Kritis Analisis Bahan Baku Obat (API)

Analisis Bahan Baku Obat (*Active Pharmaceutical Ingredient* - API) adalah prasyarat wajib dalam industri farmasi. Fungsi utamanya adalah memastikan bahwa API yang akan digunakan dalam formulasi memiliki kualitas, keamanan, dan potensi yang tepat, sesuai dengan standar Farmakope dan CPOB/cGMP.

#### 1. Penentuan Identitas (*Identily*)

Tujuan penentuan identitas adalah untuk memastikan bahwa API yang diterima adalah zat kimia yang diklaim. Ini mencegah penggunaan bahan baku yang salah atau ilegal.

- a. Tujuan: Memverifikasi autentisitas API karena kesalahan dapat menyebabkan kegagalan terapi atau efek berbahaya.
- b. Metode Utama:
  - 1) Spektrum inframerah (IR): Ini adalah metode standar karena menghasilkan "sidik jari" molekul yang berbeda untuk setiap senyawa. Spektrum sampel harus sama dengan spektrum referensi standar.
  - 2) Uji Titik Leleh: Digunakan untuk zat padat kristalin. Titik leleh zat murni adalah sifat fisik tertentu dari zat tersebut.

- 3) Kromatografi: Menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) atau kromatografi lapis tipis (KLT), Anda dapat membandingkan waktu retensi dengan standar referensi.

## **2. Penentuan Kemurnian**

Penentuan Kemurnian adalah serangkaian pengujian yang dirancang untuk mengidentifikasi dan mengukur keberadaan kontaminan (zat pengotor) dalam API. Kontaminan dapat mengurangi efikasi atau meningkatkan toksisitas.

### **a. Zat Pengotor Organik (*Organic Impurities*)**

- 1) Definisi: Zat pengotor yang terkait dengan struktur API, seperti intermediat, produk sampingan sintesis, atau produk degradasi yang terbentuk selama penyimpanan.
- 2) Pengujian: HPLC memiliki kemampuan untuk membedakan API dari pengotornya. Untuk mengidentifikasinya, itu menggunakan spektrometri massa atau UV. Pedoman ICH Q3A mengatur kontrol pengotor, yang sangat ketat dalam hal pelaporan dan identifikasi.

### **b. Sisa Pelarut (*Residual Solvents*)**

- 1) Definisi : Pelarut organik yang digunakan atau dibuat selama proses sintesis API
- 2) Pengujian: Pelarut diklasifikasikan menurut potensi toksisitasnya, dengan Kelas 1 menunjukkan tingkat yang paling berbahaya, dan Kelas 3 menunjukkan tingkat yang paling rendah. Karena sifat pelarut yang mudah menguap, sisa pelarut diukur menggunakan kromatografi gas (GC).

### **c. Kontaminan Logam Berat (*Heavy Metal Contaminants*)**

- 1) Definisi: Kontaminan logam anorganik seperti timbal, kadmium, Merkuri, dan arsen yang berasal dari katalis, reagen, atau peralatan yang digunakan untuk membuat produk.



- 2) Pengujian: Pedoman ICH Q3D menetapkan batas paparan harian yang diizinkan (Perizinan paparan harian - PDE). Teknik yang sangat sensitif, seperti spektrometri serapan atom (AAS) atau spektrometri emisi atom plasma berpasangan induktif (ICP-OES/MS), digunakan untuk mengukur logam-logam ini.

### **3. Pengukuran Kandungan (Assay)**

Pengukuran Kandungan (Assay) adalah pengukuran kuantitatif seberapa banyak zat aktif yang sebenarnya ada dalam sampel API. Tujuan: Menjamin bahwa potensi API berada dalam batas spesifikasi yang sangat ketat, biasanya dari 99.0% hingga 101.0% untuk memastikan dosis yang tepat saat API diformulasikan menjadi produk jadi. Metode Utama diantaranya:

- a. Titrasi adalah metode kimia klasik yang sangat efektif untuk API dengan konsentrasi dan kemurnian tinggi.
- b. HPLC: Metode instrumental yang paling umum menggunakan area puncak kromatogram dibandingkan dengan standar referensi.
- c. Spektrum fotometri UV-Vis: Jika tidak ada interferensi dari zat lain, digunakan.

## **D. Klasifikasi Metode Analisis**

Metode Analisis Farmasi secara luas dibagi menjadi dua kategori berdasarkan prinsip dasar yang digunakan: metode konvensional (kimia klasik) dan metode instrumental (kimia modern).

### **1. Metode Konvensional (Kimia Klasik)**

Metode ini didasarkan pada pengukuran massa atau volume dan reaksi kimia stoikiometri. Metode klasik menonjol karena akurasi intrinsik, kesederhanaan peralatan, dan biaya operasional yang rendah. Akibatnya, metode ini menjadi standar untuk pengujian kadar API dengan konsentrasi tinggi.

- a. Titrasi, atau analisis volumetri, bekerja dengan mengukur volume larutan pereaksi standar (titran) dengan konsentrasi yang diketahui yang diperlukan untuk bereaksi secara kuantitatif dan sempurna dengan analit. Saat konsentrasinya mendekati 100%, titrasi sangat akurat untuk menentukan kadar API pada bahan baku.
- b. Gravimetri: Ketika analit dapat diisolasi secara kuantitatif, metode ini digunakan untuk menimbang analitik secara langsung setelah diubah menjadi bentuk yang sangat murni dan stabil dengan komposisi kimia yang diketahui (biasanya melalui pengendapan atau volatilisasi).

## 2. Metode Instrumental (Kimia Modern)

Metode ini digunakan untuk mengukur sifat fisik atau fisikokimia analit yang dihasilkan dari interaksi zat dengan energi seperti cahaya, listrik, dan panas. Metode instrumental sangat penting untuk analisis impuritas dan bioanalisis karena sensitivitas, spesifisitas, dan kecepatan yang tinggi.

- a. Prinsip Dasar Kromatografi (Pemisahan): Kromatografi adalah teknik pemisahan fisika-kimia di mana campuran dipisahkan menjadi bagian-bagiannya. Ini dilakukan karena perbedaan laju migrasi fase diam saat fase gerak membawa campuran ke dalamnya.

Aplikasi: Alat utama untuk menguji kemurnian API adalah metode HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*). Metode ini membedakan API dari zat pengotor struktural, produk degradasi, dan sisa pelarut.

- b. Prinsip Dasar Spektroskopi (Interaksi Energi-Materi): Spektroskopi mengukur interaksi antara energi radiasi elektromagnetik (seperti cahaya) dengan molekul analit. Aplikasi: Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengukur kadar dan disolusi karena kesederhanaannya (mengukur penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu). Spektrometri Massa (MS) dan spektroskopi inframerah digunakan untuk mengkonfirmasi identitas dan menjelaskan struktur impuritas karena member

### 3. Faktor Pemilihan Metode

Pilihan metode analisis adalah langkah penting yang harus dilakukan berdasarkan tujuan pengujian dan keterbatasan praktis.

- a. Sifat Analit: Instrumen yang digunakan ditentukan oleh sifat termal dan kelarutan analit. Misalnya, senyawa yang tidak stabil terhadap panas perlu diuji menggunakan HPLC daripada kromatografi gas (GC).
- b. Konsentrasi Analit: konsentrasi target menentukan sensitivitas yang dibutuhkan. Analisis kadar API (tinggi, 100%) dapat menggunakan titrasi, sementara analisis zat pengotor (rendah, ppm atau ppb) wajib menggunakan metode instrumental sensitif seperti LC-MS.
- c. Matriks Sampel: Matriks sederhana (API murni) memungkinkan metode sederhana; matriks kompleks (tablet, plasma) memerlukan metode yang sangat selektif seperti HPLC untuk pemisahan, sementara analisis kadar API (tinggi, 100 persen) membutuhkan titrasi.
- d. Biaya dan Waktu (Throughput): Jika analisis volume sampel tinggi dan kecepatan tinggi diperlukan, investasi pada instrumen otomatis (seperti UPLC) dibenarkan meskipun biaya awalnya tinggi. Namun, metode konvensional memiliki biaya operasional rendah.

### E. Prinsip Dasar Kualitas Data Analisis

Untuk memastikan bahwa keputusan tentang kualitas dan keamanan obat adalah benar, kualitas data yang dihasilkan dari analisis farmasi harus dijamin. Prinsip ini dicapai melalui validasi dan evaluasi parameter kinerja metode yang ketat.

#### 1. Validasi Metode: *Fit For Purpose*

Konsep utama dari validitas metode menetapkan bahwa metode analitik (seperti HPLC, titrasi, dan LC-MS/MS) harus diuji dan dibuktikan secara eksperimental serta terdokumentasi untuk memastikan bahwa metode tersebut sesuai dengan tujuan penggunaannya.

- a. Pentingnya Bukti: Validitas menjamin bahwa hasil yang diperoleh dari suatu proses dapat dipercaya dan andal. Secara regulasi, data dianggap tidak dapat diterima jika tidak divalidasi. Validasi dalam analisis bahan baku obat (API) memastikan bahwa metode yang digunakan untuk mengukur kemurnian dan kadar menghasilkan hasil yang tepat.
- b. Implikasi Regulasi: Pedoman *Good Manufacturing Practice* (CPOB) saat ini dan pedoman dari lembaga regulasi seperti FDA dan EMA memerlukan validitas untuk memastikan produk aman dan efisien.

## 2. Parameter Kualitas Kritis

Parameter ini adalah ukuran kuantitatif yang digunakan selama validasi untuk menilai performa metode.

### a. Akurasi dan Presisi

- 1) Akurasi (Ketepatan): menunjukkan seberapa dekat hasil yang diukur dengan nilai sebenarnya analit, atau nilai sebenarnya. Akurasi memastikan jumlah yang dilaporkan benar.
- 2) Presisi (Ketelitian/Keterulangan): Pengukuran tingkat kesepakatan antara beberapa pengukuran independen pada sampel yang sama. Koefisien Variasi (%CV) digunakan untuk mengukur presisi, yang diukur melalui pengulangan (repeatability) dan presisi antara (intermediate precision). Metode yang konsisten dan dapat diulang dijamin oleh pengawasan

### b. Selektivitas/Spesifisitas

- 1) Definisi: Kemampuan metode untuk mengukur analit target (API) secara eksklusif tanpa mengganggu komponen lain yang mungkin ada. Contoh komponen ini termasuk zat pengotor, produk degradasi, zat tambahan (eksipien), atau bagian matriks.
- 2) Signifikansi: Spesifisitas adalah penting. Sebagai contoh, untuk mengukur kadar API tanpa mengganggu, metode HPLC harus dapat memisahkan API dari semua zat pengotornya.

**c. Sensitivitas dan Linearitas**

- 1) Sensitivitas adalah tingkat kemampuan metode untuk mengidentifikasi dan mengukur perubahan konsentrasi kecil. Untuk menganalisis impuritas yang ada dalam jumlah jejak, sensitivitas tinggi diperlukan.
- 2) Linearitas: Menentukan bahwa respons detektor, seperti luas area puncak kromatogram, sebanding dengan konsentrasi analit di seluruh rentang uji. Koefisien korelasi ( $r$ ) mendekati 1.0 menunjukkan linearitas.

**3. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)**

LOD dan LOQ adalah parameter sensitivitas yang memiliki fungsi berbeda, terutama dalam pengujian kemurnian API.

**a. Batas Deteksi (*Limit of Detection* / LOD):**

- 1) Definisi: Konsentrasi analit terendah yang dapat diamati, yang dapat diidentifikasi melalui blanko atau kebisingan latar belakang, tetapi belum tentu dapat diukur secara akurat.
- 2) Relevansi: LOD digunakan untuk tujuan kualitatif; dalam pengujian kemurnian, LOD digunakan untuk memastikan bahwa tidak ada zat pengotor minor di bawah ambang batas yang dapat diidentifikasi.

**b. Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification* / LOQ):**

- 1) Sebuah definisi adalah konsentrasi analit terendah yang dapat diukur secara akurat dan presisi dengan tingkat yang dapat diterima (misalnya, 10% akurasi dan 10% CV).
- 2) Relevansi: Untuk tujuan kuantitatif, LOQ digunakan untuk mengukur dan melaporkan kandungan zat pengotor yang berada pada level rendah dalam analisis API. LOQ juga merupakan batas bawah rentang dinamis metode.

## F. Kesimpulan

Analisis farmasi adalah bidang ilmu yang sangat penting untuk menjamin Kualitas, Keamanan, dan Efikasi (QSE) obat. Tugas analisis farmasi tidak hanya mengukur kualitas obat, tetapi juga bertindak sebagai garda terdepan dalam mematuhi peraturan farmakope dan CPOB/cGMP.

Fungsi Penting Bahan Baku Obat (API) dalam Analisis Farmasi:

1. Penentuan Kemurnian: Mengukur keberadaan dan batas zat pengotor, sisa pelarut, dan logam berat, yang merupakan faktor penting dalam keamanan produk.
2. Identitas: Mengonfirmasi keaslian API melalui metode seperti spektroskopi IR.
3. Pengukuran Kandungan (Assay): Menjamin bahwa potensi API akan berada dalam batas sempit (99.0 persen-101.0 persen) untuk memastikan dosis yang tepat.

Pemilihan metode konvensional (seperti titrasi untuk kadar tinggi) atau instrumental (seperti HPLC untuk pemisahan dan analisis impuritas) sangat penting untuk kesuksesan analisis.

Pada akhirnya, prinsip kualitas data yang ketat harus digunakan untuk menguji dan memvalidasi setiap metode. Konsep validitas metode memastikan bahwa metode memenuhi parameter penting seperti Akurasi, Presisi, Selektivitas, dan Sensitivitas (LOD/LOQ).

Dasar-Dasar Analisis Farmasi adalah pondasi ilmiah dan regulasi yang menjamin integritas kimiawi API. Penguasaan konsep ini sangat diperlukan sebelum melanjutkan ke aplikasi praktis teknik instrumental canggih dalam pengujian obat.

## DAFTAR PUSTAKA

- European Pharmacopoeia 2024., 11th Edition: Residual Solvents.
- FDA Guidance for Industry: Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics, 2021
- FDA Guidance for Industry: Quality System Regulation, 2021
- Gupta, R., 2023., *Best Practices in Analytical Method Validation in Pharmaceutical Industry*.
- ICH Q2(R1): Validation of Analytical Procedures, 2022
- ICH Q3A(R2): Impurities in New Drug Substances, 2022
- ICH Q3D(R1): Guideline for Elemental Impurities, 2020
- ICH Q7: Good Manufacturing Practice Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients, 2020
- Korfmacher, W. A., 2021., *Bioanalysis for the Pharmaceutical Industry*.
- Mishra, D., 2023., *Pharmaceutical Analysis and Drug Quality Assurance*.
- Shah, V. P., 2021., *Principles of Pharmaceutical Analysis*.
- Snyder, L. R., et al., 2020., *Practical HPLC Method Development*.

# BAB 2

## TEKNIK PENANGANAN SAMPEL FARMASI

**Dr. apt. Dwi Lestari, S.Farm., M.Si.**

### **A. Pendahuluan**

Dalam era farmasi modern yang diwarnai dengan kompleksitas formulasi dan regulasi yang ketat, jaminan terhadap kualitas, keamanan, dan efikasi produk obat merupakan sebuah imperatif mutlak. Landasan dari jaminan mutu ini terletak pada data analitik yang andal dan akurat, yang dihasilkan dari serangkaian proses yang saling terkait. Namun, rantai analitik ini hanya sekuat mata rantainya yang paling lemah. Seringkali, mata rantai yang paling kritis dan menentukan justru bukan terletak pada instrumen analitik yang canggih, melainkan pada tahap paling awal dan fundamental: teknik penanganan sampel (Swartz, 2010). Tahapan inilah yang menjadi penjaga gawang pertama bagi integritas data dan keputusan mutu produk. (Paragraf 2)

Teknik penanganan sampel farmasi merupakan suatu disiplin ilmiah yang mencakup serangkaian prosedur sistematis, mulai dari pengambilan sampel yang representatif, preparasi, hingga penyiapan sampel sebelum injeksi ke dalam instrumen. Proses ini jauh lebih dari sekadar persiapan rutin; ini adalah tahap di mana bias analitik paling signifikan dapat diperkenalkan atau justru dicegah (Harris, 2010). Dalam konteks analisis menggunakan teknik pemisahan dan identifikasi mutakhir seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC), Kromatografi Gas (GC), dan Kromatografi Gas-Spektrometri



Massa (GC-MS), kesalahan dalam penanganan sampel dapat berdampak fatal, menghasilkan data yang tidak akurat yang berpotensi mengarah pada penarikan kesimpulan yang keliru mengenai kualitas produk.

Tantangan utama dalam penanganan sampel farmasi berasal dari keragaman dan kompleksitas matriks sampel itu sendiri. Mulai dari bahan baku homogen, tablet dengan ekscipien yang beragam, sediaan semipadat, hingga formulasi sirup, masing-masing menciptakan lingkungan kimia yang unik. Matriks kompleks ini dapat mengganggu deteksi dan kuantifikasi analit target, menyebabkan fenomena seperti matriks effect dalam spektrometri massa atau munculnya puncak interferensi dalam kromatogram (Ahuja & Rasmussen, 2007). Oleh karena itu, tujuan utama persiapan sampel adalah mengekstrak dan memurnikan analit dari "kebisingan" latar belakang ini, sehingga sinyal yang diterima oleh detektor benar-benar spesifik.

Keberhasilan seluruh proses analitik sangat bergantung pada langkah paling awal, yaitu pengambilan sampel yang representatif. Teknik pengambilan sampel yang tidak tepat, baik untuk bahan baku, produk jadi, maupun permukaan peralatan produksi (misalnya dengan swab atau rinse sampling), akan menyebabkan sampel yang dianalisis tidak mewakili keseluruhan batch atau permukaan yang dimaksud (WHO, 2005). Prinsip-prinsip statistik dalam random sampling dan kepatuhan terhadap pedoman yang berlaku, seperti yang ditetapkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) atau ISO, adalah kunci untuk memastikan bahwa kesimpulan yang ditarik dari sejumlah kecil sampel tersebut valid untuk populasi asalnya.

Oleh karena itu, penanganan sampel farmasi harus dilaksanakan sebagai suatu sistem terpadu yang berlangsung di bawah kendali ketat dan terdokumentasi dengan baik. Aspek-aspek kritis seperti kondisi lingkungan yang terkontrol (suhu, kelembaban), pencegahan kontaminasi silang, penjagaan stabilitas sampel, dan penggunaan peralatan yang tepat dan

divalidasi, semuanya diatur dalam kerangka Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB/GMP) dan panduan lainnya (Kementerian Kesehatan RI, 2021). Validasi metode penanganan dan preparasi sampel merupakan bukti objektif bahwa prosedur yang digunakan konsisten menghasilkan sampel yang siap analisis dengan integritas yang terpelihara.

Pada akhirnya, teknik penanganan sampel yang unggul merupakan fondasi yang memungkinkan kekuatan resolusi tinggi dan sensitivitas dari instrumen analitik modern dapat diwujudkan secara penuh dan bermakna. Ia berfungsi sebagai jembatan yang mentransformasi sampel farmasi "dunia nyata" yang kompleks menjadi bentuk yang dapat "dibaca" secara akurat oleh instrumen.

Dengan demikian, penguasaan dan penerapan teknik penanganan sampel yang tepat, robust, dan terdokumentasi bukanlah sebuah pilihan, melainkan prasyarat mutlak untuk menghasilkan data analitik yang dapat dipertahankan validitasnya, yang pada akhirnya menjamin obat yang beredar di masyarakat adalah produk yang memenuhi standar mutu, keamanan, dan kemanfaatan yang telah ditetapkan. Bab ini akan membahas secara komprehensif metodologi pengambilan sampel, teknik persiapan sampel, dan pertimbangan-pertimbangan kritis dalam penanganan sampel farmasi.

## **B. Metode Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel adalah proses pengambilan sebagian material dari suatu batch yang mewakili karakteristik batch tersebut secara keseluruhan. Pemilihan metode sampling yang tepat sangat menentukan keberhasilan proses analisis lebih lanjut.

Penanganan sampel farmasi merupakan tahap kritis dalam rantai pengendalian mutu produk farmasi. Proses ini mencakup serangkaian kegiatan sistematis mulai dari pengambilan, persiapan, hingga pengujian sampel untuk memastikan kualitas, keamanan, dan kemanfaatan produk akhir. Kesalahan dalam penanganan sampel dapat

menyebabkan hasil analisis yang tidak akurat, yang berpotensi mengakibatkan produk yang sebenarnya memenuhi spesifikasi justru ditolak, atau sebaliknya, produk substandar lolos ke pasaran (WHO, 2011).

Kompatibilitas antara sampel yang telah dipersiapkan dan instrumen analitik target merupakan pertimbangan yang tidak dapat ditawar. Sebagai contoh, analisis GC dan GC-MS mensyaratkan sampel memiliki volatilitas yang memadai. Untuk analit yang tidak mudah menguap atau tidak stabil secara termal, prosedur derivatisasi kimia seringkali harus diintegrasikan ke dalam protokol persiapan sampel untuk memastikan volatilitas dan stabilitas yang memadai selama analisis (McMaster, 2008). Demikian pula, untuk teknik HPLC, pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak sampel harus kompatibel dengan fase gerak untuk mencegah gangguan pada keseimbangan kolom dan distorsi puncak kromatografi.

Sensitivitas tinggi yang ditawarkan oleh detektor modern seperti spektrometer massa justru menuntut tingkat "kebersihan" sampel yang sangat tinggi. Kontaminan yang berasal dari wadah sampel, reagen, atau proses ekstraksi yang tidak sempurna dapat menyebabkan supresi ion, peningkatan noise dasar, atau munculnya puncak-artifak yang menyulitkan interpretasi data (Kearle & Verkerk, 2009). Teknik pemurnian lanjutan seperti Ekstraksi Fasa Padat (SPE) dan filtrasi menjadi sangat penting tidak hanya untuk melindungi komponen instrumental yang mahal, tetapi lebih jauh untuk memastikan spesifisitas dan akurasi hasil pengukuran.

## **1. Prinsip dan Strategi Pengambilan Sampel**

Strategi pengambilan sampel dirancang untuk memastikan sampel yang diambil bersifat representatif. Dua pendekatan utama yang digunakan adalah:

- a. Random Sampling (*Probability Sampling*): Setiap unit dalam populasi memiliki peluang yang sama untuk terpilih. Metode ini menghilangkan bias dan sangat direkomendasikan untuk validasi proses dan pengujian rutin. Contohnya adalah simple random sampling

menggunakan tabel angka acak atau software generator acak (ICH, 2022).

- b. **Non-Random Sampling (*Non-Probability Sampling*):** Digunakan dalam situasi tertentu dimana random sampling tidak memungkinkan atau tidak praktis, seperti investigasi terhadap kecurigaan kontaminasi pada unit tertentu (*judgmental sampling*). Meskipun demikian, penggunaannya harus didokumentasikan dengan jelas beserta justifikasinya.

## **2. Teknik Pengambilan Sampel Berdasarkan Matriks**

Teknik pengambilan sampel bervariasi tergantung pada bentuk sediaan dan permukaan yang akan diuji.

### **a. *Sweep Sampling (Sampling Usap)***

Prinsip, menggunakan swab steril (biasanya dari bahan seperti kain atau poliester) yang dibasahi dengan pelarut yang sesuai untuk mengusap permukaan area tertentu (misalnya: permukaan mesin, meja kerja, peralatan).

Untuk monitoring kebersihan permukaan dan deteksi residu produk atau kontaminan mikroba di area produksi.

Prosedurnya, swab digosokkan secara sistematis pada area yang telah ditentukan (misalnya, area 10x10 cm), kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi pelarut untuk ekstraksi lebih lanjut.

### **b. *Rinse Sampling (Sampling Bilas)***

Prinsip dari metode ini melibatkan pembilasan permukaan peralatan yang sulit dijangkau (seperti tangki, pipa, atau hose) dengan sejumlah volume pelarut yang diketahui (seperti Water for Injection atau buffer).

Ideal untuk peralatan tertutup dan sistem pemipaan (*plumbing*) dimana akses fisik untuk swab tidak memungkinkan.

Prosedur untuk pelarut didaur ulang atau diagitasi di dalam peralatan untuk memastikan kontak dengan seluruh permukaan bagian dalam, kemudian cairan bilasan dikumpulkan sebagai sampel.

**c. Pengambilan Sampel dari Bahan Baku dan Produk Jadi**

Untuk bahan baku serbuk, alat thief sampler atau sample spear sering digunakan untuk mengambil sampel dari kedalaman yang berbeda dalam wadah.

Untuk produk cair, dapat digunakan alat dip-type sampler atau dengan mengambil aliquot dari aliran cairan selama proses pengisian.

**C. Preparasi Sampel**

Setelah sampel diperoleh, sampel seringkali perlu dipersiapkan sebelum analisis untuk memastikan homogenitas dan kompatibilitas dengan instrumen analitik.

**1. Homogenisasi**

Tujuan homogenisasi adalah untuk menciptakan sampel yang seragam sehingga sub-sampel yang dianalisis benar-benar mewakili keseluruhan sampel.

- a. Untuk Padatan: Digunakan penggerus (grinder), blender, atau mortar and pestle. Untuk Cairan Kental: Digunakan pengaduk magnetik, homogenizer berkecepatan tinggi, atau ultrasonikator.
- b. Untuk Suspensi: Diaduk secara konstan atau dihomogenisasi untuk mencegah segregasi partikel.

**2. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan analit dari matriks sampel ke dalam pelarut yang cocok untuk dianalisis.

- a. Teknik: Meliputi ekstraksi cair-cair, ekstraksi padat-cair (Soxhlet, ekstraksi berkecepatan dengan pelarut), dan ekstraksi fasa padat (Solid-Phase Extraction/SPE).
- b. Pemilihan Pelarut: Harus mempertimbangkan polaritas, kelarutan analit, dan kompatibilitas dengan metode kromatografi seperti HPLC atau GC.

### **3. Pemurnian (*Clean-up*)**

Tahap ini diperlukan untuk menghilangkan interferen yang dapat mengganggu deteksi dan kuantifikasi analit.

- a. Metode: SPE adalah metode yang paling umum, dimana sampel dilewatkan melalui kartrid yang berisi sorben tertentu. Analit akan terikat, sementara interferen dibuang, lalu analit dielusi dengan pelarut yang kuat.
- b. Teknik Lain: Meliputi presipitasi protein (untuk sampel biologis) dan filtrasi.

## **D. Pertimbangan Kritis dalam Penanganan Sampel**

### **1. Sterilitas dan Kondisi Lingkungan**

Pengambilan dan penanganan sampel, terutama untuk produk steril, harus dilakukan di area yang terkontrol ketat.

Sesuai dengan klasifikasi A, B, C, dan D seperti yang diatur dalam GMP. Pengendalian Lingkungan: Suhu, kelembaban relatif, dan tekanan diferensial harus dimonitor dan dicatat untuk mencegah kontaminasi silang dan memastikan stabilitas sampel.

### **2. Pencegahan Kontaminasi**

Kontaminasi dapat berasal dari personel, lingkungan, peralatan, atau dari sampel lain. Prosedur: Personel harus terlatih dan menggunakan Personal Protective Equipment (PPE) yang sesuai.

Semua peralatan yang kontak dengan sampel harus bersih, disanitasi, atau disterilkan, dan bebas dari residu. Blanks: Penggunaan blank (misalnya, method blank atau swab blank) harus dilakukan untuk memverifikasi bahwa tidak ada kontaminasi yang berasal dari proses pengambilan atau analisis.

### **3. Kesesuaian Analisis**

Metode persiapan sampel harus selaras dengan metode analitik yang akan digunakan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi atau rekonstitusi harus kompatibel dengan fase gerak dalam kromatografi.

Sampel yang telah dipersiapkan harus dianalisis dalam timeframe stabilitas yang telah divalidasi. Metode persiapan untuk tablet akan sangat berbeda dengan metode untuk krim atau sirup.

#### **4. Validasi dan Pemenuhan Standar**

Seluruh proses penanganan sampel harus divalidasi dan mengikuti standar yang diakui untuk menjamin keabsahan data. Metode pengambilan dan persiapan sampel harus divalidasi untuk membuktikan bahwa metode tersebut memberikan hasil yang akurat, presisi, dan robust.

Beberapa manual seperti:

1. WHO Technical Report Series, No. 929, Annex 4 memberikan panduan tentang praktek sampling untuk produk farmasi.
2. ISO 2859: Seri standar ini memberikan prosedur untuk sampling dalam inspeksi berdasarkan atribut.
3. GMP/CPOB: Menekankan pentingnya prosedur sampling yang terdokumentasi dan personel yang terlatih.
4. ICH Q2(R1): memberikan panduan tentang validasi metode analitik, yang juga mencakup aspek preparasi sampel.

Teknik penanganan sampel farmasi merupakan elemen fundamental yang tidak terpisahkan dari sistem jaminan mutu di industri farmasi. Integrasi yang harmonis antara pemilihan metode pengambilan sampel yang representatif (seperti sweep dan rinse sampling), teknik persiapan sampel yang tepat (seperti homogenisasi dan ekstraksi), serta kepatuhan terhadap prinsip-prinsip kritis (sterilitas, pencegahan kontaminasi, dan validasi) sangat menentukan keakuratan dan keandalan hasil pengujian. Penerapan standar yang ketat seperti GMP dan pedoman WHO memastikan bahwa setiap langkah dalam penanganan sampel terdokumentasi, terkendali, dan dapat ditelusuri, yang pada akhirnya menjamin bahwa produk farmasi yang sampai ke tangan konsisten memiliki kualitas, keamanan, dan khasiat yang dijanjikan.

## **E. Teknik Penanganan Sampel untuk Analisis Halal**

### **1. Alat dan Bahan**

Seperangkat alat spektroskopi FTIR (Thermo Scientific Nicolet iS10), dengan detektor DTGS (Deuterated TriGlycerineSulphate) dan dihubungkan ke komputer dengan sistem operasi Windows dan software OMNIC, seperangkat alat spektroskopi NMR (Jeol ECZ-R 500 MHz), seperangkat alat Gas Chromatography-Mass Spectrometry (G-CMS) QP-2010 SE (Shimadzu), seperangkat alat Real-time PCR QuantStudio 3 Applied Biosystems™ A29214 (Thermo Fisher Scientific), FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, Austria), seperangkat alat uji kuantitas dan kemurnian DNA (NANO-Quant SPARK TECAN), vortex, sentrifuge, waterbath, neraca analitik berkepekaan 0,1 mg (Mettler Toledo), mikropipet, autoklaf, membran Millex 0,45µm Millipore, seperangkat alat soxhlet dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium kimia dan biologi molekuler.

Daging sapi, ayam, babi dan anjing untuk pembuatan bakso dibeli di pasar lokal. Akua bidestilata (Otsuka), metanol, diklorometana, natrium hidroksida, natrium klorida, natrium sulfat anhidrat, petroleum eter, asam klorida, n-heksana, SensiFAST SYBR® No-ROX Mix (Sigma-Aldrich) dan sepasang primer ND6 yang telah dirancang sebelumnya menggunakan perangkat lunak Integrated DNA Technologies (IDT, California, USA) secara *in silico* menggunakan nomor MW209726.1. Reagen dan pelarut yang digunakan adalah kelas pro analitis (Merck).

### **2. Prosedur Penyiapan Sampel**

#### **a. Persiapan bakso dan sosis referensi**

Pembuatan sampel bakso dan sosis referensi, daging sapi dan daging tikus segar ditiriskan. Dibuat bakso dan sosis referensi (daging sapi, daging tikus dan campuran daging sapi-daging tikus yang diketahui kadarnya). Daging sapi dan daging tikus diiris dan digiling terpisah. Kadar pada bakso referensi dibuat



bervariasi pada 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75% dan 100%. Bakso dan sosis dibuat dengan mengemulsi 90% daging dan menambahkan 10% (tepung kanji, bawang putih bubuk, lada bubuk dan garam) kedalam campuran. Untuk bakso referensi campuran daging dibentuk menjadi bola dan kemudian dimasak dalam air mendidih (100°C) selama 10-20 menit, dan untuk sosis campuran daging dimasukkan kedalam selongsong sosis dan direbus dalam air mendidih (100°C) selama 15 menit. Sebelum ekstraksi dan dianalisis, bakso dan sosis referensi dihaluskan menggunakan blender.

**Tabel 2.1** Komposisi Model Sampel Bakso ataupun Sosis yang Mengandung Daging Sapi dan Daging Tikus

No	Sampel	Daging Sapi (%)	Daging Tikus (%)
1	Bakso/sosis sapi	100	0
2	Bakso/sosis tikus	0	100
3	Bakso/sosis 10%	90	10
4	Bakso/sosis 20%	80	20
5	Bakso/sosis 30%	70	30
6	Bakso/sosis 40%	60	40
7	Bakso/sosis 50%	50	50
8	Bakso/sosis 75%	25	75

## **b. Ekstraksi lemak untuk analisis spektroskopi FTIR**

### **1) Metode *Bligh Dyer***

Sebanyak 20,0 g bakso ataupun sosis cincang ditempatkan ke dalam labu Erlenmeyer. Sampel dihidrolisis menggunakan HCL 1 N sebanyak 200 mL kemudian dipanaskan menggunakan waterbath 60 – 65°C selama 15–25 menit, kemudian sampel di saring (Hewavitharana et al., 2020). Selanjutnya sampel ditambahkan 60 mL diklorometana-metanol (1:2 v/v) ke dalam masing-masing tabung. Campuran divorteks selama 15 menit, disentrifugasi (10 menit, 3000 rpm), dan disaring dengan kertas saring. Filtrat dari masing-

masing tabung dikumpulkan bersama dalam corong pisah. Residu yang tertinggal di dalam tabung ditambahkan 20 mL diklorometana, divorteks selama 15 menit, disentrifugasi (10 menit, 3000 rpm), dan disaring dengan kertas saring. Filtrat ditampung dengan filtrat sebelumnya. Filtrat dicampur dengan 20 mL akua bidestilata dan dikocok kuat-kuat. Campuran didiamkan sampai muncul sistem bifasik. Fase air bagian atas dibuang. Fase bawah (diklorometana) dipisahkan melalui natrium sulfat anhidrat. Diklorometana diuapkan menggunakan vacum rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak lemak kemudian dipindahkan ke dalam vial dan diuapkan pada suhu 40°C menggunakan oven sampai pelarut benar-benar hilang (Bligh dan Dyer, 1959; Pebriana et al., 2017; Pérez-Palacios et al., 2008).

## **2) Metode Folch**

Sebanyak 20,0 gram sampel bakso ataupun sosis cincang ditempatkan ke dalam labu Erlenmeyer. Sampel dihidrolisis menggunakan HCL 1 N sebanyak 200 mL kemudian dipanaskan menggunakan waterbath 60 - 65°C selama 15 - 25 menit, kemudian sampel di saring (Hewavitharana et al., 2020). Kemudian sampel dicampur dengan 400 mL diklorometana - metanol (2:1 v/v). Campuran dihomogenkan dalam Turrax homogenizer (10 menit, 13.500 rpm) dan disaring dengan kertas saring. Filtrat ditempatkan dalam corong pisah, dicampur dengan 20 mL akua bidestilata, dan dikocok kuat-kuat. Campuran didiamkan sampai terbentuk sistem bifasik. Fasa atas (berair) dibuang. Natrium sulfat anhidrat ditambahkan ke fasa bawah (diklorometana), dicampur, dan disaring dengan kertas saring. Diklorometana diuapkan dengan vacum rotary evaporator pada suhu 40° C. Ekstrak lemak kemudian dipindahkan ke dalam botol dan diuapkan pada 40°C

menggunakan oven sampai pelarut benar-benar hilang (Folch et al., 1957; Pebriana et al., 2017; Pérez-Palacios et al., 2008).

### **3) Metode Soxhlet**

Sebanyak 50,0gram bakso ataupun sosis cincang ditempatkan ke dalam labu Erlenmeyer. Sampel dihidrolisis menggunakan HCL 1 N sebanyak 500 mL kemudian dipanaskan menggunakan waterbath 60 – 65 °C selama 15 – 25 menit, kemudian sampel di saring (Hewavitharana et al., 2020). Sampel kemudian dibungkus dengan kertas saring dan ditempatkan kedalam alat soxhlet. Tambahkan sebanyak 438 mL petroleum eter yang digunakan sebagai pelarut ekstraksi. Ekstraksi dijalankan selama 8 jam pada suhu 100°C ( $\pm$  50 siklus). Ekstrak lemak ditambahkan dengan natrium sulfat anhidrat, aduk, dan disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya di lakukan penguapan pelarut menggunakan vacum rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak lemak dipindahkan ke dalam vial, kemudian dioven pada suhu 40°C untuk menguapkan sisa pelarut (Pebriana et al., 2017).

#### **c. Ekstraksi untuk analisis spektroskopi 1H NMR**

Setiap sampel ( $\approx$ 80 mg) diekstraksi dalam 600  $\mu$ L larutan metanol berair (CD<sub>3</sub>OD : D<sub>2</sub>O = 2:1) dalam tabung Eppendorf 2,0 mL. Sampel dihomogenisasi selama 2 menit menggunakan TissueLyser dan ultrasonikasi diskontinyu selama 10 menit di atas es, kemudian disentrifugasi pada 11.180  $\times$  g selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang dikumpulkan dipindahkan ke dalam tabung NMR 5 mm (Wang et al., 2017).

#### **d. Ekstraksi lemak untuk analisis menggunakan GCMS**

Setiap sampel masing masing 20,0 daging tikus dan daging hewan lainnya (sapi, ayam, babi, dan anjing) dihidrolisis menggunakan asam klorida 1 N (Hewavitharana et al., 2020). Kemudian sampel disaring

menggunakan kertas saring Whatman. Selanjutnya sampel diekstraksi menggunakan metode Bligh Dyer untuk mendapatkan lemak.

**e. Ekstraksi DNA untuk analisis menggunakan *Real Time* PCR**

Sampel dari daging mentah, bakso referensi dan sosis referensi kemudian dilakukan ekstraksi DNA. Sebanyak masing-masing 25,0 mg sampel diekstraksi menggunakan FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, Austria), dengan mengikuti instruksi sesuai buku petunjuk dari pabrik.

Pertama, sampel digiling dengan micropestle dalam tabung microcentrifuge 1,5 mL hingga halus, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan 200 µL FATG1 buffer dan diaduk rata dengan micropestle atau ujung pipet. Selanjutnya tambahkan 20 µL Proteinase K ke dalam campuran sampel, aduk rata menggunakan vortex, kemudian Inkubasi pada suhu 60 °C hingga jaringan lisis sempurna (1~3 jam). Vortex sesekali selama inkubasi. Setelah inkubasi, tambahkan 200 µL FATG2 buffer ke dalam campuran sampel, aduk rata dengan pulse-vortexing dan inkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 200 µL etanol (96-100%) ke dalam campuran sampel. Aduk rata dengan pulse-vortexing. Tempatkan FATG mini column pada collection tube. Pindahkan campuran (termasuk endapannya) ke FATG mini column. Centrifuge dengan kecepatan penuh (~18.000 x g) selama 1 menit, kemudian tempatkan FATG mini column ke collection tube baru. Tambahkan 400 µL W1 buffer ke FATG mini column. Centrifuge dengan kecepatan penuh selama 1 menit, lalu buang flow-through. Selanjutnya tambahkan 750 µL wash buffer ke dalam FATG mini column. Centrifuge dengan kecepatan penuh selama 1 menit, buang flow-through, dan langkah terakhir tambahkan 100 µL elution buffer yang telah dipanaskan sebelumnya, centrifuge dengan kecepatan

penuh selama 2 menit untuk mengelusi DNA (Marie, 1996).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, S., & Rasmussen, H. (Eds.). (2007). HPLC method development for pharmaceuticals. Academic Press.
- Bligh E.G, & Dyer W.J. (1959). Canadian Journal of Biochemistry and Physiology Issued by The National Research Council Of Canada A Rapid Method Of Total Lipid Extraction And Purification1. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8), 911-917. [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com)
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. The Journal of Biological Chemistry, 226(1), 497-509. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5)
- Harris, D. C. (2010). Quantitative chemical analysis (8th ed.). W. H. Freeman.
- Hewavitharana, G. G., Perera, D. N., Navaratne, S. B., & Wickramasinghe, I. (2020). Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. Arabian Journal of Chemistry, 13(8), 6865-6875. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.039>
- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). (2022). ICH Q14: Analytical Procedure Development.
- International Organization for Standardization (ISO). (1999). ISO 2859-1:1999 Sampling procedures for inspection by attributes – Part 1: Sampling schemes indexed by acceptance quality limit (AQL) for lot-by-lot inspection.
- Kebarle, P., & Verkerk, U. H. (2009). Electrospray: From ions in solution to ions in the gas phase, what we know now. Mass Spectrometry Reviews, 28(6), 898-917.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2021). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 8 Tahun 2021 tentang Persyaratan Cara Pembuatan Obat yang Baik.
- Marie, S. S. (1996). Protocol : Isolation of DNA from animal tissue . 3-5.
- McMaster, M. C. (2008). GC/MS: A practical user's guide (2nd ed.). Wiley.
- Pebriana, R. B., Rohman, A., Lukitaningsih, E., & Sudjadi. (2017). Development of FTIR spectroscopy in combination with chemometrics for analysis of rat meat in beef sausage employing three lipid extraction systems. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 1995-2005. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1361969>
- Pérez-Palacios, T., Ruiz, J., Martín, D., Muriel, E., & Antequera, T. (2008). Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. *Food Chemistry*, 110(4), 1025-1029. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.026>
- Swartz, M. E. (2010). HPLC method development for pharmaceuticals. In S. Ahuja & H. Rasmussen (Eds.), *Separation Science and Technology* (Vol. 8, pp. 1-25). Academic Press.
- World Health Organization (WHO). (2005). WHO Technical Report Series, No. 929, Annex 4: WHO guidelines for sampling of pharmaceutical products and related materials.
- World Health Organization (WHO). (2011). WHO Technical Report Series, No. 961, Annex 6: Good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles.

# BAB

# 3

## UJI ORGANOLEPTIS

apt. Suhartini, S.Farm., M.Tr.Adm.Kes.

### A. Pendahuluan

#### 1. Pengertian Uji Organoleptis

Keberhasilan produk akhir sangat tergantung pada mutu bahan baku yang digunakan dalam industri farmasi. Bahan baku yang tidak memenuhi spesifikasi dapat menyebabkan penurunan aktivitas, kontaminasi silang, stabilitas yang buruk, bahkan risiko keamanan bagi konsumen. Oleh karena itu, pengujian dan evaluasi bahan baku mulai dari identifikasi, pemeriksaan fisik-kimia hingga mikrobiologi menjadi tahapan penting dalam sistem kontrol mutu (*quality control*) dan jaminan mutu (*quality assurance*).

Salah satu metode awal yang sederhana namun mempunyai peran penting adalah **uji organoleptis**. Uji ini melibatkan indera manusia seperti penglihatan, penciuman, perasa (jika aman), sentuhan/tekstur untuk memperoleh gambaran awal tentang identitas dan keadaan bahan baku. Dalam literatur Indonesia ditemukan bahwa pemeriksaan bahan baku dan bahan tambahan dalam sediaan farmasi telah memasukkan uji organoleptis sebagai bagian pemeriksaan awal, misalnya pengamatan warna, bau, bentuk dan kelarutan bahan baku dan tambahan.

Secara historis, uji organoleptis awalnya banyak diterapkan pada bahan baku alam (*simplicia*) dan produk pangan sebagai metode seleksi cepat sebelum dilakukan



analisis instrumentasi yang lebih kompleks. Di Indonesia, walaupun literatur pada bahan baku farmasi belum sebanyak bahan pangan atau kosmetika, namun penelitian lokal menunjukkan penerapan uji organoleptis sebagai salah satu parameter fisik yang penting. Contohnya, pada penelitian sediaan farmasi lokal tercatat bahwa “uji organoleptis untuk mengevaluasi karakteristik visual suatu sediaan meliputi warna, bau serta bentuk”.

Istilah *organoleptis* berasal dari kata Yunani, *organon* (alat) dan *leptikos* (yang mengambil) yang secara harfiah bermakna “yang dapat diterima oleh indera”. Dalam konteks bahan baku farmasi, uji organoleptis adalah evaluasi menggunakan indera manusia seperti penglihatan, penciuman, rasa, tekstur/rahas dan kadangkala pendengaran (misalnya patahan) untuk memperoleh gambaran awal tentang identitas dan mutu bahan baku. Sebagai contoh, dalam literatur *pharmacognosy* disebut bahwa uji organoleptis berarti “*the study of drugs using organs of senses. It refers to the methods of analysis like colour, odour, taste, size, shape, and special features, such as touch, texture, etc.*”.

## **2. Tujuan Uji Organoleptis**

Uji organoleptis pada bahan baku farmasi baik bahan aktif (API) maupun eksipien, memiliki fungsi sebagai “pintu gerbang” (*gate-keeper*) sebelum dilakukan prosedur pengujian lebih lanjut seperti identifikasi kimia/fisika, uji kemurnian dan uji stabilitas. Hal ini karena sifat organoleptis yang menyimpulkan adanya deviasi fisik atau indikasi degradasi, kontaminasi, atau kesalahan penyimpanan dari bahan baku.

Walaupun demikian, perlu diingat bahwa uji organoleptis bersifat subjektif sangat tergantung pada kepekaan penguji, kondisi lingkungan pengujian (pencahayaannya, bau ruangan) dan pelatihan penguji sehingga tidak bisa menjadi satu-satunya metode penilaian mutu. Penggunaan bersama dengan metode objektif menjadi syarat utama agar jaminan mutu bahan baku benar-benar terpenuhi.

Dengan demikian, pemeriksaan ini membantu memastikan bahwa bahan baku yang digunakan adalah bahan yang benar, sesuai karakteristik yang diharapkan, sebelum dilakukan pengujian lanjutan yang lebih kompleks.

Selain menetapkan identitas, uji organoleptis juga bertujuan untuk **mendeteksi adanya perubahan fisik atau indikasi degradasi, kontaminasi, ataupun faktor penyimpangan mutu lainnya** sejak tahap awal. Sebagai contoh, sebuah penelitian di Indonesia melaporkan bahwa salah satu tujuannya adalah “untuk melihat kualitas dan stabilitas sediaan secara visual meliputi bentuk, warna dan bau dari sediaan”. Dengan demikian, melalui uji organoleptis, ahli mutu dapat dengan cepat mengidentifikasi bahan baku atau sediaan yang tampak tidak normal, misalnya berubah warna atau bau, yang dapat menjadi indikator adanya kerusakan atau penyimpangan mutu.

Uji organoleptis juga berfungsi sebagai **metode pemeriksaan sederhana dan cepat** yang dapat diaplikasikan secara rutin dalam sistem kontrol mutu internal di laboratorium atau industri farmasi. Meskipun literatur spesifik pada bahan baku farmasi di Indonesia masih terbatas, penelitian-fisik lain yang menggunakan uji organoleptis menunjukkan bahwa metode ini efektif sebagai teknik screening awal.

Uji organoleptis yang tidak memerlukan instrumen canggih dan dapat dilaksanakan secara visual atau dengan indera sederhana, maka uji organoleptis menjadi bagian pragmatis dalam rangka memastikan mutu awal bahan baku. Dengan demikian, tujuan utama dari uji organoleptis pada bahan baku farmasi dapat dirangkum sebagai berikut:

- a. Memastikan identitas bahan dan kesesuaian atribut fisik dengan spesifikasi,
- b. Mendeteksi indikasi perubahan mutu atau kondisi tidak normal secara cepat melalui indera, dan

- c. Menyediakan metode pemeriksaan yang relatif mudah, murah, dan rutinnya tinggi sebagai bagian dari sistem kontrol mutu bahan baku.

### 3. Ruang Lingkup

#### Jenis Bahan Baku yang Diuji

Pengujian organoleptis bahan baku farmasi mencakup evaluasi awal terhadap sifat fisik dan sensorik bahan yang digunakan dalam produksi sediaan farmasi. Pemeriksaan ini dilakukan pada tiga kelompok utama bahan baku, yaitu bahan aktif farmasi (*Active Pharmaceutical Ingredients/API*), eksipien dan bahan alam seperti simplisia atau ekstrak tumbuhan.

#### a. Bahan Aktif Farmasi (API)

Bahan aktif farmasi merupakan komponen utama yang memberikan efek terapeutik terhadap sediaan obat. Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI, setiap bahan aktif harus memenuhi persyaratan identitas, kemurnian, dan mutu yang ditetapkan dalam monografinya.

Walaupun uji organoleptis bersifat kualitatif, pemeriksaan ini berperan penting dalam proses *incoming material inspection* untuk mendeteksi perubahan warna, bau, atau bentuk fisik yang dapat mengindikasikan degradasi atau kontaminasi. Sebagai contoh, perubahan warna pada parasetamol atau bau tengik pada asam salisilat dapat menunjukkan adanya reaksi oksidasi atau kontaminasi.

#### b. Eksipien

Eksipien adalah bahan tambahan *non-aktif* yang digunakan untuk mendukung stabilitas, keamanan dan kenyamanan penggunaan sediaan obat. Meskipun tidak memiliki efek farmakologis, mutu eksipien harus memenuhi persyaratan farmakope dan *Good Manufacturing Practice* (GMP) karena perubahan sifat fisiknya dapat memengaruhi mutu produk akhir

Uji organoleptis terhadap eksipien, seperti laktosa, amilum, magnesium stearat, atau CMC-Na, biasanya mencakup pemeriksaan warna, bau, tekstur, dan bentuk partikel. Penelitian oleh Niazi menunjukkan bahwa perubahan bau atau warna pada eksipien tertentu dapat menandakan degradasi atau reaksi dengan bahan aktif selama penyimpanan.

**c. Bahan Alam (Simplisia dan Ekstrak Tumbuhan)**

Bahan alam, baik berupa simplisia kering maupun ekstrak, sangat bergantung pada ciri organoleptis untuk identifikasi awal. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi II menegaskan bahwa pengujian mutu simplisia harus mencakup deskripsi organoleptis, makroskopis dan mikroskopis.

Parameter yang biasanya dinilai meliputi warna, bau khas, rasa (bila aman diuji), bentuk, ukuran, serta tekstur permukaan. Misalnya, bau khas aromatik pada rimpang jahe atau warna coklat kehitaman pada ekstrak temulawak menjadi indikator kesesuaian bahan dengan spesifikasi. Studi oleh Sharma et al. menyebutkan bahwa pemeriksaan organoleptis berperan penting dalam mendeteksi adulterasi atau substitusi bahan alam pada tahap penerimaan bahan baku.

Secara umum, ruang lingkup uji organoleptis mencakup semua jenis bahan baku farmasi yang digunakan dalam produksi, baik sintetis maupun alami, dengan tujuan memastikan konsistensi mutu dan mendeteksi penyimpangan fisik sebelum bahan tersebut digunakan dalam formulasi sediaan farmasi.

**B. Prinsip Dasar Uji Organoleptis**

Uji organoleptis adalah pemeriksaan yang menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk mengevaluasi bahan baku atau sediaan farmasi. Indera penglihatan menilai **warna** dan **bentuk**, indera penciuman menilai **bau**, indera pengecap (jika aman) menilai **rasa** dan indera sentuhan menilai **tekstur**

(serta, dalam beberapa kasus padat/cair, (konsistensi). Misalnya dalam pengujian sediaan gel, pengamatan mencatat bahwa perubahan warnanya dari kuning ke coklat, atau konsistensi yang menjadi lebih kental (“tekstur”) dapat diamati melalui uji organoleptis.

Peran penting uji organoleptis yaitu mengawasi mutu dan melakukan perbaikan apabila ditemukan kerusakan. Uji organoleptis juga penting karena mampu menilai mutu bahan mentah yang akan diolah. Konsistensi mutu dapat terjaga dengan adanya uji organoleptis.

### **1. Jenis Pengujian Organoleptis**

Meski hanya memanfaatkan alat indera dan bergantung pada kepekaannya, pengujian ini masih terbukti efektif. Pengujian sensori atau uji organoleptis bisa dilakukan dengan beberapa cara. Berikut adalah cara analisis berdasarkan jenis pengujian organoleptis: Tes Pembedaan (*Discriminative Test*), Tes Afektif (*Affective Test*) dan Tes Deskripsi (*Descriptive Test*).

#### **a. *Discriminative Test* (Tes Pembeda)**

*Discriminative test* merupakan macam uji yang mengamati perbedaan sifat dari produk satu dengan produk lainnya. Pengamatan sifat dianalisis dari atribut sensori layaknya rasa, warna, dan aroma. Umumnya, tes ini dilakukan produsen yang ingin membandingkan sifat produk buaatannya dengan *competitor*, tapi tidak hanya itu, tes ini berguna untuk produsen yang berencana untuk mengganti komponen produk tanpa merubah kualitas.

#### **b. *Affective Test* (Tes Afektif)**

Dari sekian macam-macam uji organoleptis, hanya *affective test* saja yang menilai produk secara subjektif. Sifat-sifat produk akan dinilai berdasarkan sikap subjektif panelis / penguji. Jenis tes ini biasanya dilakukan untuk mengetahui relevansi produk dengan selera konsumen. Sehingga produsen bisa menargetkan konsumen secara lebih tepat.

**c. *Descriptive Test* (Tes Deskripsi)**

Apabila pelaksanaan uji organoleptis ditujukan untuk mengidentifikasi penggunaan bahan baku, maka *descriptive test* bisa jadi pilihan tepat. *Descriptive test* merupakan uji organoleptik yang dapat mengidentifikasi proses produksi, menentukan atribut sensoris dan bahan baku yang dapat ditoleransi oleh indera. Pada pengujian ini, memungkinkan produsen untuk memilih bahan baku atau komponen lain yang bisa diterima calon konsumen.

Untuk meningkatkan reliabilitas hasil dan mengurangi bias subjektivitas, beberapa langkah harus diterapkan:

- 1) Kalibrasi pengamat/panelis: training panelis agar memiliki standar persepsi yang seimbang, menggunakan pembanding warna/tekstur/bau yang telah diketahui.
- 2) Standar pembanding: menyediakan bahan referensi dengan karakteristik yang telah ditetapkan (misalnya spesifikasi warna bahan baku, bau khas, bentuk kristal) sehingga pengamat dapat membandingkan sampel dengan standar.
- 3) Standar kondisi pengujian: pencahayaan standar (misalnya lampu D65), ruangan bebas bau asing atau gangguan indera, panelis dengan kondisi indera baik (tidak flu, tidak merokok sebelum pengujian). Artikel yang membahas syarat uji organoleptik menyebutkan bahwa panelis harus sehat, tidak memiliki gangguan indera, dan pengujian harus dilakukan dalam kondisi yang konsisten.
- 4) Pengulangan dan perekaman data: melakukan pengujian berulang, mencatat nilai sensoris, dan menganalisis data terhadap toleransi yang ditetapkan.

Dengan menerapkan prosedur tersebut, ketergantungan pada pengamatan individual dapat diminimalkan dan uji organoleptis menjadi lebih andal sebagai metode skrining awal.

## **2. Hubungan antara Sifat Organoleptis dan Kemurnian Bahan**

Sifat organoleptis bahan baku sering kali mencerminkan kondisi fisik dan kimia bahan dengan demikian dapat berfungsi sebagai indikator awal kemurnian, keamanan dan kestabilan bahan tersebut. Sebagai contoh, jika bahan baku menunjukkan perubahan warna (misalnya dari putih ke kekuningan), bau asing atau tengik, atau tekstur yang berubah (menggumpal, kasar, atau lembap), ini dapat mengindikasikan adanya degradasi bahan, kontaminasi mikroba, oksidasi, atau pencampuran dengan bahan asing. Salah satu studi menyebutkan bahwa stabilitas sediaan farmasi sangat terkait dengan perubahan organoleptis seperti warna, bau, rasa, dan konsistensi.

Secara praktek, apabila banyak *batch* bahan baku menunjukkan deviasi organoleptis (misalnya bau amis meningkat, warna berubah, tekstur menjadi melekat), tim QA/QC harus mempertimbangkan evaluasi ulang pemasok, penyimpanan, pengangkutan dan prosedur penerimaan bahan karena deviasi organoleptis seringkali merupakan indikator awal masalah kemurnian atau kestabilan. Oleh karena itu, hubungan antara sifat organoleptis dan kemurnian bahan adalah bahwa atribut sensori menyediakan sinyal awal yang bisa memicu investigasi lebih lanjut terhadap kemurnian, identitas, atau stabilitas bahan baku.

## **C. Metodologi Uji Organoleptis**

### **1. Persiapan Uji**

Sebelum melakukan pemeriksaan organoleptis terhadap bahan baku farmasi, perlu dilakukan persiapan yang matang agar hasil pengamatan konsisten, dapat diandalkan dan bebas dari gangguan eksternal. Persiapan tersebut mencakup kondisi ruangan dan pencahayaan, penggunaan wadah dan label yang sesuai serta apabila diperlukan kalibrasi panelis.

**a. Kondisi ruangan dan pencahayaan**

Pengujian organoleptis harus dilakukan di ruang yang memungkinkan pengamatan sensorik dengan akurasi maksimal. Ruang harus memiliki pencahayaan yang seragam, netral, dan tanpa distorsi warna (misalnya lampu dengan indeks rendering warna tinggi/ $R_a > 90$ ). Suhu dan kelembapan sebaiknya dikontrol agar bahan tidak mengalami perubahan fisik sensorik selama pengamatan. Studi tentang analisis sensorik formulasi farmasi menyebutkan bahwa variabilitas pencahayaan dan kondisi lingkungan merupakan sumber bias yang signifikan dalam penilaian sensorik. Dalam konteks kontrol mutu bahan baku, artikel "*Pharmaceutical Analysis of Handling Raw Materials before Manufacturing*" menegaskan bahwa penanganan dan pengujian bahan baku harus mempertimbangkan kondisi fisik dan sensorik dasar untuk menghindari penggunaan bahan yang telah rusak atau terkontaminasi.

**b. Penggunaan wadah dan label yang sesuai**

Bahan baku yang akan diuji secara organoleptis harus ditempatkan dalam wadah yang bersih, berwarna netral atau transparan (jika pengamatan warna diperlukan) dan bebas dari bau residu yang dapat memengaruhi persepsi bau/warna bahan. Labeling juga penting: setiap sampel harus diberi identitas kode yang jelas, *batch/lot*, tanggal penerimaan dan kondisi penyimpanan sebelumnya. Ini menjamin *traceability* dan mencegah kesalahan identifikasi saat pengujian. Literatur evaluasi simplisia menunjukkan bahwa pengukuran ukuran dan bentuk bahan (misalnya panjang/ketebalan) dilakukan dengan penggaris terkalibrasi atau kertas bergaris, untuk meminimalkan *error*.

**c. Kalibrasi panelis (jika diperlukan)**

Meskipun untuk banyak bahan baku organoleptis hanya dilakukan oleh pengamat tunggal atau petugas penerimaan apabila pengujian melibatkan bau, rasa atau



tekstur yang lebih kompleks (misalnya ekstrak tumbuhan) maka disarankan menggunakan panelis terlatih. Pelatihan ini mencakup pengenalan standar referensi (warna, bau, tekstur), adaptasi indera dan penghindaran kelelahan sensorik.

## **2. Prosedur Pengujian**

Setelah persiapan selesai, langkah berikutnya adalah menjalankan prosedur pengujian organoleptis secara sistematis. Prosedur ini mencakup tahapan pengamatan, cara mendeskripsikan hasil menggunakan istilah standar dan penggunaan lembar observasi.

### **a. Tahapan pengamatan**

- 1) Ambil sampel bahan baku sesuai spesifikasi (jumlah, kondisi, *batch*).
- 2) Lakukan pemeriksaan visual: amati warna, bentuk, ukuran, kejelasan (untuk cairan), partikel asing, penggumpalan (untuk serbuk/granula).
- 3) Lakukan pemeriksaan bau/aroma: buka wadah, cium secara hati-hati dan alami (hindari penciuman kuat sebelumnya), catat bau khas, bau asing atau tengik.
- 4) Jika relevan dan aman: lakukan pemeriksaan rasa (jarang untuk API, lebih pada bahan alam atau eksipien yang diizinkan).
- 5) Lakukan pemeriksaan tekstur/sentuhan (untuk serbuk: kehalusan, sifat mengalir; untuk granul/serbuk: kejernihan, penggumpalan).

Literatur farmakognosi menyebut evaluasi organoleptis meliputi *colour, odour, taste, size and shape, occasionally the sound or snap of fracture and special features including touch, texture, etc.*

### **b. Cara deskripsi hasil (menggunakan istilah standar)**

Deskripsi hasil harus menggunakan istilah yang konsisten dan sesuai spesifikasi monografi atau standar internal laboratorium. Contoh istilah: “warna putih kekuningan”, “aroma khas”, “tekstur halus tidak

menggumpal”, “granula berwarna krem, bebas partikel hitam”. Hindari istilah yang ambigu seperti “sedikit kasar” tanpa definisi yang jelas. Panduan sensorik farmasi menggaris bawahi bahwa makna dari istilah harus sudah disepakati dalam SOP (*Standard Operating Procedure*) dan didukung oleh pelatihan panelis.

**c. Penggunaan lembar observasi organoleptis**

Laboratorium harus menyediakan lembar observasi yang terstruktur, mencakup kolom untuk: nomor sampel, tanggal uji, identitas *batch*, parameter organoleptis (warna, bau/aroma, bentuk/tekstur, catatan khusus), penguji, dan hasil pengamatan (lulus/tidak lulus atau sesuai/tidak sesuai). Lembar ini harus disimpan sebagai bagian dari dokumentasi mutu bahan baku. Dalam studi kualitas obat hewan di Ethiopia, checklist organoleptis dilaporkan sebagai bagian dari laporan identifikasi dan kualitas organoleptis.

**3. Dokumentasi dan Pelaporan**

Setelah pengujian selesai, hasil harus didokumentasikan dan dilaporkan dengan format yang jelas, memungkinkan evaluasi batch dan keputusan lanjut terhadap bahan baku.

**a. Format laporan hasil uji organoleptis**

Laporan umumnya mencakup: identitas bahan baku (nama, kode, *batch/lot*, pemasok), tanggal penerimaan, tanggal pengujian, kondisi penyimpanan, nama penguji, hasil setiap parameter organoleptis, komparasi terhadap spesifikasi (warna, bau/aroma, tekstur), kesimpulan (sesuai/tidak sesuai) dan rekomendasi (terima, *reject*, uji lanjut). Disarankan ada ruang untuk catatan penyimpangan dan tindakan korektif.

**b. Kriteria lulus/tidak lulus**

Kriteria “lulus” (L) atau “tidak lulus” (P) harus ditetapkan dalam spesifikasi bahan baku atau SOP laboratorium. Misalnya: warna harus “putih hingga

kekuningan muda”, bau harus “tidak berbau asing/tengik”, tekstur harus “serbuk bebas gumpalan/partikel asing <0,5 mm”, dan sebagainya. Bila salah satu parameter utama tidak sesuai dengan spesifikasi, maka hasil dikategori sebagai tidak lulus dan bahan harus ditindaklanjuti dengan uji lanjutan atau ditolak. Sebuah kajian di Ethiopia menunjukkan bahwa bahan-baku yang gagal uji organoleptis seringkali memerlukan investigasi tambahan.

#### **D. Kesimpulan**

Uji organoleptis pada bahan baku farmasi memegang peran penting sebagai tahap awal pengendalian mutu sebelum bahan baku digunakan dalam proses produksi sediaan farmasi. Sebagai pemeriksaan sederhana dan cepat yang menilai karakteristik seperti warna, bau/aroma, tekstur, bentuk fisik, metode ini memungkinkan identifikasi dini terhadap penyimpangan fisik atau sensorik yang bisa menjadi indikator degradasi bahan, kontaminasi, atau kesalahan penerimaan bahan.

Pengujian bahan baku secara menyeluruh penting untuk menjamin keamanan, mutu dan efektivitas produk obat akhir. Selain itu, studi yang dilakukan pada kualitas obat medis dan veteriner menunjukkan bahwa inspeksi visual dan organoleptis dapat mendeteksi sejumlah kecil bahan baku yang gagal spesifikasi, meskipun tidak menggantikan uji kimia atau fisik secara penuh.

Uji organoleptis memiliki keterbatasan termasuk sifatnya yang kualitatif, subjektivitas manusia dalam persepsi sensorik dan ketidakmampuannya mendeteksi perubahan kimia atau mikrobiologi yang tidak terlihat secara sensorik. Oleh karena itu, metode ini harus ditempatkan sebagai bagian dari sistem kontrol mutu yang lebih luas, bukan sebagai satu-satunya dasar keputusan penerimaan bahan baku. Sebagaimana dikemukakan, kontrol mutu bahan baku meliputi identitas, kemurnian dan kandungan sesuai farmakope atau standar yang berlaku.

**Secara ringkas:**

1. Uji organoleptis memberikan pemeriksaan cepat dan mudah terhadap aspek fisik dan sensorik bahan baku yang dapat mengindikasikan potensi masalah mutu sejak tahap awal.
2. Hasil uji ini membuat produsen dapat segera melakukan investigasi atau pengujian lanjutan jika ditemukan penyimpangan, sehingga dapat mencegah bahan baku yang bermasalah masuk ke proses produksi dan akhirnya merugikan mutu produk akhir.
3. Uji organoleptis hanya satu bagian dari sistem pengendalian mutu yang komprehensif: harus didukung oleh metode fisik-kimia, mikrobiologi serta dokumentasi yang baik agar mutu bahan baku benar-benar dapat dijamin.

Dengan demikian, meskipun terlihat sederhana, uji organoleptis tidak boleh dipandang remeh melainkan sebagai unsur penting dalam rangkaian kontrol mutu bahan baku farmasi yang semakin kompleks dan diatur secara ketat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Clapham, D., Belissa, E., Inghelbrecht, S., Pensé-Lhéritier, A.-M., Ruiz, F., Sheehan, L., ... Tuleu, C. (2023). A Guide to Best Practice in Sensory Analysis of Pharmaceutical Formulations. *Pharmaceutics*, 15(9), 2319. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15092319>
- Evaluation of Crude Drugs, Mono or Polyherbal Formulation PharmaTutor. (n.d.). PharmaTutor. Retrieved from <https://www.pharmatutor.org/articles/evaluation-crude-drugs-mono-polyherbal-formulation>
- Hikmah Noor, dkk. (2023), "Formulasi dan Evaluasi Sediaan Serum Gel Ekstrak Bunga Melati (Jasminum sambac L.)". *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences* Vol 3 No 2, hal 93-108.
- John, D. (2022). Pharmaceutical Analysis of Handling Raw Materials before Manufacturing. *Pharm Anal Acta*, 13, 669. <https://doi.org/10.35248/2153-2435.22.13.669>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Lucy L. Rahma, Linda Suryanti, Nur Cholis Majid. "Evaluasi fisik sediaan meliputi uji organoleptis, uji homogenitas ..." *JIFIN: Jurnal Ilmiah Farmasi Indonesia*, Vol. 01 No. 01, 2023.
- "Macam-macam Uji Organoleptik, Definisi, dan Contohnya". *Kalibrasi.com* (2024).
- Niah, Rakhmadhan. (2022). *Uji Organoleptis sebagai bagian evaluasi sifat fisik sediaan* *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, Vol 5(2), hlm. 258-266.
- Niazi, S. K. (2019). Stability and compatibility of excipients in pharmaceutical formulations. *Pharmaceutical Technology Europe*, 31(2), 25-30.

Organoleptic Evaluation – Evaluation of Crude Drugs Pharmacognosy”, diakses dari <https://www.pharmacy180.com/article/organoleptic-evaluation-70/> (lihat definisi organoleptis).

“Pahami Uji Organoleptik Sediaan. Mulai Dari Fungsi, Jenis, Dan Syarat Pengujiannya!”. Kalibrasi.com (2024).

“Pemeriksaan bahan baku yang digunakan dalam pembuatan pomade meliputi pemeriksaan organoleptis dan kelarutan.” *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 17 No. 02, Desember 2020, hlm. 281-291. [https://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/PHARMACY/article/download/6988/3777?utm\\_source=chatgpt.com](https://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/PHARMACY/article/download/6988/3777?utm_source=chatgpt.com)

Revista Farmacia Hospitalaria. (2023). The importance of quality control in pharmaceutical raw materials. *Farmacia Hospitalaria*, 47(2), 75–82.

Sharma, P., Kumar, S., & Gupta, R. (2020). Evaluation of crude drugs by organoleptic and microscopic methods. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 1292–1296.

Sutiofani, dkk. (2021). ‘Pengaruh Rasio Biji Kemiri dan Pasir Hitam sebagai Media Sangrai Terhadap Karakteristik Fisik Minyak Kemiri Daerah Kalimantan. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol.18 No. 02 hal 392-401

Tefera, B., Bacha, B., Belew, S., et al. (2022). Study on identification, assay and organoleptic quality of veterinary medicines in Ethiopia. *Journal of Pharmaceutical Policy and Practice*, 15, 17. <https://doi.org/10.1186/s40545-022-00410-6>

UFAG Laboratorien AG. Quality Control of Raw Materials and Active Ingredients. (n.d.). Retrieved from <https://www.ufag-laboratorien.ch/en/pharmaceuticals-analysis/quality-control-of-raw-materials-and-active-ingredients/>

“Uji Organoleptik: Tahapan Agar Produk Diterima Indera Manusia”, Kalibrasi.com (2024).

# BAB

# 4

# UJI KELARUTAN

apt. Nur Ida, S.Si., M.Si.

## A. Pendahuluan

Kelarutan merupakan salah satu parameter paling mendasar dalam pengembangan obat karena berperan langsung terhadap **bioavailabilitas**, **kecepatan disolusi**, dan **efikasi terapeutik** suatu zat aktif (Kawabata et al., 2021). Sekitar 40% obat yang dikembangkan saat ini, dan lebih dari 60% molekul yang muncul dari sintesis kimia atau skrining *high-throughput*, dikategorikan sebagai **poorly water-soluble drugs** (PwSD) (Savjani et al., 2020). Kondisi ini menimbulkan tantangan besar bagi formulasi sediaan oral, karena meskipun obat memiliki potensi farmakologis tinggi, namun bioavailabilitasnya seringkali rendah akibat keterbatasan kelarutan dalam media biologis.

Kelarutan suatu zat didefinisikan sebagai kemampuan zat padat, cair, atau gas untuk larut dalam pelarut tertentu hingga mencapai **kesetimbangan termodinamika** (R. Jain et al., 2022). Dalam konteks farmasi, kelarutan menentukan **fraksi obat yang dapat berdifusi melalui membran biologis**, yang selanjutnya menentukan kecepatan dan tingkat absorpsi sistemik. Oleh karena itu, *uji kelarutan* menjadi langkah awal yang sangat penting dalam proses **penemuan dan pengembangan obat** (*drug discovery and development*), baik pada tahap pra-formulasi maupun formulasi akhir.

Selain untuk menilai perilaku fisikokimia suatu zat, uji kelarutan juga berfungsi sebagai dasar dalam penerapan sistem **Biopharmaceutics Classification System (BCS)** yang mengelompokkan obat berdasarkan kelarutan dan permeabilitasnya (Amidon, Lennernäs, et al., 2021). Klasifikasi ini sangat berguna dalam pengambilan keputusan formulasi, desain uji *bioequivalence*, serta pertimbangan pemberian *biowaiver* oleh badan regulatori seperti BPOM dan FDA.

Tantangan yang dihadapi pada molekul obat modern—khususnya hasil sintesis molekul kompleks—adalah kecenderungan memiliki **massa molekul besar, lipofilisitas tinggi**, serta **ikatan hidrogen internal yang kuat**, yang semuanya menurunkan kelarutan dalam air (Singh & Dahiya, 2023). Akibatnya, banyak molekul potensial yang gagal melanjutkan proses pengembangan hanya karena keterbatasan kelarutan, bukan karena kurangnya potensi farmakologis. Hal ini menjadikan *uji kelarutan* tidak hanya sebagai prosedur laboratorium, melainkan juga sebagai **parameter strategis dalam keputusan riset dan industri farmasi modern**.

Bab ini disusun untuk memberikan pemahaman mendalam mengenai pentingnya uji kelarutan dalam pengembangan obat. Secara khusus, tujuan dari pembahasan ini meliputi:

1. Menjelaskan urgensi kelarutan terhadap bioavailabilitas dan kinerja terapi obat.
2. Menguraikan hubungan antara sifat fisikokimia zat aktif dengan kelarutannya.
3. Memberikan landasan teoritis yang akan menjadi dasar bagi pembahasan pada bab-bab berikutnya mengenai metode, desain eksperimen, dan strategi peningkatan kelarutan.

Dalam pengembangan sediaan farmasi, kelarutan merupakan titik awal yang menentukan kelayakan suatu molekul untuk diformulasikan menjadi sediaan oral, parenteral, maupun topikal. Molekul dengan kelarutan tinggi cenderung lebih mudah diformulasi, sedangkan senyawa dengan kelarutan rendah memerlukan strategi formulasi yang kompleks seperti



**kompleks inklusi, nanosizing, solid dispersion, atau amorfisasi** (Kumar et al., 2024)

Selain itu, pengujian kelarutan juga berfungsi sebagai salah satu **parameter evaluasi mutu** dalam berbagai monografi farmakope seperti *United States Pharmacopeia (USP)*, *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)*, dan *Farmakope Indonesia*. Dalam praktik industri, hasil uji kelarutan digunakan untuk:

1. Memastikan **konsistensi kualitas zat aktif** antar batch,
2. Menentukan **kondisi formulasi optimum**, seperti jenis pelarut, pH media, dan penggunaan surfaktan,
3. Menilai **hubungan in vitro-in vivo (IVIVC)**, serta
4. Mendukung pengajuan **biowaiver** bagi formulasi yang memenuhi kriteria BCS I dan III.

Di era pengembangan obat berbasis *nanotechnology* dan sistem penghantaran cerdas (*smart delivery systems*), pemahaman terhadap kelarutan semakin relevan. Pendekatan ini tidak lagi sebatas meningkatkan pelarutan fisik, tetapi juga mengintegrasikan respon lingkungan tubuh seperti pH dan ROS (Reactive Oxygen Species) yang dapat mengontrol pelepasan obat sesuai kondisi patologis jaringan (Li et al., 2023). Dengan demikian, *uji kelarutan* kini menjadi bagian integral dari desain formulasi modern yang adaptif dan berbasis respon fisiologis.

## **B. Dasar Teori dan Prinsip Kelarutan**

### **1. Pengertian dan Konsep Dasar Kelarutan**

Kelarutan (*solubility*) adalah kemampuan suatu zat padat, cair, atau gas untuk larut dalam pelarut tertentu membentuk sistem homogen pada kondisi kesetimbangan (Jain et al., 2022). Dalam sistem farmasi, kelarutan terutama mengacu pada jumlah maksimum zat aktif yang dapat larut dalam pelarut air atau media fisiologis pada suhu dan tekanan tertentu.

Secara umum, proses pelarutan terdiri atas tiga tahap utama (Savjani et al., 2020)

- a. Pemisahan molekul zat padat dari permukaannya,
- b. Pelarutan molekul zat aktif ke dalam pelarut, dan

- c. Penyusunan kembali molekul dalam larutan menjadi sistem homogen.

Kelarutan suatu zat ditentukan oleh keseimbangan antara gaya tarik antarmolekul zat aktif dengan gaya interaksi zat aktif-pelarut. Bila interaksi antara zat aktif dan pelarut lebih kuat daripada interaksi internal dalam kristal zat padat, maka kelarutan meningkat. Sebaliknya, struktur kristal yang stabil dan interaksi hidrofobik yang kuat akan menurunkan kelarutan (Kumar et al., 2024)

## 2. Prinsip Termodinamika Kelarutan

Secara termodinamika, kelarutan suatu zat dapat dijelaskan melalui energi bebas gibbs ( $\Delta G$ ) dari proses pelarutan, sebagaimana persamaan:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Keterangan:

$\Delta G$  = perubahan energi bebas,

$\Delta H$  = perubahan entalpi,

$\Delta S$  = perubahan entropi,

$T$  = suhu mutlak (K).

Jika  $\Delta G$  bernilai negatif, maka proses pelarutan terjadi secara spontan. Nilai  $\Delta H$  yang positif menunjukkan proses endotermik (membutuhkan energi), sedangkan  $\Delta S$  positif menandakan peningkatan keteraturan sistem.

Hubungan antara kelarutan dan energi bebas dapat dinyatakan melalui persamaan aktivitas (Martin & Bustamante, 2021)):

$$\ln x_2 = -\frac{\Delta H_{sol}}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)$$

Di mana  $x_2$  adalah fraksi mol zat terlarut,  $\Delta H_{sol}$  adalah entalpi pelarutan, dan  $R$  adalah konstanta gas. Persamaan ini menunjukkan bahwa peningkatan suhu dapat meningkatkan kelarutan zat padat dalam cairan, sesuai dengan prinsip bahwa sebagian besar proses pelarutan bersifat endotermik

### 3. Hukum Noyes-Whitney

**HUKUM** Hubungan antara kecepatan disolusi dan kelarutan dijelaskan oleh **Hukum Noyes-Whitney (1897)**:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DA(C_s - C)}{h}$$

Keterangan:

$\frac{dC}{dt}$  = laju disolusi,

D = koefisien difusi,

A = luas permukaan zat padat,

$C_s$  = konsentrasi jenuh di permukaan partikel,

C = konsentrasi zat dalam pelarut pada waktu t,

H = tebal lapisan difusi.

Persamaan ini menunjukkan bahwa laju pelarutan meningkat seiring bertambahnya luas permukaan partikel (a), koefisien difusi (d), dan perbedaan konsentrasi (cs – c), serta menurun jika lapisan difusi (h) lebih tebal. Oleh karena itu, pengurangan ukuran partikel (nanosizing) atau pengadukan intensif dapat mempercepat proses pelarutan (Kawabata et al., 2021)

### 4. Pengaruh Suhu terhadap Kelarutan

Secara umum, kelarutan zat padat dalam cairan meningkat dengan naiknya suhu. Hal ini dijelaskan oleh peningkatan energi kinetik molekul yang mempercepat disintegrasi kristal zat aktif. Namun, untuk zat yang mengalami pelarutan eksotermik (misalnya gas dalam cairan), kenaikan suhu justru menurunkan kelarutan (Song et al., 2023)

Dalam konteks farmasi, pemahaman pengaruh suhu menjadi penting dalam **studi stabilitas sediaan**, terutama untuk zat aktif termolabil. Oleh karena itu, pengujian kelarutan biasanya dilakukan pada suhu terkontrol, seperti **25 ± 0,5 °C** untuk penelitian dasar dan **37 ± 0,5°C** untuk simulasi kondisi fisiologis.

## 5. Pengaruh pH terhadap Kelarutan

Kelarutan senyawa ionik dan amfoterik sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan, karena perubahan pH dapat mengubah derajat ionisasi zat aktif. Hubungan antara kelarutan ( $S$ ) dan pH dapat dijelaskan oleh persamaan **Henderson-Hasselbalch**:

- a. Untuk asam lemah:  $\log S = \log S_0 + \log (1 + 10^{pH-pKa})$
- b. Untuk basa lemah:  $\log S = \log S_0 + \log (1 + 10^{pKa-pH})$

di mana  $S_0$  adalah kelarutan intrinsik zat non-ionik.

Perubahan pH media sangat krusial dalam desain formulasi oral. Misalnya, obat asam lemah (seperti naproksen) akan lebih mudah larut pada pH basa, sementara obat basa lemah (seperti ketokonazol) larut lebih baik pada pH asam. Oleh karena itu, uji kelarutan sering dilakukan pada berbagai pH yang mencerminkan kondisi gastrointestinal (pH 1,2; 4,5; dan 6,8) (Singh & Dahiya, 2023).

## 6. Pengaruh Jenis Pelarut

Pemilihan pelarut sangat menentukan kelarutan zat aktif. Pelarut polar (air, etanol, metanol) cenderung melarutkan zat polar, sedangkan pelarut non-polar (heksana, kloroform) melarutkan zat non-polar. Namun, dalam banyak kasus, sistem farmasi memerlukan **campuran pelarut** atau **ko-solvency** untuk mencapai kelarutan optimum.

Konsep *co-solvency* melibatkan pencampuran pelarut dengan polaritas berbeda untuk mengubah energi interaksi zat aktif-pelarut. Sebagai contoh, campuran air-etanol sering digunakan untuk meningkatkan kelarutan zat hidrofobik seperti kortikosteroid atau flavonoid (Mishra et al., 2021).

Selain itu, penggunaan surfaktan seperti Tween 80 atau sodium lauryl sulfate (SLS) juga dapat meningkatkan kelarutan melalui pembentukan **micelle solubilization**, di mana molekul hidrofobik terperangkap dalam inti misel yang bersifat non-polar (Patel et al., 2023).

## C. Klasifikasi Obat Berdasarkan Kelarutan (*Biopharmaceutics Classification System* – BCS)

### 1. Konsep Dasar *Biopharmaceutics Classification System* (BCS)

Sistem klasifikasi biofarmasetika atau *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) merupakan konsep ilmiah yang dikembangkan untuk mengelompokkan obat berdasarkan **kelarutan** dan **permeabilitas membran biologisnya**. Sistem ini pertama kali diperkenalkan oleh Amidon dan kolega pada tahun 1995 sebagai dasar ilmiah untuk menghubungkan **bioavailabilitas oral** dengan sifat fisikokimia obat (Amidon, Yu, et al., 2021). (Amidon et al., 1995)

BCS memainkan peranan penting dalam proses regulatori dan pengembangan formulasi karena membantu menentukan apakah **pengujian bioekivalensi in vivo** dapat digantikan oleh **data disolusi in vitro**. Konsep ini kemudian diadopsi oleh berbagai badan regulasi seperti FDA, EMA, dan BPOM sebagai dasar kebijakan **biowaiver**, yakni penggantian uji klinik bioekivalensi dengan data laboratorium yang valid.

Menurut prinsip BCS, kinerja oral suatu obat bergantung pada dua parameter utama:

- a. **Kelarutan (Solubility)** – kemampuan zat aktif larut dalam cairan gastrointestinal, dan
- b. **Permeabilitas (Permeability)** – kemampuan zat aktif melewati membran biologis menuju sirkulasi sistemik.

Kedua parameter ini menentukan **laju absorpsi** dan **bioavailabilitas** obat, terutama pada rute oral yang merupakan jalur pemberian paling umum dalam terapi farmasi (Yu et al., 2022).

### 2. Kriteria Klasifikasi BCS

BCS membagi obat ke dalam empat kelas utama berdasarkan kombinasi antara kelarutan dan permeabilitasnya (Amidon, Yu, et al., 2021)

**Tabel 4.1** Kelas BCS Obat

Kls	Kelarutan	Permeabilitas	Contoh Obat	Implikasi Formulasi dan Bioavailabilitas
I	Tinggi	Tinggi	Metoprolol, Paracetamol	Penyerapan cepat; tidak memerlukan modifikasi formulasi; dapat diajukan biowaiver.
II	Rendah	Tinggi	Ketoprofen, Itraconazole	Absorpsi dibatasi oleh kelarutan; perlu peningkatan kelarutan (mis. nanosizing, kompleks inklusi).
III	Tinggi	Rendah	Cimetidine, Acyclovir	Absorpsi dibatasi oleh permeabilitas; formulasi cair dapat membantu.
IV	Rendah	Rendah	Hydrochlorothiazide, Furosemide	Absorpsi sangat rendah; memerlukan desain sistem penghantaran inovatif.

Klasifikasi ini tidak hanya membantu memahami perilaku absorpsi obat, tetapi juga menjadi pedoman dalam menentukan strategi formulasi dan pengembangan metode *in vitro-in vivo correlation* (IVIVC).

### 3. Penentuan Kelarutan dalam Konteks BCS

Menurut panduan FDA (2022), suatu obat dikatakan memiliki **kelarutan tinggi** jika dosis tertinggi yang direkomendasikan dapat larut dalam **250 mL atau kurang** dari media ber-pH 1,0–7,5 pada suhu  $37 \pm 1$  °C. Volume 250

mL ini mencerminkan volume air yang biasanya dikonsumsi pasien saat menelan obat.

Uji kelarutan dalam konteks BCS dilakukan pada beberapa media yang merepresentasikan kondisi fisiologis saluran pencernaan, yaitu:

- a. pH 1,2 (asam lambung),
- b. pH 4,5 (transisi duodenum), dan
- c. pH 6,8 (usus halus).

Hasil kelarutan kemudian dinyatakan dalam satuan mg/mL dan dibandingkan dengan dosis obat per volume media untuk menentukan apakah obat termasuk “kelarutan tinggi” atau “rendah” (Patel et al., 2023)

#### 4. Penentuan Permeabilitas

Permeabilitas adalah kemampuan molekul obat menembus membran biologis untuk mencapai sirkulasi sistemik. Uji ini biasanya dilakukan dengan dua pendekatan:

- a. **Uji in situ dan ex vivo** menggunakan membran usus hewan, seperti model usus tikus atau babi (Sugano et al., 2021)
- b. **Uji in vitro sel Caco-2**, yaitu model kultur sel epitel usus manusia yang meniru penyerapan oral (Sharma et al., 2022).

Kriteria permeabilitas tinggi ditentukan jika  $\geq 85\%$  **dosis obat diserap** dibandingkan dengan senyawa referensi berpermeabilitas tinggi seperti metoprolol.

Parameter yang digunakan meliputi:

- a. Koefisien permeabilitas efektif ( $P_{eff}$ ),
- b. Fraksi absorpsi (*fraction absorbed*), dan
- c. *Apparent permeability coefficient* ( $P_{app}$ ) dalam satuan cm/s.

#### 5. Implikasi BCS terhadap Formulasi dan Bioavailabilitas

BCS memberikan pedoman praktis dalam desain formulasi obat oral. Misalnya:

- a. **Obat Kelas I** umumnya tidak membutuhkan teknologi peningkatan kelarutan; fokus pengembangannya pada stabilitas dan pelepasan terkendali.

- b. **Obat Kelas II** merupakan kandidat utama untuk strategi peningkatan kelarutan seperti **kompleks inklusi siklodekstrin**, **solid dispersion**, atau **nanopartikel kristalin (nanocrystals)** (Kumar *et al.*, 2024).
- c. **Obat Kelas III** lebih dioptimalkan melalui penggunaan **enhancer permeabilitas** (mis. surfaktan, lipid), atau sistem penghantaran berbasis polimer bioadhesif.
- d. **Obat Kelas IV** menjadi tantangan tersendiri, sering memerlukan teknologi canggih seperti **liposom**, **mikroemulsi**, atau **mikroneedle transdermal** sebagai alternatif rute pemberian (Li *et al.*, 2023).

Dengan demikian, konsep BCS bukan hanya bersifat teoritis, melainkan menjadi dasar keputusan formulasi dan strategi penelitian farmasetika modern.

## 6. Hubungan BCS dengan *In Vitro-In Vivo Correlation* (IVIVC)

Salah satu keunggulan utama penerapan BCS adalah kemampuannya dalam memfasilitasi **hubungan antara hasil uji disolusi in vitro dan absorpsi in vivo (IVIVC)**.

Obat dengan kelarutan dan permeabilitas tinggi (Kelas I) cenderung menunjukkan korelasi linier antara profil disolusi dan bioavailabilitas. Sebaliknya, obat dengan kelarutan rendah (Kelas II) memerlukan pendekatan disolusi yang merepresentasikan proses pelarutan di saluran pencernaan agar IVIVC dapat dicapai (Yu *et al.*, 2022).

FDA dan EMA menganggap model IVIVC sebagai alat prediksi yang valid untuk meminimalkan kebutuhan uji klinik tambahan dalam pengembangan *generic drugs* (V. P. Shah *et al.*, 2021).

## 7. Penerapan BCS dalam Regulasi dan Pengembangan Obat

Regulator seperti FDA, EMA, dan BPOM telah mengadopsi BCS dalam kebijakan *biowaiver*. Penggunaan *biowaiver* memungkinkan penggantian uji *bioequivalence in vivo* dengan data disolusi *in vitro* jika obat memenuhi kriteria berikut (FDA, 2003)



- a. Termasuk **Kelas I atau Kelas III** berdasarkan hasil uji kelarutan dan permeabilitas,
- b. Memiliki profil disolusi cepat (>85% terlarut dalam 30 menit pada tiga media pH berbeda),
- c. Tidak memiliki *narrow therapeutic index* (rentang terapi sempit).

Pendekatan ini sangat efisien dalam mempercepat pengembangan obat generik, mengurangi biaya riset, dan mendukung akses obat yang lebih luas di masyarakat (V. P. Shah et al., 2021).

#### **D. Desain Eksperimen Uji Kelarutan**

Desain eksperimen merupakan tahap krusial dalam uji kelarutan karena menentukan validitas, reproduibilitas, dan reliabilitas hasil yang diperoleh. Uji kelarutan yang baik tidak hanya menunjukkan nilai kelarutan suatu zat, tetapi juga memperlihatkan bagaimana variabel-variabel tertentu mempengaruhi hasil tersebut. Oleh karena itu, desain percobaan harus direncanakan dengan hati-hati agar dapat menjawab pertanyaan ilmiah secara efisien dan sesuai dengan kaidah ilmiah. (Hossain & al., 2020)

Desain eksperimental dalam konteks farmasi menuntut pengendalian ketat terhadap variabel yang dapat memengaruhi kelarutan, seperti suhu, pH, volume media, kecepatan pengadukan, dan bentuk fisik zat uji. Penggunaan pendekatan statistik dan rancangan faktorial juga sangat dianjurkan dalam penelitian modern untuk memperoleh hasil yang signifikan dan dapat dipertanggungjawabkan.

##### **1. Prinsip Dasar Eksperimen**

Prinsip utama dalam desain eksperimen meliputi tiga konsep: **replikasi, randomisasi, dan kontrol**.

- a. **Replikasi** dilakukan untuk memastikan hasil yang diperoleh konsisten dan tidak terjadi kesalahan sistematis akibat variasi acak. Semakin banyak replikasi, semakin tinggi keandalan data yang dihasilkan.

- b. **Randomisasi** bertujuan menghindari bias dengan mendistribusikan pengaruh variabel tak terkontrol secara acak.
- c. **Kontrol variabel** berarti menjaga semua faktor selain variabel independen tetap konstan agar perubahan yang diamati benar-benar akibat variabel yang diuji (Montgomery, 2020).

Dalam uji kelarutan, desain percobaan dapat bersifat **satu faktor (one-factor-at-a-time, OFAT)** atau **multifaktor (factorial design)**. Pendekatan OFAT digunakan untuk menguji pengaruh satu variabel terhadap kelarutan, sementara desain faktorial memungkinkan identifikasi interaksi antara dua atau lebih faktor secara simultan.

## 2. Pengendalian Variabel Eksperimen

Pengendalian variabel merupakan aspek penting untuk memperoleh hasil yang akurat dan dapat direproduksi. Variabel utama dalam uji kelarutan meliputi:

- a. **Suhu:** karena kelarutan umumnya meningkat dengan suhu, kontrol ketat pada  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  atau  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  diperlukan (Baka et al., 2021).
- b. **pH media:** perubahan pH dapat memengaruhi ionisasi zat aktif; maka media buffer seperti fosfat atau HCl-NaOH digunakan.
- c. **Kecepatan pengadukan:** pengadukan terlalu cepat dapat menyebabkan turbulensi dan mempengaruhi laju pelarutan; umumnya diatur pada 100–150 rpm.
- d. **Bentuk fisik zat uji:** kristal, amorf, atau ukuran partikel berbeda dapat menghasilkan variasi kelarutan yang signifikan (P. Jain & Yadav, 2022).
- e. **Volume media dan rasio zat uji:** harus memenuhi kondisi *sink* (jumlah zat terlarut <10–15% dari kapasitas pelarutan media).

### 3. Rancangan Faktorial dan Desain Respon Permukaan

Desain faktorial memungkinkan pengamatan interaksi antara beberapa faktor yang mempengaruhi kelarutan. Misalnya, studi dua faktor ( $2^2$ ) dapat mengevaluasi pengaruh suhu dan pH terhadap kelarutan zat. Desain yang lebih kompleks seperti **Response Surface Methodology (RSM)** digunakan untuk memodelkan hubungan kuantitatif antara faktor dan respon, sehingga dapat memprediksi kondisi optimal untuk kelarutan maksimum (Azeem et al., 2022).

Perangkat lunak seperti **Design-Expert®** dan **Minitab®** kini banyak digunakan untuk mempermudah analisis statistik dan validasi model. Pendekatan ini mempersingkat waktu eksperimen sekaligus meningkatkan efisiensi dan akurasi hasil.

### 4. Validasi dan Reproduksiabilitas Data

Validasi metode mencakup **akurasi, presisi, linearitas, dan rentang kerja**. Dalam konteks uji kelarutan, validasi dilakukan dengan memastikan hasil antar replikasi tidak berbeda signifikan secara statistik ( $p > 0,05$ ). Uji *repeatability* dan *intermediate precision* digunakan untuk menilai stabilitas hasil terhadap waktu dan operator berbeda (ICH Q2(R2), 2023) (Rahmadani et al., 2024)

Selain itu, **uji stabilitas larutan standar** dan **uji homogenitas sampel** penting dilakukan untuk menjamin keabsahan data. Dokumentasi menyeluruh terkait kondisi eksperimen, alat yang digunakan, dan bahan baku menjadi aspek penting dari *good laboratory practice (GLP)*.

### 5. Dokumentasi dan Analisis Data

Seluruh data hasil uji harus dicatat secara sistematis dalam lembar observasi atau *electronic laboratory notebook*. Analisis data mencakup perhitungan nilai rata-rata, simpangan baku, dan analisis varian (ANOVA). Visualisasi data dalam bentuk grafik hubungan antara konsentrasi terlarut dan waktu juga membantu interpretasi hasil dan identifikasi titik kesetimbangan kelarutan.

## E. Metode Uji Kelarutan

Pemilihan metode uji kelarutan yang tepat merupakan langkah penting dalam memastikan hasil yang akurat dan dapat direproduksi. Metode yang digunakan harus sesuai dengan sifat fisikokimia senyawa, tujuan penelitian, serta persyaratan regulatori seperti yang tercantum dalam *United States Pharmacopeia (USP)*, *European Pharmacopeia (Ph. Eur.)*, dan *Japanese Pharmacopeia (JP)*.

Secara umum, uji kelarutan dapat dibedakan menjadi dua kategori besar: **metode statis (equilibrium methods)** dan **metode dinamis (non-equilibrium methods)**. Metode statis digunakan untuk menentukan kelarutan kesetimbangan, sedangkan metode dinamis lebih menekankan pada laju pelarutan dan kondisi kinetik pelarutan (Avdeef, 2020).

### 1. Metode Shake-Flask

Metode **shake-flask** adalah teknik klasik yang paling banyak digunakan untuk mengukur kelarutan kesetimbangan. Prinsipnya melibatkan pengocokan zat padat dalam volume media tertentu sampai tercapai kesetimbangan antara fase padat dan cair (European Medicines Agency, 2020).((EMA), 2020)

#### Prosedur

- Timbang zat aktif murni dalam jumlah berlebih.
- Tambahkan ke dalam media pelarut (misalnya air, buffer pH 1,2–7,4, atau etanol-air).
- Lakukan pengocokan pada suhu konstan (biasanya  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  atau  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) selama 24–72 jam.
- Setelah mencapai kesetimbangan, saring larutan dengan membran  $0,45 \mu\text{m}$ .
- Analisis konsentrasi terlarut menggunakan spektrofotometri UV-Vis atau HPLC.

Kelebihannya adalah kesederhanaan dan kemampuan memberikan data kesetimbangan yang reliabel. Namun, metode ini memerlukan waktu lama dan tidak cocok untuk senyawa yang mengalami degradasi atau volatilitas tinggi (Takács-Novák & al., 2021)

## 2. Metode *Intrinsic Solubility*

Metode **intrinsic solubility** mengukur kelarutan senyawa dalam bentuk non-ionik, yaitu pada pH di mana zat tidak mengalami ionisasi. Metode ini penting untuk memahami sifat dasar kelarutan obat dan digunakan dalam prediksi bioavailabilitas (Avdeef, 2019).

Prosedur biasanya menggunakan larutan buffer dengan pH ekstrem untuk memastikan hanya bentuk non-ionik yang hadir. Pengocokan dilakukan seperti pada metode shake-flask, tetapi analisis dilakukan setelah sistem mencapai kesetimbangan pada pH yang telah dikontrol ketat.

## 3. Metode Dinamis (*Flow-Through dan Diffusion*)

Metode dinamis bertujuan untuk meniru kondisi fisiologis di saluran pencernaan, di mana cairan tubuh terus bergerak dan memperbarui media pelarut. Metode ini digunakan untuk studi *rate of dissolution* atau *apparent solubility* (Kuentz, 2021)

### a. *Flow-Through Cell Method*

Dalam metode ini, larutan pelarut dialirkan secara kontinu melewati lapisan zat padat yang tertahan dalam sel khusus. Laju aliran dan suhu dijaga konstan, dan sampel diambil secara berkala untuk analisis konsentrasi. Metode ini sering digunakan untuk zat yang mudah jenuh atau mengalami supersaturasi.

### b. *Diffusion Method*

Metode difusi menggunakan membran semipermeabel untuk memisahkan zat padat dari media pelarut. Difusi zat aktif melalui membran mencerminkan kelarutan efektif dalam sistem biologis. Pendekatan ini sering digunakan dalam studi prediksi *permeability-solubility interplay* (D'Souza, 2020).

## 4. Metode *In-Situ UV dan Fiber Optic Dissolution*

Metode modern menggunakan detektor **UV in-situ** atau **fiber optic dissolution system**, yang memungkinkan pemantauan langsung konsentrasi zat terlarut tanpa perlu mengambil sampel (N. Shah & al., 2022)

Sistem ini bekerja dengan menempatkan probe optik dalam media pelarut, dan perubahan absorbansi terhadap waktu direkam secara otomatis. Teknik ini mempercepat pengumpulan data, meminimalkan kesalahan sampling, dan cocok untuk formulasi yang sensitif terhadap cahaya atau oksidasi. Selain itu, penggunaan perangkat lunak analitik memungkinkan penentuan waktu kesetimbangan kelarutan, kurva kinetika pelarutan, dan estimasi konstanta difusi

## 5. Metode Turbidimetri Langsung

Teknik ini mengandalkan perubahan kekeruhan larutan saat zat padat mulai terlarut. Nilai kelarutan diestimasi berdasarkan hubungan antara transmitansi cahaya dan konsentrasi partikel tersuspensi (Nti-Gyabaah & al., 2021)

Metode ini cepat dan tidak memerlukan tahap penyaringan, namun memiliki keterbatasan dalam hal presisi dan validitas kuantitatif.

## 6. Metode *High-Throughput Screening* (HTS)

Perkembangan teknologi telah memungkinkan **HTS solubility testing**, yang menggunakan sistem mikrotiter otomatis untuk menilai kelarutan berbagai senyawa dalam waktu singkat (Han & al., 2020).

Teknik ini memungkinkan skrining puluhan hingga ratusan senyawa menggunakan volume kecil ( $\leq 1$  mL) dan analisis cepat melalui UV atau HPLC terintegrasi. HTS sangat berguna dalam tahap awal *drug discovery* untuk mengidentifikasi kandidat dengan kelarutan optimal.

**Tabel 4.2** Pemilihan Metode berdasarkan Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian	Metode yang Direkomendasikan
Menentukan kelarutan kesetimbangan	Shake-flask, intrinsic solubility
Menentukan laju pelarutan	Flow-through, in-situ UV
Skrining cepat	High-throughput screening

Tujuan Penelitian	Metode yang Direkomendasikan
Senyawa kelarutan sangat rendah	Turbidimetri, diffusion method
Studi IVIVC	In-situ UV, dynamic dissolution

### Validasi Metode

Setiap metode harus divalidasi untuk memastikan keandalan hasil. Parameter validasi meliputi **akurasi, presisi, linearitas, limit deteksi (LOD), dan limit kuantifikasi (LOQ)**. Validasi juga mencakup evaluasi stabilitas sampel selama pengujian dan reproduktibilitas antar hari ((ICH), 2023).

Selain itu, penggunaan kontrol positif (zat dengan kelarutan diketahui) disarankan untuk memastikan sistem berfungsi dengan benar sebelum menguji sampel baru

## F. Parameter Eksperimen dan Standar Farmakope

Uji kelarutan merupakan salah satu pengujian dasar yang diatur dalam berbagai farmakope resmi, seperti *United States Pharmacopeia (USP)*, *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)*, dan *Japanese Pharmacopoeia (JP)*. Meskipun prinsip dasarnya serupa, setiap farmakope memberikan panduan terperinci mengenai parameter eksperimen yang wajib dikontrol, seperti jenis media, suhu, pH, volume, waktu, dan alat yang digunakan (USP 2023).

Parameter-parameter tersebut sangat memengaruhi hasil uji kelarutan dan harus divalidasi agar hasil yang diperoleh dapat dibandingkan lintas laboratorium. Pengendalian yang ketat juga diperlukan untuk menjamin kesetaraan biofarmasetika antara formulasi yang diuji dengan produk referensi (FDA, 2022).(Administration, 2022)

### 1. Media Pelarut

Pemilihan media pelarut dalam uji kelarutan ditentukan berdasarkan sifat fisikokimia zat aktif dan kondisi fisiologis yang ingin ditiru. Farmakope merekomendasikan beberapa jenis media berikut:

- a. **Air murni (aqua destillata)**: digunakan sebagai media dasar untuk senyawa yang larut netral.
- b. **Buffer fosfat (pH 6,8)**: meniru kondisi usus halus.
- c. **Buffer asetat (pH 4,5)**: digunakan untuk simulasi kondisi lambung bagian bawah.
- d. **HCl 0,1 N (pH 1,2)**: menggambarkan kondisi asam di lambung.
- e. **Media surfaktan** seperti *sodium lauryl sulfate (SLS)* 0,1–1%: digunakan untuk meningkatkan kelarutan zat hidrofobik (Dressman et al., 2021).
- f. **Simulated Gastric Fluid (SGF)** dan **Simulated Intestinal Fluid (SIF)** tanpa enzim: digunakan untuk studi *biorelevant solubility*.

Media harus memenuhi kondisi *sink*, yakni jumlah zat yang terlarut tidak melebihi 10–15% dari kapasitas kelarutan media, agar difusi dan pelarutan tetap optimal (Sinko & Martin, 2021).

## 2. pH dan Kapasitas Buffer

pH media sangat berpengaruh terhadap kelarutan senyawa ionik. Senyawa asam cenderung lebih larut dalam kondisi basa, sementara senyawa basa lebih larut pada kondisi asam. Oleh karena itu, buffer yang digunakan harus memiliki **kapasitas buffer yang cukup kuat** untuk mempertahankan pH stabil meskipun terjadi ionisasi atau penambahan zat aktif (Avdeef, 2020).

Perubahan pH bahkan 0,2 unit dapat mengubah profil kelarutan secara signifikan, terutama untuk senyawa dengan konstanta disosiasi (pKa) yang berada dekat dengan pH media.

## 3. Suhu

Kelarutan umumnya meningkat dengan kenaikan suhu, sesuai dengan prinsip termodinamika endothermik. Oleh karena itu, suhu eksperimen harus dikontrol ketat pada  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  untuk mensimulasikan kondisi fisiologis tubuh manusia.



Beberapa farmakope, seperti USP <711>, merekomendasikan penggunaan *water bath* atau *jacketed vessel* dengan sistem pengatur suhu otomatis untuk menjamin konsistensi hasil (USP, 2023).

#### 4. Waktu dan Durasi Pengujian

Durasi pengujian bergantung pada metode dan tujuan uji. Untuk metode kesetimbangan (*shake-flask*), waktu pengocokan biasanya antara **24–72 jam**, sementara pada metode dinamis, pengambilan sampel dapat dilakukan setiap 5–60 menit hingga tercapai kondisi stabil.

Waktu sampling yang konsisten sangat penting agar hasil yang diperoleh dapat dibandingkan secara statistik antar replikasi (Azeem et al., 2022)

#### 5. Volume Media

Volume media harus mencukupi untuk mencapai kondisi *sink*. Biasanya digunakan volume **100–900 mL**, tergantung metode dan alat yang digunakan. Dalam uji kelarutan tablet atau kapsul (*dissolution testing*), USP merekomendasikan volume standar **500 mL, 900 mL, atau 1000 mL** tergantung spesifikasi produk (USP <711>, 2023).

Jika kondisi *sink* sulit tercapai, penggunaan surfaktan atau media campuran (misalnya air-etanol) dapat menjadi solusi yang sesuai (Kuentz, 2021).

#### 6. Alat dan Sistem Pengadukan

Farmakope mendefinisikan beberapa tipe alat standar untuk pengujian kelarutan:

- a. **Apparatus I (*Basket method*)** – digunakan untuk bentuk sediaan padat seperti kapsul keras.
- b. **Apparatus II (*Paddle method*)** – cocok untuk tablet atau sediaan yang mudah mengendap.
- c. **Apparatus III (*Reciprocating cylinder*)** – meniru kondisi gastrointestinal dinamis.
- d. **Apparatus IV (*Flow-through cell*)** – digunakan untuk sediaan pelepasan lambat atau bentuk partikulat kecil (Ph. Eur., 2022).

Kecepatan pengadukan yang umum digunakan berkisar antara **50–100 rpm**, dan harus divalidasi agar menghasilkan laju pelarutan yang stabil dan tidak menyebabkan turbulensi berlebihan.

## **7. Validasi dan Kalibrasi Alat**

Validasi alat mencakup pemeriksaan **sinkronisasi putaran, suhu, volume media, dan posisi alat uji**. Farmakope mensyaratkan kalibrasi rutin menggunakan **prednisone tablet USP Calibrator** untuk memastikan kinerja sistem dissolution (FDA, 2022).

Kalibrasi dilakukan minimal setiap enam bulan sekali atau setiap kali dilakukan perawatan besar. Selain itu, perangkat analisis seperti spektrofotometer UV dan HPLC juga harus melalui validasi parameter instrumen meliputi linearitas, sensitivitas, dan presisi.

## **8. Validasi Metode**

Metode uji kelarutan harus divalidasi untuk memastikan data yang diperoleh valid dan dapat direproduksi. Menurut pedoman ICH Q2(R2) (2023), parameter validasi meliputi:

- a. Akurasi: tingkat kedekatan antara hasil uji dengan nilai sebenarnya.
- b. Presisi: kesesuaian hasil antar replikasi (intra-day dan inter-day).
- c. Linearitas dan rentang kerja: kemampuan metode menghasilkan hasil proporsional terhadap konsentrasi.
- d. LOD dan LOQ: batas deteksi dan batas kuantifikasi.
- e. Kekhususan: kemampuan metode membedakan zat aktif dari ekscipien atau pengotor.

## **9. Standar Farmakope dan Regulasi Internasional**

Beberapa panduan resmi yang menjadi acuan utama:

- a. USP <711> Dissolution dan USP <724> Drug Release
- b. Ph. Eur. 2.9.3 Dissolution Test for Solid Dosage Forms
- c. JP 17th Edition: General Tests – Dissolution Test

- d. WHO Technical Report Series No. 1025 (2020) untuk panduan *biowaiver* dan pengujian kelarutan.
- e. FDA Guidance for Industry (2022) mengenai *Dissolution Testing and Biopharmaceutics Classification System*.

Keselarasan dengan panduan ini menjamin bahwa hasil uji kelarutan dapat diterima dalam proses registrasi obat internasional dan pengajuan *biowaiver*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Administration, U. S. F. and D. (2022). *Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System*. U.S. Food and Drug Administration.
- Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P., & Crison, J. R. (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12(3), 413–420. <https://doi.org/10.1023/A:1016212804288>
- Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P., & Crison, J. R. (2021). The Biopharmaceutics Classification System: 30 years of progress. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(9), 2804–2815. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.04.023>
- Aulton, M. E., & Taylor, K. M. G. (2022). *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines* (6th ed.). Elsevier.
- Avdeef, A. (2019). Intrinsic solubility measurement by pH-metric methods: a 20-year perspective. *ADMET & DMPK*, 7(3), 166–181. <https://doi.org/10.5599/admet.705>
- Avdeef, A. (2020). Equilibrium solubility measurement revisited: Shake-flask method and beyond. *ADMET & DMPK*, 8(3), 195–217.
- Azeem, A., Rizvi, S. A. A., Ahmad, F. J., & Khar, R. K. (2022). Design of experiments in solubility enhancement studies: Statistical optimization and response surface methodology. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(3), 765–777.
- Baka, E., Comer, J. E., & Takács-Novák, K. (2021). Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method for new chemical entities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 200, 114079.

- D'Souza, S. S. (2020). Diffusion-controlled solubility testing methods for poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 589, 119807.
- (EMA), E. M. A. (2020). *Guideline on Quality of Oral Modified Release Products*. EMA.
- FDA. (2003). *Guidance for Industry of New Drug Substances and Products Guidance for Industry Q1A ( R2 ) Stability Testing of New Drug Substances and Products* (Issue November).
- Ghosh, A., & Banerjee, S. (2023). In vitro-in vivo correlation: Principles, models, and regulatory perspectives. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 49(6), 789–802.
- Han, X., & al., et. (2020). High-throughput solubility screening for early drug discovery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(9), 2792–2801.
- Hossain, M. A., & al., et. (2020). Experimental design and optimization in pharmaceutical research. *Pharmaceutics*, 12(7), 646.
- (ICH), I. C. for H. (2023). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Q2(R2))*. ICH Secretariat.
- Jain, P., & Yadav, S. K. (2022). Effect of particle size and morphology on solubility and dissolution of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 619, 121730.
- Jain, R., Patel, A., Shah, P., & Patel, N. (2022). Solubility enhancement techniques for poorly soluble drugs: Recent advances and applications. *Pharmaceutics*, 14(7), 1409. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071409>
- Kawabata, Y., Wada, K., Nakatani, M., & Yamada, S. (2021). Current status of solubility enhancement strategies in pharmaceutical research. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 177, 113948. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113948>

- Kuentz, M. (2021). Solubility and dissolution rate studies in the context of formulation development. *Pharmaceutics*, 13(8), 1214.
- Kumar, S., Gupta, P., & Sharma, R. (2024). Novel solubility enhancement approaches for hydrophobic drugs: From conventional to nanotechnology-based systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 50(4), 412–426. <https://doi.org/10.1080/03639045.2024.2334458>
- Li, Z., Wang, Y., & Chen, H. (2023). Smart solubility and pH/ROS-responsive delivery systems in drug design. *Journal of Controlled Release*, 355, 234–251. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.05.019>
- Lu, J., & al., et. (2020). Mathematical modeling of dissolution profiles and IVIVC in poorly soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 154, 105511.
- Martin, A., & Bustamante, P. (2021). *Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences* (7th ed.). Wolters Kluwer.
- Mishra, A., Patel, R., Thakkar, S., & Desai, D. (2021). Co-solvency and solubilization mechanisms in pharmaceutical formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 603, 120689. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120689>
- Mitali Kakran, by, Lin Li, P., & Rainer Müller, P. H. (n.d.). *Increasing Drug Solubility Overcoming the Challenge of Poor Drug Solubility*.
- Montgomery, D. C. (2020). *Design and Analysis of Experiments* (10th ed.). John Wiley & Sons.
- Nangia, A., & Vemuri, N. M. (2021). Thermodynamic analysis of solubility and polymorphism in pharmaceuticals. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 172, 2–18.
- Nti-Gyabaah, J., & al., et. (2021). Turbidimetric solubility analysis of poorly soluble drugs: A rapid screening approach. *Pharmaceutical Development and Technology*, 26(4), 410–420.

- Nwazojie, C. C., Obayemi, J. D., Salifu, A. A., Borbor-Sawyer, S. M., Uzonwanne, V. O., Onyekanne, C. E., Akpan, U. M., Onwudiwe, K. C., Oparah, J. C., Odusanya, O. S., & Soboyejo, W. O. (2023). Targeted drug-loaded PLGA-PCL microspheres for specific and localized treatment of triple negative breast cancer. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 34(8). <https://doi.org/10.1007/s10856-023-06738-y>
- Patel, K., Mehta, T., Shah, D., & Patel, N. (2023). Micellar solubilization and surfactant-mediated enhancement of drug solubility: Current perspectives. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 222, 113120. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2023.113120>
- Rahmadani, I. N., Fauziah, N., Hidayat, M. N., Safirah, N. A., Fadhilah, N. A., & Permana, A. D. (2024). Validation of spectrophotometric and colorimetric methods to quantify clindamycin in skin tissue: application to in vitro release and ex vivo dermatokinetic studies from separable effervescent microarray patch loaded bacterially sensitive microparticle. *Analytical Sciences*, 40(3), 445–460. <https://doi.org/10.1007/s44211-023-00478-3>
- Rezky Aulia, N., Paramitha Dwi Putri, A., Anandha Pratama, F., Arnita Putri Abdullah, D., Shaa Azzahra, K., Dian Permana, A., Rezky Aulia Ilyas, N., Arnita, D., Abdullah, P., & Shafi Azzahra, K. (2023). Implantable Trilayer Microneedle Transdermal Delivery System to Enhance Bioavailability and Brain Delivery of Rivastigmine for Alzheimer Treatment: a Proof-of-concept Study TO ENHANCE BIOAVAILABILITY AND BRAIN DELIVERY OF RIVASTIGMINE 2 FOR ALZHEIMER TREA. *Research Square*.
- Roy, P., & Mondal, S. (2022). Statistical approaches for analysis of dissolution data in pharmaceutical development. *Pharmaceutics*, 14(3), 628.

- Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2020). Drug solubility: Importance and enhancement techniques. *ISRN Pharmaceutics*, 2020, 1954583. <https://doi.org/10.1155/2020/1954583>
- Shah, N., & al., et. (2022). Application of in-situ fiber optic UV analysis in dissolution and solubility testing. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(2), 182–191.
- Shah, V. P., Amidon, G. L., & al., et. (2021). In vitro dissolution and in vivo bioequivalence: Developments and perspectives. *AAPS Journal*, 23(4), 80. <https://doi.org/10.1208/s12248-021-00612-7>
- Singh, S., & Dahiya, S. (2023). Challenges and opportunities in enhancing solubility of new chemical entities. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 189, 115–130. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2023.05.002>
- Sinkó, B., Farkas, A., & Balogh, G. T. (2020). Evaluation of dissolution kinetics by improved Noyes–Whitney models. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 149, 105317. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105317>
- Song, C., Zhang, X., Lu, M., & Zhao, Y. (2023). Bee Sting-Inspired Inflammation-Responsive Microneedles for Periodontal Disease Treatment. *Research*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.34133/research.0119>
- Sugano, K., Kataoka, M., & Da Silva, J. (2021). Intestinal permeability and absorption prediction using ex vivo and in silico models. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 175, 113835. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113835>
- Takács-Novák, K., & al., et. (2021). Comparison of solubility measurement techniques for BCS classification. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 163, 150–159.
- Yu, L. X., & al., et. (2021). Understanding drug solubility and dissolution behavior for formulation design. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(4), 1345–1359.



- Yu, L. X., Amidon, G. L., Polli, J. E., & Zhao, H. (2022). BCS and biowaivers: Developments, challenges, and future perspectives. *Pharmaceutical Research*, 39(7), 1612–1625. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03261-8>
- Zhang, Y., & al., et. (2021). Nonlinear kinetic modeling of drug dissolution and solubility. *International Journal of Pharmaceutics*, 603, 120702.

# BAB

# 5

# UJI REAKSI KIMIA

Dr. Tahirah Hasan, M.Si.

## A. Pendahuluan

Bahan baku farmasi (*active pharmaceutical ingredients*) dan bahan tambahan (*excipients*) merupakan komponen esensial dalam pembuatan sediaan obat yang menentukan keamanan, khasiat, dan mutu produk akhir. Mutu bahan baku menjadi dasar bagi jaminan mutu obat, karena ketidaksesuaian sifat fisikokimia atau keberadaan pengotor dapat mempengaruhi kestabilan, efektivitas, bahkan keamanan sediaan obat. Oleh karena itu, pengujian bahan baku obat adalah proses yang wajib dilakukan sebelum suatu bahan digunakan dalam produksi obat (Watson 2020; USP 47–NF 42, 2024, 2024).

Industri farmasi merupakan sektor yang sangat penting karena berkaitan langsung dengan kesehatan masyarakat. Oleh karena itu, jaminan kualitas produk farmasi sangatlah penting. Salah satu cara untuk memastikan bahwa produk farmasi memenuhi standar kualitas yang ketat adalah dengan menerapkan analisis kimia. Analisis kimia memiliki peran penting dalam pengembangan produksi dan pengujian obat-obatan untuk memastikan keamanan serta efektivitasnya (Rohman, 2007).

Uji reaksi kimia dalam proses pengawasan mutu, merupakan salah satu metode analisis kualitatif yang menjadi dasar untuk mengidentifikasi dan mengonfirmasi kandungan senyawa atau gugus fungsional tertentu pada bahan baku

farmasi. Uji ini dilakukan menggunakan pereaksi kimia yang spesifik untuk memastikan identitas bahan seperti uji warna atau reaksi dengan pereaksi tertentu. Reaksi spesifik antara bahan uji dan pereaksi kimia yang ditandai dengan adanya perubahan warna, pembentukan endapan, gas, atau kompleks berwarna yang khas. Meskipun metode instrumental modern seperti spektroskopi (FTIR, UV-VIS, NMR) dan kromatografi (HPLC, GC-MS) semakin dominan, namun uji reaksi kimia masih tetap memiliki peran penting untuk dilakukan, terutama untuk uji pendahuluan atau pemeriksaan awal, pembelajaran dasar analisis farmasi, serta verifikasi cepat di lapangan (Philp *et al.*, 2018).

## B. Penggolongan Bahan Baku Farmasi

Bahan baku farmasi diklasifikasikan berdasarkan sumber, fungsi, dan peran farmakologisnya.

### 1. Berdasarkan Sumber Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam industri farmasi, dapat berasal dari berbagai sumber, baik alami, sintetik/semisintetik maupun bioteknologi. Secara garis besar, bahan baku farmasi dibagi menjadi:

#### a. Bahan alami

Bahan ini diperoleh langsung dari sumber biologis tanpa melalui sintesis kimia penuh.

**1) Bahan nabati (tumbuhan):** senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, saponin dan lain-lain yang diperoleh dari tumbuhan.

**Contoh:** morfin (*Papaver somniferum*), kafein (*Coffea arabica*), kurkumin (*Curcuma longa*).

**2) Bahan hewani:** protein, enzim, hormon, atau lipid dari jaringan hewan.

**Contoh:** insulin (babi/sapi, rekombinan), gelatin, heparin.

Bahan baku alami yang diperoleh dari tumbuhan dan hewan masih banyak digunakan dalam industri farmasi. Tumbuhan merupakan sumber bahan baku yang

kaya untuk obat-obatan herbal. Sementara yang diperoleh dari produk turunan hewan seperti heparin, insulin dan vaksin juga sangat penting. Kualitas dan sumber bahan-bahan alami ini penting karena komposisi senyawanya sangat bervariasi dan ini dapat mempengaruhi efektivitas produk akhir secara signifikan.

**b. Bahan mineral**

Bahan mineral berasal dari garam anorganik seperti  $\text{ZnO}$ ,  $\text{MgSO}_4$ , dan  $\text{NaCl}$

**c. Bahan semisintetik**

Bahan semisintetik bahan ini diperoleh dengan memodifikasi molekul alami melalui reaksi kimia. Bahan semisintetik merupakan senyawa obat yang berasal dari modifikasi kimia bahan alam (nabati/hewan) sehingga menghasilkan turunan dengan aktivitas farmakologis lebih baik, lebih stabil, atau lebih mudah disintesis.

**Contoh:** Amoksisilin turunan semisintetik dari penisilin alami, kortikosterol hasil modifikasi dari hormon alam, kodein dari turunan morfin.

**d. Bahan sintetik**

Bahan sintetik senyawa obat yang dibuat sepenuhnya melalui reaksi kimia di laboratorium/ industri, tanpa memerlukan bahan alam sebagai prekursor utama, untuk mendapatkan senyawa dengan kemurnian tinggi, aktivitas spesifik, stabilitas baik, dan biaya produksi lebih efisien.

**Contoh:** Parasetamol, Aspirin, sulfonamid dan lain-lain.

**e. Bahan bioteknologi/rekayasa genetika**

Bahan ini menggunakan teknik kultur sel, melalui ekspresi genetik (DNA rekombinan), atau fermentasi mikroba.

**Contoh:** insulin rekayasa genetika (*E.coli* rekombinan), vaksin mRNA, interferon atau antibodi monoclonal.

## 2. Berdasarkan Fungsi dalam Formulasi Obat

- a. **Bahan aktif:** *Active Pharmaceutical Ingredient (API)*: memberikan efek terapeutik langsung.
- b. **Bahan tambahan (*excipients*)**: tidak memiliki efek farmakologis langsung, namun berfungsi sebagai pelarut, pengikat, pengisi, pengemulsi, atau stabilisator (Allen L.V., 2020).

## 3. Berdasarkan Standar Mutu

Bahan baku farmasi wajib memenuhi standar farmakope resmi, seperti *Farmakope Indonesia edisi VI (2020)*, *United States Pharmacopeia (USP)*, atau *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)*. Standar ini menetapkan parameter identifikasi, kemurnian, kadar zat aktif, serta batas kontaminan.

Uji reaksi kimia (*chemical tests*) pada bahan baku farmasi adalah sekumpulan prosedur kualitatif yang memanfaatkan reaksi kimia spesifik antara zat uji dan pereaksi untuk menunjukkan identitas atau keberadaan gugus fungsional pada sampel. Dalam praktik laboratorium quality kontrol farmasi, uji reaksi kimia sering berfungsi sebagai skrining atau identifikasi awal sebelum analisis konfirmasi dengan teknik instrumentasi seperti (TLC/ HPTLC, HPLC, FTIR, NMR). Nilai operasional uji reaksi kimia adalah sederhana, biaya rendah, dan kecepatan pelaksanaan karakteristik yang membuat uji reaksi kimia tetap relevan meskipun teknik instrumen semakin terjangkau.

## C. Konsep dan Jenis Uji Reaksi Kimia dalam Analisis Farmasi

Uji reaksi kimia merupakan bagian dari uji identifikasi kualitatif. Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya suatu zat atau senyawa dalam bahan baku farmasi menggunakan pereaksi spesifik. Uji reaksi kimia adalah metode kualitatif tradisional yang memiliki peran penting karena merupakan bagian integral dari sistem jaminan mutu bahan baku farmasi yang mendukung validasi, verifikasi, serta *traceability* bahan hingga ke tahap produksi akhir. Prinsip dasar uji reaksi kimia

berdasarkan sifat-sifat fisik dan kimia zat yang bereaksi dengan pereaksi tertentu sehingga menghasilkan perubahan yang dapat diamati, seperti perubahan warna, pembentukan endapan, atau terjadinya gelembung gas.

Reaksi warna dengan penambahan pereaksi tertentu pada sampel dapat menghasilkan warna spesifik yang menunjukkan keberadaan golongan senyawa tertentu. Reaksi pembentukan endapan, beberapa reaksi menghasilkan endapan yang dapat diidentifikasi berdasarkan warna dan sifat fisiknya. Berdasarkan mekanisme reaksi kimia dan tujuan analitis, uji reaksi kimia untuk bahan baku farmasi dapat diklasifikasikan sebagai berikut: (pengenalan gugus fungsi, presipitasi, reaksi redoks, dan spot test) (Pedersen, C., 2020).

1. **Reaksi penentuan gugus fungsional (*functional group test*)**, misalnya, uji  $\text{FeCl}_3$  untuk senyawa fenolik menghasilkan warna ungu-hijau, uji Liebermann-Burchard (LB) untuk steroid berubah menjadi warna hijau kebiruan, atau uji Molisch untuk karbohidrat terbentuk warna ungu di batas larutan.
2. **Reaksi presipitasi atau pembentukan kompleks**, seperti uji  $\text{AgNO}_3$  untuk halida menghasilkan endapan putih  $\text{AgCl}$ , uji Mayer atau Dragendorff untuk alkaloid terbentuk endapan kompleks, serta uji  $\text{NaOH}$  untuk logam berat.
3. **Reaksi redoks dan asidimetri/alkalimetri**, diterapkan pada analisis senyawa yang mudah teroksidasi atau tereduksi. Beberapa reaksi kualitatif melibatkan perubahan bilangan oksidasi misalnya reaksi iodometri untuk fenol/antioksidan tertentu seperti misalnya penetapan askorbat atau ion ferro/ferri. Meskipun fungsi utamanya sebagai analisis kualitatif, prinsip yang sama dikembangkan menjadi metode kuantitatif melalui titrasi.
4. **Spot test**, atau reaksi pembentukan warna spesifik (*color reactions*), digunakan untuk membedakan senyawa dengan gugus kromofor tertentu. Uji ini sering dikembangkan karena cepat. *Spot test* adalah metode kualitatif yang sederhana dan cepat untuk mendeteksi keberadaan senyawa atau ion

tertentu dalam sampel. Uji ini populer untuk skrining awal yang cepat. Contohnya pengujian bahan psikotropika dan pengujian kandungan formalin pada makanan atau identifikasi jenis ion logam tertentu

Dalam praktik modern, uji reaksi kimia menjadi langkah awal yang penting sebelum dilanjutkan dengan uji instrumen seperti *Thin Layer Chromatography (TLC/HPTLC)* atau spektroskopi, untuk meningkatkan selektivitas dan menghindari kesalahan identifikasi. Meskipun metode instrumental semakin berkembang, reaksi kimia klasik tetap menjadi bagian integral dari sistem jaminan mutu, karena dapat memberikan data visual, cepat, dan murah untuk deteksi awal dan verifikasi identitas bahan baku farmasi (Furniss B. S. *et.al.*, 1989)

Uji reaksi kimia yang umum dan sering digunakan dalam skrining fitokimia untuk mengidentifikasi jenis senyawa dalam bahan baku Farmasi alami (Farmakope Indonesia VI, 2020; Watson, 2020; USP 47–NF 42, 2024).

### **1. Reaksi Uji Fenol**

Reaksi dengan  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan positif mengandung fenol/tanin.

### **2. Reaksi Uji Alkaloid**

- a. **Uji Mayer**, reaksi dengan  $\text{HgCl}_2 + \text{KI}$  (Reagen Mayer) terbentuk kompleks kalium tetraiodomerkurat menghasilkan endapan kekuningan menunjukkan positif mengandung alkaloid
- b. **Uji Dragendorff**, ion  $\text{K}^+$  dari kalium tetraiodobismutrat berikatan dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks yang ditandai dengan endapan berwarna jingga, menunjukkan positif mengandung alkaloid.

### **3. Reaksi Uji Glikosida (Uji Saponin)**

**Uji Busa**, sampel ditambahkan dengan air panas kemudian dikocok, timbul busa yang stabil selama sepuluh menit menunjukkan adanya glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Hal ini teridentifikasi sampel

mengandung senyawa saponin (salah satu senyawa glikosida).

#### **4. Reaksi Uji Flavonoid**

- a. **Pereaksi NaOH**, reaksi dengan NaOH terjadi perubahan warna dari hijau muda menjadi kuning atau jingga menunjukkan positif adanya flavonoid.
- b. **Pereaksi Mg dan HCl**, reaksi dengan pserbuk Mg dan HCl pekat terbentuk kompleks yang berwarna jingga atau merah menunjukkan positif mengandung flavonoid.

#### **5. Uji Triterpenoid dan Steroid**

Uji triterpenoid dan steroid dengan pereaksi Lieberman Buchard terbentuk cincin berwarna coklat kemerahan menunjukkan positif mengandung triterpenoid dan terbentuk cincin berwarna biru atau hijau positif mengandung steroid.

#### **6. Uji Karbonil**

- a. **Pereaksi 2,4-dinitrofenilhidrazin (2,4-DNPH)**, reaksi dengan 2,4-DNPH terbentuk endapan berwarna kuning atau jingga teridentifikasi mengandung gugus karbonil (Aldehid/Keton).
- b. **Pereaksi  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  (Reagen Tollens)**, reaksi dengan pereaksi tollens terbentuk cermin perak pada dinding tabung menunjukkan positif mengandung aldehid.

#### **7. Uji Gula Reduksi**

Uji gula reduksi dengan pereaksi benedit ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Na-sitrat) dipanaskan 2 sampai 3 menit terbentuk endapan merah bata menunjukkan adanya gula reduktor

#### **8. Uji Protein**

Uji protein dengan pereaksi Biuret ( $\text{CuSO}_4 + \text{NaOH}$ ) dipanaskan terbentuk warna ungu menunjukkan adanya ikatan peptide.

#### **9. Uji Logam Berat**

Uji logam berat, dengan gas  $\text{H}_2\text{S}$  dalam larutan asam terbentuk endapan hitam/coklat menunjukkan adanya logam Pb, Cu dan Hg dalam sampel.



#### **D. Peranan Uji Reaksi Kimia dalam Pengendalian Mutu dan Identifikasi Bahan Baku Farmasi**

Uji reaksi kimia berperan penting dalam menjamin mutu dan identifikasi bahan baku farmasi. Uji reaksi kimia sebagai bagian dari pengujian kualitatif. Metode uji ini digunakan untuk memastikan keaslian, kemurnian, dan kesesuaian bahan dengan spesifikasi farmakope. Dalam industri farmasi modern, uji reaksi kimia tidak hanya berfungsi sebagai alat identifikasi awal tetapi juga sebagai bagian integral dari sistem pengendalian mutu yang terstandarisasi.

Penggunaan teknologi analitik modern tidak menghilangkan relevansi uji reaksi kimia, karena pengujian ini tetap digunakan untuk verifikasi cepat, skrining awal, serta validasi hasil dari metode instrumental. Uji ini dilakukan di laboratorium quality control untuk memastikan bahwa bahan baku sesuai dengan spesifikasi yang ditentukan oleh farmakope. Keunggulan uji ini, identifikasi secara kimia, praktis, murah, cepat dan mudah diinterpretasi. Peranan uji reaksi kimia dalam pengendalian mutu antara lain: (Ditjen POM, 1995; Endarini, 2018)

##### **1. Uji Identifikasi**

Uji identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa bahan baku yang digunakan benar-benar zat yang sesuai. Uji identifikasi sederhana, seperti reaksi pengendapan atau perubahan warna, digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan gugus fungsi atau unsur tertentu yang menjadi ciri khas senyawa bahan baku. Contohnya:

- a. Reaksi pengendapan**, pembentukan endapan perak klorida ( $\text{AgCl}$ ) dengan penambahan perak nitrat ke dalam larutan yang mengandung ion klorida seperti  $\text{NaCl}$ , yang sering digunakan sebagai eksipien.
- b. Reaksi warna**, perubahan warna yang khas pada suatu senyawa saat direaksikan dengan pereaksi tertentu.

- c. **Uji pH**, mengukur pH bahan baku dapat membantu mengonfirmasi keasaman atau kebasaan yang diharapkan, yang merupakan sifat kimia penting dari bahan baku farmasi.

## 2. Uji Kemurnian

Pengujian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan cemaran atau ketidakmurnian bahan baku yang dapat membahayakan pasien atau memengaruhi efektivitas obat. Uji reaksi kimia dapat mendeteksi cemaran seperti:

- a. **Logam berat**: Reaksi kimia yang sensitif terhadap logam berat dapat menunjukkan adanya kontaminasi. Contohnya, reaksi dengan tioasetamida yang membentuk endapan sulfida.
- b. **Zat asing**: Uji batas, seperti uji klorida atau sulfat, dapat mendeteksi keberadaan zat pengotor yang masih berada di bawah batas konsentrasi yang diizinkan.
- c. **Zat organik yang mudah teroksidasi**: beberapa pengujian menggunakan reaksi oksidasi-reduksi untuk mendeteksi zat-zat yang tidak stabil.

## 3. Uji Penetapan Kadar

Meskipun metode modern lebih sering digunakan untuk penetapan kadar seperti kromatografi, namun titrasi masih menjadi salah satu uji reaksi kimia yang umum. Titrasi digunakan untuk menentukan konsentrasi bahan aktif dalam bahan baku, memastikan bahan tersebut memiliki potensi yang sesuai, contohnya:

- a. **Titrasi asam-basa**: digunakan untuk bahan baku yang bersifat asam atau basa, seperti asam sitrat atau natrium hidroksida.
- b. **Titrasi argentometri**: digunakan untuk menentukan kadar ion halida, seperti bromida, klorida, atau iodida.

## 4. Kepatuhan terhadap Standar dan Regulasi

Kepatuhan terhadap standar untuk pengujian bahan baku farmasi diatur oleh farmakope, seperti Farmakope Indonesia (FI), yang menetapkan persyaratan identitas dan

kemurnian. Uji reaksi kimia yang dijelaskan dalam farmakope menjadi pedoman bagi produsen untuk memastikan bahwa bahan baku memenuhi standar yang ditetapkan. Uji reaksi kimia membantu industri farmasi mematuhi standar yang ditetapkan oleh otoritas regulasi, seperti farmakope. Dengan melakukan pengujian yang sesuai, perusahaan dapat memastikan keamanan dan kualitas produk untuk pasien. Mempertahankan reputasi merek dan menghindari penarikan kembali produk yang merugikan produsen. Mencegah penggunaan bahan baku yang tidak sesuai untuk proses produksi.

Secara keseluruhan, uji reaksi kimia merupakan langkah awal dan fundamental dalam proses pengendalian mutu bahan baku farmasi yang ketat, dan dapat memastikan setiap obat yang diproduksi aman, efektif, dan berkualitas tinggi.

## **5. Kontrol Kualitas**

Dengan melakukan uji identifikasi pada setiap *bets (batch)* bahan baku, produsen dapat memastikan konsistensi kualitas di seluruh proses produksi. Hal ini sangat penting karena variasi kualitas bahan baku dapat menyebabkan perbedaan pada produk akhir.

## **E. Penerapan Analisis Kimia dalam Industri Farmasi**

Analisis kimia dalam industri farmasi digunakan untuk berbagai tujuan, mulai dari pengujian bahan baku, proses produksi hingga pemeriksaan produk akhir. Analisis kimia dapat mendeteksi kandungan zat aktif, kontaminan atau impuritas dalam suatu produk, sehingga dapat memastikan bahwa produk farmasi memenuhi spesifikasi yang diinginkan dan tidak membahayakan konsumen (Swartz, M.F. & Krull I.S, 2022).

Beberapa penerapan analisis kimia dalam industri farmasi:

**1. Pengujian Bahan Baku**

Bahan baku obat-obatan harus memenuhi standar kualitas tertentu sebelum digunakan dalam proses produksi. Analisis kimia digunakan untuk memverifikasi bahan tersebut.

**2. Pemantauan Proses Produksi**

Selama proses produksi, kualitas obat harus dipantau secara terus menerus untuk memastikan bahwa setiap batch yang dihasilkan sesuai dengan spesifikasi yang telah ditentukan. Analisis kimia digunakan untuk memonitor parameter-parameter seperti pH, viskositas, dan konsentrasi zat aktif dalam proses setiap tahap produksi.

**3. Uji Produk**

Sebelum produk farmasi dipasarkan, produk harus diuji untuk memastikan bahwa obat tersebut aman dan efektif digunakan.

**4. Uji Stabilitas**

Uji stabilitas diperlukan untuk mengetahui masa simpan suatu produk tanpa menurunkan kualitasnya

**F. Manfaat Penerapan Analisis Kimia dalam Industri Farmasi**

Penerapan analisis kimia dalam industri farmasi memberikan berbagai manfaat yang tidak hanya berkaitan dengan kepatuhan terhadap regulasi, tetapi juga pada efisiensi dan kepercayaan konsumen antara lain:

**1. Menjamin Keamanan Konsumen**

Melalui analisis kimia, produk farmasi yang dipasarkan dapat dipastikan bebas dari kontaminasi atau bahan yang dapat membahayakan kesehatan pengguna.

**2. Meningkatkan Efektivitas Produk**

Memastikan kandungan zat aktif dalam dosis yang tepat, produk farmasi dapat memberikan efek terapeutik yang optimal bagi pasien.

**3. Memenuhi Standar Regulasi**

Produk farmasi harus memenuhi berbagai regulasi yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan makanan (BPOM).

#### **4. Meningkatkan Kepuasan Konsumen**

Produk farmasi yang aman, efektif, dan berkualitas akan meningkatkan kepercayaan konsumen dan memperkuat posisi perusahaan di pasar. Penerapan analisis kimia dalam industri farmasi sangatlah penting untuk memastikan kualitas dan keamanan produk yang dihasilkan. Analisis kimia membantu menjaga kualitas dan memenuhi standar regulasi yang diperlukan di pasar farmasi global. Dengan demikian, analisis kimia berperan sebagai salah satu pilar utama dalam menjaga kualitas dalam industri farmasi. Memberikan dampak yang sangat besar terhadap kesehatan masyarakat dan kemajuan industri kesehatan secara keseluruhan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allen, L. V. (2020). *Remington: The science and practice of pharmacy* (23rd ed.). Pharmaceutical Press.
- Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan. (1995). *Farmakope Indonesia* (Edisi IV). Departemen Kesehatan Indonesia: Jakarta.
- Endarini. L. H. 2018. *Farmakognosi dan fitokimia*. Badan pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan: Jakarta.
- Furniss B. S., Hannaford A. J., Smith P. W. G., Tatchell A. R. (1989) *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*: New York.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Farmakope Indonesia* (Edisi VI). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Pedersen, C. (2020). *Pharmaceutical chemical analysis: Methods for Identification And Limit Tests*. CRC Press
- Philp, M., Fu, S., and Stace, C. (2018). *A review of chemical 'spot' tests: A presumptive illicit drug identification technique*. *Forensic Science International*.
- Rohman A., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Swartz, M. E., & Krull, I. S. (2022). *Analytical Method Development And Validation*. Marcel Dekker.
- United States Pharmacopeial Convention. (2024). *The United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 47–NF 42)*. United States Pharmacopeial Convention.
- Watson, D. G. (2020). *Pharmaceutical Analysis: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists* (5th ed.). Elsevier.

# BAB

# 6

# ANALISIS VOLUMETRI

**Yatri Hapsari, M.Si.**

## **A. Pendahuluan**

Analisis volumetri, yang lebih dikenal sebagai titrasi, adalah salah satu metode analisis utama digunakan di laboratorium untuk pengendalian mutu bahan baku farmasi. Prinsip dasar dari analisis ini adalah pengukuran volume larutan baku yang bereaksi secara stoikiometri dengan zat yang sedang dianalisis (Christian, Dasgupta and Schug, 2013). Metode ini memiliki tingkat ketelitian yang tinggi dan prosedur yang relatif mudah dilakukan, sehingga menjadi teknik dasar yang sangat penting dan harus dikuasai oleh mahasiswa farmasi, analis kimia, serta para profesional di bidang industri farmasi. Dalam konteks analisis bahan baku farmasi, metode volumetri memegang peranan penting karena banyak zat aktif farmasi maupun eksipien yang dapat dianalisis secara cepat dan akurat menggunakan pendekatan ini. Misalnya melalui titrasi asam-basa, redoks, kompleksometri atau presipitasi tergantung dari sifat kimia analit yang akan diuji. Terkait dengan regulasi mutu bahan baku dan farmakope, metode volumetri masih relevan dikarenakan kelebihanannya dalam penggunaan alat yang sederhana, analisis yang cepat dan akurasi yang baik bila dilaksanakan dengan baik. (Patil and Janjale, 2012; Taleuzzaman and Gilani, 2017). Demikian pula, analisis senyawa yang bersifat oksidator maupun reduktor sering kali dilakukan dengan titrasi redoks, seperti iodimetri atau permanganometri (Harris, 2015).

Bab ini akan membahas: prinsip dasar, preparasi larutan standar, jenis-jenis titrasi yang sering digunakan dalam farmasi, prosedur umum, validasi metode, keunggulan dan keterbatasan, serta contoh aplikasi pada bahan baku obat.

## **B. Prinsip Dasar Analisis Volumetri**

Metode volumetri didasarkan pada reaksi kimia antara analit dan titran menggunakan perbandingan stoikimetri. Dimana larutan titran dengan konsentrasi yang sudah diketahui ditambahkan bertahap ke larutan analit hingga mencapai titik ekuivalen. Dalam titrasi diperlukan suatu indikator untuk mengetahui titik akhir titrasi, yaitu terjadinya perubahan yang dapat dideteksi (misalnya perubahan warna). Titik akhir ini idealnya berdekatan dengan titik ekuivalen, dengan selisih yang sangat sedikit. (Taleuzzaman and Gilani, 2017; Oriakhi, 2021).

Untuk analisa bahan baku farmasi, ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan yaitu, pH, suhu dan potensi interaksi dengan matriks sampel. Contohnya, studi senyawa antagonis reseptor angiotensin II dalam bentuk tablet menggunakan titrasi NaOH dalam campuran etanol : air sebagai titran terhadap larutan obat tersebut (Patil and Janjale, 2012).

Oleh karena itu, validitas preparasi larutan standar merupakan dasar untuk memastikan data hasil analisis dapat dipertanggungjawabkan mutunya.

## **C. Preparasi Larutan Standar**

Keberhasilan analisis volumetri tergantung pada preparasi larutan standar (titran) yang memiliki konsentrasi yang tepat, stabil dan diketahui dengan baik. Dalam industri farmasi, larutan standar sering kali dibuat dan distandarisasi menggunakan zat standar primer (primary standard) yang bersyarat: murni, stabil, tidak higroskopis (jika padat), mempunyai bobot molekul relatif besar, dan dapat ditimbang secara akurat (Taleuzzaman and Gilani, 2017). Setelah dibuat, larutan titran harus distandarisasi dengan melakukan titrasi terhadap standar primer atau larutan baku yang telah diketahui



konsentrasinya. Kemudian titran disimpan dalam kondisi yang tepat (misalnya tertutup rapat, terhindar dari karbon dioksida atau uap air jika mengandung basa). Untuk bahan baku farmasi, penting juga memperhatikan pelarut yang digunakan, pH, suhu, dan potensi interaksi dengan matriks sample. Sebagai contoh, suatu penelitian terhadap senyawa antagonis reseptor angiotensin II (ARA-II) dalam bentuk tablet menggunakan titrasi NaOH dalam campuran etanol : air (1 :1) sebagai titrant terhadap larutan obat dalam matriks tersebut (Patil and Janjale, 2012). Sehingga, preparasi larutan standar yang sudah divalidasi merupakan dasar bahwa hasil analisa dapat diterima secara mutu dan regulasi.

#### D. Jenis-Jenis Titrasi dalam Analisis Bahan Baku Farmasi

Dalam praktek untuk analisis bahan baku farmasi, terdapat beberapa jenis titrasi yang umum dan lebih sering digunakan, yaitu:

##### 1. Titrasi Asam-Basa

Titrasi asam-basa merupakan jenis titrasi yang masih sering digunakan dalam analisis kimia dikarenakan akurat dan sederhana. Metode ini melibatkan reaksi antara asam dan basa sehingga menghasilkan garam dan air. Banyak bahan aktif atau eksipien yang bersifat asam atau basa sehingga akan cocok dianalisis dengan metode ini. Akan tetapi, kesalahan sering terjadi karena adanya kesalahan indikator yang digunakan dalam titrasi. Dibawah ini jenis indikator yang dapat digunakan dalam titrasi asam-basa.

**Tabel 6.1** Perbandingan Indikator Asam-Basa

Indikator	Range pH	Perubahan Warna (Asam→Basa)	Jenis Titik Ekuivalen Ideal
Bromophenol Blue	3,0-4,6	Kuning→biru ungu	Asam kuat - basa kuat
Congo red	3,0-5,0	Biru violet→oranye	Asam kuat

Indikator	Range pH	Perubahan Warna (Asam→Basa)	Jenis Titik Ekuivalen Ideal
Methyl orange	3,0-4,4	Merah→kuning	Asam kuat - basa kuat
Bromocresol green	3,8-5,4	Kuning→biru hijau	Asam kuat dan lemah
Methyl red	4,4-6,2	Fuchsia→ kuning	Asam kuat dan lemah
Tashiro (Methyl red + Methylene blue)	4,4-6,2	Ungu→ hijau	Asam kuat/lemah
Neutral Red	6,8-8,0	Merah→ kuning	Basa lemah
Cresol red	7,0-8,8	Kuning→ ungu	Basa sedang
Thymol blue	8,0-9,6	Kuning→biru	Asam lemah-basa kuat
Phenolphthalein	8,0-10,00	Tak berwarna→ pink	Asam lemah-basa kuat
Thymolphthalein	9,3-10,5	Tak berwarna→ biru	Asam lemah-basa kuat

(Kahlert, Meyer and Albrecht, 2016)

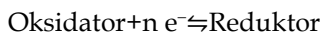
Indikator yang memiliki kontras warna yang tinggi seperti methyl red akan memberikan ketepatan visual yang baik, indikator dengan satu warna seperti phenolphthalein rentan terjadi kesalahan persepsi warna(Kahlert, Meyer and Albrecht, 2016).

Contohnya: penentuan kadar aspirin dapat ditentukan dengan menggunakan titrasi basa dimana natrium hidroksida standar setelah dihidrolisis menjadi asam salisilat dan asam asetat (Broekaert, 2015).

## 2. Titrasi Redoks (Reduksi Oksidasi)

Metode ini melibatkan transfer elektron antara analit dan titran. Dimana yang satunya mengalami oksidasi (melepaskan elektron) dan yang lainnya mengalami reduksi (menerima electron). Jumlah electron yang berpindah

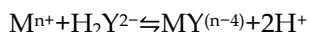
digunakan sebagai dasar perhitungan kadar zat (Broekaert, 2015). Contohnya iodometri, permanganometri. Digunakan untuk bahan baku farmasi yang bersifat oksidator atau reduktor (Taleuzzaman and Gilani, 2017). Secara umum, reaksi dapat dinyatakan sebagai:



Titik ekuivalen diperoleh saat jumlah ekuivalen oksidator dan reduktor setara secara stoikiometri. Titik akhir dapat diamati dengan indikator redoks (seperti ferroin atau diphenylamine sulfonate) atau secara potensiometri menggunakan elektroda platina dan elektroda referensi (Skoog *et al.*, 2014)

### 3. Titrasi Kompleksometri

Metode ini menggunakan kompleks antara ion logam dan ligan dalam proses titrasi. Titrasi kompleksometrik didasarkan pada pembentukan kompleks stabil antara ion logam dengan ligan tertentu. Ligan yang paling umum digunakan adalah Etilendiamintetraasetat (EDTA), yang memiliki enam gugus donor elektron (dua nitrogen dan empat oksigen karboksilat). EDTA membentuk kompleks 1:1 yang sangat stabil dengan sebagian besar ion logam divalen atau trivalent (Skoog *et al.*, 2014).



Titrasi dilakukan pada pH tertentu agar kompleks terbentuk sempurna; pH dikontrol dengan sistem buffer. Indikator seperti Eriochrome Black T (EBT) digunakan untuk menandai titik akhir dengan perubahan warna (Broekaert, 2015).

Titrasi ini digunakan dalam penentuan ion logam yang dapat hadir sebagai kontaminan dalam bahan baku farmasi (misalnya kalsium, magnesium) (Oriakhi, 2021).

#### 4. Titrasi Presipitasi

Titration presipitasi didasarkan pada pembentukan endapan (presipitat) yang sukar larut antara ion analit dengan ion dari larutan titran. Reaksi harus berlangsung cepat, stoikiometrik, dan menghasilkan endapan yang stabil. Contoh umum: reaksi antara ion klorida dan ion perak:  $\text{Ag}^+ + \text{Cl}^- \rightarrow \text{AgCl(s)}$ . Titik akhir ditentukan dengan indikator adsorpsi, indikator kimia, atau pengukuran potensial listrik

Meskipun jarang digunakan dibandingkan titration jenis lainnya dalam bahan baku farmasi, tetapi tetap relevan untuk beberapa analit khusus (Oriakhi, 2021).

Terdapat jenis-jenis metode presipitasi yaitu :

##### a. Metode Mohr

Menggunakan kalium kromat ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ) sebagai indikator. Digunakan untuk titration ion klorida dengan larutan perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ). Warna merah bata dari endapan perak kromat menunjukkan titik akhir.

##### b. Metode Volhard

Merupakan titration balik, menggunakan  $\text{Fe(III)}$  sebagai indikator dalam medium asam nitrat dan larutan tiosianat sebagai titran.

##### c. Metode Fajans

Menggunakan indikator adsorpsi seperti fluorescein, di mana perubahan warna terjadi karena adsorpsi indikator pada permukaan endapan (Broekaert, 2015).

Pada pemilihan jenis titration untuk analisis bahan baku farmasi, beberapa faktor yang harus diperhatikan antara lain sifat kimia dari analit (asam, basa, ion logam, oksidator/reduktor), kestabilan larutan, interferensi matriks dan persyaratan regulasi dari farmakope.

#### E. Prosedur Umum Analisis Volumetri

Berikut merupakan tahapan umum yang dikerjakan dalam analisis bahan baku farmasi, walaupun dapat berbeda tergantung jenis titrasinya:

### **1. Persiapan Sampel**

Bahan baku ditimbang secara akurat, dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, dan dilarutkan hingga volume tertentu (misalnya dalam penakar volumetrik). Jika perlu dilakukan pemurnian, pemisahan atau penetapan pH awal.

### **2. Pendegradasian dan Masking (Jika Diperlukan)**

Jika dalam bahan baku terdapat pengganggu atau kontaminan yang akan bereaksi dengan titrant, langkah masking atau pemisahan diperlukan.

### **3. Pemilihan dan Persiapan Indikator**

Sesuaikan jenis indikator atau metode deteksi (warna, pH meter, potensiometri) dengan jenis titrasi.

### **4. Dilusi dan Penyesuaian Kondisi**

Sampel atau titran biasanya disesuaikan pH, suhu, dan volume agar reaksi berjalan lancar.

### **5. Titrasi**

Titran ditambahkan secara bertahap ke dalam larutan analit hingga tercapai titik akhir (endpoint). Volume titrant dicatat.

### **6. Perhitungan Hasil**

Dengan menggunakan volume titran, konsentrasi analit dihitung melalui persamaan stoikiometri.

### **7. Pengulangan dan Mean**

Untuk memperoleh hasil yang dapat dipercaya, biasanya dilakukan beberapa kali (duplo atau triplo) dan rata-rata serta deviasi standar dihitung.

### **8. Pelaporan Hasil**

Hasil analisis dilaporkan dengan mencantumkan kondisi analisis (jenis titrasi, indikator, suhu, pelarut), konsentrasi, persen kemurnian atau kadar, serta deviasi standar.

Dalam bahan baku farmasi, penting juga mencatat spesifikasi (misalnya persyaratan farmakope), serta apakah hasil memenuhi spesifikasi.

Sebagai contoh, penelitian pada asam askorbat menggunakan titrasi iodometrik menunjukkan bahwa hasil mendekati deklarasi bahan baku  $\pm 3,42$  % deviasi, masih di bawah batas  $\pm 5$  % yang ditentukan (Romanian Pharmacopoeia

10th Edition) untuk bahan baku tersebut (Georgescu, Gavut and Voinescu, 2019).

#### **F. Validasi Metode Volumetri dalam Bahan Baku Farmasi**

Untuk menjamin bahwa metode volumetri yang digunakan memenuhi persyaratan regulasi dan mutu, maka perlu dilakukan validasi metode. Parameter-validasi yang umum meliputi: akurasi, presisi (repeatabilitas dan reproducibilitas), linieritas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) bila relevan, spesifisitas (kemampuan membedakan analyte dari interferensi), dan robustness (ketahanan terhadap perubahan kondisi analisis).

Sebagai contoh, studi titrimetri pada ARA-II melaporkan RSD (relative standard deviation) < 2 % dan hasil yang sejalan dengan metode UV-Vis, menunjukkan akurasi dan presisi yang memadai untuk pengendalian mutu bahan baku

#### **G. Kelebihan dan Kekurangan Metode Volumetri**

##### **Kelebihan:**

1. Alat dan bahan yang lebih sederhana dan ekonomis dibandingkan menggunakan instrument seperti HPLC dan spektrofotometri (Taleuzzaman and Gilani, 2017).
2. Cepat dalam aplikasi untuk banyak analit yang reaktif secara cepat.
3. Cukup akurat bila dilakukan dengan SOP yang baik (pipet/ buret yang digunakan dikalibrasi, indikator yang tepat dan reaksi lengkap).
4. Banyaknya prosedur yang telah distandarisasi dalam farmakope dan regulasi mutu bahan baku farmasi.

##### **Kekurangan:**

1. Selektivitas kurang baik bila dibandingkan dengan teknik pemisahan menggunakan instrument seperti HPLC dikarenakan interaksi pengganggu dapat mempengaruhi hasil (Taleuzzaman and Gilani, 2017; Dilip and Swanila, 2023).

2. Kesalahan analisa yang dapat muncul dikarenakan alat gelas yang tidak terkalibrasi dengan baik, penambahan titran yang terlalu cepat, pilihan indikator yang kurang tepat atau reaksi yang berjalan kurang sempurna.
3. Beberapa analit atau matriks yang kompleks seringkali tidak cocok untuk dianalisa menggunakan titrasi, diperlukan teknik pemisahan seperti kromatografi.
4. Penggunaan indikator visual seringkali dipengaruhi oleh subjektivitas, diperlukan alat bantu seperti penggunaan pH meter atau potensiometer untuk meningkatkan akurasi hasil analisis.

#### **H. Aplikasi pada Bahan Baku Obat**

Dalam bahan baku obat, analisis volumetri sering digunakan untuk:

1. Menentukan kadar bahan aktif dalam bahan baku sebelum digunakan dalam formulasi obat.
2. Mengontrol kemurnian bahan ekspien atau bahan tambahan, contohnya: basa, asam dan garam.
3. Menentukan kadar air dan kelembaban terutama untuk bahan yang bersifat higroskopis.
4. Menguji kestabilan dan degradasi, misalnya perubahan kadar asam asetilsalisilat menjadi asam salisilat (Broekaert, 2015)

## DAFTAR PUSTAKA

- Broekaert, J.A.C. (2015) "Daniel C. Harris: quantitative chemical analysis." Springer.
- Christian, G.D., Dasgupta, P.K. and Schug, K.A. (2013) *Analytical chemistry*. John Wiley & Sons.
- Dilip, D.A. and Swanila (2023) "A Short Overview on the Endurance of Volumetric Reagents and its Implications in Volumetric Analysis," *International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology (IJARSCT)*, 3(2), pp. 557–562.
- Georgescu, C.V., Gavai, C.-C. and Voinescu, D.C. (2019) "Quantitative Analysis of Ascorbic Acid in Tablets by a New Volumetric Method," *Titration methods Volumetric Analysis Quantitative Analysis Redox analysis Analytical Chemistry* [Preprint].
- Kahlert, H., Meyer, G. and Albrecht, A. (2016) "Colour maps of acid-base titrations with colour indicators: how to choose the appropriate indicator and how to estimate the systematic titration errors," *ChemTexts*, 2(2), p. 7.
- Oriakhi, C.O. (2021) *Chemistry in Quantitative Language: Fundamentals of General Chemistry Calculations*. Oxford University Press.
- Patil, S.H. and Janjale, M. V (2012) "Novel and validated titrimetric method for determination of selected angiotensin-II-receptor antagonists in pharmaceutical preparations and its comparison with UV spectrophotometric determination," *Journal of pharmaceutical analysis*, 2(6), pp. 470–477.
- Skoog, D.A. et al. (2014) *Fundamental of Analytical Chemistry*, 9th edition. Belmont, CA: Brooks/Cole.
- Taleuzzaman, M. and Gilani, S.J. (2017) "First step analysis in quality control-volumetric analysis," *Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 1(3), pp. 73–75.



# BAB

# 7

# PENGUJIAN CEMARAN

apt. Ayu Werawati, S.Si., M.Farm.

## A. Pendahuluan

Cemaran dalam bahan baku farmasi adalah setiap zat, mikroorganisme, atau partikel asing yang secara tidak diinginkan hadir dalam bahan baku aktif maupun eksipien dan memiliki potensi mengganggu mutu, keamanan, atau khasiat produk obat akhir. Cemaran dapat berupa kimia (residu senyawa reagen atau pelarut, logam berat, sisa pestisida), fisika (partikel asing, debu, serat logam), atau biologis/mikrobiologis (bakteri, jamur, endotoksin, mikotoksin).

Sumber cemaran sangat beragam: bisa berasal dari lingkungan (udara, air, debu), proses penanganan bahan baku (transportasi, penyimpanan, kemasan), peralatan dan fasilitas produksi, serta dari supplier bahan baku itu sendiri yang mungkin menggunakan bahan impuran atau tidak menerapkan kontrol mutu mikroba pada skala yang cukup ketat.

Pengujian cemaran dalam bahan baku farmasi memiliki peran sentral dalam menjamin keamanan pasien, mutu produk, serta kepatuhan regulasi. Cemaran yang tidak terdeteksi pada tahap awal bahan baku dapat berkontribusi terhadap terjadinya reaksi kimia tak diinginkan, penurunan stabilitas zat aktif, serta timbulnya senyawa toksik selama penyimpanan atau proses produksi.

Cemaran kimia menjadi salah satu perhatian utama karena sifat toksiknya dapat bersifat kumulatif. Sebagai contoh, logam berat dapat terakumulasi dalam jaringan biologis dan menimbulkan efek toksik kronis, sedangkan residu pelarut tertentu dapat bersifat karsinogenik atau menyebabkan gangguan organ bila terpapar terus-menerus.

Selain itu, perhatian terhadap cemaran nitrosamina meningkat signifikan dalam lima tahun terakhir setelah beberapa kasus penarikan produk obat antihipertensi dan antidiabetes akibat kandungan N-nitrosodimethylamine (NDMA) yang melebihi ambang batas aman. Pembentukan NDMA dapat terjadi akibat degradasi bahan aktif yang mengandung amina sekunder atau tersier serta keberadaan nitrit jejak dalam bahan baku. Hal ini menegaskan bahwa pengujian cemaran harus mencakup evaluasi terhadap kemungkinan terbentuknya senyawa baru selama penyimpanan (*in-process impurities*), bukan hanya kontaminan yang sudah ada dalam bahan baku awal (Golob et al., 2023).

Cemaran mikrobiologis juga menjadi ancaman besar bagi keamanan obat, terutama pada sediaan non-steril dan bahan alami sehingga pentingnya dilakukan pengujian mikrobiologis bahan baku—termasuk pengujian jumlah total mikroba (*Total Aerobic Microbial Count/TAMC*), jumlah total jamur dan ragi (*Total Yeast and Molds Count/TYMC*), serta uji patogen spesifik seperti *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*. Pendekatan *rapid microbiological method* (RMM) juga mulai diterapkan untuk mempercepat deteksi kontaminasi mikroba tanpa mengorbankan keakuratan hasil.

Dari perspektif mutu dan kepercayaan publik, pengujian cemaran berfungsi sebagai bentuk perlindungan terhadap risiko penarikan produk (*drug recall*). Peningkatan signifikan jumlah *drug recall global* akibat cemaran yang tidak terdeteksi, terutama dalam produk kardiovaskular, menunjukkan bahwa kegagalan dalam pengawasan cemaran dapat menimbulkan dampak sosial-ekonomi yang besar serta menurunkan kepercayaan masyarakat terhadap industri farmasi. Selain itu, hasil pengujian

cemaran juga berfungsi sebagai dasar untuk verifikasi dan validasi pemasok (*supplier qualification*) sehingga industri dapat memastikan bahwa bahan baku yang diperoleh dari pihak ketiga telah memenuhi persyaratan keamanan (Anwar et al., 2025)

## **B. Standar dan Regulasi terkait Pengujian Cemaran dalam Analisis Bahan Baku Farmasi**

Pengujian cemaran dalam bahan baku farmasi merupakan bagian krusial dari sistem jaminan mutu global yang bertujuan untuk menjamin keamanan, efektivitas, dan konsistensi produk obat. Standar dan regulasi terkait pengujian cemaran diatur secara komprehensif oleh berbagai lembaga dan dokumen resmi seperti *International Council for Harmonisation (ICH)*, *World Health Organization (WHO)*, serta berbagai farmakope internasional seperti *United States Pharmacopeia (USP)*, *British Pharmacopoeia (BP)*, *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)*, dan Farmakope Indonesia. Semua standar ini memiliki tujuan serupa, yaitu untuk memastikan bahwa bahan baku farmasi bebas dari kontaminan fisik, kimia, maupun mikrobiologis yang dapat memengaruhi keamanan dan mutu produk obat (Sarma et al., 2023).

Dalam konteks internasional, pedoman ICH menjadi acuan utama dalam pengendalian cemaran kimia, khususnya untuk *elemental impurities*, *organic impurities*, dan *residual solvents*. Pedoman ICH Q3D(R2) (2022) menetapkan batas aman untuk logam berat seperti arsenik, kadmium, timbal, dan merkuri, dengan pendekatan *permitted daily exposure (PDE)* berdasarkan toksisitas kronis. Prinsip yang diusung pedoman ini adalah *risk-based assessment*, di mana pengujian cemaran dapat disesuaikan dengan tingkat risiko bahan baku terhadap cemaran tertentu. Pendekatan berbasis risiko tersebut memungkinkan efisiensi analisis tanpa mengurangi aspek keselamatan, karena industri dapat memanfaatkan basis data cemaran elemental pada bahan tambahan (*excipients database*) untuk menilai potensi risiko sejak tahap perancangan formulasi (Torres et al., 2022).

Dari sisi farmakope, standar yang diterapkan di berbagai negara terus diharmonisasi untuk mencapai kesetaraan mutu pengujian. USP, BP, dan Ph. Eur. memuat monografi yang mencakup batas kadar cemaran, metode analisis validasi, serta kriteria penerimaan (*acceptance criteria*). Harmonisasi ini sangat penting bagi industri farmasi global, karena membantu mengurangi redundansi pengujian, mempercepat proses registrasi obat lintas negara, serta memastikan konsistensi mutu bahan baku di seluruh rantai pasok global.

Di Indonesia, Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) menjadi acuan nasional yang mengadopsi prinsip-prinsip dari farmakope internasional dan pedoman ICH. Regulasi ini menegaskan bahwa pengujian cemaran merupakan bagian integral dari pengendalian mutu bahan baku, meliputi pengujian cemaran logam berat, pelarut sisa, pestisida, serta cemaran mikroba. Farmakope Indonesia juga menekankan pentingnya penerapan *Good Manufacturing Practices* (GMP) dan validasi metode analisis untuk menjamin reliabilitas hasil uji. Sebagai pelengkap, WHO (2024) dalam *Good Manufacturing Practices for Excipients* menyoroti bahwa bahan tambahan (*excipients*) dapat menjadi sumber cemaran elemental maupun organik yang tidak terduga. Oleh karena itu, setiap pemasok bahan baku wajib memiliki sistem pengawasan mutu yang terdokumentasi dan diverifikasi oleh industri farmasi pengguna bahan tersebut.

Secara keseluruhan, harmonisasi antara farmakope nasional dan internasional, penerapan pedoman ICH dan WHO, serta integrasi prinsip *risk-based quality management* merupakan landasan penting dalam sistem regulasi modern untuk pengujian cemaran bahan baku farmasi. Standar-standar ini tidak hanya menjamin keamanan pasien, tetapi juga memperkuat transparansi rantai pasok, meningkatkan keandalan hasil analisis, dan mendorong tercapainya praktik manufaktur yang berkelanjutan dalam industri farmasi global (Torres et al., 2022; Wichitnithad et al., 2023a)

### C. Klasifikasi Cemaran dalam Bahan Baku Farmasi

Cemaran dalam bahan baku farmasi dapat diklasifikasikan berdasarkan asal, sifat kimia, dan dampaknya terhadap keamanan serta mutu produk obat. Secara umum, cemaran dibagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu cemaran fisik, cemaran kimia, dan cemaran mikrobiologis (Sarma, 2023; Wichitnithad et al., 2023). Klasifikasi ini digunakan dalam berbagai pedoman internasional seperti International Council for Harmonisation (ICH), United States Pharmacopeia (USP), British Pharmacopoeia (BP), dan Farmakope Indonesia, dengan tujuan untuk memfasilitasi strategi pengendalian mutu bahan baku secara sistematis dan terukur.

#### 1. Cemaran Fisik

Cemaran fisik meliputi keberadaan partikel atau bahan asing yang tidak seharusnya terdapat dalam bahan baku farmasi, seperti fragmen logam, serat, kaca, plastik, atau debu hasil proses produksi. Cemaran ini sering kali berasal dari lingkungan produksi, peralatan yang aus, atau kemasan yang tidak sesuai. Keberadaan partikel asing dapat menimbulkan risiko serius, terutama pada sediaan parenteral, karena dapat menyebabkan reaksi imunologis atau penyumbatan pembuluh darah (Zhou et al., 2023). Standar USP <790> dan BP menetapkan bahwa partikel asing pada sediaan injeksi tidak boleh melebihi batas tertentu (biasanya <10 partikel berukuran  $\geq 25 \mu\text{m}$  per wadah). Pengendalian cemaran fisik dilakukan melalui inspeksi visual, filtrasi steril, serta penggunaan detektor partikel otomatis berbasis *light obscuration* atau *microflow imaging* (Arora, 2013)

#### 2. Cemaran Kimia

Cemaran kimia adalah kelompok paling kompleks dan sering menjadi fokus utama dalam regulasi farmasi. Kelompok ini mencakup *elemental impurities*, *organic impurities*, *residual solvents*, *pesticide residues*, dan *nitrosamine impurities* (Golob et al., 2023; Torres et al., 2022)

Cemaran elemental (logam berat) seperti arsenik (As), kadmium (Cd), timbal (Pb), dan merkuri (Hg) dikendalikan berdasarkan pedoman ICH Q3D(R2) (2022) dengan pendekatan berbasis risiko yang mempertimbangkan *Permitted Daily Exposure* (PDE).

**Tabel 7.1** Batas Kadar Logam Berat (*Elemental Impurities*) dalam Bahan Baku Farmasi Menurut ICH Q3D

Unsur Logam Berat	Kode ICH	PDE Oral (µg/hari)	PDE Parenteral (µg/hari)	PDE Inhalasi (µg/hari)
Arsenik (As)	Class 1	15	15	2
Kadmium (Cd)	Class 1	5	2	2
Merkuri (Hg)	Class 1	30	3	1
Timbal (Pb)	Class 1	5	5	5
Kromium (Cr)	Class 2A	1100	110	3
Nikel (Ni)	Class 2A	200	20	5
Tembaga (Cu)	Class 2B	3000	300	30
Seng (Zn)	Class 2B	13000	1300	130
Platina (Pt)	Class 2A	100	10	1

- Class 1 merupakan logam sangat toksik, tidak memiliki fungsi biologis, harus diminimalkan.
- Class 2A/2B kelompok toksik moderat; sering berasal dari katalis proses (Ni, Cr, Pd, Pt).
- Class 3: risiko rendah melalui paparan oral (mis. Zn, Fe, Sn).

Nilai PDE (*Permitted Daily Exposure*) menunjukkan jumlah maksimum logam berat yang dapat dikonsumsi setiap hari tanpa risiko toksisitas signifikan berdasarkan data toksikologi kronik.

Cemaran organik berasal dari degradasi bahan aktif atau reaksi antar-komponen selama penyimpanan. Farmakope internasional mengatur batas maksimum berdasarkan toksisitas dan stabilitas senyawa hasil degradasi.

Cemaran pelarut sisa (*residual solvents*) seperti metanol, asetonitril, atau toluena dikategorikan menurut toksisitasnya oleh ICH Q3C(R8), di mana kelas 1 adalah paling toksik dan harus dieliminasi sepenuhnya.

Cemaran pestisida menjadi perhatian khusus untuk bahan alam dan ekstrak tumbuhan, karena penggunaan pestisida pada tahap budidaya dapat meninggalkan residu berbahaya.

Cemaran nitrosamin, seperti *N-nitrosodimethylamine* (NDMA) dan *N-nitrosodiethylamine* (NDEA), kini menjadi fokus global karena sifat karsinogeniknya. Senyawa ini dapat terbentuk dari reaksi antara amina sekunder dengan nitrit selama proses sintesis atau penyimpanan bahan aktif. Oleh karena itu, setiap bahan baku farmasi kini diwajibkan melalui evaluasi risiko pembentukan nitrosamin sebelum disetujui penggunaannya oleh otoritas obat (Anwar et al., 2025; International Council For Harmonisation, 2021; Sarma et al., 2023)

### 3. Cemaran Mikrobiologis

Cemaran mikrobiologi di bahan baku farmasi (API dan eksipien) adalah salah satu risiko signifikan dalam jaminan mutu obat, karena mikroorganisme dapat mengganggu stabilitas, menurunkan efektivitas, atau bahkan menimbulkan bahaya infeksi. Untuk mengendalikan risiko ini, dilakukan uji jumlah mikroba total, yaitu *Total Aerobic Microbial Count* (TAMC) dan *Total Yeast and Mold Count* (TYMC), yang merupakan parameter dasar dalam pengujian mikroba non-steril. Batas farmakope untuk bahan baku tidak

steril umumnya adalah TAMC  $\leq 10^3$  CFU/g atau mL dan TYMC  $\leq 10^2$  CFU/g atau mL, nilai yang ditetapkan oleh monograf farmakope internasional (Tyski et al., 2025a)

Selain itu, uji patogen spesifik sangat penting: mikroba seperti *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* harus diperiksa secara eksplisit sesuai dengan jenis bahan baku dan rute pemberian, karena keberadaan patogen ini bisa berdampak serius pada keamanan pasien. Uji sterilitas dan endotoksin (seperti tes *Limulus Amebocyte Lysate*, LAL) diperlukan terutama untuk bahan baku atau produk yang akan disterilkan atau diberikan secara parenteral, karena mikroba hidup ataupun endotoksin bakteri Gram negatif dapat menimbulkan reaksi toksik atau pirogenik.

Interpretasi hasil pengujian mikroba harus mempertimbangkan apakah hasil berada di bawah batas yang diizinkan serta apakah patogen tertentu sepenuhnya tidak terdeteksi. Bila nilai TAMC atau TYMC melebihi ambang farmakope, ini bisa menunjukkan kegagalan kebersihan bahan baku atau proses supply chain, dan perlu tindakan korektif seperti sterilisasi ulang, penggantian supplier, atau perbaikan sanitasi. Selain itu, bila patogen seperti *E. coli* atau *Salmonella* ditemukan, maka bahan baku bisa dianggap tidak aman dan harus ditolak atau diproses ulang, karena pemilik risiko infeksi serius (Arslan & Yerlikaya, 2022; Tyski et al.)

#### **D. Cemaran Logam Berat**

Pengujian logam berat pada bahan baku farmasi merupakan aspek krusial dalam analisis bahan baku karena logam berat (*heavy metals*) dapat memiliki efek toksik terakumulasi dalam tubuh dan memengaruhi keamanan obat.

Prinsip umum pengujian logam berat didasarkan pada identifikasi dan kuantifikasi unsur-unsur logam jejak (*elemental impurities*) yang mungkin terdapat dalam bahan baku, dengan pendekatan berbasis risiko (*risk-based approach*) sesuai



pedoman ICH Q3D (International Council For Harmonisation, 2022; Torres et al., 2022)

Logam berat spesifik yang umum diawasi meliputi timbal (Pb), kadmium (Cd), arsenik (As), merkuri (Hg), nikel (Ni), kromium (Cr), dan beberapa unsur jejak lainnya yang berpotensi berasal dari katalis reaksi, peralatan industri, air, kemasan atau kontaminasi lingkungan.

Untuk metode analisis, teknik spektrometri atomik seperti Spektrofotometri Serapan Atom (*Atomic Absorption Spectrometry/AAS*), serta teknik instrumen modern multielemen seperti *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy* (ICP-OES) dan *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (ICP-MS) digunakan secara luas karena sensitivitas dan kemampuannya untuk mendeteksi jumlah unsur yang sangat kecil.

Misalnya, ICP-MS menawarkan batas deteksi sangat rendah dan kemampuan multi-elemen analisis simultan, sedangkan ICP-OES sering digunakan bila sensitivitas masih mencukupi dan biaya operasional lebih rendah dibandingkan ICP-MS. (Anwar, Shumaila)

Interpretasi hasil pengujian logam berat memerlukan perbandingan kadar yang ditemukan terhadap batas *Permitted Daily Exposure* (PDE) seperti yang ditentukan di ICH Q3D.

Bahan baku harus memenuhi konsentrasi maksimum unsur logam tertentu dalam batas per dosis harian agar tidak menimbulkan risiko toksisitas kronis atau efek samping jangka panjang. Apabila nilai pengukuran melewati batas PDE atau konsentrasi yang dihitung berdasarkan dosis harian produk, maka bahan baku tersebut tidak dapat langsung digunakan tanpa tindakan mitigasi (misalnya mengganti supplier, melakukan proses pra-pengolahan, atau restriksi dosis bahan baku). Selain itu, interpretasi hasil juga melibatkan evaluasi risiko berdasarkan rute pemberian (oral / parenteral / inhalasi), frekuensi penggunaan, serta usia atau kondisi pasien khusus yang mungkin rentan terhadap akumulasi logam berat (ICH,

2003; International Council For Harmonisation, 2022; Torres et al., 2022)

#### **E. Residu Pelarut dalam Bahan Baku Farmasi**

Residu pelarut merupakan cemaran yang berasal dari sisa pelarut organik yang digunakan dalam proses sintesis, ekstraksi, atau pemurnian bahan baku farmasi. Menurut pedoman *International Council for Harmonisation* (ICH) Q3C (R8, 2021), residu pelarut didefinisikan sebagai “bahan volatil organik yang digunakan atau dihasilkan dalam pembuatan obat, bahan aktif farmasi (API), atau eksipien, yang tidak sepenuhnya dihilangkan melalui proses manufaktur”

Pelarut diklasifikasikan ke dalam tiga kelas berdasarkan toksisitas dan potensi risiko terhadap kesehatan manusia: Kelas 1 mencakup pelarut yang bersifat karsinogenik atau toksik tinggi seperti benzena, karbon tetraklorida, dan 1,2-dikloroetan yang sebaiknya dihindari penggunaannya; Kelas 2 meliputi pelarut dengan toksisitas sedang seperti metanol, acetonitril, toluena, dan N,N-dimetilformamida yang masih dapat digunakan dengan batas paparan harian tertentu (*Permitted Daily Exposure / PDE*); sedangkan Kelas 3 terdiri dari pelarut dengan toksisitas rendah seperti etanol, asetat, etil asetat, dan heptana yang dianggap aman pada batas konsentrasi di bawah 5000 ppm

Analisis residu pelarut umumnya dilakukan menggunakan teknik Kromatografi Gas (Gas Chromatography, GC) yang dikombinasikan dengan detektor yang sesuai seperti *Flame Ionization Detector* (FID) atau *Mass Spectrometry* (MS). GC-FID banyak digunakan untuk kuantifikasi pelarut umum karena sensitivitas dan linearitasnya yang tinggi, sedangkan GC-MS lebih unggul dalam mendeteksi pelarut non-polar atau volatilitas rendah dalam jumlah jejak (*trace level*). Pemilihan pelarut dan metode validasi harus disesuaikan dengan karakteristik bahan serta sensitivitas instrumen (Patel et al., 2023). Validasi metode analisis dilakukan dengan memperhatikan parameter spesifik ICH Q2(R2), meliputi akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantisasi

(LOQ), dan kekasaran metode, untuk memastikan bahwa metode tersebut dapat digunakan secara andal dalam pengujian mutu rutin.

Sebagai contoh, batas residu menurut ICH Q3C (R8, 2021) untuk pelarut metanol adalah 3000 ppm, asetonitril 410 ppm, toluena 890 ppm, dan dimetilformamida (DMF) 880 ppm, sedangkan pelarut kelas 3 seperti etanol memiliki batas umum 5000 ppm. Nilai-nilai ini didasarkan pada data toksikologi kronik dan faktor paparan harian yang ditoleransi. Analisis terkini juga menyoroti pentingnya kontrol kualitas bahan baku dari supplier karena residu pelarut dapat berasal dari proses sintesis bahan aktif maupun eksipien (Wang et al., 2024). Dalam konteks pengendalian mutu, kombinasi metode GC dengan teknik *headspace sampling* memberikan keuntungan berupa sensitivitas tinggi dan minim kontaminasi matriks, sehingga menjadi metode baku untuk pengujian residu pelarut pada bahan baku farmasi modern (Anwar et al., 2025; Brusseau & Artiola, 2019; Pang et al., 2006; Sarma et al., 2023; WHO Technical Report Series, 2024)

## **F. Cemaran Pestisida**

Cemaran pestisida dalam bahan baku farmasi umumnya berasal dari praktik budidaya tanaman yang menggunakan insektisida, herbisida, fungisida, atau senyawa pestisida lainnya selama proses penanaman, penyimpanan, dan transportasi. Kontaminasi dapat terjadi secara langsung melalui penyemprotan pada tanaman sumber bahan baku (misalnya simplisia), atau secara tidak langsung melalui tanah, air irigasi, dan kontaminasi silang selama panen serta penanganan pascapanen.

Keberadaan residu pestisida pada bahan baku farmasi menimbulkan risiko kesehatan signifikan karena beberapa senyawa memiliki efek toksik, mutagenik, dan karsinogenik jika dikonsumsi dalam jangka panjang. Oleh karena itu, deteksi dan pengendalian cemaran pestisida menjadi komponen penting dalam jaminan mutu bahan baku.

Berbagai teknik analisis telah dikembangkan untuk menentukan kadar residu pestisida, terutama metode berbasis kromatografi seperti *Gas Chromatography* (GC) dan *Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS), yang mampu mendeteksi residu pada kadar sangat rendah dengan sensitivitas tinggi. *Gas Chromatography* (GC-MS/MS) digunakan untuk pestisida yang volatil dan termostabil, seperti organoklorin (DDT, lindane), organofosfat (chlorpyrifos), piretroid. Metode ini memberikan sensitivitas tinggi dan selektivitas yang baik terhadap pestisida yang mudah menguap. *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) digunakan untuk pestisida yang tidak volatil atau mudah terdegradasi oleh panas, seperti karbamat, neonicotinoid, fungisida triazol, glifosat (dengan derivatisasi). LC-MS/MS menjadi standar emas karena dapat mendeteksi ratusan residu sekaligus dengan limit deteksi hingga ng/g.

Standar maksimum residu (*Maximum Residue Limits*/MRL) ditetapkan oleh lembaga internasional seperti FAO/WHO Codex Alimentarius dan regulator nasional termasuk Badan POM, untuk memastikan bahwa kadar pestisida yang masih tersisa pada bahan baku berada pada batas aman konsumsi. MRL biasanya bervariasi tergantung jenis pestisida dan komoditas tanaman, serta diperbarui secara berkala berdasarkan data toksikologi terbaru. Penerapan standar MRL yang ketat, metode analisis yang tervalidasi, serta pengawasan rantai pasok yang baik merupakan strategi utama dalam memastikan keamanan dan mutu bahan baku farmasi terhadap cemaran pestisida (Jallow et al., 2017).

<b>Pestisida</b>	<b>Golongan</b>	<b>MRL untuk Herbal/Spice (mg/kg)</b>	<b>Sifat Toksikologi Utama</b>
<i>Chlorpyrifos</i>	Organofosfat	0.05	Neurotoksik, penghambat AChE
<i>Carbendazim</i>	Fungisida benzimidazol	0.1	Mutagenik pada hewan

Pestisida	Golongan	MRL untuk Herbal/Spice (mg/kg)	Sifat Toksikologi Utama
<i>Cypermethrin</i>	Piretroid	1.0	Neurotoksik perifer
<i>Imidacloprid</i>	Neonicotinoid	0.5	Efek pada sistem saraf serangga, toksisitas moderat
<i>Glyphosate</i>	Herbisida	0.1	Kontroversial, dugaan karsinogenik
<i>Malathion</i>	Organofosfat	2.0	Gangguan saraf
DDT (dilarang)	Organochlorine	0.0 (Tidak diizinkan)	Karsinogen, persisten lingkungan

### G. Cemaran Nitrosamine

Nitrosamine adalah senyawa nitroso organik yang sangat diperhatikan dalam industri farmasi karena banyak anggotanya telah dikaitkan dengan potensi karsinogenik. Dalam konteks bahan baku farmasi (*Active Pharmaceutical Ingredient*/API, prekursor, atau eksipien), nitrosamine dapat muncul sebagai cemaran melalui berbagai jalur: reaksi nitrosasi antara amina sekunder atau tersier dengan nitrit; kontaminasi bahan mentah atau reagen; ataupun kondisi proses sintesis dan penyimpanan yang memungkinkan pembentukan senyawa ini. Beberapa nitrosamine yang paling umum ditemukan di bahan baku farmasi meliputi *N-nitrosodimethylamine* (NDMA), *N-nitrosodiethylamine* (NDEA), *N-nitroso-N-methyl-4-aminobutyric acid* (NMBA), serta senyawa lain seperti *N-nitrosodiisopropylamine* (NDIPA) dan *N-nitrosoethylisopropylamine* (NEIPA)

Karena sifat karsinogenik dan potensi risiko jangka panjang bagi pasien, regulator seperti FDA (AS) dan EMA (Uni Eropa) telah menetapkan *Acceptable Intake* (AI) harian untuk nitrosamine tertentu sebagai ambang keamanan. Misalnya, FDA menetapkan batas 96 ng/hari untuk NDMA dan NMBA, serta 26,5 ng/hari untuk NDEA, N-nitrosomethylphenylamine (NMPA), dan beberapa lainnya

Penentuan AI ini banyak dilakukan melalui pendekatan *Carcinogenic Potency Categorization Approach* (CPCA), yaitu metode prediksi potensi karsinogen berdasarkan struktur senyawa ketika data eksperimental langsung tidak tersedia

Dalam kerangka pengujian cemaran, laboratorium farmasi umumnya menerapkan teknik analitik yang sangat sensitif dan selektif. *Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry* (LC–MS/MS) adalah metode utama yang digunakan untuk deteksi nitrosamine dalam bahan baku farmasi karena kemampuannya mendeteksi banyak jenis senyawa sekaligus dengan limit deteksi yang sangat rendah. Untuk nitrosamine yang lebih volatil seperti NDMA dan NDEA, digunakan *Gas Chromatograph–Mass Spectrometry* (GC–MS) atau *Headspace GC–MS/MS*, yang memanfaatkan sifat volatilitas untuk meningkatkan sensitivitas. Selain itu, untuk identifikasi nitrosamine baru atau senyawa yang belum diidentifikasi sebelumnya, digunakan *High-Resolution Mass Spectrometry* (HRMS), seperti *Orbitrap* atau *Q-ToF*, karena akurasi massa yang tinggi sangat membantu dalam elusidasi struktur (Golob et al., 2023; Raw, 2021; Wichitnithad et al., 2023b; Zhang et al., 2025).

Nitrosamine	Singkatan	Batas AI Regulasi
<i>N-Nitrosodimethylamine</i>	NDMA	96 ng/hari
<i>N-Nitrosodiethylamine</i>	NDEA	26,5 ng/hari
<i>N-Nitroso-N-methyl-4-aminobutyric acid</i>	NMBA	96 ng/hari
<i>N-Nitrosodiisopropylamine</i>	NDIPA	26,5 ng/hari
<i>N-Nitrosoethylisopropylamine</i>	NEIPA	26,5 ng/hari
<i>1-Methyl-4-nitrosopiperazine</i>	MNP	400 ng/hari

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, S., Khan, A., Jamal, M., & Siddiqui, M. Z. (2025). Review on the modern analytical advancements in impurities testing. *Advances in Analytic Science*, 6(1), 3159. <https://doi.org/10.54517/aas3159>
- Arora, M. (2013). Cell Culture Media: A Review. *Materials and Methods*, 3, 1-29. <https://doi.org/10.13070/mm.en.3.175>
- Arslan, H. Ş., & Yerlikaya, S. (2022). Salmonella typhimurium ATCC 14028 inhibition with various extracts. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 28(1), 1-4. <http://>
- Brusseau, M. L., & Artiola, J. F. (2019). Chemical Contaminants. In *Environmental and Pollution Science* (pp. 175-190). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814719-1.00012-4>
- Golob, N., Peterlin, S., Grahek, R., & Roškar, R. (2023). NDMA Formation Due to Active Ingredient Degradation and Nitrite Traces in Drug Product. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 112(5), 1277-1286. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2023.03.007>
- ICH. (2003). ICH Topic Q 1 A (R2) *Stability Testing of new Drug Substances and Products Step 5 Note For Guidance On Stability Testing: Stability Testing Of New Drug Substances And Products*. <http://www.emea.eu.int>
- International Council For Harmonisation. (2021). *International Council For Harmonisation Of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use Impurities: Guideline For Residual Solvents*.
- International Council For Harmonisation. (2022). *International Council For Harmonisation Of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use Ich Harmonised Guideline Guideline For Elemental Impurities Q3D(R2)*.

- Jallow, M. F. A., Awadh, D. G., Albaho, M. S., Devi, V. Y., & Thomas, B. M. (2017). Pesticide knowledge and safety practices among farm workers in Kuwait: Results of a survey. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph14040340>
- Pang, G. F., Fan, C. L., Liu, Y. M., Cao, Y. Z., Zhang, J. J., Fu, B. L., Li, X. M., Li, Z. Y., & Wu, Y. P. (2006). Multi-residue method for the determination of 450 pesticide residues in honey, fruit juice and wine by double-cartridge solid-phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants*, 23(8), 777–810. <https://doi.org/10.1080/02652030600657997>
- Raw, A. (2021). *FDA Overview Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs*. [www.fda.gov](http://www.fda.gov)
- Sarma, N., Upton, R., Rose, U., Guo, D. an, Marles, R., Khan, I., & Giancaspro, G. (2023). Pharmacopeial Standards for the Quality Control of Botanical Dietary Supplements in the United States. In *Journal of Dietary Supplements* (Vol. 20, Issue 3, pp. 485–504). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/19390211.2021.1990171>
- Torres, S., Boetzel, R., Gatimu, E., Gomes, D. Z., King, F., Kocks, G., Jones, R., Day, C., Lewen, N., Harris, L., & Teasdale, A. (2022). ICH Q3D Drug Product Elemental Risk Assessment: The Use of An Elemental Impurities Excipients Database. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(5), 1421–1428. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.10.012>
- Tyski, S., Burza, M., & Laudy, A. E. (2025a). Microbiological Contamination of Medicinal Products –Is It a Significant Problem? In *Pharmaceuticals* (Vol. 18, Issue 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ph18070946>



- WHO Technical Report Series. (2024). *Annex 2 WHO good manufacturing practices for excipients used in pharmaceutical products*.
- Wichitnithad, W., Nantaphol, S., Noppakhunsomboon, K., & Rojsitthisak, P. (2023a). An update on the current status and prospects of nitrosation pathways and possible root causes of nitrosamine formation in various pharmaceuticals. In *Saudi Pharmaceutical Journal* (Vol. 31, Issue 2, pp. 295–311). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2022.12.010>
- Zhang, Y., Widart, J., Ziemons, E., Hubert, P., & Hubert, C. (2025). N-nitrosamine risk assessment in pharmaceuticals: Where are we from a regulatory point of view in 2025? In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Open* (Vol. 6). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2025.100084>

# BAB

# 8

# SPEKTROSKOPI

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc.

## A. Pendahuluan

Bahan baku farmasi memegang peranan sangat krusial dalam keseluruhan proses produksi obat karena mutu bahan baku secara langsung mempengaruhi efektivitas, keamanan, dan stabilitas sediaan akhir. Sebagai contoh, jika bahan baku mengandung impuritas yang tidak terdeteksi atau kadar zat aktif yang tidak sesuai, maka obat yang dihasilkan bisa gagal memenuhi standar mutu, atau bahkan menimbulkan bahaya bagi pasien. Oleh karena itu, analisis bahan baku harus dilakukan sebelum tahap formulasi, sehingga kesalahan sejak awal dapat dicegah. Dalam banyak industri farmasi, pengujian identitas, kemurnian, dan potensi bahan baku menjadi bagian dari sistem kontrol mutu yang wajib. Proses ini tidak hanya bertujuan untuk memenuhi regulasi, tetapi juga menghindari biaya ulang produksi dan penarikan produk dari pasar jika terjadi kegagalan mutu (raw material testing sangat penting untuk menjamin kualitas dan keamanan produk)(Naik, Ramesh Parkar and Bharmu Nangunurkar, 2024).

Regulasi farmasi nasional maupun internasional mensyaratkan bahwa bahan baku yang digunakan dalam sediaan obat harus memenuhi standar identitas, kemurnian, dan kadar zat aktif yang telah ditetapkan. Standar ini tertuang dalam farmakope (seperti Farmakope Indonesia, USP, EP) dan pedoman seperti ICH dan pedoman BPOM, yang mengatur

bahwa bahan baku harus diuji sesuai monograf atau metode resmi. Pengujian identitas (*identity test*) khususnya sering diwajibkan untuk memastikan bahwa bahan tersebut benar sesuai senyawa yang diklaim, bukan bahan “pengganti” atau bahan tercemar (*supplier’s COA* tidak cukup, perlu verifikasi) . Bila identitas tidak sesuai, maka seluruh batch bahan baku harus ditolak atau dikembalikan. Dengan demikian, kontrol mutu bahan baku merupakan tahap awal yang tak boleh diabaikan dalam sistem jaminan mutu industri farmasi.

Metode analisis bahan baku farmasi sangat beragam, termasuk metode klasik maupun instrumen, namun dalam dekade terakhir metode spektroskopi semakin menonjol karena kemampuannya memberikan informasi molekuler dengan waktu analisis relatif cepat dan persiapan sampel yang minimal. Spektroskopi mencakup teknik seperti UV-Vis, IR/FTIR, NMR, spektrometri massa, AAS/ICP, serta teknik vibrasi dan atomik lain, yang memungkinkan penentuan identitas, struktur, kemurnian, dan kontaminan secara sensitif dan spesifik (Workman, 2024). Selain itu, spektroskopi modern juga dapat digabungkan dengan teknik chemometrics dan multivariat untuk memperkuat analisis kuantitatif dan identifikasi dalam campuran kompleks. Karena itu, buku ini memilih untuk memfokuskan pada analisis spektroskopi, agar mahasiswa memahami teknik inti yang sangat aplikatif di industri farmasi.

Dalam konteks industri farmasi modern, penggunaan spektroskopi bukan hanya pada tahap laboratorium rilis (*offline*), melainkan juga pada proses *in-line* atau *real time* untuk mendukung *Process Analytical Technology* (PAT) dan *Real Time Release Testing* (RTRT). Teknologi spektroskopi seperti NIR, Raman, dan UV-Vis dengan probe langsung di jalur produksi memungkinkan pemantauan cepat tanpa memerlukan pengambilan sampel manual. Misalnya, penelitian terbaru menunjukkan bahwa penetrasi UV-Vis ke dalam tablet dapat mencapai kedalaman efektif tertentu, yang memungkinkan analisis secara non-destruktif dalam produksi (penetrasi hingga ~0,4 mm (Brands *et al.*, 2025). Dengan demikian, spektroskopi

menjadi alat penting tidak hanya untuk kontrol akhir, tetapi juga pengendalian proses secara dinamis.

Buku ini disusun dengan tujuan memberi landasan ilmiah sekaligus aplikasi praktis kepada mahasiswa S1 Farmasi mengenai penggunaan spektroskopi dalam analisis bahan baku farmasi. Materi terdiri dari teori dasar spektra, praktik instrumen, interpretasi spektrum, validasi metode, dan studi kasus aplikasi. Contoh-contoh dan latihan di tiap bab akan membantu mahasiswa memahami bagaimana menerapkan spektroskopi pada bahan baku nyata seperti zat aktif, eksipien, dan kontaminasi logam. Dengan pendekatan ini, diharapkan lulusan dapat menguasai teknik spektroskopi sebagai bagian dari kompetensi analisis farmasi yang dibutuhkan di industri dan penelitian. Akhirnya, pembaca akan dipandu untuk melihat tren terkini dan masa depan spektroskopi di bidang farmasi, agar mampu mengantisipasi inovasi teknologi dalam analisis bahan baku.

## **B. Prinsip Dasar Spektroskopi**

Spektroskopi adalah metode yang mempelajari interaksi antara radiasi elektromagnetik dan materi, dan prinsip ini menjadi dasar bagi semua teknik spektroskopi. Dalam interaksi ini, radiasi dapat diserap, dipantulkan, ditransmisikan, atau disebarkan oleh zat, tergantung sifat materi dan panjang gelombang radiasi. Ketika energi foton cocok dengan perbedaan energi antar tingkat dalam molekul atau atom, terjadi transisi yang menghasilkan sinyal spektroskopi. Pemahaman tentang spektrum—baik spektrum absorpsi maupun emisi—menjadi kunci dalam interpretasi data spektroskopi. Sumber radiasi, sistem seleksi panjang gelombang (monokromator), dan detektor menjadi komponen utama instrumen spektroskopi (Christian, no date)

Radiasi elektromagnetik (EM) memiliki karakteristik gelombang seperti panjang gelombang ( $\lambda$ ), frekuensi ( $\nu$ ), dan energi ( $E$ ), yang saling terkait melalui persamaan  $E = h\nu$  dan  $\lambda = c/\nu$ . Di mana  $h$  adalah konstanta Planck dan  $c$  kecepatan

cahaya, hubungan ini menjelaskan bahwa semakin pendek panjang gelombang maka semakin tinggi energinya. Spektroskopi memanfaatkan rentang panjang gelombang mulai dari sinar ultraviolet, cahaya tampak, inframerah hingga gelombang mikro, tergantung jenis transisi yang diamati (elektronik, vibrasi, rotasi). Misalnya, untuk transisi elektronik sering digunakan UV-Vis, sedangkan untuk vibrasi digunakan IR atau NIR. Konsep dasar ini dapat ditemukan dalam modul dasar spektroskopi MIT OpenCourseWare (“Fundamentals of Spectroscopy”) (MIT, 2012)

Interaksi radiasi dengan materi memicu transisi energi yang bersifat kuantum, di mana molekul atau atom hanya bisa berada pada tingkat energi diskrit tertentu. Transisi ini bisa berupa transisi elektronik (misalnya excitation elektron ke orbital kosong), transisi vibrasi (getaran ikatan molekul), atau transisi rotasi (perputaran molekul). Dalam spektroskopi molekuler, kombinasi antara vibrasi dan rotasi sering terjadi, membuat spektrum menjadi kompleks. Transisi ini tidak terjadi jika energi foton tidak cocok dengan selisih energi antar tingkat—oleh karena itu hanya panjang gelombang tertentu yang diserap atau dipancarkan. Penjelasan mendalam tentang proses dasar spektroskopi ini dapat ditemukan dalam artikel *“Fundamental Processes and their Significance of Spectroscopy”* (Adams, 2025)

Spektrum yang dihasilkan dari interaksi radiasi dan materi dapat berupa spektrum absorpsi, emisi, dan hamburan, dan masing-masing memberikan informasi berbeda tentang sistem analisis. Spektrum absorpsi menunjukkan panjang gelombang di mana materi menyerap energi; sedangkan spektrum emisi menunjukkan panjang gelombang ketika materi memancarkan kembali energi setelah relaksasi. Hamburan seperti Raman menampilkan perubahan energi karena interaksi non-elastik antara foton dan molekul. Pita spektrum ini dapat menjadi “sidik jari” senyawa, karena setiap gugus fungsi atau struktur kimia menunjukkan pola spektrum khas. (Pedrotti, 2008)

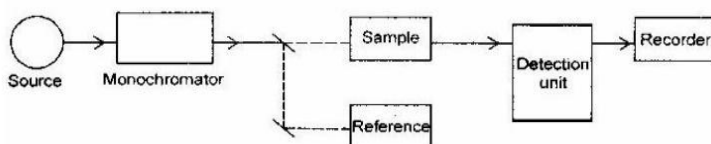
Pemahaman prinsip dasar spektroskopi sangat penting sebelum mempelajari teknik-teknik spesifik seperti UV-Vis, IR, NMR, atau spektrometri massa, agar mahasiswa dapat memahami logika kerja instrumen dan interpretasi spektranya. Setelah memahami konsep interaksi cahaya-materi, transisi energi kuantum, serta spektrum dasar, mahasiswa akan lebih mudah memahami mengapa suatu senyawa menyerap pada panjang gelombang tertentu. Buku ini nanti akan membahas setiap teknik secara lebih rinci: prinsip kerja instrumen, persiapan sampel, interpretasi spektrum, dan aplikasi dalam analisis bahan baku farmasi. Di samping itu, setelah bab dasar ini, pembaca akan lebih siap memahami validasi metode, analisis kuantitatif, serta aplikasi spektroskopi dalam dunia farmasi. Dengan pendekatan ini, tujuan buku adalah menjadikan mahasiswa tidak hanya mampu membaca spektrum, tetapi juga memahami di balik fenomena spektrum itu sendiri

### C. Spektroskopi UV-Vis

Spektroskopi ultraviolet-visible (UV-Vis) adalah teknik spektroskopi yang mengukur penyerapan radiasi elektromagnetik di rentang ultraviolet dan cahaya tampak untuk memperoleh informasi kuantitatif dan kualitatif mengenai suatu zat. Prinsip dasar teknik ini didasarkan pada transisi elektronik—yaitu perpindahan elektron dari orbital terikat ke orbital yang lebih tinggi—yang terjadi bila energi foton cocok dengan selisih energi antar-orbital dalam molekul. Besaran yang diukur pada instrumen UV-Vis adalah absorbansi ( $A$ ), yang secara teori berhubungan linier dengan konsentrasi menurut hukum Bouguer-Lambert-Beer ( $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ ), di mana  $\epsilon$  adalah koefisien ekstinksi,  $b$  panjang gelombang jalur (*path length*), dan  $c$  konsentrasi (Department of Chemistry MIT, 2012). Karena kesederhanaan pengukuran dan hubungan kuantitatif ini, UV-Vis banyak digunakan untuk penetapan kadar zat aktif, studi stabilitas, dan pemeriksaan kemurnian bahan baku farmasi. Pengetahuan dasar tentang spektrum elektronik dan hukum

Beer-Lambert menjadi landasan penting sebelum menerapkan metode kuantitatif dalam analisis farmasi.

Dalam praktik laboratorium farmasi, instrumentasi UV-Vis umumnya terdiri dari sumber cahaya (UV dan/atau Vis), monokromator atau filter pemilih panjang gelombang, sel sampel, dan detektor yang mengukur intensitas cahaya masuk dan keluar. Proses pengukuran meliputi pemilihan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{max}}$ ) yang menunjukkan puncak absorptansi terbesar untuk senyawa target, penyusunan kurva kalibrasi dari standar dengan konsentrasi diketahui, dan perhitungan kadar sampel dari nilai absorptansi yang diamati. Kondisi eksperimen—seperti pelarut, pH, dan konsentrasi—dapat memengaruhi posisi  $\lambda_{\text{max}}$  dan nilai  $\epsilon$ , sehingga pemilihan kondisi kerja yang konsisten sangat penting untuk memperoleh hasil yang akurat dan reproduksibel. Selain itu, keterbatasan instrument (resolusi monokromator, stabilitas sumber lampu) dan kesalahan praktis (gelembung udara di sel, kotoran pada kuvet) dapat menyebabkan deviasi dari linearitas Beer-Lambert pada konsentrasi tertentu. Gambar Struktur dasar Spektrofotometri UV-Visible dapat dilihat pada Gambar 8.1



**Block diagram for a UV – Visible spectrophotometer.**

**Gambar 8.1** Struktur Dasar Spektrometri UV-Vis

(<https://fity.club/lists/u/uv-vis-spectrophotometer-block-diagram/>, 2015)

Oleh karena itu, penanganan sampel dan optimasi parameter instrument harus menjadi bagian dari prosedur standar operasi (SOP) sebelum analisis rutin (Chen and Jaramillo, 2017).

Hukum Bouguer-Lambert-Beer sering menjadi dasar kuantifikasi dengan UV-Vis, tetapi hukum ini memiliki batasan praktis yang harus dipahami oleh analis farmasi. Deviasi dari

linearitas dapat terjadi karena beberapa faktor: adanya asosiasi atau disosiasi molekul pada konsentrasi tinggi, interaksi kimia dengan pelarut, hamburan cahaya oleh partikel tersuspensi, atau efek instrument seperti bandwidth monokromator yang terlalu besar. Selain itu, campuran yang mengandung lebih dari satu komponen penyerap membutuhkan strategi pemisahan atau pendekatan multikomponen (mis. metode persamaan simultan, spektrofotometri derivatif, atau pemrosesan multivariat) untuk menentukan masing-masing konsentrasi. Oleh karena itu, pemahaman tentang sumber deviasi dan teknik korektif adalah penting ketika merancang metode UV-Vis untuk aplikasi bahan baku yang kompleks. Kajian terkini tentang batasan dan revisi penerapan hukum Beer-Lambert dapat dijadikan bacaan untuk memperdalam tema ini (Kiteto and Mecha, 2024).

Dalam konteks analisis farmasi, UV-Vis sangat berguna untuk penetapan kadar (assay) bahan aktif yang memiliki kromofor atau dapat diubah menjadi derivat yang menyerap di UV/Vis. Teknik ini banyak dipilih untuk analisis rutin karena instrument relatif murah, prosedur cepat, dan sensitivitas memadai untuk banyak API (*Active Pharmaceutical Ingredients*) dan beberapa eksipien. Contoh aplikasi praktis mencakup penentuan vitamin (mis. vitamin C), analgesik (mis. parasetamol), dan pewarna tertentu yang ada pada bahan baku atau formulasi. Selain itu, UV-Vis juga sering dipakai dalam studi stabilitas untuk memantau degradasi produk karena perubahan spektrum atau penurunan absorbansi pada  $\lambda_{max}$ . Namun untuk senyawa yang tidak memiliki kromofor, preparasi derivatisasi kimia atau penggunaan teknik lain (mis. HPLC dengan detektor UV, MS) mungkin diperlukan (Lim, 2022).

Pengembangan dan validasi metode UV-Vis untuk penggunaan regulatori mengikuti pedoman internasional yang baku, termasuk ICH Q2(R1) tentang validasi prosedur analitik serta panduan-panduan dari badan seperti FDA dan EMA. Parameter yang biasanya diuji dalam validasi meliputi linearitas, akurasi, presisi (intra- dan inter-hari), selektivitas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), dan stabilitas larutan uji. Untuk



penetapan kadar bahan baku, uji pemulihan (recovery) dan studi ruggedness/robustness terhadap perubahan kecil kondisi analitik juga menjadi penting agar metode memenuhi persyaratan mutu. Contoh studi validasi metode UV-Vis yang terpublikasi dapat dijadikan referensi praktis untuk penyusunan protokol validasi di laboratorium kampus atau industri (Agarwal, 2020).

Selain aplikasi kuantitatif sederhana, variasi teknik UV-Vis seperti spektrofotometri derivatif, spektrofotometri perbedaan, dan penggunaan detektor diode array (DAD) membuka kemampuan analisis pada sampel kompleks dan pemisahan spektral komponen yang tumpang tindih. Spektrofotometri derivatif, misalnya, meningkatkan resolusi puncak dan memungkinkan penentuan komponen yang absorbansinya saling berdekatan, sedangkan DAD memungkinkan akuisisi spektrum penuh secara simultan sehingga membantu identifikasi puncak dan deteksi impuritas. Pendekatan multivariat (chemometrics) juga dapat digunakan untuk membangun model kuantitatif dari data spektrum lengkap, sehingga mengurangi kebutuhan pemurnian fisik sebelum analisis. Untuk mahasiswa S1, pengenalan pada variasi-variasi ini penting agar mereka memahami opsi metodologis yang tersedia ketika UV-Vis konvensional tidak memadai (Bairagi, Rayate and Kokate, 2024).

Dalam pengajaran dan praktik laboratorium S1 Farmasi, materi UV-Vis idealnya mencakup teori singkat, demonstrasi instrumentasi, latihan pengukuran  $\lambda_{\text{max}}$  dan kurva kalibrasi, serta tugas validasi metode sederhana. Soal latihan bisa meliputi penentuan kadar parasetamol menggunakan metode kurva kalibrasi, analisis derajat linearitas Beer-Lambert, dan studi pemulihan pada sampel yang mengandung eksipien. Selain itu, diskusi tentang sumber galat dan cara mitigasinya (mis. pemilihan kuvet, blanko yang tepat, konstanta path length) membantu mahasiswa mengembangkan kebiasaan kerja laboratorium yang baik. Dengan kombinasi teori dan praktik ini, lulusan S1 diharapkan memiliki kompetensi dasar untuk

melakukan analisis UV-Vis pada bahan baku farmasi dan memahami kapan harus merujuk ke teknik analitik lain (Department of Chemistry MIT, 2012).

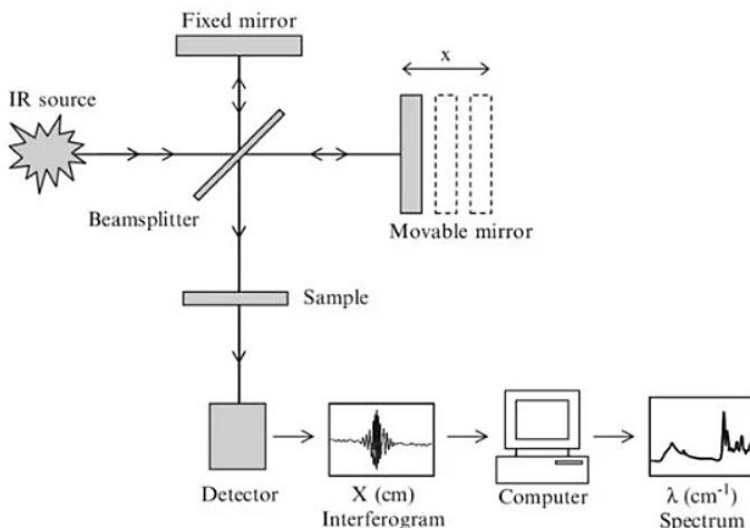
#### D. Spektroskopi Inframerah (IR & FTIR)

Spektroskopi IR mempelajari vibrasi ikatan dalam molekul. Setiap gugus fungsi dalam senyawa memiliki frekuensi vibrasi khas sehingga dapat digunakan sebagai identitas unik. FTIR (Fourier Transform Infrared) mempercepat pengukuran dan memberikan resolusi spektrum yang lebih baik. Dalam farmasi, FTIR digunakan untuk memastikan identitas bahan baku seperti aspirin, ibuprofen, atau eksipien tertentu. Misalnya, pita serapan kuat di daerah  $1700\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan keberadaan gugus karbonil.

Spektroskopi inframerah (IR) merupakan salah satu teknik utama dalam analisis bahan baku farmasi karena mampu memberikan informasi struktur molekul melalui identifikasi gugus fungsi yang ada dalam senyawa. Prinsip dasarnya adalah penyerapan radiasi inframerah oleh molekul yang mengakibatkan terjadinya transisi vibrasi dan rotasi pada ikatan kimia tertentu. Setiap jenis ikatan memiliki frekuensi getaran khas yang menjadi “sidik jari” (*molecular fingerprint*) dari suatu senyawa. Daerah spektrum IR umumnya dibagi menjadi tiga bagian: *near IR* ( $14000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ), *mid IR* ( $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ), dan *far IR* ( $400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$ ), di mana daerah *mid IR* paling sering digunakan dalam analisis farmasi (Pavia et al., 2015). Teknik ini sangat penting untuk mengenali gugus seperti  $\text{-OH}$ ,  $\text{-NH}$ ,  $\text{C=O}$ , dan  $\text{C-O}$  yang merupakan penanda utama bahan aktif farmasi (Skoog, Holler and Crouch, 2018).

Spektroskopi inframerah dibedakan menjadi dua jenis utama: **dispersif IR** dan **Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)**. Pada IR dispersif, panjang gelombang diisolasi secara berurutan menggunakan monokromator, sedangkan FTIR menggunakan *interferometer Michelson* untuk mengumpulkan seluruh spektrum secara simultan, kemudian mengubahnya menjadi domain frekuensi melalui transformasi

Fourier (Griffiths and De Haseth, 2006). Prinsip kerja FTIR dapat dilihat pada Gambar 8.2.



**Gambar 8.2** Prinsip Kerja FTIR

(<https://scienceinfo.com/wp-content/uploads/2023/07/FTIR.jpg>, no date)

FTIR memiliki beberapa keunggulan dibandingkan sistem konvensional, seperti waktu akuisisi yang cepat, sensitivitas tinggi, serta rasio sinyal terhadap derau yang lebih baik. Komponen utama instrumen meliputi sumber radiasi (biasanya *Global*), *interferometer*, ruang sampel atau kristal ATR (*attenuated total reflectance*), serta detektor seperti DTGS atau MCT (Skoog, Holler and Crouch, 2018). Dengan dukungan perangkat lunak analitik modern, FTIR menjadi alat standar dalam kontrol mutu bahan baku farmasi (Agarwal, 2020).

Dalam bidang farmasi, IR dan FTIR terutama digunakan untuk **identifikasi kualitatif** bahan baku melalui pola serapan khas tiap senyawa. Misalnya, aspirin menunjukkan serapan kuat untuk gugus karbonil (C=O) di sekitar 1750 cm<sup>-1</sup> dan gugus hidroksi (O-H) pada 3200–3500 cm<sup>-1</sup> (Pavia *et al.*, 2015). Spektrum inframerah dari bahan dapat dibandingkan dengan pustaka digital yang tersedia di perangkat FTIR untuk

memastikan kesesuaian identitas (USP, 2024). Penggunaan teknik ATR pada FTIR memudahkan analisis karena tidak memerlukan preparasi khusus—sampel padat dapat dianalisis langsung tanpa pelarut (Griffiths and De Haset, 2006). Oleh sebab itu, FTIR banyak digunakan dalam *incoming raw material testing* di industri farmasi untuk memastikan keaslian dan kemurnian bahan (Agarwal, 2020).

Meskipun lebih dikenal sebagai metode kualitatif, FTIR juga dapat digunakan secara **kuantitatif** dengan menerapkan hukum Beer-Lambert, di mana intensitas serapan sebanding dengan konsentrasi (Miller and Miller, 2018). Analisis kuantitatif FTIR sering digunakan untuk menentukan kadar senyawa dalam campuran padat atau cair menggunakan model kalibrasi multivariat seperti *Partial Least Square (PLS)*. Teknik ini juga diterapkan untuk analisis kelembaban, karakterisasi polimer, atau pemantauan reaksi secara *in situ* (Griffiths and De Haset, 2006). Dalam penelitian farmasi modern, FTIR digunakan untuk mengevaluasi interaksi obat-eksipien serta kestabilan formulasi sediaan (Agarwal, 2020). Hal ini menjadikan FTIR sebagai alat serbaguna yang melampaui sekadar identifikasi bahan.

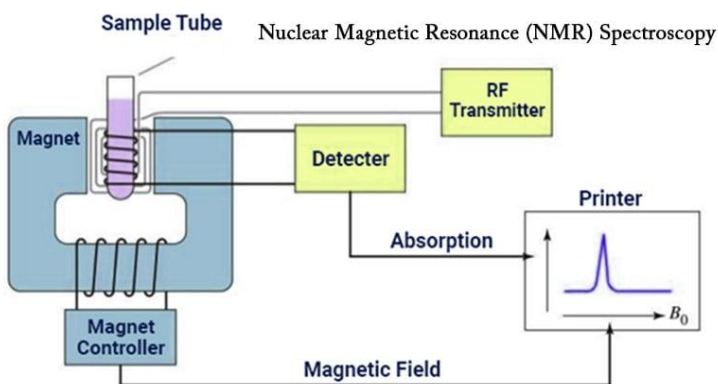
Setiap metode analisis berbasis IR atau FTIR harus divalidasi sesuai dengan pedoman internasional seperti **ICH Q2(R1)** dan standar dari **United States Pharmacopeia (USP)** serta **European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)**. Parameter validasi mencakup spesifisitas, presisi, akurasi, serta kesesuaian sistem (*system suitability*) (ICH, 2005). Validasi ini memastikan metode IR/FTIR memberikan hasil yang andal dan dapat diterima oleh lembaga pengawas mutu (FDA, EMA). Dengan dukungan perangkat lunak pustaka spektrum digital, identifikasi bahan dapat dilakukan secara otomatis berdasarkan nilai korelasi (USP, 2024). Dalam konteks industri, penerapan sistem validasi ini mempercepat proses pemeriksaan bahan baku tanpa mengorbankan keakuratan hasil (Griffiths and De Haset, 2006).

### E. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR)

NMR memanfaatkan sifat spin nuklir dalam medan magnet kuat. Spektroskopi ini memberikan informasi yang sangat detail mengenai struktur molekul, termasuk susunan atom karbon dan hidrogen.

Dalam analisis bahan baku farmasi, NMR sering digunakan untuk konfirmasi struktur senyawa baru, atau untuk memastikan kemurnian zat aktif. Misalnya,  $^1\text{H}$ -NMR dapat menunjukkan perbedaan posisi gugus metil dan aromatik dalam suatu molekul obat.

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) adalah teknik spektroskopi yang mengamati perilaku spin inti atom dalam medan magnet kuat dan memberikan informasi struktural yang sangat rinci tentang molekul organik dan anorganik. Ketika inti dengan momen magnetik (mis.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) ditempatkan dalam medan magnet homogen dan dipicu dengan pulsa radiofrekuensi, inti tersebut beresonansi pada frekuensi khas yang bergantung pada lingkungan kimianya; pergeseran kimia (chemical shift) inilah yang dipakai untuk mengidentifikasi jenis atom dan lingkungan elektroniknya. Prinsip kerja alat spektroskopi NMR dapat dilihat pada Gambar 8.3.



**Gambar 8.3** Prinsip Kerja Spektroskopi NMR

(<https://microbenotes.com/nuclear-magnetic-resonance-nmr-spectroscopy/>, 2025)

Selain chemical shift, parameter penting lain yang terekam adalah konstanta kopling spin-spin (J-coupling) yang mengungkap hubungan konektivitas antar atom H, serta intensitas dan multiplicity yang membantu penentuan jumlah proton setara dan susunan substituen. Pemahaman dasar ini penting bagi mahasiswa farmasi karena NMR sering kali menjadi metode konfirmasi struktur senyawa aktif dan identifikasi impuritas (OpenCourseware, 2003).

Instrumen NMR modern terdiri dari magnet suprakonduktor (umumnya 300–900 MHz untuk  $^1\text{H}$ ), sistem radiofrekuensi, prosesor pulsa, dan detektor yang merekam sinyal dalam domain waktu yang kemudian diubah menjadi spektrum domain frekuensi melalui transformasi Fourier. Kekuatan magnet (dinyatakan dalam MHz untuk resonansi  $^1\text{H}$ ) mempengaruhi resolusi dan sensitivitas: medan yang lebih tinggi meningkatkan pemisahan chemical shift dan seringkali memberikan spektrum yang lebih mudah diinterpretasi untuk molekul kompleks (OpenCourseware, 2003). Selain itu, tata cara akuisisi (mis. jumlah scans, pulse sequence) dan kondisi sampel (pelarut NMR, konsentrasi, suhu) secara langsung memengaruhi kualitas spektrum; oleh karena itu prosedur laboratorium NMR memerlukan standar operasional yang ketat. Penjelasan konsep-konsep instrumentasi dan eksperimen dasar tersedia dalam materi perkuliahan dan catatan praktikum NMR terbuka.

$^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR adalah dua jenis eksperimen NMR yang paling sering digunakan dalam analisis bahan baku farmasi, dimana  $^1\text{H}$ -NMR memberikan informasi tentang proton (jumlah, lingkungan kimia, dan kopling) sementara  $^{13}\text{C}$ -NMR mengungkap rangka karbon yang mendasari struktur.  $^1\text{H}$ -NMR umumnya lebih sensitif karena kelimpahan alami dan momen magnetik proton lebih besar, sedangkan  $^{13}\text{C}$  memiliki sensitivitas lebih rendah sehingga memerlukan akuisisi lebih lama atau teknik pengayaan; namun sinyal  $^{13}\text{C}$  sangat berguna untuk mengkonfirmasi skeleton karbon dan mengidentifikasi gugus fungsi non-protonik. Selain itu, teknik 2D NMR (mis. COSY, HSQC, HMBC) memperlihatkan korelasi antar atom sehingga

sangat membantu dalam elucidasi struktur senyawa farmasi baru atau penentuan stereokimia pada molekul kompleks. Bacaan pengantar serta contoh aplikasi  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  dan 2D tersedia pada materi kuliah dan review terapan (uwindor.ca, no date).

Dalam praktik farmasi, NMR digunakan untuk beberapa tujuan penting: konfirmasi struktur API hasil sintesis, deteksi dan identifikasi impuritas dan produk degradasi, analisis campuran dan profiling metabolit, serta penentuan kemurnian kuantitatif (qNMR). qNMR (quantitative NMR) memanfaatkan area puncak yang proporsional terhadap jumlah mol dan dapat memberikan penetapan kadar yang sangat akurat tanpa memerlukan standar murni yang sejenis—sehingga qNMR sering dipakai sebagai metode referensi untuk standarisasi API dan kalibrasi bahan baku. Selain itu, NMR padat (solid-state NMR) berguna untuk mempelajari polimorfisme, hidrasi, dan interaksi obat-ekspien yang relevan untuk stabilitas dan bioavailabilitas sediaan. Ulasan aplikasi NMR dalam pengembangan obat dan analisis farmasi merangkum contoh-contoh ini (Holzgrabe, Wawer and Dichl, 1999).

Persiapan sampel NMR untuk bahan baku farmasi umumnya melibatkan pemilihan pelarut deuteri (mis. DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ) untuk menghindari sinyal pelarut yang menutupi spektrum, serta penentuan konsentrasi yang memadai untuk mendapatkan rasio sinyal terhadap derau (S/N) yang cukup. Untuk analisis qNMR, penggunaan internal standard yang stabil dan tidak bertumpang tindih spektrumnya sangat penting untuk memastikan akurasi kuantifikasi; pilihan internal standard dan metode pengolahan data harus divalidasi. Bahan yang tidak larut atau padat dapat dianalisis dengan teknik padat (MAS NMR) atau dilarutkan setelah derivatisasi jika diperlukan—setiap langkah preparasi tercatat dalam SOP agar hasil dapat direproduksi. Panduan praktis dan lembar kerja laboratorium NMR membantu mahasiswa memahami aspek-aspek praktis ini (MSU\_Chemistry, 2017).

Validasi metode NMR dalam konteks analisis bahan baku melibatkan parameter yang serupa dengan metode lainnya: linearitas, presisi, akurasi (recovery), LOD/LOQ (khususnya untuk qNMR), serta spesifisitas terhadap impuritas tertentu. Perlu dicatat bahwa walau NMR sangat informatif, sensitivitasnya untuk deteksi jejak impuritas biasanya lebih rendah dibandingkan MS; oleh sebab itu NMR sering dipakai bersama teknik lain (LC-MS, GC-MS) untuk cakupan analitik yang lengkap. Untuk keperluan regulatori dan audit mutu, dokumentasi prosedur, hasil validasi, dan bukti kestabilan metode NMR harus disiapkan sesuai pedoman yang berlaku di industri farmasi. Beberapa review dan bab buku khusus membahas strategi validasi dan integrasi NMR dalam alur analisis farmasi (Holzgrabe, Wawer and Dichl, 1999).

Pengajaran NMR perlu menyeimbangkan aspek teori (spin, precession, chemical shift, relaxation) dengan praktik interpretasi spektrum dan latihan pengolahan data sederhana; latihan ideal mencakup pembacaan spektrum  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ , penentuan konfigurasi dasar melalui kopling dan 2D, serta contoh qNMR sederhana untuk penetapan kadar. Mahasiswa juga perlu dikenalkan pada keterbatasan praktis NMR—seperti kebutuhan peralatan bernilai tinggi, biaya pemeliharaan magnet suprakondutor, dan keterbatasan sensitivitas untuk jejak impuritas—sehingga mereka dapat memilih teknik analitik yang tepat di lapangan. Materi perkuliahan MIT dan primer NMR yang tersedia secara terbuka adalah sumber yang sangat berguna untuk menyusun modul pengajaran dan praktikum (OpenCourseware, 1997)

#### **F. Spektrometri Massa (MS)**

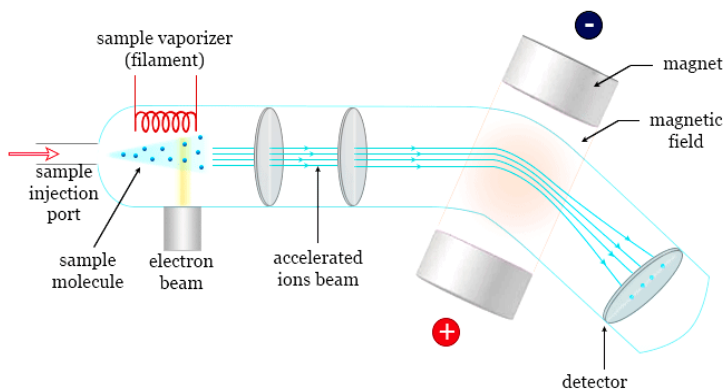
MS bekerja dengan prinsip mengionisasi molekul, lalu memisahkan ion-ion berdasarkan rasio massa terhadap muatannya ( $m/z$ ). Teknik ini memberikan informasi tentang berat molekul dan fragmen-fragmen yang membantu menentukan struktur senyawa (Department of Chemistry MIT, 2012). Contoh aplikasinya dalam farmasi adalah identifikasi API



dan studi metabolit obat. Kombinasi MS dengan kromatografi (LC-MS, GC-MS) memperluas kemampuan analisis baik untuk bahan baku maupun sediaan jadi.

Dalam praktik laboratorium farmasi, instrumentasi UV-Vis umumnya terdiri dari sumber cahaya (UV dan/atau Vis), monokromator atau filter pemilih panjang gelombang, sel sampel, dan detektor yang mengukur intensitas cahaya masuk dan keluar. Proses pengukuran meliputi pemilihan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{max}}$ ) yang menunjukkan puncak absorbansi terbesar untuk senyawa target, penyusunan kurva kalibrasi dari standar dengan konsentrasi diketahui, dan perhitungan kadar sampel dari nilai absorbansi yang diamati. Kondisi eksperimen—seperti pelarut, pH, dan konsentrasi—dapat memengaruhi posisi  $\lambda_{\text{max}}$  dan nilai  $\epsilon$ , sehingga pemilihan kondisi kerja yang konsisten sangat penting untuk memperoleh hasil yang akurat dan reproduksibel. Selain itu, keterbatasan instrument (resolusi monokromator, stabilitas sumber lampu) dan kesalahan praktis (gelembung udara di sel, kotoran pada kuvet) dapat menyebabkan deviasi dari linearitas Beer-Lambert pada konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, penanganan sampel dan optimasi parameter instrument harus menjadi bagian dari prosedur standar operasi (SOP) sebelum analisis rutin (Chen and Jaramillo, 2017). Prinsip kerja dari Spektroskopi Massa dapat dilihat pada Gambar 8.4.

## Mass spectrometry



Priyamstudycentre.com

**Gambar 8.4** Prinsip Kerja Spektroskopi Massa (MS)  
(<https://www.priyamstudycentre.com/2022/02/mass-spectrometry.html>, 2025)

Spektroskopi massa (Mass Spectrometry, MS) merupakan teknik analisis yang mengukur massa molekul dengan mendeteksi rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) ion-ion yang terbentuk dari molekul sampel. Proses kerja MS mencakup tiga tahap utama, yaitu pembentukan ion (ionization), pemisahan ion berdasarkan  $m/z$  (mass analysis), dan deteksi ion (detection) (NIST, 2019). Teknik ini digunakan untuk menentukan massa molekul relatif, komposisi unsur, serta pola fragmentasi suatu senyawa. Dalam analisis bahan baku farmasi, MS mampu mengidentifikasi senyawa aktif, pengotor, serta produk degradasi dengan sensitivitas tinggi (Griffiths and De Haseth, 2006). Keunggulan MS adalah kemampuannya menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif dari sampel dalam jumlah kecil dengan ketepatan tinggi.

Sebuah spektrometer massa umumnya terdiri dari tiga komponen utama, yaitu sumber ion (*ion source*), penganalisis massa (*mass analyzer*), dan detektor (*detector*). Pada bagian sumber ion, molekul netral diubah menjadi ion dengan teknik seperti Electron Ionization (EI), Electrospray Ionization (ESI), atau Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI)

(Sparkman and Watson, 2007). Ion yang terbentuk kemudian diarahkan ke *mass analyzer* (misalnya quadrupole, time-of-flight, atau ion trap) untuk dipisahkan menurut rasio  $m/z$ , lalu ditangkap oleh detektor yang mengukur intensitasnya. Setiap jenis analyzer memiliki kelebihan berbeda, misalnya quadrupole untuk analisis cepat, TOF untuk akurasi tinggi, dan Orbitrap untuk resolusi sangat tinggi (NIST, 2019). Pemahaman terhadap komponen ini membantu mahasiswa memahami bagaimana spektrum massa terbentuk dan ditafsirkan.

Jenis ionisasi menentukan hasil spektrum dan pola fragmentasi yang dihasilkan. Metode keras (*hard ionization*) seperti Electron Ionization (EI) menyebabkan fragmentasi ekstensif yang membantu identifikasi struktur, cocok untuk senyawa volatil seperti pelarut dan minyak atsiri (McMaster University, 2020). Sebaliknya, metode lunak (*soft ionization*) seperti ESI dan MALDI menghasilkan ion molekuler dengan sedikit fragmentasi, sehingga cocok untuk molekul biologis besar atau senyawa farmasi polar. Dalam industri farmasi, ESI-MS sering digunakan untuk analisis zat aktif farmasi (API) dan metabolit, sedangkan MALDI-TOF MS dimanfaatkan untuk karakterisasi peptida, protein, dan ekstrak herbal kompleks. Pemilihan metode ionisasi harus disesuaikan dengan karakteristik fisik dan kimia senyawa yang diuji.

Spektrum massa menampilkan hubungan antara intensitas ion (sumbu y) dengan rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) (sumbu x), menghasilkan pola yang disebut *mass spectrum*. Puncak dengan nilai  $m/z$  tertinggi biasanya mewakili ion molekuler  $[M]^+$  atau  $[M+H]^+$ , yang menggambarkan berat molekul senyawa. Ion-ion dengan nilai  $m/z$  lebih kecil menunjukkan fragmen yang terbentuk akibat pemutusan ikatan selama proses ionisasi (Sparkman and Watson, 2007). Analisis pola fragmentasi ini menjadi dasar dalam menentukan struktur molekul secara akurat. Sebagai contoh, pada analisis bahan baku ibuprofen, pola fragmentasi spesifik memungkinkan identifikasi gugus karboksilat dan cincin aromatik yang khas.

Untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas, spektroskopi massa sering dikombinasikan dengan teknik kromatografi seperti Gas Chromatography (GC-MS) atau Liquid Chromatography (LC-MS). GC-MS digunakan untuk analisis senyawa volatil dan termostabil, seperti pelarut residu atau kontaminan, sedangkan LC-MS cocok untuk senyawa non-volatil dan polar seperti antibiotik dan metabolit obat (NIH, 2021). Kombinasi LC-MS/MS dengan mode Multiple Reaction Monitoring (MRM) memberikan kemampuan kuantifikasi presisi tinggi bahkan pada kadar nanogram. Penggabungan kedua teknik ini menjadikan MS sebagai standar emas dalam analisis farmasi modern.

Spektroskopi massa digunakan dalam berbagai tahapan analisis farmasi, mulai dari identifikasi senyawa aktif (API), deteksi impuritas, hingga penentuan stabilitas produk. Dalam kontrol kualitas, MS dapat mengidentifikasi adanya degradasi kimia atau kontaminasi silang antar batch produksi. Selain itu, teknik metabolomik berbasis LC-MS banyak diterapkan untuk mempelajari bioavailabilitas dan jalur metabolisme obat di dalam tubuh. Dengan kemampuannya mendeteksi senyawa hingga tingkat pikogram, MS menjadi alat analisis yang tak tergantikan dalam pengembangan dan validasi obat baru.

### **G. Spektroskopi Atom (AAS & ICP)**

Analisis logam sangat penting karena logam berat dapat menjadi kontaminan berbahaya pada bahan baku farmasi. AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) digunakan untuk menentukan kadar logam dengan sensitivitas tinggi, sedangkan ICP (Inductively Coupled Plasma) dapat menganalisis banyak unsur sekaligus dengan kepekaan lebih tinggi. Misalnya, batas maksimum Pb, Cd, Hg, dan As dalam bahan baku farmasi sudah diatur dalam farmakope.

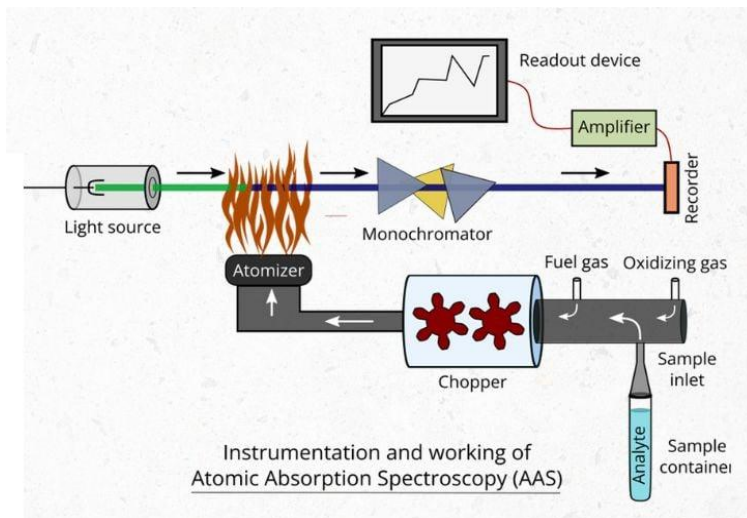
Spektroskopi Serapan Atom (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS) adalah teknik yang mengukur konsentrasi unsur logam dengan mengukur kemampuan atom bebas untuk menyerap radiasi pada panjang gelombang karakteristiknya.

Prinsip kerjanya sederhana: sampel diubah menjadi bentuk atom gas bebas (atomisasi), lalu cahaya pada panjang gelombang tertentu melewati awan atom tersebut; penurunan intensitas cahaya sebanding dengan jumlah atom yang menyerap sehingga berkaitan dengan konsentrasi unsur dalam sampel. Proses atomisasi dapat dilakukan dengan nyala pembakaran (flame AAS) atau dengan graphite furnace (electrothermal AAS, GFAAS) untuk sensitivitas yang lebih tinggi. Karena AAS mengukur unsur secara elementer (mis. Pb, Cd, Zn, Cu), teknik ini sangat cocok untuk analisis cemaran logam berat dalam bahan baku farmasi. (lihat ringkasan prinsip AAS untuk pengantar teknis) (Lagalante, 1999).

Dua mode atomisasi yang paling umum pada AAS adalah flame AAS dan graphite furnace AAS (GFAAS). Flame AAS menggunakan nyala (biasanya asetilen-udara atau asetilen-nitrous oxide) untuk menghasilkan atom dalam fase gas dengan throughput tinggi dan operasional yang relatif sederhana, namun batas deteksinya biasanya pada rentang ppb-ppm; sebaliknya GFAAS memanaskan kuvet grafit hingga suhu tinggi sehingga menghasilkan densitas atom yang jauh lebih besar dan meningkatkan sensitivitas sampai beberapa orde (sub-ppb), tetapi throughput lebih rendah dan membutuhkan keterampilan operasional lebih tinggi. Pemilihan antara flame dan furnace didasarkan pada kebutuhan LOD/LOQ serta matriks sampel yang dihadapi di laboratorium kontrol mutu farmasi (SciSpec.co.th, 2017).

Instrumen AAS dasar terdiri dari sumber cahaya (biasanya lampu katoda berlubang khusus unsur atau HCL/EDL), atomizer (nyala atau furnace), monokromator, dan detektor fotomultiplier. Sinyal AAS rentan terhadap efek matriks dan interferensi spektral serta non-spektral (mis. penguapan tidak lengkap atau pembentukan senyawa refraktori), sehingga teknik koreksi latar belakang seperti deuterium lamp background correction, Zeeman background correction, atau penggunaan matriks modifier sering diperlukan untuk menghasilkan hasil yang akurat. Prinsip kerja dari

Spektroskopi Serapan Atom (AAS) dapat dilihat pada gambar 8.5. Pemahaman terhadap sumber interferensi dan cara koreksinya menjadi aspek praktis penting bagi analis bahan baku farmasi.



**Gambar 8.5** Prinsip Kerja AAS

(<https://scienceinfo.com/atomic-absorption-spectrophotometry/>, 2025)

Persiapan sampel merupakan tahap kritis sebelum analisis AAS, terutama untuk sampel padat atau bahan farmasi kompleks yang mengandung eksipien. Teknik preparasi yang sering digunakan meliputi penguraian basah (wet digestion) dengan campuran asam ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menggunakan pemanas atau microwave digestion untuk melarutkan matriks dan melepaskan unsur logam ke dalam larutan analitik; alternatifnya, beberapa matriks dapat dianalisis secara langsung setelah pelarutan/ekstraksi yang sesuai. Protokol preparasi harus memperhatikan kemungkinan kontaminasi selama langkah laboratorium, pemilihan wadah yang kompatibel, serta kebutuhan untuk pembersihan dan blanko yang benar agar tidak terjadi bias pada penentuan logam berat. (panduan teknis sample prep untuk AAS/ICP menyediakan prosedur praktis untuk sampel farmasi) (Thermo Fisher, 2021).

AAS banyak dipakai dalam industri farmasi untuk memeriksa batas kontaminan logam berat (mis. Pb, Cd, Hg, As) pada bahan baku, eksipien, dan produk jadi sesuai persyaratan farmakope dan regulasi keamanan obat. Misalnya, pengujian logam berat pada bahan baku herbal, talc, atau garam mineral dilakukan rutin untuk memastikan tidak melebihi batas maksimum yang ditetapkan, dan AAS memberikan metode yang ekonomis untuk pengujian tersebut. Di samping itu, AAS juga digunakan dalam validasi prosedur pembersihan peralatan (cleaning validation) guna memastikan tidak ada residu logam yang tersisa pada peralatan produksi. Keandalan AAS membuatnya tetap relevan di banyak laboratorium kontrol kualitas walau ICP-MS/ICP-OES semakin populer untuk analisis multi-elemen (Ali, 1983).

Meskipun AAS efisien dan umumnya lebih murah dari sisi investasi awal untuk analisis satu atau beberapa unsur, teknik berbasis plasma seperti ICP-OES dan ICP-MS menawarkan kemampuan multi-elemen simultan, rentang dinamis yang lebih lebar, dan (untuk ICP-MS) sensitivitas yang jauh lebih tinggi untuk jejak unsur. Oleh karena itu, pilihan antara AAS dan teknik plasma bergantung pada kebutuhan analitik: jika hanya beberapa unsur yang perlu dianalisis secara rutin dan laboratorium memiliki beban sampel menengah, AAS (terutama GFAAS untuk sensitivitas) seringkali lebih ekonomis; jika diperlukan panel multi-elemen atau sensitivitas ultra-rendah, ICP-MS menjadi pilihan. Evaluasi biaya, throughput, dan persyaratan deteksi penting ketika merancang laboratorium analitik farmasi (Tyler and Yvon, 2003).

Metode AAS yang dipakai dalam pemeriksaan bahan baku farmasi harus divalidasi sesuai pedoman seperti ICH Q2(R1) untuk memastikan linearitas, akurasi, presisi, limit deteksi (LOD) dan limit kuantifikasi (LOQ), serta spesifisitas terhadap interferensi matriks. Dokumen-dokumen teknis dan standar farmakope memberikan contoh kriteria penerimaan dan prosedur *system suitability* untuk analisis logam berat. Selain itu, prosedur audit dan dokumentasi sample prep, kontrol blanko,

serta verifikasi kualitas lampu katoda dan kalibrasi kurva harus tercatat untuk kepatuhan regulatori. Validasi yang baik juga meliputi studi ruggedness/robustness bila analisis dilakukan di beberapa shift atau operator berbeda (Thermo Fisher, 2021).

## H. Spektroskopi Lain yang Relevan

Selain teknik yang umum, terdapat juga spektroskopi lain yang mulai banyak digunakan, seperti spektrofлуorometri untuk analisis senyawa yang bersifat fluoresen, Raman spektroskopi untuk identifikasi cepat, dan NIR (Near Infrared) yang digunakan sebagai metode non-destruktif dalam kontrol kualitas cepat.

pektroskopi modern tidak hanya terbatas pada UV-Vis, IR, NMR, dan AAS, tetapi juga mencakup berbagai teknik turunan dan pelengkap yang menawarkan informasi spesifik tentang struktur, sifat fisik, atau interaksi molekul. Dalam konteks analisis bahan baku farmasi, pemahaman terhadap teknik seperti Raman, Fluoresensi, Circular Dichroism (CD), dan X-Ray Diffraction (XRD) menjadi penting untuk mendukung karakterisasi menyeluruh. Setiap teknik memiliki prinsip kerja yang unik, memberikan data yang saling melengkapi untuk memahami kemurnian, struktur, atau stabilitas bahan aktif. Integrasi teknik-teknik ini dalam pengawasan mutu farmasi semakin meningkat seiring dengan kemajuan teknologi analitik yang lebih cepat dan sensitif (Pavia *et al.*, 2015).

Spektroskopi Raman merupakan teknik berbasis hamburan inelastik cahaya, di mana foton yang mengenai molekul mengalami perubahan energi akibat interaksi dengan vibrasi molekul. Berbeda dengan IR yang mendeteksi perubahan momen dipol, Raman sensitif terhadap perubahan polarisabilitas molekul, sehingga keduanya sering digunakan secara komplementer. Raman banyak digunakan untuk identifikasi padatan, studi polimorfisme obat, dan pemantauan proses kristalisasi bahan aktif farmasi (API). Selain itu, teknologi **FT-Raman dan Raman mapping** memungkinkan analisis spasial



dan non-destruktif terhadap bahan baku maupun tablet tanpa preparasi yang rumit (Ferraro, Nakamoto and Brown, 2003).

Dalam bidang farmasi, spektroskopi Raman digunakan untuk mendeteksi kemurnian kristal, penentuan bentuk hidrat atau anhidrat, serta identifikasi bahan aktif pada produk akhir tanpa membuka kemasan. Misalnya, perbedaan spektrum Raman antara bentuk amorf dan kristalin suatu obat dapat digunakan untuk memantau kestabilan selama penyimpanan. Selain itu, teknik *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy* (SERS) memberikan peningkatan sensitivitas hingga tingkat jejak dengan memanfaatkan substrat logam nanostruktur. Aplikasi SERS sangat potensial dalam mendeteksi cemaran atau degradasi bahan aktif secara cepat (Qi *et al.*, 2024)

Spektroskopi fluoresensi didasarkan pada kemampuan molekul menyerap foton berenergi tinggi (biasanya UV) dan memancarkan foton berenergi lebih rendah (panjang gelombang lebih besar). Fenomena ini sangat berguna untuk mendeteksi senyawa dengan gugus aromatik atau kromofor konjugasi, termasuk banyak bahan aktif farmasi dan metabolitnya. Fluoresensi dikenal memiliki sensitivitas tinggi, seringkali mencapai tingkat nanomolar, dan digunakan dalam analisis kontaminan, pelacakan interaksi obat, serta studi degradasi fotokimia. Fluoresensi juga banyak diterapkan dalam sistem penandaan (labeling) untuk analisis biofarmasetika (Lakowicz, 2006)

Dalam analisis bahan baku farmasi, teknik fluoresensi sering digunakan untuk mendeteksi impuritas aromatik dan degradasi oksidatif. Beberapa senyawa seperti riboflavin, naftol, dan turunan benzenoid menunjukkan fluoresensi kuat yang dapat dimanfaatkan untuk pengujian stabilitas dan kualitas bahan aktif. Selain itu, metode fluoresensi terinduksi (*induced fluorescence*) memungkinkan deteksi senyawa non-fluoresen setelah derivatisasi kimia tertentu. Dengan sensitivitas tinggi dan waktu analisis yang cepat, fluoresensi menjadi alternatif ramah biaya bagi laboratorium pengawasan mutu yang tidak

memiliki instrumen spektrometri massa (Valeur and Santos, 2012)

Spektroskopi Circular Dichroism (CD) mengukur perbedaan penyerapan cahaya terpolarisasi sirkular kiri dan kanan oleh molekul kiral. Teknik ini banyak digunakan dalam studi konformasi protein, peptida, dan senyawa optik aktif. Dalam konteks bahan baku farmasi, CD dapat digunakan untuk memastikan konfigurasi stereokimia senyawa optis aktif serta menilai kestabilan struktur protein pada produk bioteknologi. CD juga berperan penting dalam studi folding dan denaturasi protein, yang relevan pada pengembangan obat berbasis protein (Corrêa and Ramos, 2009).

Teknik X-Ray Diffraction (XRD) digunakan untuk menentukan struktur kristal dan identitas fasa suatu bahan padat berdasarkan pola difraksi sinar-X yang dihasilkan dari kisi kristal. Dalam bidang farmasi, XRD sangat penting untuk mempelajari polimorfisme, tingkat kristalinitas, dan kemurnian bahan aktif. Polimorfisme sangat memengaruhi kelarutan, bioavailabilitas, dan stabilitas obat; oleh karena itu, XRD menjadi alat utama dalam tahap pengembangan formulasi dan kontrol kualitas bahan baku. Teknik ini juga digunakan untuk membedakan antara bentuk kristalin dan amorf dari suatu senyawa obat (Brittain, 2016).

Perkembangan teknologi spektroskopi terus berlanjut menuju teknik hibrid seperti **Raman-IR combined spectroscopy**, **NIR hyperspectral imaging**, dan **Terahertz spectroscopy**. Teknik-teknik ini memungkinkan karakterisasi material secara real-time, non-destruktif, dan kuantitatif, sangat relevan untuk konsep *Process Analytical Technology (PAT)* dalam industri farmasi. Integrasi metode spektroskopi dalam sistem pemantauan produksi memberikan peluang untuk peningkatan efisiensi dan kepastian mutu. Dengan pemahaman konsep dasar tiap teknik, mahasiswa S1 Farmasi dapat mengaitkan data spektroskopi dengan kontrol mutu bahan baku secara lebih komprehensif (Shomali *et al.*, 2015).

## I. Validasi Metode Spektroskopi

Setiap metode analisis harus divalidasi agar hasilnya dapat dipercaya. Parameter yang diuji meliputi akurasi, presisi, linearitas, selektivitas, serta LOD dan LOQ. Dalam farmasi, validasi mengacu pada pedoman ICH Q2(R1) dan farmakope resmi. Sebagai contoh, penetapan kadar parasetamol dengan UV-Vis perlu divalidasi untuk memastikan metode tersebut memenuhi kriteria standar.

Validasi metode analisis spektroskopi sangat penting agar hasil pengukuran dapat dipercaya, konsisten, dan sesuai dengan tujuannya—baik untuk identifikasi, kuantifikasi, maupun kontrol kualitas. Dalam regulasi farmasi, kerangka referensi utama untuk validasi metode adalah ICH Q2(R1) (Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology), yang menetapkan karakteristik yang harus dievaluasi seperti spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantifikasi, jangkauan, robusta dan sistem kecukupan (system suitability) (ICH, 2005). Untuk metode spektroskopi yang lebih kompleks—termasuk teknik berbasis multivariat seperti NIR, Raman atau NMR—versi revisinya yaitu ICH Q2(R2) dan ICH Q14 mulai berlaku, memberikan panduan untuk validasi metode modern (ISPE, 2025).

Saat memvalidasi metode spektroskopi, sejumlah parameter utama harus diuji untuk membuktikan bahwa metode “fit for purpose”. Parameter ini meliputi: **spesifisitas** (kemampuan metode mendeteksi zat yang diuji tanpa interferensi), **linearitas dan jangkauan** (hubungan antara respon dan konsentrasi dalam rentang yang diinginkan), **akurasi/recovery** (kemampuan metode memberikan nilai yang mendekati nilai sebenarnya), **presisi** (termasuk repeatabilitas dan intermediate precision), serta **LOD/LOQ** (limit deteksi dan kuantifikasi) (Choudhari *et al.*, 2012)(ICH, 2023). Untuk metode spektroskopi kuantitatif (misalnya penggunaan UV-Vis, NMR kuantitatif, MS kuantitatif) parameter tersebut harus dibuktikan secara eksperimen dengan data statistik yang memadai.

Metode spektroskopi yang digunakan untuk kuantifikasi dalam bahan baku farmasi (misalnya UV-Vis kuantitatif, FTIR kuantitatif, qNMR, atau MS kuantitatif) menghadapi tantangan tambahan seperti efek matriks, pemilihan panjang gelombang optimum, drift instrumen, dan kebutuhan akan model kalibrasi/chemometrics. Validasi harus mencakup pengujian “robustness” terhadap perubahan kecil kondisi analitik dan “system suitability” untuk memastikan instrumen dan metode dalam keadaan terkendali. Misalnya, studi validasi metode Raman spectroscopic untuk monitoring inline coating aktif menunjukkan bahwa persyaratan ICH Q2 dapat diterapkan untuk spektroskopi turunan dengan multivariat (Müller *et al.*, 2010). Untuk aplikasi dalam analisis bahan baku farmasi, protokol validasi harus disusun secara spesifik untuk teknik spektroskopi yang digunakan, mencakup matriks bahan baku dan kondisi nyata laboratorium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, L. (2025). Separation Techniques Fundamental Process and their Significance of Spectroscopy. *Journal of Chromatography & Separation Techniques*, 16(2), 1–8. <https://doi.org/10.35248/2157-7064.25.16.616>
- Agarwal, B. (2020). Application of FTIR Spectroscopy in Pharmaceutical Characterization. *J. Pharmaceutical Research International*, 32(5), 1–10.
- Ali, S. L. (1983). Atomic absorption spectrometry in pharmaceutical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1(4), 517–523. [https://doi.org/10.1016/0731-7085\(83\)80065-X](https://doi.org/10.1016/0731-7085(83)80065-X)
- Bairagi, P. A., Rayate, A. R., & Kokate, P. J. (2024). *Analytical Review on UV Spectroscopy*. 8(6).
- Brands, R., Fuchs, L., Seyffer, J. M., Bajcinca, N., Bartsch, J., Peuker, U. A., Schmidt, V., & Thommes, M. (2025). Penetration depth and effective sample size characterization of UV/Vis radiation into pharmaceutical tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2025.103889>
- Brittain, H. G. (2016). Polymorphism in Pharmaceutical Solids: Second edition. In *Science Direct* (pp. 167–186). ScienceDirect.
- Chen, Z., & Jaramillo, T. F. (2017). The Use of UV-visible Spectroscopy to Measure the Band Gap of a Semiconductor. *Department of Chemical Engineering. Stanford University*, 10, 1–18.
- Choudhari, V. P., Hable, A. A., Bolegaonkar, S. S., Suryawanshi, S. S., Gite, S. R., & Kuchekar, B. S. (2012). Spectrophotometric Simultaneous Determination of Dutasteride and Tamsulosin in Combined Tablet Dosage Form by Ratio Derivative and Dual wavelength Method and its Application to determine Uniformity of Contents. *Der Pharma Chemica*, 4(3), 989–995.

- Christian, G. (n.d.). *Principles of Spectroscopy Interaction of radiation and matter*. Analytical Chemistry 6th Ed. Retrieved October 19, 2025, from Spektroskopi adalah metode yang mempelajari interaksi antara radiasi elektromagnetik dan materi, dan prinsip ini menjadi dasar bagi semua teknik spektroskopi. Dalam interaksi ini, radiasi dapat diserap, dipantulkan, ditransmisikan, atau disebarkan oleh za
- Corrêa, D., & Ramos, C. (2009). The use of circular dichroism spectroscopy to study protein folding, form and function. *African J Biochem Res*, 3(5), 164-173. [http://www.academicjournals.org/AJBR/PDF/Pdf2009/May/Special Issue/Corrêa and Ramos.pdf](http://www.academicjournals.org/AJBR/PDF/Pdf2009/May/Special%20Issue/Corrêa%20and%20Ramos.pdf)
- Department of Chemistry MIT. (2012). Module 1: Fundamentals Of Spectroscopy. In *MIT OpenCourseWare*.[https://ocw.mit.edu/courses/5-35-introduction-to-experimental-chemistry-fall-2012/resources/mit5\\_35f12\\_mod1\\_background/](https://ocw.mit.edu/courses/5-35-introduction-to-experimental-chemistry-fall-2012/resources/mit5_35f12_mod1_background/)
- Ferraro, J. R., Nakamoto, K., & Brown, C. W. (2003). Introductory Raman Spectroscopy (Second edition) Elsevier,. In *Elsevier*. <https://doi.org/10.1515/9783110571622>
- Griffiths, P. R., & De Haseth, J. A. (2006). Fourier Transform Infrared Spectrometry: Second Edition. *Fourier Transform Infrared Spectrometry: Second Edition*, June 2006, 1-529. <https://doi.org/10.1002/047010631X>
- Holzgrabe, U., Wawer, I., & Dichl, B. W. K. (1999). NMR Spectroscopy in Drug Development and Analysis. In *Wiley-VCH*. <https://doi.org/10.1002/9783527613649>
- ICH. (2005). *Q2(R1): Validation of Analytical Procedures*.
- ICH. (2023). *ICH Q2 (R2) Guideline on validation of analytical procedures*. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline>

- ISPE. (2025). *Streamlining Analytical Procedure Development, Validation , and Change Management : ICH Introduces Q2 ( R2 ) and Q14 Guidelines*. Shape the Furure of Pharma. [https://ispe.org/pharmaceutical-engineering/ispeak/streamlining-analytical-procedure-development-validation-and?utm\\_source=chatgpt.com](https://ispe.org/pharmaceutical-engineering/ispeak/streamlining-analytical-procedure-development-validation-and?utm_source=chatgpt.com)
- Kiteto, M. S., & Mecha, C. . (2024). Insight into the Bouguer-Beer-Lambert Law: A review. *Sustainable Chemical Engineering*, 5(2), 567–587. <https://doi.org/10.37256/sce.5220245325>
- Lagalante, A. F. (1999). Atomic absorption spectroscopy: A tutorial review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 34(3), 173–189. <https://doi.org/10.1081/asr-100100844>
- Lakowicz, J. R. (2006). Principles of fluorescence spectroscopy. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, January 2006, 1–954. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>
- Lim, C. (2022). UV Visible Spectroscopy and Drug Stability of Pharmaceutical Analysis. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 13(6), 1–1. <https://doi.org/10.35248/2153-2435.22.13.680>
- McMaster University. (2020). *Principles of Mass Spectrometry (Lecture PDF, 2020)*. Chemical & Engineering News Archive. <https://doi.org/10.1021/cen-v081n039.p040>
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2018). Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry (7th ed.). In *Pearson*. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39746-6>
- MIT, C. D. (2012). Module 1: FUNDAMENTALS OF SPECTROSCOPY. In *Fundamental of Spectroscopy*. [https://ocw.mit.edu/courses/5-35-introduction-to-experimental-chemistry-fall-2012/resources/mit5\\_35f12\\_mod1\\_background/](https://ocw.mit.edu/courses/5-35-introduction-to-experimental-chemistry-fall-2012/resources/mit5_35f12_mod1_background/)
- MSU\_Chemistry. (2017). *Basic Practical NMR Concepts: A Guide for the Modern Laboratory*. [http://www2.chemistry.msu.edu/facilities/nmr/handouts/DH NMR Basics.pdf](http://www2.chemistry.msu.edu/facilities/nmr/handouts/DH%20NMR%20Basics.pdf)

- Naik, B. K., Ramesh Parkar, S., & Bharmu Nangunurkar, S. (2024). "A Review on Raw Material Analysis." 9(1), 665–673. [www.ijnrd.org](http://www.ijnrd.org)
- NIH. (2021). *LC-MS and GC-MS Techniques in Pharmaceutical Analysis*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560947/>
- NIST. (2019). *Mass Spectrometry Basics and Instrumentation*. <https://www.nist.gov/system/files/documents/mml/analytical/MSBasics.pdf>
- OpenCourseware, M. (1997). *A Hands-On Introduction To Nuclear Magnetic Resonance*. [https://ocw.mit.edu/courses/22-920-a-hands-on-introduction-to-nuclear-magnetic-resonance-january-iap-1997/pages/lecture-notes/?utm\\_source=chatgpt.com](https://ocw.mit.edu/courses/22-920-a-hands-on-introduction-to-nuclear-magnetic-resonance-january-iap-1997/pages/lecture-notes/?utm_source=chatgpt.com)
- OpenCourseware, M. (2003). *A Hands on Introduction to NMR*.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2015). *Introduction to Spectroscopy (5th ed.)* Cengage Learning.
- Pedrotti, L. (2008). Basics of Spectroscopy. In *CUiversity of Central Florida*. [http://www.mssl.ucl.ac.uk/~gbr/workshop3/papers/Paerels\\_school\\_Mar17.pdf](http://www.mssl.ucl.ac.uk/~gbr/workshop3/papers/Paerels_school_Mar17.pdf)
- Qi, Y., Chen, E. X., Hu, D., Yang, Y., Wu, Z., Zheng, M., Sadi, M. A., Jiang, Y., Zhang, K., Chen, Z., & Chen, Y. P. (2024). Applications of Raman spectroscopy in clinical medicine. *Food Frontiers*, 5(2), 392–419. <https://doi.org/10.1002/fft2.335>
- SciSpec.co.th. (2017). *AA ICP ICPMS which technique should I use ?* <https://www.scispec.co.th/learning/images/Event/Event2017/presentation/NU/TEA.pdf>
- Shomali, M., Tanriverdi, S., Freitag, A. J., Engert, J., Winter, G., Siedler, M., Kaymakalan, Z., Carpenter, J. F., & Randolph, T. W. (2015). Dose Levels in Particulate-Containing Formulations Impact Anti-drug Antibody Responses to Murine Monoclonal Antibody in Mice - Shomali - 2015 -



- Journal of Pharmaceutical Sciences - Wiley Online Librar.pdf.  
*Pharmaceutical Science*, 104(5).
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.).
- Sparkman, O. D., & Watson, J. T. (2007). Introduction to Mass Spectrometry. In *John Wiley & Sons Ltd*. John Wiley & sons Ltd.  
<https://doi.org/10.1201/b13910-3>
- Thermo Fisher. (2021). Sample preparation techniques for AAS , ICP-OES and ICP-MS for regulated testing laboratories Introduction. In *Thermo Fisher Scientific*.
- Tyler, G., & Yvon, J. (2003). ICP-OES , ICP-MS and AAS techniques compared. In *ICP OPTICAL EMISSION SPECTROSCOPY*.
- USP, U. S. P. (2024). Chapter <197> – *Infrared Spectroscopy*. United States Pharmacopeial Convention.  
<https://www.uspnf.com/es>
- uwindsor.ca. (n.d.). *A Primer on 1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (1H NMR) This*. A Primer on 1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (1H NMR) This
- Valeur, B., & Santos, M. N. B. (2012). Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Second Edition. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Second Edition*, 1–569.  
<https://doi.org/10.1002/9783527650002>
- Workman, J. (2024). A Review of the Latest Spectroscopic Research in Pharmaceutical and Biopharmaceutical Applications. *Spectroscopy (Santa Monica)*, 39(6), 25–29.  
<https://doi.org/10.56530/spectroscopy.at8171q5>

# BAB

# 9

# UJI STABILITAS

**apt. Rufaidah Azzahrah, S.Farm., M.Farm.**

## **A. Pendahuluan**

Istilah stabilitas merujuk pada rentang waktu suatu bahan atau produk farmasi mampu mempertahankan kualitasnya, tidak mengalami degradasi, serta tetap memenuhi spesifikasi mutu yang ditetapkan. Selain itu, stabilitas mencakup serangkaian proses kompleks yang membutuhkan waktu, biaya, pemanfaatan sumber daya, serta keahlian ilmiah untuk memastikan efektivitas, mutu, dan keamanannya (Rahman et al., 2025; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020). Rahman et al (2025) menegaskan bahwa pemantauan stabilitas perlu dilakukan sejak pemilihan dan penyimpanan bahan baku, hingga produk farmasi selesai diformulasi dan siap didistribusikan. Oleh karena itu, penyusunan bab ini diharapkan dapat memberikan gambaran komprehensif dan edukatif mengenai berbagai aspek yang terkait dengan uji stabilitas.

## **B. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Stabilitas**

Stabilitas dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya faktor internal dan eksternal. Faktor internal dapat berupa pH, pelarut, kekuatan ionik, dan ukuran partikel. Sedangkan faktor eksternal, yaitu suhu, kelembaban, cahaya, dan kontaminasi (Akbar et al., 2025).

## **1. Faktor Internal**

### **a. pH**

pH merupakan salah satu faktor internal yang berpengaruh signifikan terhadap stabilitas obat, khususnya pada sediaan yang rentan mengalami reaksi hidrolisis. Pernyataan ini dibenarkan oleh Akbar et al. (2025) yang menyatakan bahwa pH termasuk dalam faktor internal utama yang menentukan kestabilan suatu bahan aktif, bahan tambahan, hingga produk jadi farmasi. Kondisi ini dapat diakibatkan oleh terjadinya perubahan pH yang berdampak pada mutu serta kualitas karena dapat memicu terjadinya degradasi kimia (Akbar et al., 2025).

Beberapa artikel menegaskan bahwa laju degradasi pada obat-obat yang mengalami hidrolisis sangat dipengaruhi oleh kondisi pH. Yadav et al. (2023) mengemukakan bahwa laju kerusakan obat dalam larutan terhidrolisis dipengaruhi oleh pH, di mana kondisi pH tertentu dapat menurunkan potensi bahan aktif, terutama pada produk yang menggunakan sistem penyangga (*buffer*). Penurunan potensi tersebut terjadi ketika formulasi tidak berada pada rentang pH optimum yang mendukung kestabilannya. Zothanpuui et al. (2020) mendukung pernyataan sebelumnya, yaitu laju degradasi obat dalam sediaan terhidrolisis sangat bergantung pada nilai pH. Kondisi pH yang tidak sesuai dapat menurunkan efektivitas obat, bahkan pada produk yang diformulasikan menggunakan *buffer* dengan tujuan mempertahankan pH pada titik kestabilan optimum (Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

### **b. Bahan tambahan**

Selain pH, stabilitas suatu sediaan farmasi juga dipengaruhi oleh karakteristik bahan tambahan atau eksipien yang digunakan dalam formulasi. Eksipien tidak hanya berfungsi sebagai bahan pelengkap, tetapi berpotensi berinteraksi dengan zat aktif maupun dengan

komponen lain dalam sediaan sehingga dapat mempengaruhi stabilitas produk. Zothanpuui et al. (2020) menunjukkan bahwa kelembaban yang berasal dari eksipien atau lingkungan dapat memicu perubahan fisik dan kimia, terutama pada sediaan padat yang bersifat mudah larut dalam air. Ketika sediaan tersebut menyerap uap air atau bersentuhan dengan permukaan lembap, terjadi perubahan karakteristik seperti penggumpalan, penurunan kekerasan tablet, atau percepatan reaksi degradasi kimia yang akhirnya mengakibatkan hilangnya sifat-sifat aslinya. Selanjutnya, Yadav et al. (2023) menegaskan bahwa beberapa eksipien memiliki kandungan air intrinsik lebih tinggi dibandingkan komponen formulasi lainnya, misalnya pati (*starch*) dan *povidone*. Tingginya kandungan air ini dapat mempercepat reaksi hidrolisis atau memicu ketidakstabilan zat aktif dalam sediaan. Selain itu, interaksi kimia antara eksipien tertentu dengan bahan obat juga dapat memperpendek umur simpan produk, memengaruhi potensi, atau bahkan dapat menghasilkan produk yang terdegradasi. Dengan demikian, pemilihan eksipien harus didasarkan pada pertimbangan stabilitas dan kompatibilitasnya dengan zat aktif maupun kondisi penyimpanan produk (Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

## **2. Faktor Eksternal**

### **a. Suhu**

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang paling berpengaruh terhadap stabilitas suatu bahan aktif maupun produk farmasi. Perubahan suhu, terutama peningkatan suhu, dapat mempercepat berbagai reaksi kimia yang terjadi dalam obat, termasuk reaksi hidrolisis yang mengakibatkan degradasi komponen aktif (Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020). Dengan meningkatnya laju reaksi kimia pada suhu yang lebih tinggi, produk farmasi menjadi lebih rentan mengalami penurunan

potensi, perubahan struktur kimia, atau bahkan terjadi degradasi. Selain memengaruhi stabilitas kimia, suhu juga berperan penting terhadap stabilitas fisik sediaan farmasi selama penyimpanan.

Karlida & Musfiroh (2017) memaparkan bahwa penyimpanan pada suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menyebabkan kerusakan pada karakter fisik produk, seperti pemisahan fase pada emulsi, terjadinya sedimentasi bahan aktif pada sediaan suspensi, atau perubahan konsistensi pada sediaan semisolid. Produk emulsi dan larutan juga dapat menjadi tidak stabil secara fisik apabila disimpan pada suhu di bawah titik beku, sehingga struktur sistem dan homogenitasnya terganggu. Berdasarkan hal tersebut, penyimpanan dapat dibedakan menjadi beberapa kondisi, yaitu sebagai berikut (Karlida & Musfiroh, 2017):

- 1) *Freezer* : kondisi ini biasanya digunakan untuk semua vaksin yang mengandung *varicella*, yaitu disimpan pada beku berkisar -25 hingga -15°C. Penyimpanan ini dilakukan hingga vaksin akan digunakan
- 2) *Cold* : penyimpanan ini dilakukan pada refrigerator pada suhu dingin, yaitu tidak lebih dari 8°C.
- 3) *Cool* : kondisi penyimpanan ini mengharuskan bahan atau produk disimpan pada ruangan dengan suhu sejuk, yaitu berkisar 8-15°C.
- 4) *Room temperature* : penyimpanan pada suhu ruang perlu disesuaikan dengan kondisi geografis suatu negara. Terkhusus untuk Indonesia, suhu ruang tidak boleh lebih dari 30°C.
- 5) *Controlled room temperature* : kondisi ruang penyimpanan dengan suhu terkontrol dapat berkisar pada suhu 20-25°C. Suhu tersebut diperbolehkan menyimpang dalam rentang suhu tertentu, yaitu 15-30°C.

Berdasarkan berbagai pembagian kondisi penyimpanan yang telah dipaparkan diatas, pengendalian suhu menjadi sangat krusial karena bahan baku yang diterima dari pemasok tidak langsung digunakan dalam proses produksi, dan produk obat yang telah diproduksi juga tidak langsung dipasarkan. Seluruh tahapan tersebut membutuhkan proses penyimpanan yang cukup panjang, sehingga fluktuasi suhu selama penyimpanan dapat memberikan dampak kumulatif terhadap mutu bahan dan produk. Ketidakstabilan akibat kondisi suhu yang tidak sesuai dapat menyebabkan berbagai konsekuensi negatif, termasuk menurunnya efektivitas obat, perubahan bioavailabilitas, potensi toksisitas akibat terbentuknya produk degradasi, hilangnya keseragaman kandungan obat, penurunan kualitas kemasan dan label, serta berkurangnya penerimaan produk oleh pasien (Karlida & Musfiroh, 2017; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

#### **b. Kelembaban**

Kelembaban merupakan salah satu faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap stabilitas obat, terutama pada sediaan padat yang bersifat mudah menyerap air (*higroskopis*). Selain itu, pada sediaan padat yang larut air, penyerapan uap air dari lingkungan dapat memicu berbagai perubahan fisik dan kimia. Ketika molekul obat menyerap kelembaban dari permukaan atau lingkungan sekitar, sifat fisik sediaan dapat berubah, seperti penggumpalan, pelunakan tablet, perubahan bentuk, atau ketidakstabilan granulasi. Selain itu, proses absorpsi air dapat memicu reaksi kimia seperti hidrolisis, yang pada akhirnya menyebabkan penurunan kualitas dan efektivitas obat (Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020). Perubahan ini dapat berdampak pada sifat pelepasan obat, bioavailabilitas, hingga keamanan produk.

Karlida & Musfiroh (2017) juga menegaskan, bahwa tingginya kadar kelembaban yang disertai suhu yang tinggi, dapat mempercepat proses degradasi baik secara kimia maupun fisika terhadap bahan atau produk farmasi. Selain itu, kelembaban juga erat kaitannya dengan kualitas penyimpanan. Selama penyimpanan bahan baku maupun produk jadi, perlu dipastikan terlindung dari paparan kelembaban berlebih, cahaya matahari langsung, sinar UV, serta kontaminasi lainnya yang dapat mempercepat proses degradasi. Kondisi ini dapat dikontrol dengan penggunaan desikator, bahan penyerap kelembaban, dan lain-lain (Karlida & Musfiroh, 2017; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

### c. Cahaya

Cahaya merupakan salah satu faktor lingkungan atau eksternal yang dapat memengaruhi kualitas serta stabilitas bahan baku maupun produk farmasi selama proses penyimpanan (Akbar et al., 2025). Karlida dan Musfiroh (2017) menegaskan bahwa paparan cahaya termasuk variabel penting yang harus dikendalikan, karena dapat memicu perubahan fisik maupun kimia pada sediaan, terutama pada bahan yang bersifat fotosensitif. Paparan cahaya, khususnya cahaya dengan energi tinggi seperti sinar ultraviolet, dapat mempercepat laju degradasi obat. Pernyataan ini dibenarkan oleh Zothanpuui et al. (2020), yang menyatakan bahwa laju penguraian suatu obat meningkat ketika terpapar cahaya. Beberapa obat memiliki karakteristik fotosensitif sehingga perubahan stabilitasnya dapat diamati melalui perbandingan antara kondisi penyimpanan dalam gelap dan kondisi terkena cahaya.

Bahan yang sensitif terhadap cahaya berpotensi mengalami perubahan struktur kimia yang menyebabkan penurunan potensi maupun efektivitas terapetikanya. Penjelasan serupa juga disampaikan oleh Yadav et al. (2023), yang melaporkan bahwa paparan cahaya dapat

mempercepat proses degradasi suatu bahan. Mengingat adanya obat-obatan yang tidak stabil ketika terkena cahaya, diperlukan strategi khusus dalam pengemasan dan penyimpanan. Salah satu pendekatan yang direkomendasikan adalah penggunaan wadah kaca berwarna amber yang mampu menyaring cahaya serta penyimpanan di tempat gelap untuk meminimalkan risiko fotodegradasi.

#### d. Oksigen

Oksigen merupakan salah satu faktor eksternal yang berpengaruh signifikan terhadap stabilitas kimia bahan baku maupun produk farmasi. Adanya oksigen di lokasi penyimpanan dapat memicu atau mempercepat reaksi oksidasi pada zat aktif maupun eksipien tertentu. Reaksi oksidasi ini sering menjadi salah satu jalur degradasi utama yang menyebabkan penurunan potensi, perubahan warna, pembentukan bau tidak sedap, hingga munculnya produk degradasi yang dapat memengaruhi keamanan dan efektivitas obat. Zothanpuui et al. (2020) menjelaskan bahwa sejumlah produk memiliki kecenderungan tinggi untuk mengalami dekomposisi apabila terpapar oksigen. Paparan ini mempercepat proses oksidasi sehingga mempersingkat umur simpan produk. Yadav et al. (2023) menguatkan temuan tersebut dengan menyatakan bahwa keberadaan oksigen dalam wadah penyimpanan dapat meningkatkan laju degradasi obat yang sensitif terhadap oksidasi.

Oksidasi dapat diminimalkan melalui beberapa strategi pengendalian oksigen, yaitu salah satunya menggantikan oksigen dalam wadah penyimpanan dengan gas *inert* seperti nitrogen atau karbon dioksida. Metode ini dikenal sebagai *inert gas flushing* atau *oxygen displacement*, yang bertujuan menciptakan lingkungan penyimpanan yang lebih stabil sehingga reaksi oksidasi dapat diminimalkan. Penggunaan gas *inert* terbukti efektif dalam menurunkan aktivitas oksidatif dan memberikan



perlindungan tambahan bagi produk yang rentan mengalami degradasi oksidatif (Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

### **C. Jenis-Jenis Stabilitas dalam Sediaan Farmasi**

Pemahaman terhadap berbagai faktor internal dan eksternal yang memengaruhi stabilitas merupakan landasan penting dalam menjamin mutu produk farmasi sepanjang masa simpannya. Untuk memastikan bahwa produk tetap memenuhi persyaratan keamanan, efektivitas, dan mutu hingga akhir periode penyimpanan, diperlukan rangkaian pengujian stabilitas yang komprehensif. Adapun jenis-jenis pengujian tersebut mencakup beberapa kategori, yaitu uji stabilitas fisik, kimia, mikrobiologi, fotostabilitas, terapeutik, dan toksisitas (Akbar et al., 2025; Narayan & Manupriya, 2017; Rahman et al., 2025; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

#### **1. Stabilitas Fisik**

Stabilitas fisik merupakan komponen penting dalam penilaian mutu sediaan farmasi karena berpengaruh langsung terhadap keamanan, efektivitas, serta konsistensi produk selama masa simpan. Stabilitas ini merujuk pada kemampuan sediaan untuk mempertahankan sifat-sifat fisiknya, seperti penampilan, warna, bentuk, tekstur, homogenitas, viskositas, rasa, bau, kemampuan melarut, disolusi, serta kemampuan untuk terdispersi (Narayan & Manupriya, 2017; Rahman et al., 2025; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020). Karakteristik tersebut perlu dipertahankan karena perubahan fisik termasuk presipitasi, pemisahan fase, perubahan ukuran partikel, maupun transisi polimorfik dapat mempengaruhi keseragaman dosis serta laju pelepasan obat, sehingga berdampak pada profil terapeutik dan keamanan produk (Akbar et al., 2025). Dengan demikian, pengujian stabilitas fisik menjadi langkah yang penting untuk memastikan bahwa produk tetap berada dalam kondisi optimal dan dapat memberikan efek yang konsisten hingga akhir masa simpannya.

## **2. Stabilitas Kimia**

Stabilitas kimia merujuk pada kemampuan suatu produk farmasi untuk mempertahankan kandungan kimia dan potensi zat aktifnya agar tetap berada dalam batas spesifikasi yang ditetapkan selama masa simpan (Narayan & Manupriya, 2017; Rahman et al., 2025; Zothanpuui et al., 2020). Stabilitas ini mencerminkan kecenderungan suatu sediaan untuk memantau perubahan atau degradasi akibat berbagai reaksi kimia yang dipicu oleh paparan udara, lingkungan, suhu, maupun kondisi penyimpanan lainnya (Yadav et al., 2023). Degradasi kimia dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, termasuk hidrolisis, oksidasi, isomerisasi, epimerisasi, maupun dehidrasi, yang berpotensi menurunkan kadar zat aktif sehingga mengurangi efektivitas terapeutik produk (Rahman et al., 2025; Akbar et al., 2025). Selain menurunkan potensi, proses degradasi juga dapat menghasilkan efek toksik sehingga dapat membahayakan pasien (Narayan & Manupriya, 2017).

## **3. Stabilitas Mikrobiologi**

Stabilitas mikrobiologi merupakan aspek krusial dalam menjaga keamanan produk farmasi karena berkaitan langsung dengan kemampuannya menahan kontaminasi dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme selama penyimpanan, baik itu sebelum maupun setelah digunakan. Rahman et al. (2025) menjelaskan bahwa jenis uji stabilitas ini memastikan produk tetap steril atau berada dalam batas cemaran mikroba yang diizinkan. Pada sediaan yang mengandung komponen antimikroba, efektivitas bahan tersebut harus tetap terjaga dalam rentang yang dipersyaratkan (Narayan & Manupriya, 2017; Zothanpuui et al., 2020). Produk steril sangat rentan mengalami ketidakstabilan mikrobiologis yang dapat membahayakan pasien, dan Yadav et al. (2023) menegaskan bahwa hilangnya kemampuan resistensi terhadap pertumbuhan mikroba dapat menjadi ancaman serius terhadap keamanan produk. Selain itu, Akbar et al. (2025) memaparkan bahwa

penggunaan bahan pengawet berperan penting dalam mencegah pertumbuhan mikroorganisme, terutama pada sediaan non-steril. Dengan demikian, pengujian stabilitas mikrobiologi menjadi komponen penting dalam menjamin kualitas serta keselamatan penggunaan produk farmasi.

#### **4. Fotostabilitas**

Fotostabilitas merupakan kemampuan suatu sediaan farmasi untuk mempertahankan stabilitas fisik dan kimianya ketika terpapar cahaya. Menurut Akbar et al. (2025), sejumlah senyawa obat memiliki sensitivitas tinggi terhadap cahaya, sehingga paparan sinar ultraviolet maupun cahaya tampak dapat memicu proses degradasi. Bentuk degradasi tersebut umumnya ditandai oleh perubahan warna, peningkatan kekeruhan, hingga terbentuknya endapan yang berpotensi menurunkan mutu produk. Kondisi ini tidak hanya memengaruhi penampilan sediaan, tetapi juga dapat menurunkan stabilitas kimia dan potensi terapeutiknya. Oleh sebab itu, upaya perlindungan terhadap cahaya, misalnya melalui penggunaan kemasan buram, botol kaca berwarna, atau penyimpanan pada ruang yang terlindung cahaya, menjadi langkah penting untuk memastikan kualitas produk tetap terjaga selama proses penyimpanan dan distribusi (Akbar et al., 2025).

#### **5. Stabilitas Terapeutik**

Stabilitas terapeutik mengacu pada kemampuan suatu produk farmasi untuk mempertahankan efek dan aktivitas farmakologisnya selama masa penyimpanan maupun penggunaan. Konsep ini menekankan bahwa obat harus tetap memberikan respons terapeutik yang sama seperti saat pertama kali diformulasikan. Zothanpuui et al. (2020) menyatakan bahwa stabilitas terapeutik tercapai ketika efek terapi yang dihasilkan tidak mengalami perubahan. Pernyataan serupa dikemukakan oleh Yadav et al. (2023), yang menegaskan bahwa aksi obat atau efek farmakologisnya tidak boleh terpengaruh akibat penyimpanan. Sejalan dengan itu, Narayan dan Manupriya

(2017) menambahkan bahwa stabilitas terapeutik memastikan efek terapi tetap konsisten sepanjang masa simpan. Pemenuhan aspek stabilitas ini sangat penting, karena setiap perubahan dalam potensi atau respons obat dapat berdampak langsung pada keberhasilan terapi dan keselamatan pasien (Narayan & Manupriya, 2017; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

## **6. Stabilitas Toksikologis**

Stabilitas toksikologi merujuk pada kemampuan suatu produk farmasi untuk mempertahankan profil keamanannya tanpa menimbulkan peningkatan toksisitas selama masa penyimpanan. Stabilitas ini memastikan bahwa tidak terjadi degradasi atau perubahan komponen yang dapat meningkatkan potensi toksik dari obat. Zothanpuui et al. (2020) menegaskan bahwa stabilitas toksikologi tercapai ketika tidak terjadi peningkatan toksisitas secara signifikan pada produk selama penyimpanan. Yadav et al. (2023) juga menyatakan bahwa suatu obat dikatakan stabil secara toksikologi apabila tidak menunjukkan peningkatan sifat toksik. Sejalan dengan itu, Narayan dan Manupriya (2017) menambahkan bahwa tidak adanya peningkatan toksisitas merupakan indikator utama stabilitas toksikologi. Dengan demikian, pemenuhan stabilitas toksikologi menjadi kunci untuk menjamin keamanan penggunaan obat selama penyimpanan (Narayan & Manupriya, 2017; Yadav et al., 2023; Zothanpuui et al., 2020).

## **D. Metode Uji Stabilitas**

Uji stabilitas merupakan tahap penting untuk memastikan bahwa produk farmasi tetap aman, efektif, dan bermutu selama masa simpannya. Beragam metode pengujian digunakan untuk menilai potensi degradasi produk di bawah kondisi penyimpanan yang berbeda, baik yang merepresentasikan keadaan aktual maupun kondisi stres yang dipercepat. Pendekatan ini memungkinkan produsen memprediksi masa simpan, memantau konsistensi mutu, serta mengidentifikasi

potensi masalah selama distribusi. Secara umum, ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk pengujian stabilitas, yaitu diantaranya uji *real time*, *accelerated*, *retained sample*, dan *cyclic temperature stress*.

**1. Real Time**

Uji stabilitas *real-time* merupakan metode pengujian yang dilakukan dengan menyimpan produk pada kondisi penyimpanan yang direkomendasikan selama periode yang sama dengan masa simpan yang diharapkan. Tujuannya adalah untuk memperoleh gambaran stabilitas yang terjadi selama penyimpanan dan distribusi. Pengujian ini berlangsung dalam jangka waktu panjang sehingga perubahan atau degradasi produk dapat teridentifikasi secara jelas serta dibedakan berdasarkan beberapa variasi waktu (Narayan & Manupriya, 2017; Zothanpuui et al., 2020). Selama proses ini, data dikumpulkan secara berkala sehingga hasil analisa dapat digunakan untuk memantau ketidakstabilan (Bhuyian et al., 2015). Menurut Sahu (2025) pengujian ini umumnya dilaksanakan pada suhu 25±2°C / 60±5% RH (zona II) atau 30±2°C / 75±5% RH (zona IVB terutama untuk produk yang dipasarkan di wilayah tropis), selama 12 hingga 24 bulan.

**Tabel 9.1** Zona Stabilitas ICH dan Kondisi Uji *Real Time*

Zona	Kondisi Iklim	Suhu (°C)	Kelembaban (%rH)	Durasi Minimal
I	Sejuk	21±2	45±5	12 bulan
II	Subtropis/ hangat	25±2	60±5	12 bulan
III	Panas kering	30±2	35±5	12 bulan
IV	Panas lembab	30±2	65±5	12 bulan
IVb	Sangat panas dan lembab	30±2	75±5	12 bulan

(Bhuyian et al., 2015)

## 2. *Accelerated*

Uji stabilitas *accelerated* dilakukan dengan memberikan suhu ekstrim dan kelembaban tinggi untuk mempercepat terjadinya degradasi produk (Bhuyian et al., 2015; Narayan & Manupriya, 2017). Metode ini membantu memprediksi masa simpan, membandingkan stabilitas formulasi, serta mengidentifikasi terjadinya degradasi dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan uji *real time*. Zothanpuui et al. (2020) dan Yadav et al. (2023) menekankan bahwa stres tambahan seperti cahaya, pH, gravitasi, atau agitasi dapat digunakan pada metode ini. Biasanya digunakan suhu  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  /  $75\pm 5\%$  RH selama 6 bulan (setara dengan metode *real time* selama 2 tahun).

## 3. *Retained Sample*

Uji stabilitas *retained sample* merupakan prosedur rutin yang dilakukan untuk memastikan bahwa setiap produk yang telah beredar tetap memenuhi persyaratan mutu selama masa simpannya. Menurut Zothanpuui et al (2020), pengujian ini umumnya dilakukan dengan menyimpan sampel minimal satu batch setiap tahun, dan dapat diperluas menjadi dua batch apabila jumlah produksi tahunan sangat besar. Pada tahap awal pemasaran, seluruh batch bahkan dapat diikutsertakan, tetapi proporsinya biasanya diturunkan menjadi sekitar 2-5% setelah produk dinyatakan tetap stabil selama masa distribusi (Narayan & Manupriya, 2017). Sampel kemudian diuji pada interval waktu yang telah ditetapkan, yaitu 3, 6, 9, 12, 18, hingga 60 bulan (khusus untuk produk dengan masa simpan lima tahun) (Bhuyian et al., 2015). Metode ini juga biasa disebut dengan *constant interval method*. Yadav et al (2023) menambahkan bahwa pendekatan ini bertujuan memperoleh gambaran terkait potensi terjadinya degradasi selama penyimpanan.

## 4. *Cyclic Temperature Stress*

Uji stabilitas *cyclic stress testing* merupakan metode khusus yang digunakan untuk menggambarkan fluktuasi suhu yang mungkin dialami produk farmasi selama masa

distribusi dan penyimpanan. Metode ini tidak ditujukan untuk pengujian rutin, tetapi lebih untuk keperluan pengembangan atau *troubleshooting* formulasi (Zothanpuui et al., 2020). Pengujian ini dirancang mengikuti siklus suhu harian selama 24 jam, karena produk yang beredar umumnya mengalami perubahan suhu yang serupa dengan ritme harian tersebut. Narayan dan Manupriya (2017) juga memaparkan bahwa rancangan siklus harus mencerminkan kondisi penyimpanan realistik di pasar. Dalam praktiknya, batas suhu minimum dan maksimum ditentukan secara spesifik berdasarkan karakteristik produk, termasuk rekomendasi suhu penyimpanan serta potensi degradasi kimia maupun fisik yang mungkin terjadi. Yadav et al. (2023) menyebut bahwa pemilihan rentang suhu ini sangat penting untuk memastikan pola degradasi yang muncul akan relevan dengan kondisi lapangan. Umumnya, pengujian dilakukan sebanyak 20 siklus, sehingga data yang dihasilkan cukup representatif untuk menilai respons produk terhadap perubahan suhu yang berulang.

## **E. Kesimpulan**

Secara keseluruhan, uji stabilitas merupakan komponen krusial dalam pengembangan dan pengawasan mutu bahan baku dan produk farmasi. Beragam metode pengujian, yaitu mulai dari *real-time*, *accelerated*, *retained sample*, hingga *cyclic temperature stress*, memberikan gambaran komprehensif mengenai gambaran produk merespons berbagai kondisi penyimpanan hingga distribusi. Melalui pendekatan ini, produsen dapat memastikan bahwa mutu, keamanan, dan efektivitas produk tetap terjaga sepanjang masa simpannya. Dengan demikian, penerapan uji stabilitas yang tepat, sistematis, dan sesuai pedoman menjadi langkah nyata untuk menjamin kualitas produk farmasi sebelum dan selama beredar di pasaran.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. R., Rizky, M., & Latifah, N. (2025). Literature Review: Evaluasi Stabilitas dan Inkompabilitas Sediaan Oral Liquid. *JCI Jurnal Cakrawala Ilmiah*, 4(10), 1501–1510. <http://bajangjournal.com/index.php/JCI>
- Bhuyian, H. U., Rashid, H. A., Mohsin, & Tahera, K. T. (2015). An Overview: Stability Study of Pharmaceutical Products and Shelf Life Prediction. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(6), 30. [www.ejbps.com](http://www.ejbps.com)
- Karlida, I., & Musfiroh, I. (2017). Review: Suhu Penyimpanan Bahan Baku dan Produk Farmasi di Gudang Industri Farmasi. *Farmaka*, 58–67.
- Narayan, S., & Manupriya, C. (2017). A Review on Stability Studies of Pharmaceutical Products. *International Journal of Applied Pharmaceutical and Biological Research*, 2(3), 67–75. <http://www.ijapbr.com/>
- Rahman, A. F., Putri, A. A., & Latifah, N. (2025). Review : Pengembangan Uji Stabilitas Berdasarkan Mutu Fisik Terhadap Sediaan Semi Solid dan Oral Liquid. *Pharmacy Genius*, 04(02), 49–60.
- Yadav, A. K., Yadav, A., Yadav, M., Akhlak, M., Mishra, S., & Rai, J. K. (2023). A Review on Drug Stability. *International Journal of Science and Research Archive*, 9(1), 474–485. <https://doi.org/10.30574/ijsra.2023.9.1.0424>
- Zothanpuui, Rajesh, & Selvakumar. (2020). A Review On Stability Testing Guidelines of Pharmaceutical Products. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13, 3–9. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2020.v13i10.38848>



# BAB 10 | PENENTUAN TITIK LEBUR

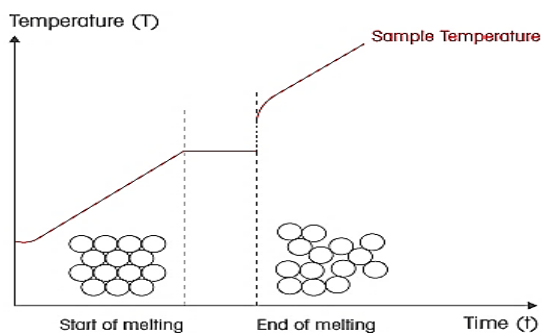
apt. Andi Dian Astriani, S.Farm., M.Si.

## A. Pendahuluan

Suhu dimana suatu zat berubah dari padat menjadi cair pada tekanan atmosfer standar dikenal sebagai titik lebur (*melting point*). Titik lebur berfungsi sebagai indikator kemurnian dan parameter identifikasi senyawa serta sumber data dasar untuk industry farmasi, material, dan kimia.

Proses peleburan Sebagian besar zat kristal murni terjadi pada suhu yang sangat spesifik, yang dikenal sebagai rentang lebur. Rentang ini diukur dari suhu sejak tetesan pertama kali muncul dari kristal hingga seluruh massa padatan menjadi cair. "Semakin sempit rentang titik lebur maka semakin murni zat tersebut (Mettler Toledo 2023).

Salah satu tahapan analisis dalam kimia analitik adalah menentukan titik lebur. Hal ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan memverifikasi hasil sintesis senyawa padat, terutama senyawa organik.



## B. Dasar Teori

### 1. Pengertian dan Prinsip

Pada suhu titik lebur, energi kinetik partikel cukup besar untuk mengatasi gaya tarik antarmolekul dalam struktur kristal padatan. Dalam kondisi kesetimbangan, fase padat dan cair dapat eksis bersamaan.

Persamaan dasar hubungan antara suhu dan tekanan untuk titik lebur dapat dijelaskan melalui *Clapeyron equation* :

$$\frac{dP}{dT} = \frac{\Delta H_{fus}}{T\Delta V_{fus}}$$

Dimana:

$\Delta H_{fus}$  : entalpi peleburan

$T\Delta V_{fus}$  : perubahan volume saat peleburan

T : suhu mutlak

Material kristal terdiri dari partikel-partikel halus yang membentuk susunan teratur tiga dimensi – sebuah kisi kristal. Ketika material kristal padat, dipanaskan, partikel-partikel tersebut menjadi lebih energik dan mulai bergerak lebih kuat, hingga akhirnya gaya tarik-menarik di antara mereka tidak lagi cukup kuat untuk mengikat mereka. Nilai titik lebur akan meningkat seiring dengan kuatnya gaya antar molekul seperti ikatan hydrogen, gaya dipol dan gaya van der Waals. Semakin banyak energi yang dibutuhkan, semakin tinggi titik lelehnya. Demikian, suhu leleh suatu padatan kristal merupakan indikator stabilitas kisinya (Mettler Toledo 2023).

### 2. Pengaruh Kemurnian dan Campuran

Titik lebur dipengaruhi oleh kemurnian suatu zat. Penurunan titik lebur (*melting point depression*) dan pelebaran rentang lebur disebabkan karena adanya pengotor atau campuran senyawa.

$$\Delta T_f = K_f \cdot m$$

Dimana  $\Delta T_f$  adalah penurunan titik lebur,  $K_f$  konstanta penurunan titik beku / lebur, dan  $m$  molalitas zat terlarut.

Contoh : titik lebur asam benzoate  $122,4^{\circ}\text{C}$ , bila ditambahkan dengan 5% asam salisilat, titik leburnya turun menjadi sekitar  $117^{\circ}\text{C}$ .

### 3. Aplikasi Titik Lebur

Salah satu metode penting dalam karakterisasi senyawa kimia, utamanya dalam kimia organik yaitu penentuan titik lebur (*melting point*). Titik lebur menunjukkan

#### a. Identifikasi Senyawa

Setiap senyawa kristal murni memiliki titik lebur tertentu. Seorang peneliti memperoleh indikasi kuat tentang identitas suatu zat dengan membandingkan titik lebur sampel yang diamati dengan nilai yang tercantum dalam literatur, misalnya CRC Handbook of Chemistry and Physics) (Haynes 2014).

Uji titik lebur campuran dapat digunakan untuk mencampur sampel yang diduga. Mengandung senyawa X dengan senyawa murni yang diketahui. Identitas campuran sangat mungkin terjadi jika melebur pada rentang yang sama dengan senyawa murni.

#### b. Penentuan Kemurnian

Titik lebur sangat sensitif terhadap keberadaan pengotor, atau dikenal sebagai impurities. Pengotor dalam jumlah yang kecil akan memberikan efek yaitu :

- 1) Penurunan titik lebur : karena Pengotor mengganggu mengganggu kisi kristal murni, energi yang dibutuhkan untuk memecahnya (melebur) berkurang.
- 2) Pelebaran rentang lebur : peleburan terjadi secara bertahap pada suhu yang lebih tinggi (lebih dari  $2^{\circ}\text{C}$ ) dan tidak lagi tajam sebagai akibat dari pengotor.

Secara umum senyawa murni memiliki rentang lebur yang sempit, pada suhu tertentu. Sebaliknya senyawa yang tidak murni akan melebur pada suhu yang lebih tinggi daripada nilai literturnya (Pavia, 2011).

### C. Metode Penentuan Titik Lebur

Metode yang paling umum digunakan di laboratorium untuk penentuan titik lebur adalah metode pipa kapiler.

#### 1. Metode Pipa Kapiler

Metode ini menggunakan sampel kecil yang dipanaskan sebelum dimasukkan ke dalam tabung kapiler kaca yang tipis dan tertutup di salah satu ujungnya.

Tahapannya

##### a. Penyiapan sampel

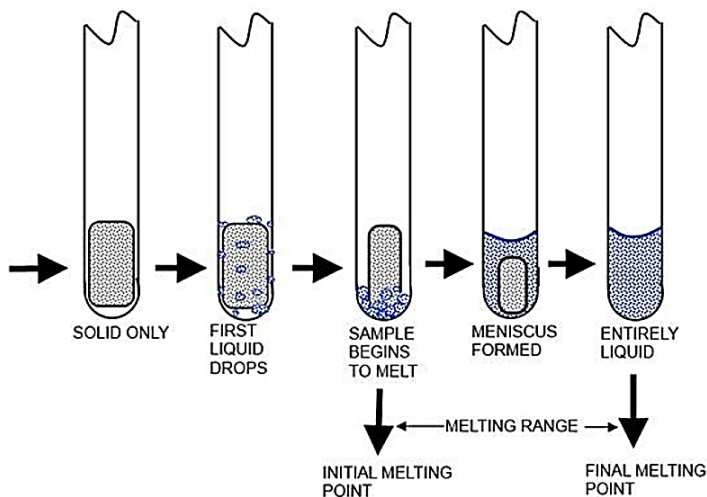
Sampel padat kering dan telah digerus halus diketuk-ketukkan ke ujung tertutup tabung pipa kapiler hingga memadat 2-3 mm.

##### b. Pemanasan

Alat pemanas memiliki tabung kapiler yang telah dikalibrasi. Alat pemanas yang paling umum digunakan yaitu: penangas minyak, tabung thiele, dan blok pemanas logam.

##### c. Pengamatan

Saat tetesan cairan pertama muncul, yang merupakan batas bawah rentang, hingga semua padatan menjadi cair, merupakan rentang lebur.



**Gambar 10.1** Prinsip Kerja *Melting Point*

## **2. Metode Digital/Otomatis**

Proses ini dilakukan oleh instrument titik lebur kontemporer. Meskipun sampel masih berada dalam pipa kapiler, alat ini menggunakan pemanas yang dikontrol secara digital dan deteksi optic untuk mengukur rentang lebur secara objektif. Ini seringkali digunakan dengan menggunakan sensor cahaya atau kamera video. Dengan presisi yang tinggi, objektivitas dan laju kontrol pemanasan yang akurat adalah keuntungan utamanya (Skoog et al, 2017).

## **D. Faktor Kritis dalam Pengukuran**

Akurasi data titik lebur sangat bergantung pada Teknik yang tepat. Kesalahan umum dapat timbul dari factor-faktor berikut:

### **1. Laju Pemanasan**

Faktor yang paling penting adalah pemanasan. Termometer tidak akan mencapai kesetimbangan termal dengan sampel jika pemanasan terlalu cepat. Hal ini akan menyebabkan pengamatan rentang lebur yang lebih lebar dan lebih tinggi daripada yang seharusnya. Laju pemanasan ideal di sekitar titik lebur adalah 1-2°C per (Pavia et al, 2011).

### **2. Jumlah Sampel**

Jumlah sampel mempengaruhi rentang lebur. Jika jumlah sampel terlalu banyak dalam pipa kapiler, panas akan mengalir ke seluruh massa sampel yang menghasilkan rentang lebur yang lebar.

### **3. Pemadatan Sampel**

Agar transfer panas tidak terjadi, sampel harus dipadatkan dengan baik di dasar pipa kapiler.

### **4. Kalibrasi Termometer**

Untuk memastikan suhu yang dibaca tepat, termometer yang digunakan harus dikalibrasi terhadap standar yang diketahui.

### E. Aplikasi

1. Industri Farmasi : kontrol kualitas bahan obat
2. Industri Pangan : karakterisasi lemak dan minyak
3. Penelitian Material : studi termodinamika

### F. Ringkasan

1. Titik lebur (*melting point*) menunjukkan perubahan fase padat menjadi cair.
2. Zat murni memiliki titik lebur tajam, zat pengotor atau campuran menurunkan dan memperlebar rentang lebur.
3. Penentuan titik lebur penting identifikasi, kontrol kualitas, dan analisis kemurnian.
4. Factor penting : kemurnian sampel, laju pemanasan, dan kalibrasi alat.

### G. Soal

1. Apa definisi termodinamika yang paling tepat untuk titik lebur ?
  - A. Suhu di mana zat padat berubah menjadi gas
  - B. Suhu di mana tekanan uap zat padat sama dengan tekanan atmosfer
  - C. Suhu dimana fase padat dan fase cair suatu zat berada dalam kesetimbangan
  - D. Suhu minimum yang diperlukan agar zat dapat terbakar
2. Seorang analis sedang menguji sampel senyawa X murni. Bagaimana karakteristik titik lebur yang seharusnya ia amati?
  - A. Rentang lebur yang lebar misalnya 120-128°C
  - B. Rentang lebur yang sempit dan tajam, misalnya 124-124,5°C
  - C. Titik lebur yang fluktuatif dan tidak konsisten
  - D. Titik lebur yang jauh lebih tinggi dari nilai literatur
3. Apa efek utama dari adanya pengotor (impurities) pada sampel zat murni selama penentuan titik lebur ?
  - A. Menaikkan titik lebur dan mempersempit rentang lebur
  - B. Menaikkan titik lebur dan memperlebar rentang lebur

- C. Menurunkan titik lebur dan mempersempit rentang lebur  
D. Menurunkan titik lebur dan memperlebar rentang lebur.
4. Seorang peneliti mensintesis senyawa A dan menduga itu adalah asam benzoate (titik lebur literatur  $122^{\circ}\text{C}$ ). untuk mengkonfirmasi, ia mencampurkan sampelnya dengan asam benzoate murni dan menguji titik lebur campuran tersebut. Teknik ini disebut ..
- A. Uji titik lebur campuran  
B. Uji depresi titik beku  
C. Kalibrasi thermometer  
D. Uji eutektik
5. Jika pada soal no. 4, campuran tersebut melebur tajam pada  $122^{\circ}\text{C}$ , apa kesimpulannya ?
- A. Sampel tersebut bukan asam benzoate  
B. Sampel tersebut adalah asam benzoate murni  
C. Sampel tersebut adalah pengor dari asam benzoate  
D. Sampel tersebut adalah polimorf dari asam benzoate
6. Fenomena dimana suatu senyawa padat dapat mengkristal dalam lebih dari satu bentuk struktur kisi, dimana setiap bentuk memiliki titik lebur yang berbeda, dikenal sebagai ...
- A. Polimorfisme  
B. Isomerisme  
C. Alotropi  
D. Eutektik
7. Dalam diagram fase biner, titik dimana campuran dua komponen melebur pada suhu terendah yang tajam (seperti padatan murni) disebut ...
- A. Titik tripel  
B. Titik kritis  
C. Titik eutektik  
D. Titik didih
8. Kesalahan paling umum yang menyebabkan titik lebur teramati lebih tinggi dan lebih lebar dari seharusnya adalah ...

- A. Pemanasan sampel yang terlalu cepat di dekat titik leburnya
  - B. Jumlah sampel yang terlalu sedikit dalam pipa kapiler
  - C. Penggunaan penangas minyak
  - D. Thermometer yang tidak terkalibrasi
9. Fungsi utama penentuan titik lebur dalam identifikasi senyawa adalah ...
- A. Menentukan berat molekul zat
  - B. Mengidentifikasi dan menilai kemurnian zat
  - C. Mengukur kelarutan zat dalam pelarut
  - D. Menentukan kecepatan reaksi kimia
10. Istilah “rentang lebur” menunjukkan ...
- A. Titik tertinggi yang dapat dicapai saat pemanasan
  - B. Perbedaan antara titik lebur zat murni dan campuran
  - C. Selisih antara suhu cair dan suhu beku
  - D. Selisih antara suhu mulai mencair dan suhu zat seluruhnya mencair



## DAFTAR PUSTAKA

- Haynes, W. M. (Ed.). 2014. "CRC Handbook of Chemistry and Physics." *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. doi:10.1201/B17118.
- Mettler Toledo. 2023. "Mettler Toledo 2023 Melting Point - Search." [https://www.mt.com/us/en/home/applications/Application\\_Browse\\_Laboratory\\_Analytics/Thermal\\_Values/melting-point-determination.html](https://www.mt.com/us/en/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/Thermal_Values/melting-point-determination.html).
- Pavia, D. L. Lampman, G. M. Kriz, G. S., & Vyvyan, J.R. (2011). *A Microscale Approach to Organic Laboratory Techniques* (5<sup>th</sup> ed.). Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Skoog, D.A., F.J. Holler, and S.R. Crouch. 2017. "Skoog, D.A., Holler, F.J. and Crouch, S.R. (2017) *Principles of Instrumental Analysis*. 7th Edition, Sunderland College Publisher, New York. - References - Scientific Research Publishing." <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2678907> (November 7, 2025).

# BAB 11 | Uji Kadar Air

Nunik Gustini, M.Si.

## A. Pendahuluan

Air merupakan komponen penting dalam bahan baku farmasi, baik sebagai bagian alami maupun sebagai kontaminan yang masuk selama proses produksi atau penyimpanan. Kandungan air memiliki pengaruh besar terhadap stabilitas kimia, sifat fisik, dan keamanan produk akhir. Kadar air yang berlebihan dapat menyebabkan degradasi senyawa, perubahan karakteristik fisik, serta memicu pertumbuhan mikroba pada bahan aktif maupun eksipien. Oleh karena itu, parameter ini menjadi salah satu aspek utama dalam pengendalian mutu, dan hampir semua farmakope internasional menetapkan batas kadar air tertentu untuk menjamin kualitas bahan farmasi (Marjanović-Balaban *et al.*, 2013; Chaves *et al.*, 2022).

Kadar air menggambarkan jumlah air yang terkandung di dalam suatu bahan. Besarnya kadar air diketahui dengan mengukur penurunan massa bahan setelah dilakukan pemanasan pada suhu tertentu selama proses pengujian (Winarno, 2002). Pengujian kadar air tidak hanya bertujuan untuk mencegah bahan menjadi lembab, menggumpal, atau rusak, tetapi juga berfungsi sebagai metode penting untuk menilai mutu bahan baku, memastikan stabilitas formulasi, serta mendukung ketahanan dan umur simpan produk farmasi.

## **B. Jenis-Jenis Air**

Air dalam bahan padat dapat diklasifikasikan menjadi empat bentuk utama, yaitu:

### **1. Air Bebas**

Air bebas merupakan air yang tidak terikat pada molekul padatan, melainkan berada di dalam sitoplasma, ruang antarsel, atau bagian jaringan yang berperan dalam proses sirkulasi bahan. Jenis air ini berkontribusi terhadap kerusakan bahan, terutama melalui reaksi enzimatik, aktivitas mikroba, dan proses biokimia lainnya. Air bebas membeku pada suhu 0°C dan menguap pada suhu 71°C sehingga mudah hilang selama proses pengeringan. Kandungan air bebas yang tinggi dapat menurunkan mutu bahan melalui pertumbuhan mikroorganisme, reaksi kimia, atau aktivitas serangga perusak (Basuki *et al.*, 2020).

### **2. Air Terikat**

Air terikat adalah air yang mengelilingi molekul zat terlarut maupun komponen padatan non-cair, dengan tingkat mobilitas molekul yang jauh lebih rendah dibandingkan bentuk air lainnya dalam sistem yang sama. Air terikat diklasifikasikan menjadi dua tipe, yaitu air terikat kuat dan air terikat lemah. Air terikat kuat merupakan air yang berinteraksi sangat erat dengan bahan hingga membentuk struktur hidrat yang stabil, sulit diuapkan, dan tidak membeku pada suhu 0°C. Sebaliknya, air terikat lemah adalah air yang menempel pada permukaan makromolekul melalui proses adsorpsi atau berada di antara molekul besar sebagai pelarut internal di dalam jaringan sel (Basuki *et al.*, 2020).

### **3. Air Imbibisi**

Air imbibisi merupakan air yang diserap oleh bahan padat atau semi padat melalui pori-pori permukaannya, kemudian masuk ke dalam matriks internal bahan sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan volume atau pembengkakan. Air ini bukan bagian dari komponen asli penyusun bahan, melainkan berasal dari lingkungan luar dan

berinteraksi dengan molekul penyusunnya melalui pembentukan ikatan hidrogen. Fenomena imbibisi dapat diamati misalnya ketika butir beras menyerap air dan mengembang menjadi nasi saat dipanaskan, atau ketika partikel pati bereaksi dengan air membentuk gel (Basuki *et al.*, 2020).

#### **4. Air Kristal**

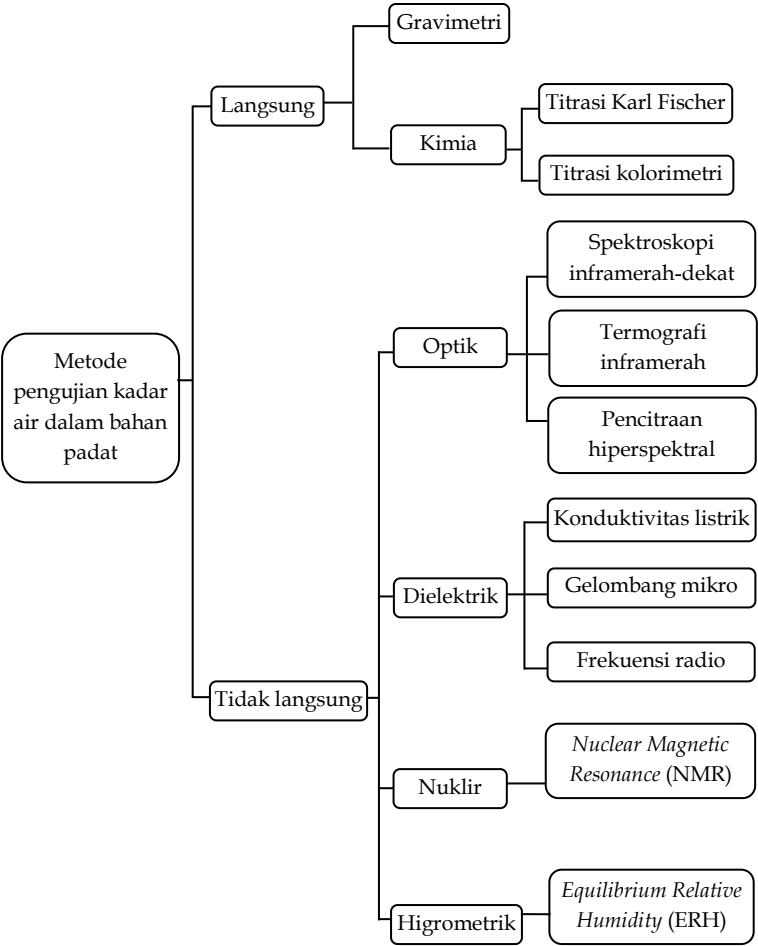
Air kristal adalah molekul air yang terperangkap di dalam struktur kristal suatu bahan. Air ini menjadi bagian dari kisi kristal dan berperan dalam menjaga kestabilan bentuk padatan tersebut. Contoh bahan yang mengandung air kristal antara lain gula, garam, dan  $\text{CuSO}_4$  (Winarno, 2002).

### **C. Metode Pengukuran Kadar Air**

Metode pengujian kadar air secara umum diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu metode langsung dan metode tidak langsung. Pengujian kadar air secara langsung dilakukan dengan memisahkan air dari bahan uji melalui proses penguapan atau reaksi kimia tertentu (Martines-López, Cárdenas-García and Cywiak-Córdova, 2024). Metode langsung umumnya dilakukan di laboratorium karena memerlukan kondisi lingkungan yang terkontrol serta peralatan analisis yang spesifik. Keunggulan utama metode ini terletak pada tingkat akurasi dan keterangannya yang tinggi, sehingga sering dijadikan acuan dalam kalibrasi maupun validasi metode tidak langsung. Contoh metode langsung antara lain metode gravimetri dan titrasi Karl Fischer, yang keduanya termasuk dalam metode kuantitatif.

Sebaliknya, metode tidak langsung digunakan untuk memperkirakan kadar air melalui pengukuran sifat fisik maupun kimia bahan, seperti daya serap, konduktivitas, atau interaksi elektromagnetik. Meskipun metode ini lebih cepat dan non-destruktif, hasil pengukurannya sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (misalnya suhu dan kelembapan) serta sifat material (seperti densitas dan komposisi). Oleh karena itu, metode tidak langsung perlu dikalibrasi terlebih dahulu

menggunakan metode langsung agar hasil pengukurannya akurat. Beberapa pendekatan tidak langsung yang umum digunakan meliputi metode optik, dielektrik, nuklir, dan higrometrik, yang juga dapat dikategorikan sebagai metode kuantitatif (Zambrano *et al.*, 2019). Berbagai pendekatan baik langsung maupun tidak langsung dalam pengukuran kadar air disajikan secara skematis pada **Gambar 11.1**.



**Gambar 11.1** Klasifikasi Metode Pengukuran Kadar Air pada Bahan Padat

## 1. Metode Langsung

### a. Metode gravimetri

Metode gravimetri sering juga disebut sebagai *loss on drying*, merupakan salah satu teknik paling sederhana dan umum digunakan untuk menentukan kadar air. Prinsip dasar metode ini adalah melakukan pengeringan sampel pada suhu yang telah ditentukan hingga tidak terjadi perubahan massa lebih lanjut, kemudian penurunan massa diasumsikan sebagai air yang hilang dari sampel. Dalam metode ini, sampel terlebih dahulu ditimbang (berat awal), kemudian sampel dipanaskan dalam oven pada suhu tertentu (105–110 °C) selama 3 jam atau hingga tercapai berat konstan (Daud, Suriati and Nuzulyanti, 2019). Kadar air bahan kemudian dihitung sebagai persentase penurunan berat dari berat awal:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100\%$$

$w_1$  = berat sampel awal

$w_2$  = berat sampel setelah pengeringan

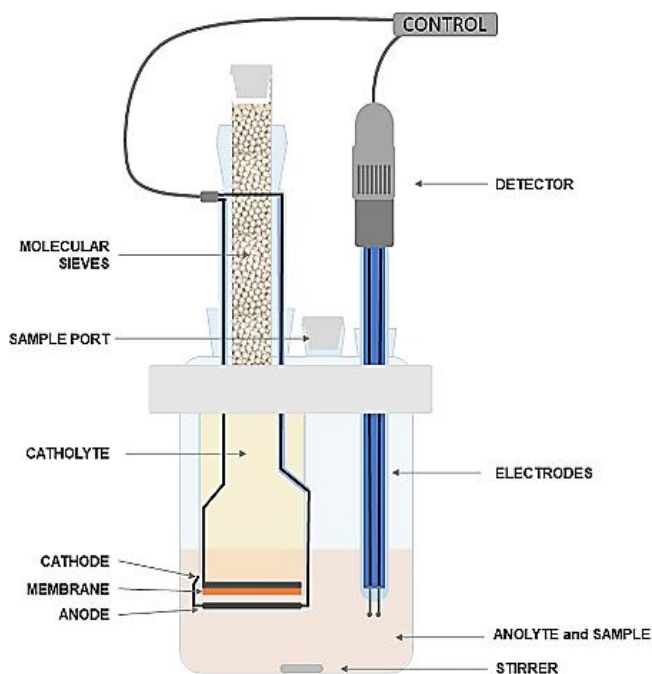
Keunggulan metode ini terletak pada prosedurnya yang sederhana dan penggunaan peralatan yang relatif mudah diperoleh serta berbiaya rendah, seperti oven pengering dan timbangan analitik. Namun, metode ini memiliki keterbatasan, yakni tidak bersifat spesifik terhadap air. Pengujian *loss on drying (LOD)* tidak hanya mengukur air yang menguap, tetapi juga seluruh komponen volatil lain, termasuk sisa pelarut organik atau zat yang mudah terurai selama pemanasan (Ahn *et al.*, 2014). Selain itu, metode ini juga memiliki kelemahan dari segi efisiensi waktu, karena proses pengeringan membutuhkan waktu yang cukup panjang hingga berat konstan tercapai pada sampel.

## **b. Metode kimia**

### **1) Titrasi Karl Fischer**

Metode titrasi Karl Fischer merupakan salah satu teknik analisis standar di laboratorium yang digunakan untuk menentukan kadar air pada berbagai jenis sampel baik cair maupun padat. Titrasi Karl Fischer dapat dilakukan menggunakan titrasi volumetrik maupun titrasi coulometrik. Metode Karl Fischer (KF) bekerja berdasarkan reaksi kimia antara air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) dengan iodin ( $\text{I}_2$ ) dan sulfur dioksida ( $\text{SO}_2$ ) dalam medium pelarut alkohol dengan keberadaan basa organik (misalnya piridina atau imidazol) (Zambrano *et al.*, 2019).

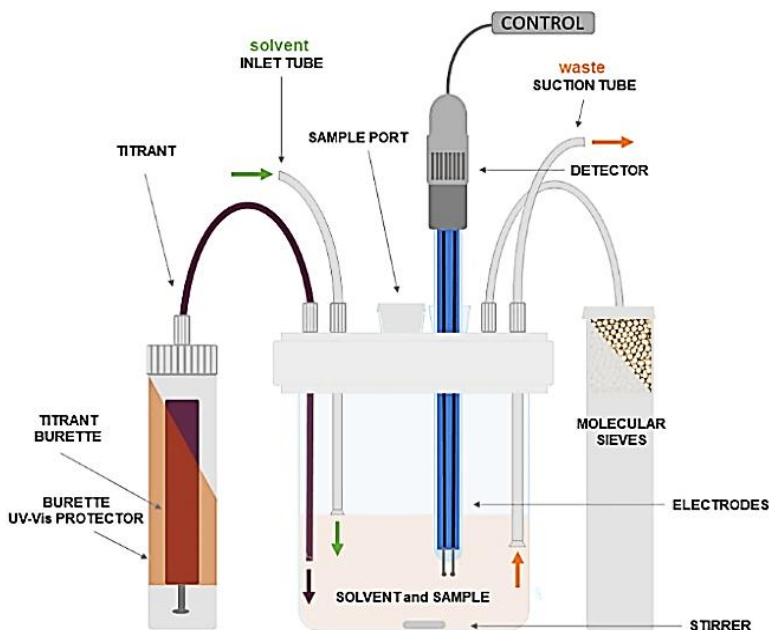
Secara prinsip, metode ini didasarkan pada titrasi iodometri yang melibatkan reaksi redoks antara iodin dan sulfur dioksida. Dalam reaksi tersebut, iodin berperan sebagai oksidator yang mengalami reduksi menjadi ion iodida, sedangkan sulfur dioksida bertindak sebagai reduktor yang teroksidasi membentuk ion sulfat. Untuk mencegah pembentukan asam berlebih, reaksi dilakukan dalam medium basa, umumnya menggunakan piridina, imidazol, atau basa organik lain yang dilarutkan dalam etanol.



**Gambar 11.2** Sel Titrasi pada Titrator Karl Fischer Otomatis Tipe Koulometrik Standar (Rivera-Quintero *et al.*, 2024)

Metode Karl Fischer terdiri atas dua pendekatan utama, yaitu titrasi koulometrik dan titrasi volumetrik. Perbedaan mendasarnya terletak pada mekanisme pembentukan atau pemasukan titran ke dalam sistem reaksi. Pada metode koulometrik, titran dihasilkan secara *in situ* melalui proses elektrolisis langsung di dalam sel titrasi seperti pada **Gambar 11.2**. Sedangkan pada metode volumetrik, larutan titran disuntikkan ke dalam sel menggunakan buret otomatis (**Gambar 11.3**). Secara umum, titrasi koulometrik memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dan digunakan untuk menentukan kadar air dalam jumlah sangat kecil dibandingkan dengan metode volumetrik (Rivera-Quintero *et al.*, 2024).





**Gambar 11.3** Sel Titrasi pada Titrator Karl Fischer Otomatis Tipe Volumetrik Standar  
(Rivera-Quintero *et al.*, 2024)

Kelebihan dari penentuan kadar air menggunakan metode Karl Fischer adalah tingkat sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi terhadap molekul air bebas dalam sampel. Karakteristik ini membuat metode Karl Fischer dapat diterapkan secara luas pada berbagai jenis bahan, baik yang mengandung air dalam jumlah besar, seperti bahan baku farmasi, tepung, kecap, dan produk pangan lainnya, maupun bahan dengan kadar air sangat rendah, seperti minyak nabati, pelumas, bahan baku cat, produk petrokimia, hingga minyak mentah (*crude oil*).

## 2) Titrasi Kolorimetri

Metode titrasi kolorimetri biasanya digunakan untuk menentukan kadar air yang terkandung dalam pelarut organik (Zhou *et al.*, 2011). Secara umum,

metode ini memanfaatkan senyawa kompleks kobalt (II), contohnya  $\text{CoCl}_2$  atau  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ , sebagai indikator visual yang berfungsi untuk mengidentifikasi tingkat penyerapan air. Kobalt klorida menunjukkan perubahan warna yang khas tergantung pada tingkat hidrasi senyawanya. Dalam keadaan anhidrat,  $\text{CoCl}_2$  berwarna biru muda; ketika berubah menjadi dihidrat ( $\text{CoCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), warnanya menjadi ungu; dan pada tingkat hidrasi lebih lanjut membentuk heksahidrat ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), warna senyawa ini berubah menjadi merah muda. Perubahan warna tersebut menjadi dasar pengamatan visual terhadap keberadaan dan jumlah air yang terserap (Zambrano *et al.*, 2019). Setelah kurva kalibrasi dibuat, nilai absorbansi dari sampel yang belum diketahui kandungan airnya diukur, lalu kurva kalibrasi digunakan sebagai acuan untuk menghitung kadar air dalam sampel (Zhou *et al.*, 2011).

## **2. Metode Tidak Langsung**

### **a. Metode optik**

Metode pengukuran optik bekerja paling optimal pada sampel dengan permukaan yang halus dan seragam. Sebaliknya, keberadaan ketidakrataan permukaan atau variasi warna dapat mengganggu akurasi hasil pengukuran. Selain itu, keterbatasan utama dari pendekatan ini terletak pada kedalaman penetrasi radiasi elektromagnetik, yang sangat dipengaruhi oleh sifat reflektif dan absorptif material yang dianalisis. Jenis material dan kadar air di dalamnya turut menentukan panjang lintasan radiasi, sehingga proses kalibrasi harus disesuaikan secara khusus dengan karakteristik material untuk memperoleh hasil yang valid dan andal (Zambrano *et al.*, 2019). Beberapa metode yang termasuk dalam kategori metode optik antara lain:

### 1) Spektroskopi inframerah-dekat

Spektroskopi inframerah-dekat (*Near-Infrared Spectroscopy*, NIR) tergolong dalam kategori spektroskopi vibrasi yang banyak diterapkan dalam bidang farmasi dan analisis bahan. Keunggulan utama metode ini diantaranya minimnya tahapan preparasi serta tidak perlunya destruksi sampel sehingga dapat mempercepat proses analisis. Akuisisi data yang cepat menjadikan NIR sangat efisien untuk pengujian rutin. Selain itu, selama hasil validasi tetap konsisten dengan parameter pengendalian mutu (*quality control*), kurva kalibrasi yang telah dikembangkan tidak perlu direkonstruksi. Penggunaan serat optik dalam sistem NIR memungkinkan penerapan metode ini secara *at-line*, *on-line*, maupun *in-line*, sesuai kebutuhan proses produksi. Spektrum NIR mengandung informasi yang mencerminkan baik sifat kimia (seperti kadar air dan kandungan zat aktif farmasi) maupun karakteristik fisik (seperti ukuran partikel, bentuk morfologis, dan status polimorfisme kristal), sehingga menjadikannya teknik yang komprehensif dalam pemantauan kualitas bahan dan produk (Mantanus *et al.*, 2009).

### 2) Termografi inframerah

Termografi Inframerah (*infrared thermography*) merupakan teknik pencitraan suhu permukaan yang bersifat non-destruktif dan tidak memerlukan kontak langsung dengan objek, karena menggunakan kamera inframerah untuk mendeteksi radiasi termal. Termografi inframerah dapat dimanfaatkan dalam pemetaan distribusi kelembapan serta identifikasi area dengan kadar air yang tidak normal, karena perubahan kadar air berkaitan dengan perubahan suhu permukaan. Kepekaan termografi inframerah terhadap kelembapan didasarkan pada tiga prinsip fisika utama, yaitu efek pendinginan akibat evaporasi, penurunan hambatan termal, dan kapasitas panas

spesifik yang tinggi pada area basah. (Dafico *et al.*, 2022).

Efek pendinginan akibat evaporasi terjadi karena proses penguapan merupakan reaksi endotermik yang menyerap panas, sehingga menurunkan suhu permukaan. Bila kandungan air dalam suatu material lebih tinggi daripada kelembapan lingkungan sekitarnya, air dari dalam material akan menguap, mengakibatkan suhu permukaan menurun. Oleh karena itu, area dengan kadar air tinggi akan tampak lebih dingin pada citra termal dibandingkan area kering (Barreira and Almeida, 2019). Beberapa faktor yang memengaruhi laju evaporasi ini meliputi kelembapan relatif udara, temperatur lingkungan, kadar air dalam material, sifat fisikokimia material tersebut, dan kandungan garam yang larut di dalamnya. Termografi Inframerah mendeteksi radiasi panas yang dipancarkan oleh permukaan objek. Energi radiasi ini, yang terutama bergantung pada suhu permukaan, kemudian ditransformasikan oleh kamera inframerah menjadi citra visual yang merepresentasikan distribusi suhu (Schwarz *et al.*, 2018).

### **3) Pencitraan hiperspektral**

Teknik pencitraan hiperspektral (*Hyperspectral imaging*/HSI) merupakan pendekatan baru yang sedang berkembang dan bersifat non-destruktif, yang mengandalkan kombinasi antara teknologi spektrometri dan pencitraan (Zambrano *et al.*, 2019). Keunggulan pencitraan hiperspektral dibandingkan metode konvensional diantaranya yaitu minimnya kebutuhan preparasi sampel, sifatnya yang non-destruktif, waktu akuisisi yang cepat, serta kemampuannya untuk memvisualisasikan distribusi spasial dari berbagai komposisi kimia secara simultan (Taghinezhad, Szumny and Figiel, 2023).

Dalam beberapa tahun terakhir, teknik pencitraan hiperspektral telah dianggap sebagai alat analisis yang cerdas dan menjanjikan untuk keperluan penelitian, pengendalian mutu, dan aplikasi industri. Sistem HSI digunakan dalam berbagai bidang, seperti pertanian, mineralogi, pengawasan dan identifikasi target, astronomi, pencitraan kimia, studi lingkungan, serta bidang medis (Taghinezhad, Szumny and Figiel, 2023).

Data pada pencitraan hiperspektral disusun berdasarkan dimensi spasial, sehingga memungkinkan ekstraksi informasi dengan tingkat kehilangan yang sangat minimal. Mode yang paling umum digunakan dalam pencitraan hiperspektral adalah reflektansi, dan biasanya dilakukan pada rentang Vis-NIR (400–1000 nm) atau NIR (1000–1700 nm) (Zambrano *et al.*, 2019).

#### **b. Metode dielektrik**

Molekul air memiliki sifat dielektrik yang sangat tinggi karena strukturnya yang bersifat dipol permanen. Permittivitas relatif atau konstanta dielektrik ini menggambarkan kemampuan suatu bahan dalam menyimpan energi elektromagnetik. Ketika medan elektromagnetik dikenakan pada suatu sistem yang mengandung air, molekul-molekul air akan merespon dengan cara berotasi dan menyelaraskan momen dipol listriknya mengikuti arah medan tersebut. Reorientasi momen dipol listrik akibat medan elektromagnetik menghasilkan gangguan dalam bentuk polarisasi listrik. Fenomena ini dapat dimanfaatkan untuk mengukur karakteristik dielektrik suatu material. Oleh karena itu, respons dielektrik suatu bahan menjadi indikator penting dalam menentukan kadar air yang dikandungnya. Berikut ini beberapa metode yang termasuk ke dalam metode dielektrik:

### 1) Konduktivitas listrik

Pengukuran konduktansi arus searah merupakan prinsip dasar dari banyak metode penentuan kadar air. Metode kapasitansi dan resistansi banyak digunakan dalam aplikasi farmasi, analisis tanah, dan biji-bijian. Penentuan kadar air dilakukan dengan membandingkan perubahan sifat dielektrik material, khususnya nilai kapasitansi atau resistivitas, sebelum dan sesudah proses pengeringan. Alat ukur kadar air yang umum tersedia di pasaran biasanya bekerja dengan prinsip kapasitansi dan resistansi, di mana arus listrik kecil dialirkan melalui metode kontak langsung dengan sampel. Tingkat resistansi yang dihasilkan berkorelasi dengan jumlah kadar air dalam bahan (Zambrano *et al.*, 2019).

### 2) Metode gelombang mikro (*microwaves*)

Berbeda dengan sebagian besar metode lain yang digunakan untuk menentukan kadar air, metode gelombang mikro terbukti bersifat non-invasif, lebih cepat, dan sangat presisi (Austin *et al.*, 2013). Teknologi pengukuran kelembapan menggunakan gelombang mikro memanfaatkan perbedaan kontras antara sifat dielektrik air dan bahan padat yang kering. Prinsip kerjanya didasarkan pada tingkat pelemahan (atenuasi) sinyal gelombang mikro saat melintasi lapisan bahan uji, di mana semakin banyak kandungan air, semakin besar pelemahannya. Dalam sistem pengukuran ini, sampel ditempatkan di antara antenna pemancar yang terhubung ke generator gelombang mikro dan antenna penerima yang terhubung ke alat ukur. Tingkat kelembapan yang tinggi dalam bahan menghasilkan sinyal yang lebih lemah pada alat penerima. Sistem ini memungkinkan pengukuran kelembapan dalam cakupan yang sangat luas (0-100%) dengan presisi yang tinggi (Kalandarov *et al.*, 2021).

### 3) Metode frekuensi radio

Metode frekuensi radio (*radio frequency/ RF*) umumnya diterapkan untuk mengukur kadar air pada material yang memiliki komposisi seragam (Zambrano *et al.*, 2019). Spektroskopi frekuensi radio merupakan metode analisis yang unggul untuk karakterisasi cepat, karena gelombang radio mampu menembus sampel dengan ukuran besar secara lebih efektif dibandingkan sejumlah teknik lain, seperti spektroskopi inframerah-dekat (NIR) dan spektroskopi gelombang mikro (*microwaves*) yang beroperasi di atas rentang frekuensi radio. Keunggulan ini memungkinkan teknik frekuensi radio untuk memberikan hasil pengukuran yang merepresentasikan keseluruhan isi sampel, bukan sekadar lapisan permukaannya saja. Salah satu kelebihan metode ini terletak pada kemampuan gelombang radio untuk menembus sampel berukuran besar, sehingga memungkinkan estimasi kadar air rata-rata yang mencerminkan keseluruhan sampel secara representatif. Selain itu, proses pengukurannya berlangsung cepat dan diterapkan dalam skala kecil (Nystro" m *et al.*, 2005).

#### c. Metode nuklir

##### *Nuclear magnetic resonance (NMR)*

Spektrometer NMR dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi kandungan air dalam suatu material serta memetakan distribusinya secara akurat, cepat, dan tanpa merusak struktur sampel. Prinsip dasar pengukuran kadar air menggunakan metode ini bergantung pada interaksi antara radiasi elektromagnetik dan spin inti atom, terutama proton hidrogen yang memiliki jumlah proton dan neutron ganjil. Ketika air dalam sampel dikenai medan magnet eksternal, terbentuk momen dipol magnetik yang sejajar dengan arah spin, menghasilkan momen magnetik inti. Momen ini kemudian dipicu oleh medan gelombang radio

berfrekuensi rendah, menghasilkan pulsa resonansi berfrekuensi tinggi yang dapat dideteksi dalam kisaran MHz hingga GHz. Semakin tinggi kadar air dalam sampel, semakin kuat intensitas sinyal yang dihasilkan, karena intensitas ini berbanding lurus dengan jumlah air yang terkandung dalam material tersebut (Zambrano *et al.*, 2019; Zhaxi *et al.*, 2023).

#### **d. Metode higrometrik**

Kelembaban mengacu pada kandungan uap air yang terdapat di udara. Mengingat uap air merupakan komponen signifikan dari udara dan konsentrasinya dipengaruhi oleh lokasi, maka pengukuran yang akurat sangat diperlukan untuk berbagai aplikasi. Proses pengukuran kelembaban ini dikenal dengan istilah higrometri (Sajid *et al.*, 2022). Metode higrometrik bekerja berdasarkan prinsip kelembaban relatif kesetimbangan (*Equilibrium Relative Humidity*/ERH), bukan langsung pada pengukuran kadar air suatu bahan (Zambrano *et al.*, 2019).

##### ***Equilibrium relative humidity (ERH)***

Metode *Equilibrium Relative Humidity* (ERH) mengukur kadar air secara tidak langsung melalui aktivitas air, yaitu perbandingan tekanan uap air di atas permukaan sampel terhadap tekanan uap air murni pada suhu yang sama. Pada prinsipnya, bila suatu bahan ditempatkan dalam wadah tertutup, air yang terkandung dalam bahan akan menguap hingga mencapai kesetimbangan dengan udara sekitarnya. Kelembaban relatif udara pada kondisi setimbang inilah yang diukur sebagai parameter untuk menentukan kadar air bahan tersebut (FDA, 2014).

Tingkat kelembaban suatu produk dapat dinyatakan melalui kelembaban relatif kesetimbangan (ERH) dalam bentuk persentase, atau melalui aktivitas air yang dituliskan dalam bentuk angka desimal. Aktivitas air sebesar 0,70 menunjukkan bahwa tekanan uap yang



dihasilkan oleh air dalam bahan tersebut mencapai 70% dari tekanan uap air murni. Nilai aktivitas air ini akan meningkat seiring naiknya suhu. Aktivitas air memiliki peran krusial dalam menjamin stabilitas, keamanan, dan mutu berbagai produk, termasuk di antaranya bahan pangan dan sediaan farmasi (Infitek, 2024).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, J.Y. *et al.* (2014) 'Comparison of Oven-drying Methods for Determination of Moisture Content in Feed Ingredients.', *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(11), pp. 1615–1622. Available at: <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14305>.
- Austin, J. *et al.* (2013) 'Utilizing microwaves for the determination of moisture content independent of density', *Powder Technology*, 236, pp. 17–23. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.powtec.2012.06.039>.
- Barreira, E. and Almeida, R.M.S.F. (2019) *Infrared Thermography for Building Moisture Inspection*. Portugal: Springer. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-75386-7>.
- Basuki, E. *et al.* (2020) *Buku Ajar Kimia Pangan*. UPT. Mataram University Press.
- Chaves, M.K. *et al.* (2022) 'Data-driven approach to mitigate quality impact of hygroscopic pharmaceutical raw materials throughout the supply chain', *Pharmaceutical Development and Technology*, 27(5), pp. 511–524.
- Dafico, L.C.M. *et al.* (2022) 'Comparison of Infrared Thermography and Other Traditional Techniques to Assess Moisture Content of Wall Specimens', *Sensors*. Available at: <https://doi.org/10.3390/s22093182>.
- Daud, A., Suriati, S. and Nuzulyanti, N. (2019) 'Kajian penerapan faktor yang mempengaruhi akurasi penentuan kadar air metode thermogravimetri', *Lutjanus*, 24(2), pp. 11–16.
- FDA, U.S. (2014) *Water Activity (aw) in Foods*. Available at: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-technical-guides/water-activity-aw-foods#:~:text=The water activity,activity expressed as a decimal> (Accessed: 27 October 2025).

- Infitek (2024) *Understanding Water Activity: The Key to Product Quality*. Available at: [https://infitek.com/understanding-water-activity-the-key-to-product-quality/#:~:text=It's not the same as,%2C shelf life%2C and safety.&text=Water activity meters are indispensable,optimal product quality and efficiency](https://infitek.com/understanding-water-activity-the-key-to-product-quality/#:~:text=It's not the same as,%2C shelf life%2C and safety.&text=Water activity meters are indispensable,optimal product quality and efficiency.). (Accessed: 27 October 2025).
- Kalandarov, P.I. *et al.* (2021) 'Study on microwave moisture measurement of grain crops', in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, p. 12091.
- Mantanus, J. *et al.* (2009) 'Moisture content determination of pharmaceutical pellets by near infrared spectroscopy: method development and validation', *Analytica chimica acta*, 642(1-2), pp. 186-192.
- Marjanović-Balaban, Ž. *et al.* (2013) 'Determination of water content in pharmaceutical substances', *Journal of Hygienic Engineering and Design*, pp. 137-141.
- Martines-López, E., Cárdenas-García, D. and Cywiak-Córdova, D. (2024) 'Measuring Model for the Gravimetric Method by Drying in N-Stages Applied to Materials with High Moisture Content', *MAPAN*, 39(2), pp. 439-443. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12647-023-00709-y>.
- Nystrom, J. *et al.* (2005) 'Moisture content measurements on sawdust with radio frequency spectroscopy', in *ASME Power Conference*, pp. 697-702.
- Rivera-Quintero, P. *et al.* (2024) 'Experimental methods in chemical engineering: Karl Fischer titration', *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 102(9), pp. 2980-2997.
- Sajid, M. *et al.* (2022) 'Progress and future of relative humidity sensors: a review from materials perspective', *Bulletin of Materials Science*, 45(4), p. 238. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12034-022-02799-x>.

- Schwarz, K. *et al.* (2018) 'The potential of active and passive infrared thermography for identifying dynamics of soil moisture and microbial activity at high spatial and temporal resolution', *Geoderma*, 327, pp. 119–129.
- Taghinezhad, E., Szumny, A. and Figiel, A. (2023) 'The Application of Hyperspectral Imaging Technologies for the Prediction and Measurement of the Moisture Content of Various Agricultural Crops during the Drying Process', *Molecules*. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28072930>.
- Winarno, F.G. (2002) *Kimia Pangan dan gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. Available at: [https://books.google.co.id/books?id=\\_P4StAEACAAJ](https://books.google.co.id/books?id=_P4StAEACAAJ).
- Zambrano, M.V. *et al.* (2019) 'Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review', *Trends in Food Science & Technology*, 88, pp. 484–496.
- Zhaxi, Q. *et al.* (2023) 'Nondestructive Measurement of the Water Content in Building Materials by Single-Sided NMR-MOUSE', *Sustainability*. Available at: <https://doi.org/10.3390/su151411096>.
- Zhou, L. *et al.* (2011) 'A simple method for determining water content in organic solvents based on cobalt (II) complexes', *Chinese Chemical Letters*, 22(2), pp. 189–192.

## TENTANG PENULIS



### **apt. Rahmah Mustarin., S.Farm., M.PH.**

Lahir di Callaccu, pada 11 Maret 1987. Ia tercatat sebagai lulusan Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia (S1 Farmasi). Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia (Profesi Apoteker) & Fakultas Kedokteran Universitas Gadjra Mada (S2). **Rahmah Mustarin** seorang akademisi/dosen di Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar. Wanita yg kerap disapa Rahmah ini merupakan Pharmapreneur yaitu owner PT. Bintang Lima Medika Group yang bergerak dibidang distribusi alat kesehatan dan obat-obatan. Tergabung aktif di Gakeslab serta aktif di beberapa organisasi baik profesi maupun non profesi diantaranya PD IAI SULSEL, PC IAI Wajo, ATB PD IAI SULSEL, dan DPC IWAPI WAJO.



### **Dr. apt. Dwi Lestari, S.Farm., M.Si.**

Lahir di Sanga-Sanga, pada 27 Agustus 1982. Penulis telah menempuh Sarjana Farmasi dan Apoteker di Universitas Pancasila Jakarta lulus tahun 2006 dan Magister Kimia di Universitas Mulawarman Samarinda lulus tahun 2018. Doktoral Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang diselesaikan pada tahun 2024. Penulis sejak tahun 2019 sampai sekarang bekerja sebagai dosen di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur.  
Email: dl729@umkt.ac.id



**apt. Suhartini, S.Farm., M.Tr.Adm.Kes.**

Tercatat sebagai dosen di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Makassar. Memiliki berbagai pengalaman profesional di dunia kefarmasian. Selain mengajar, penulis memiliki pengalaman kerja di bidang produksi obat tradisional (UKOT), distribusi farmasi di Pedagang Besar Farmasi (PBF), serta di sarana pelayanan kefarmasian (apotek).

Sebagai bentuk dedikasi terhadap pengembangan profesi, penulis aktif dalam berbagai organisasi profesi, sebagai Pengurus Cabang Makassar Ikatan Apoteker Indonesia (IAI). Selain itu, penulis juga terlibat dalam Himpunan Seminar Farmasi Distribusi (HISFARDIS PD SULSEL) yang fokus pada pengembangan pengetahuan dan keterampilan di bidang distribusi obat. Juga aktif sebagai Pengurus Penyuluh TB dan Halal IAI SulSel.

Dengan latar belakang akademis, pengalaman praktis di berbagai sektor kefarmasian, serta kontribusi aktif dalam organisasi profesi, penulis berkomitmen untuk terus memajukan dunia farmasi, baik melalui pendidikan, penelitian, maupun pelayanan kefarmasian yang berkualitas.

Email :tansrisuhartini@gmail.com



**apt. Nur Ida, S.Si., M.Si.**

Lahir di Maros, pada 26 Desember 1978. Ia menempuh pendidikan farmasi sejak di bangku sekolah menengah atas pada Sekolah Menengah Farmasi Depkes Ujungpandang lulus tahun 1997, kemudian melanjutkan pendidikan S1 Farmasi dan apoteker di Universitas Hasanuddin lulus tahun 2002. Selanjutnya pendidikan S2 dibidang Farmasetika/ Teknologi farmasi Institut Teknologi Bandung diselesaikan pada tahun 2008. Ia menjadi dosen Farmasi bidang farmasetika/ Teknologi Farmasi pada Universitas Islam Makassar sejak tahun 2004 hingga sekarang. Email :nurida.dpk@uim-makassar.ac.id



**Dr. Tahirah Hasan, M.Si.**

Penulis menyelesaikan pendidikan S1 di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin (Unhas) pada tahun 1993, kemudian melanjutkan ke Program Pascasarjana Jurusan Kimia Unhas dan meraih gelar S2 tahun 2000 dengan spesialisasi Kimia Organik Bahan Alam. Gelar S3 diperoleh dari Jurusan Kimia Pascasarjana Unhas pada tahun 2016 dengan fokus bidang Biokimia. Penulis sebagai dosen tetap Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Islam Makassar, dengan bidang kajian utama Biokimia Kesehatan dan Biorganik Bahan Alam. Dalam menjalankan tugas pengajaran, penulis mengampu mata kuliah Kimia Organik, Biokimia, Kimia Organik Bahan Alam, Kimia Bahan Makanan, dan Metodologi Penelitian pada Program Studi Kimia. Selain itu, penulis juga mengajar mata kuliah Kimia Farmasi Dasar, Kimia Sintesis, dan Biokimia Farmasi pada Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Islam Makassar. Email: tahirah.dty@uim-makassar.ac.id



**Yatri Hapsari, M.Si.**

Lahir di Jakarta, pada 7 Maret 1981. Ia tercatat sebagai lulusan Departemen Kimia, FMIPA, Universitas Indonesia. Penulis yang kerap disapa Yatri ini istri dari Bima Dharmaputra dan ibu dari 3 putra, Kaka, Kafi dan Kafa. Penulis merupakan peneliti Pusat Riset Vaksin dan Obat, BRIN. Email :yatr001@brin.go.id



**Ayu Werawati, S.Si., M.Farm.**

Lahir di Jakarta tanggal 25 Oktober 1972. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi S1 Farmasi Klinis dan Komunitas Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Widya Dharma Husada Tangerang. Menyelesaikan pendidikan di Univeritas Pancasila untuk jenjang S1 pada tahun

1997, program profesi Apoteker pada tahun 1999 dan melanjutkan S2 Magister Ilmu Kefarmasian dengan peminatan Obat Bahan Alam pada tahun 2019.

Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: ayuwerawati@wdh.ac.id



**Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.**

Lahir di Magelang, pada 22 Februari 1985. Pendidikan S1 diperoleh di Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pendidikan S2 berkonsentrasi pada Prodi Ilmu Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Mempunyai keahlian dalam bidang Kimia Analitik dan Spektrometri. Menjadi Dosen tetap pada STIKES Wira Husada Yogyakarta dari tahun 2015 hingga 2023 dan sekarang menjadi dosen tetap di Politeknik Kesehatan TNI AU Adisutjipto Yogyakarta. Email : agungsj85@gmail.com



**apt. Rufaidah Azzahrah, S.Farm., M.Farm.**

Lahir di Barru, pada 22 Maret 1997. Tercatat sebagai lulusan S1 Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar, S2 Ilmu Farmasi Peminatan Kosmetika Universitas Airlangga Surabaya, dan Profesi Apoteker Universitas Muslim Indonesia Makassar. Wanita yang kerap disapa Zahrah ini adalah anak pertama dari pasangan Dr. Ashari Ismail, M.Si. (ayah) dan Almh. Ramlawati Rahmat, M.Si. (ibu). Saat ini Zahrah mengabdikan sebagai seorang dosen di Program Studi Farmasi, Universitas Khairun, Ternate. Email: rufaidah.azzahrah@unkhair.ac.id





**apt. Andi Dian Astriani, S.Farm., M.Si.**

Lahir di Sengkang, pada 29 Desember. Merupakan lulusan Sarjana Farmasi UIN Alauddin Makassar (2010), Apoteker Universitas Hasanuddin (2011), Magister Farmasi Universitas Hasanuddin (2016). Saat ini tercatat sebagai Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Islam Makassar.  
Email :andidianastriani.dty@uim-makassar.ac.id



**Nunik Gustini, M.Si.**

Lahir di Cirebon pada 29 Agustus 1988. Ia menyelesaikan pendidikan magister Kimia di Institut Teknologi Bandung (ITB), setelah sebelumnya meraih gelar sarjana dari Universitas Pendidikan Indonesia (UPI). Sebelum berkarier sebagai peneliti, Nunik sempat mengabdikan sebagai pengajar di sekolah dan lembaga bimbingan belajar. Saat ini, ia berkiprah sebagai peneliti yang tergabung dalam Kelompok Riset *Nanomedicine*, Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Bidang riset yang digelutinya yaitu pengembangan sistem penghantaran obat berbasis nanoteknologi.  
Email: nunik.gustini@brin.go.id