

VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR CINCHOCAINE HCL SECARA SPEKTROMETRI SERAPAN ATOM (SSA) MENGGUNAKAN HEXATIOSIANATOFERRAT (III)

VALIDATION OF THE CINCHOCAINE HCL DETERMINATION METHOD BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY (AAS) USING HEXATHIOCYANATOFERRATE (III)

¹Yovita Endah Lestari

Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

e-mail: *¹yovita.el@gmail.com

ABSTRAK

Cinchocaine HCl merupakan salah satu anastesi lokal yang biasa terdapat dalam sediaan salap dan suppositoria. Cinchocaine HCl merupakan senyawa organik yang tidak mengandung unsur logam pada strukturnya sehingga tidak dapat ditetapkan kadarnya dengan metode Spektrometri Serapan Atom (SSA) secara langsung. Cinchocaine HCl dapat ditetapkan kadarnya secara SSA dengan cara pembentukan ion-associates terlebih dahulu dengan logam alkali atau alkali tanah, dimana logam tersisa yang bereaksi selanjutnya ditetapkan secara SSA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui akurasi, presisi dan linearitas dari metode SSA yang digunakan untuk menetapkan kadar Cinchocaine HCl secara tidak langsung. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode SSA untuk menetapkan kadar Cinchocaine HCl menggunakan Hexatiosianatoferrat (III) memiliki linearitas yang baik, sedangkan untuk akurasi metode ini hanya dapat memberikan hasil yang baik pada kadar 1,0 mg/mL dan 2,0 mg/mL dan tidak memberikan hasil yang baik pada kadar 0,05 mg/mL. Metode ini masih belum memiliki presisi yang baik karena hanya pada kadar 1,0 mg/mL yang memberikan nilai $KV \leq 2\%$, dimana KV yang didapatkan adalah 1,94%. Berdasarkan analisis hasil yang dilakukan, diperoleh persamaan kurva baku serapan logam Fe sisa versus seri kadar Cinchocaine HCl $y = -0,9499x + 0,2201$ dengan nilai $r = -0,9973$.

Kata kunci: Cinchocaine HCl, Spektrometri Serapan Atom (SSA), Hexatiosianatoferrat (III), Kompleksometri,

ABSTRACT

Cinchocaine HCl is one of the local anesthetics that is commonly found in the ointment and suppositories. Cinchocaine HCl is an organic compound that doesn't contain metal elements in its structure so its cannot be determined by Atomic Absorption Spectrometry (AAS) method directly. Cinchocaine HCl can be determined by AAS by forming ion associates in advance with alkali metals or alkaline earth, where the remaining metals will be determined by AAS. This research aimed to determine the accuracy, precision and linearity of the AAS method that was used to determine Cinchocaine HCl indirectly. The results showed that the AAS method to determine the Cinchocaine HCl using Hexathiocyanatoferrate (III) has a good linearity, while for the accuracy this method could only have good result at level 1.0 mg/mL and 2.0 mg/mL, and not gave good result at 0.05mg/mL. this method doesn't have good precision because only at the level of 1.0mg/mL gives a CV value $\leq 2\%$, where the CV was 1.94%. Based on the analysis of the result, the obtained equation of the remaining Fe metal absorption versus Cinchocaine HCl content $y = -0,9499x + 0,2201$ with correlation coefficient $r = -0,9973$.

Keywords: Cinchocaine HCl, Atomic Absorption Spectrometry (AAS), Hexathiocyanatoferrat (III), Complexometry.

PENDAHULUAN

Anestesi lokal atau yang sering disebut pematik rasa adalah obat yang menghambat hantaran saraf apabila digunakan secara lokal pada jaringan saraf dengan kadar yang cukup. Anestesi lokal bekerja dengan merintangi secara bolak-balik penerusan impuls-impuls saraf ke Susunan Saraf Pusat (SSP) (Ganiswara, 2002). Anestesi lokal biasanya dalam bentuk basa lemah dan diformulasikan sebagai garam hidroklorid agar dapat larut dalam air (Anonim, 2007a).

Cinchocaine merupakan derivat kanolin dari tipe amida yang beberapa kali lebih kuat efeknya dibandingkan dengan lidokain, tetapi lebih toksik (Tjay et al., 2007). Cinchocaine HCl yang tidak memiliki unsur logam pada strukturnya dapat ditetapkan kadarnya secara spektrofotometri dan Spektrometri serapan Atom (SSA) dengan cara direaksikan terlebih dahulu dengan menggunakan *Tetrathiocyanatocobaltate* (CoTC) dan *Hexathiocyanatochromate* (CrTC) (Ghani et al., 2005).

SSA memiliki kelebihan antara lain dapat menganalisis zat dalam kadar rendah, merupakan metode serapan yang spesifik, dapat menganalisis logam-logam yang membentuk campuran kompleks dengan cepat dan akurat dibandingkan dengan metode lain dan interferensinya sedikit (Khopkar, 1990).

METODE PENELITIAN

Desain studi non-eksperimental pada penelitian penetapan kadar Cinchocaine HCl secara SSA dengan menggunakan Hexatiosianatoferrat (III).

Kadar Cinchocaine HCl ditetapkan kadarnya dengan melakukan pengukuran serapan

logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl. Panjang gelombang untuk penyerapan logam Fe adalah 248,3nm.

Sampel yang akan diukur dengan SSA ditambahkan asam nitrat untuk menghindari pembentukan logam hidroksida, yang relatif tidak mudah diuapkan.

Prosedur yang dilakukan antara lain :

1. Pembuatan larutan uji
pembuatan larutan standar Cinchocaine HCl 0.05 M, larutan Hexatiosianatoferrat (III) 0.05M, pembuatan larutan blangko
2. Optimasi metode
 - a. Optimasi pH
pH dikondisikan pada pH 1-6
 - b. Optimasi Seri Kurva Baku
Seri kurva baku kadar 0.05; 0.1; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; dan 2.5 mg/mL
3. Pembuatan kurva baku
Seri kurva baku kadar 0.05; 0.1; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; dan 2.5 mg/mL ditambahkan 0.05 M Hexatiosianatoferrat (III) 1 mL
4. Recovery
Pembuatan larutan standar Cinchocaine HCl 0.05 M diambil pada kadar 0.05; 1.0; dan 2.0 mg/mL ditambahkan larutan 0.05 M Hexatiosianatoferrat (III) 1mL, ditambahkan aquabides sampai tanda pada labu ukur 10.0mL. Recovery dilakukan replikasi 3 kali.
5. Koefisien Variasi

Analisis Hasil

1. Penentuan Akurasi Baku
Akurasi metode analisis dinyatakan dengan *recovery* yang dihitung dengan cara berikut :

$$Recovery = \frac{Kadar\ terukur}{Kadar\ diketahui} \times 100\%$$

Akurasi untuk bahan baku yang masih dapat diterima yaitu 98-102 % (Mulja dan Hanwar,2003).

2. Penentuan Presisi

Presisi metode analisis dinyatakan dengan KV yang dihitung dengan cara berikut :

$$KV = \frac{\text{Simpangan Kadar Terukur}}{\text{rata - rata kadar terukur}} \times 100\%$$

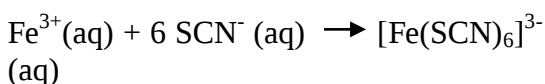
Presisi yang baik untuk kadar analit $\geq 10\%$ (bahan baku) adalah jika nilai $KV \leq 2$ (Anonim,2004).

3. Penentuan Linearitas

Linearitas dapat ditentukan melalui nilai koefisien (r). Nilai koefisien dapat diperoleh dengan memasukkan data kadar Cinchocaine HCl dan serapan dari data penentuan kurva baku ke dalam program regresi linear. Suatu metode memiliki linearitas yang baik jika $r > 0,99$.

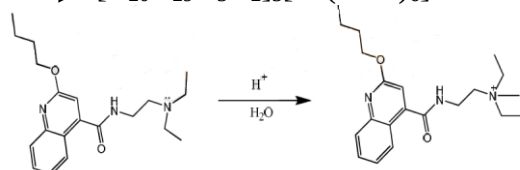
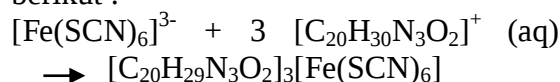
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan kadar Cinchocaine HCl pada penelitian ini dilakukan dengan pembentukan ion-associates terlebih dahulu antara Cinchocaine HCl dengan hexatiosianatoferrat yang merupakan kompleks ion logam Fe yang didapatkan dari $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan ammonium tiosianat. Mekanisme reaksi yang terjadi :



Endapan dibentuk agar dapat dilakukan pemisahan antara bentuk ion-associate Cinchocaine HCl – Hexatiosianatoferrat dengan hexatiosianatoferrat sisa. Endapan dapat terbentuk apabila Cinchocaine HCl yang gugus aminanya telah terprotonasi berinteraksi dengan anion. Endapan yang dihasilkan berwarna merah kehitaman. Mekanisme

yang mungkin terjadi adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Protonasi Gugus Amina

a. Optimasi metode

1. Optimasi pH

Optimasi pH dilakukan untuk mengetahui pH optimum dalam pembentukan ion-associates antara Cinchocaine HCl dengan Hexatiosianatoferrat (III). Penentuan pH optimum dilakukan dengan mengukur enam larutan dengan pH berbeda yaitu pH 1-6. Hasil yang didapat (Tabel 1) memperlihatkan bahwa dari pH 2-6 semakin tinggi pH maka serapan akan didapatkan akan semakin kecil. Penurunan serapan yang terjadi dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi pH maka ion-associates yang terbentuk akan semakin optimum.

pH (minimum) yang diperlukan untuk pengendapan suatu hidroksida logam dapat dihitung menggunakan prinsip hasil kali kelarutan (Vogel,1979).

Hasil perhitungan menggunakan prinsip hasil kali kelarutan didapatkan bahwa $\text{Fe}(\text{OH})_3$ akan mulai mengendap pada pH 1,96, sedangkan larutan yang mengandung Cinchocaine HCl dengan Hexatiosianatoferrat sudah memiliki pH 1,89, oleh karena itu pada penelitian ini tidak dilakukan pengkondisian larutan pada pH tertentu.

2. Pembuatan kurva baku

Seri kadar kurva baku yang digunakan adalah 0.05; 0.1; 0.5; 1.0; 1.5; dan 2.0 mg/mL. Data replikasi seri kurva baku Cinchocaine HCl pada tabel 4 memperlihatkan tiga persamaan kurva

baku yang ketiganya memiliki nilai α yang kurang layak saji sehingga diperlukan penyesuaian pada satuan kadar agar diperoleh kemiringan kurva yang mendekati $\pm 45^\circ$. Hasil penyesuaian satuan kadar dapat dilihat pada tabel 3.

Linearitas menyatakan adanya hubungan antara kadar Cinchocaine HCl dengan serapan yang dihasilkan dan dinyatakan dengan koefisien korelasi (r). Nilai r yang diperoleh pada tiga replikasi (tabel 3) sudah memenuhi syarat linearitas, sehingga masing-masing persamaan kurva baku dapat digunakan untuk menetapkan kadar Cinchocaine HCl. Kurva baku replikasi yang dipilih pada penelitian ini adalah replikasi ketiga ($y = -0,9499x + 0,2201$ dengan nilai $r = -0,9973$) karena memiliki korelasi yang baik yang dibuktikan dengan nilai r kurva baku lebih besar dari nilai r kurva baku replikasi satu dan dua.

Penelitian terdahulu penetapan kadar Cinchocaine HCl secara SSA dengan menggunakan *Tetrathiocyanatocobaltate* (CoTC) dan *Hexathiocyanatochromate* (CrTC) memiliki persamaan kurva baku $y = (1,04 \times 10^{-4})x + 3,86 \times 10^{-3}$ dengan nilai $r = 0,9911$ dan $y = (2,31 \times 10^{-4})x + (-3,30 \times 10^{-3})$ dengan nilai $r = -0,9917$ (Ghani et al., 2005), apabila dibandingkan dengan metode penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penelitian ini memiliki linearitas yang lebih baik karena memiliki nilai regresi yang lebih besar yaitu $-0,9973$.

3. Hasil Penetapan Kembali (*Recovery*)

Validitas metode dilihat melalui parameter akurasi, presisi dan linearitas. Akurasi metode analisis dinyatakan dalam persen perolehan kembali. Snyder et al. (1997) menyatakan ada tiga cara untuk menetapkan *recovery* yaitu : perbandingan standar, *recovery* penambahan analit kedalam matriks kosong, atau addisi standar pada analit.

Penelitian ini melakukan metode *recovery* baku, dimana *recovery* dilakukan pada tiga kadar baku yaitu kadar 0,05; 1,0; dan 2,0 mg/mL.

Akurasi dinyatakan baik apabila nilai *recovery* untuk bahan baku berkisar 98-102% (Mulja dan Hanwar, 2003). Pada penelitian ini replikasi pada kadar 1,0 mg/mL dan 2,0 mg/mL memiliki akurasi yang baik sedangkan kadar 0,05 mg/mL tidak memiliki akurasi yang baik (tabel 4,5 dan 6).

Pada kadar 1,0 mg/mL dan 2,0 mg/mL didapatkan satu replikasi yang tidak memberikan hasil yang memenuhi rentang akurasi yang ditentukan dikarenakan adanya perbedaan kondisi saat preparasi tiap replikasi.

4. Hasil Penetapan Koefisien Variasi (KV)

APVMA menyatakan bahwa presisi untuk kadar analit $\geq 10\%$ dinyatakan baik apabila nilai KV $\leq 2\%$. Ketiga kadar yang diuji hanya kadar 1,0 mg/mL yang memiliki presisi yang baik yaitu 1,94% (tabel 8). Kadar 0,05 mg/mL (tabel 7) dan 2,0 mg/mL (tabel 9) mendapatkan hasil yang kurang baik dimungkinkan karena perbedaan kondisi preparasi terutama kondisi penimbangan.

b. Parameter Validitas Metode

1. Akurasi

Menurut Mulja dan Hanwar (2003) suatu metode dapat dikatakan memiliki akurasi yang baik jika *recovery* untuk bahan baku yang diperoleh masih dalam rentang 98-102 %. Pada penelitian ini mendapatkan kadar Cinchocaine HCl memiliki akurasi yang baik pada kadar 1.0 mg/mL dan 2.0 mg/mL.

2. Presisi

APVMA (Anonim,2004) menyatakan bahwa presisi yang baik untuk kadar analit $\geq 10\%$ (pada penetapan nilai KV senyawa baku) adalah apabila $KV \leq 2\%$. Hasil penelitian mendapatkan hasil kadar 1.0 mg/mL memiliki presisi yang baik, sedangkan pada kadar 0.05 mg/mL dan 2.0 mg/mL tidak memiliki presisi yang baik.

3. Linearitas

Suatu metode dapat dinyatakan linear jika memiliki nilai koefisien korelasi (r) > 0.99 (Anonim,2004). Nilai r yang diperoleh pada ketiga replikasi lebih besar dari 0.99. hal ini menunjukkan bahwa penggunaan metode SSA untuk penetapan kadar Cinchocaine HCl memiliki linearitas yang baik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Validasi metode penetapan kadar Cinchocaine HCl secara Spektrometri Serapan Atom (SSA) menggunakan Hexatiosianatoferrat (III) memiliki akurasi yang baik pada kadar 1.0 mg/mL dan 2.0 mg/mL dan presisi yang baik hanya pada kadar 1.0 mg/mL.

Nilai regresi yang didapatkan yang didapatkan dari metode ini memberikan hasil yang baik dengan nilai koefisien, $r = -0,9973$.

Saran

Optimasi waktu pembentukan endapan (*ion-associate* antara Cinchocaine HCl dengan Hexatiosianatoferrat (III) perlu dilakukan dan diperhatikan dengan sangat baik.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2004, *Guidelines for the Validation of Analytical Methods for Active Constituent, Agricultural and Veterinary Chemical Products*, 4-5, www.apvma.gov.au/guidelines/download/g169_analytical_methoda.pdf.

Diakses pada tanggal 28 agustus 2007.

Anonim, 2007a, *Lokal Anesthetic*, <http://en.wikipedia.org/wiki/localanesthetic>, diakses tanggal 24 November 2007.

Ganiswara, 2002, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, 240, Bagian Farmakologi Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Ghani, N.T.A., Ahmed, F.A.Y., Mohamed, A.A., 2005, *Cinchocaine Hydrochloride Determination by Atomic Absorption Spectrometry and Spectrophotometry*, Elsevier, 419-424.

Khopkar, S.M.,1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, 275,279, diterjemahkan oleh A. Saptoraharjo, Universitas Indonesia Press, Jakarta

Mulja,H.M., dan Hanwar, 2003, *Prinsip Cara Berlaboratorium yang Baik (Good Laboratory Practice)*, Majalah Farmasi Airlangga, Vol.III, No.2, Agustus 2003, 71-76.

Snyder, L.R., Kirkland, J.J., and Glajch, 1997, *Practical HPLC Method Development*, Second Edition, 678-688, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Tjay, Tan H., Kirana R., 2007, *Obat-obat Penting- Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya*, 407-413, Elex Media Komputindo, Jakarta.

Vogel, A., I, 1979, *A Text Book of Qualitative Chemical Analysis*; Fifth Edition, 260,570,573,589, Longman Inc., New York.

Tabel 1. Hasil Optimasi pH

No.		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
		Serapan Fe*	Serapan Fe*	Serapan Fe*
1	Blanko	0.2371	0.2460	0.2250
2	pH 1	0.1642	0.1653	0.1179
3	pH 2	0.1635	0.1713	0.2173
4	pH 3	0.1532	0.1454	0.2102
5	pH 4	0.1288	0.1295	0.1174
6	pH 5	0.0074	0.0000	0.0405
7	pH 6	0.0002	0.0000	0.0074

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 2. Data Replikasi seri kurva baku Cinchocaine HCl

Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
Kadar Cinchocaine HCl (mg/mL)	Serapan Fe*	Kadar Cinchocaine HCl (mg/mL)	Serapan Fe*	Kadar Cinchocaine HCl (mg/mL)	Serapan Fe*
0,0499	0,2035	0,0499	0,2204	0,0499	0,2203
0,0999	0,2002	0,0999	0,2153	0,0992	0,2177
0,5000	0,1970	0,5001	0,2098	0,4999	0,2111
1,0001	0,1848	1,0003	0,2018	0,9999	0,1998
1,5001	0,1765	1,5004	0,1942	1,4999	0,1907
2,0001	0,1654	2,0005	0,1818	1,9999	0,1834
a = 0,2042 b = - 0,0189 r = - 0,9950		a = 0,2194 b = - 0,0181 r = - 0,9926		a = 0,2201 b = - 0,0190 r = - 0,9973	
Persamaan Kurva Baku : y = - 0,0189x + 0,2042		Persamaan Kurva Baku : y = - 0,0181x + 0,2194		Persamaan Kurva Baku : y = - 0,0190x + 0,2201	

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 3. Data Replikasi seri kurva baku Cinchocaine HCl dengan penyesuaian satuan kadar

Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
Kadar Cinchocaine HCl (g/20mL) x 10 ⁻³	Serapan Fe*	Kadar Cinchocaine HCl (g/20mL) x 10 ⁻³	Serapan Fe*	Kadar Cinchocaine HCl (g/20mL) x 10 ⁻³	Serapan Fe*
0,998	0,2035	0,998	0,2204	0,998	0,2203
1,998	0,2002	1,998	0,2153	1,984	0,2177
10	0,1970	10,002	0,2098	9,998	0,2111
20,002	0,1848	20,006	0,2018	19,998	0,1998
30,002	0,1765	30,008	0,1942	29,998	0,1907
40,002	0,1654	40,01	0,1818	39,998	0,1834
a = 0,2042 b = - 0,9481 r = - 0,9950		a = 0,2194 b = - 0,9028 r = - 0,9926		a = 0,2201 b = - 0,9499 r = - 0,9973	
Persamaan Kurva Baku : y = - 0,9481x + 0,2042		Persamaan Kurva Baku : y = - 0,9028x + 0,2194		Persamaan Kurva Baku : y = - 0,9499x + 0,2201	

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 4. Data *Recovery* pada kadar 0,05 mg/mL Cinchocaine HCl

Replikasi	Serapan Fe*	Kadar _{ukur} (mg/mL)	<i>Recovery</i> (%)
A	0,1989	0,0536	108,5419
B	0,1999	0,0520	105,2960
C	0,1979	0,0542	109,7570

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 5. Data *Recovery* pada kadar 1,0 mg/mL Cinchocaine HCl

Replikasi	Serapan Fe*	Kadar _{ukur} (mg/mL)	<i>Recovery</i> (%)
A	0,1880	1,0268	98,8857
B	0,1833	1,0116	101,2527
C	0,1824	0,9879	102,7795

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 6. Data *Recovery* pada kadar 2,0 mg/mL Cinchocaine HCl

Replikasi	Serapan Fe*	Kadar _{ukur} (mg/mL)	<i>Recovery</i> (%)
A	0,1757	2,1250	106,2519
B	0,1656	2,0347	101,7315
C	0,1655	2,0060	100,3018

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 7. Data KV pada kadar 0,05 mg/mL Cinchocaine HCl

Replikasi	Serapan Fe*	Kadar _{ukur} (mg/mL)	Kadar _{ukur} rata- rata (mg/mL)	SD	KV (%)
A	0,1989	0,0536	0,0533	0,00114	2,1388
B	0,1999	0,0520			
C	0,1979	0,0542			

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 8. Data KV pada kadar 1,0 mg/mL Cinchocaine HCl

Replikasi	Serapan Fe*	Kadar _{ukur} (mg/mL)	Kadar _{ukur} rata- rata (mg/mL)	SD	KV (%)
A	0,1880	1,0268	1,0088	0,0196	1,9424
B	0,1833	1,0116			
C	0,1824	0,9879			

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.

Tabel 9. Data KV pada kadar 2,0 mg/mL Cinchocaine HCl

Replikasi	Serapan Fe*	Kadar _{ukur} (mg/mL)	Kadar _{ukur} rata- rata (mg/mL)	SD	KV (%)
A	0,1757	2,1250	2,0552	0,0621	3,0216
B	0,1656	2,0347			
C	0,1655	2,0060			

*serapan logam Fe yang terdapat dalam larutan Hexatiosianatoferrat sisa hasil reaksi dengan Cinchocaine HCl.