

Validasi Metode Penentuan Amonium Klorida dalam Obat Batuk Hitam secara Titrimetri

Kuntari ^{a,*}, Toni Aprianto ^b, Baruji ^c, Rani Hadiyati Noor^d

^{a, b, c, d} Analisis Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia

* corresponding author : kuntari.D3AK@uii.ac.id

ARTIKEL INFO

Received : 05 Juli 2018
Revised : 01 Agustus 2018
Published : 28 September 2018
Kata kunci : amonium klorida, obat batuk hitam, titrimetri, validasi

ABSTRAK

Amonium klorida merupakan zat aktif dalam obat batuk hitam yang berfungsi sebagai pengencer dahak. Penentuan kadar amonium klorida dalam sediaan obat menjadi sangat penting untuk uji kualitas produk agar obat memiliki khasiat dan keamanan yang dapat diterima pasien. Berdasarkan Farmakope V penentuan amonium klorida dapat dilakukan dengan metode argentometri. Analisis kadar amonium dalam obat batuk hitam secara argentometri belum tersedia data validasinya. Oleh karena itu perlu dilakukan validasi. Parameter validasi yang dijadikan acuan adalah akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi dan nilai estimasi ketidakpastian pengukuran. Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian parameter uji validasi untuk akurasi, ripitabilitas (%RSD), presisi antara (%RSD), linearitas (R^2) dan estimasi ketidakpastian pengukuran secara berurutan yaitu sebesar 99,97-104,85%; 0,50-3,40%; 6,58%; 0,9985 dan 1,42 mg/5mL sehingga dapat disimpulkan bahwa metode penentuan amonium klorida dalam obat batuk hitam menggunakan metode titrasi argentometri belum cukup bukti untuk dinyatakan valid karena presisi atau keterulangan belum memenuhi syarat keberterimaan.

1. PENDAHULUAN

Obat batuk termasuk dalam kategori obat bebas dan bebas terbatas yang secara umum berupa sediaan sirup. Sediaan obat sirup seperti obat batuk hitam harus memenuhi persyaratan kualitas obat sebelum dilepas ke pasaran. Salah satu persyaratan kualitas obat jadi yang harus dipenuhi menurut Farmakope Indonesia V adalah syarat kadar zat berkhasiat[1].

Salah satu zat yang berkhasiat dalam obat batuk hitam adalah amonium klorida. Amonium klorida berfungsi sebagai pengencer dahak. Amonium klorida dalam dosis besar menyebabkan asidosis metabolik, yaitu kelebihan asam dalam darah. Keasaman darah merangsang pusat pernafasan sehingga frekuensi napas meningkat dan gerakan bulu getar (silia) di saluran napas distimulasi sehingga sekresi dahak meningkat.

Penjaminan kualitas obat sangat penting agar obat memiliki khasiat dan keamanan yang dapat diterima pasien. Penentuan kadar amonium klorida dalam sediaan obat menjadi sangat penting untuk uji kualitas produk sebelum dan selama proses produksi maupun setelah menjadi produk akhir. Berdasarkan Farmakope Indonesia, penentuan amonium klorida dapat dilakukan dengan titrasi argentometri[2].

Titrasi argentometri merupakan metode analisis kuantitatif berdasarkan reaksi pengendapan senyawa halogenida dan senyawa-senyawa lain ketika ditambahkan dengan AgNO_3 . Reaksi pengendapan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adalah pengendapan diantaranya temperatur, sifat alami pelarut, pengaruh ion lain, pH, hidrolisis dan pembentukan kompleks.

Ada beberapa macam titrasi argentometri yaitu metode Volhard, Mohr, Fajans dan Leibig. Pada penelitian ini, titrasi argentometri yang dipilih adalah metode Mohr karena selain cepat dan mudah, pH larutan sampel obat batuk hitam memiliki nilai pH sesuai dengan pH usus yaitu sekitar 6

sehingga kandungan NH_4Cl dapat ditentukan menggunakan metode Mohr. Analisis kadar amonium dalam obat batuk hitam belum tersedia data validasinya. Validasi merupakan suatu proses untuk membuktikan bahwa suatu metode dapat digunakan berdasarkan beberapa parameter tertentu[3]. Validasi dapat membantu memberikan jaminan bahwa hasil analisis dapat dipercaya [4]. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan validasi terhadap metode analisis kadar amonium dalam obat batuk hitam secara titrimetri menggunakan metode Mohr. Parameter validasi yang dijadikan acuan adalah akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi dan nilai estimasi ketidakpastian pengukuran. Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh validitas metode analisis untuk penentuan kadar amonium klorida dalam obat batuk hitam menggunakan metode titrasi argentometri Mohr dengan parameter uji meliputi akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi dan estimasi ketidakpastian pengukuran.

2. METODE

2.1. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi sampel obat batuk hitam; bahan-bahan kimia dari Merck KGaA, Darmstadt, Jerman meliputi NaCl , NH_4Cl , K_2CrO_4 dan AgNO_3 , kertas pH universal dan akuades dari Laboratorium Kimia Terapan D III Analisis Kimia, UII.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik merk OHAUS dan peralatan gelas meliputi erlenmeyer 250 mL, pipet volume 1, 5 dan 10 mL; labu takar 50, 100 dan 250 mL; corong gelas, buret 25 mL, gelas arloji, spatula, pipet tetes, beker gelas 250 mL, pengaduk gelas dan piknometer

2.3. Prosedur Kerja

2.3.1. Pembuatan larutan standar AgNO_3 0,1 N

Sebanyak 4,25 gram AgNO_3 dimasukkan dalam gelas beker 250 mL, ditambah akuades sebanyak ± 10 mL dan diaduk hingga larut. Larutan kemudian dimasukkan dalam labu ukur 250 mL, ditambah akuades sampai dengan tanda batas dan digojog hingga homogen.

2.3.2. Standardisasi Larutan AgNO_3 0,1 N

Sebanyak 0,292 gram garam NaCl dimasukkan dalam gelas beker 250 mL, ditambah akuades sebanyak ± 10 mL dan diaduk hingga larut. Larutan kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, ditambah akuades sampai dengan tanda batas dan digojog hingga homogen. Larutan tersebut diambil sebanyak 25 mL, dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL, ditambah dengan larutan K_2CrO_4 5% sebanyak 0,5 mL. Larutan segera dititrasi dengan larutan standar AgNO_3 0,1 N sambil digojog, dan dihentikan jika terjadi perubahan warna kuning menjadi cokelat kemerahan. Volume larutan AgNO_3 0,1 N yang diperlukan dalam titrasi dicatat. Titrasi dilakukan sebanyak 3 kali.

2.3.3. Uji akurasi

Sebanyak 100,6 mg garam amonium klorida dimasukkan dalam gelas beker 250 mL, ditambah akuades ± 10 mL dan diaduk hingga larut. Larutan dimasukkan dalam labu ukur 50 mL, ditambah akuades sampai tanda batas dan digojog hingga homogen. Larutan tersebut diambil sebanyak 5 mL, dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL, ditambah dengan 10 mL akuades dan digojog hingga homogen. Larutan kemudian ditambah dengan indikator K_2CrO_4 5% sebanyak 3 tetes dan dititrasi dengan AgNO_3 0,1 N. Volume AgNO_3 0,1 N yang diperlukan dalam titrasi dicatat. Titrasi diulang sebanyak lima kali.

2.3.4. Uji presisi

Sebanyak 5 g sampel obat batuk hitam dimasukkan dalam gelas beker 250 mL, ditambah akuades sebanyak ± 10 mL dan diaduk hingga larut. Larutan dimasukkan dalam labu ukur 50 mL, ditambah akuades sampai tanda batas dan digojog hingga homogen. Larutan diambil sebanyak 5 mL, dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL, ditambah dengan akuades sebanyak 10 mL dan digojog hingga homogen. Selanjutnya, larutan tersebut ditambah indikator K_2CrO_4 5% sebanyak 3 tetes dan dititrasi dengan $AgNO_3$ 0,1 N. Volume $AgNO_3$ 0,1 N yang diperlukan dalam titrasi dicatat. Titrasi diulangi sebanyak 3 kali. Hal yang sama dilakukan oleh dua orang yang berbeda untuk memperoleh presisi antara (*intermediate precision*). Penentuan konsentrasi ammonium klorida dalam sampel menggunakan persamaan 1. Keberterimaan presisi dievaluasi dengan menghitung nilai persentase RSD. Pengujian secara statistika juga dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan performa dari ketiga analisis, pengujian yang digunakan yaitu ANOVA *two factor without replication*.

$$\text{Konsentrasi } NH_4Cl \text{ dalam sampel (mg/5mL)} = N_{AgNO_3} \times V_{AgNO_3} \times Mr_{NH_4Cl} \times 10 \quad (1)$$

Keterangan:

N_{AgNO_3} = Normalitas $AgNO_3$ hasil standardisasi (N)

V_{AgNO_3} = Volume $AgNO_3$ yang dibutuhkan saat titrasi (mL)

Mr_{NH_4Cl} = Massa molekul relatif NH_4Cl (53,5 g/mol)

2.3.5. Uji linearitas dan batas deteksi

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode analisa untuk menunjukkan hubungan secara langsung atau proporsional antara respon detektor dengan perubahan konsentrasi analit[5]. Perubahan konsentrasi analit yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan cara memvariasi berat sampel OBH yang digunakan. Kurva linearitas dibuat berdasarkan variasi konsentrasi dari analit sebagai nilai x dan data volume titran sebagai nilai y[6]. Penentuan batas deteksi pada analisis yang tidak menggunakan instrumen ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat[5]. Oleh karena itu, berdasarkan simpangan baku dari respon dan kemiringan (*slope*) kurva kalibrasi yang diperoleh maka nilai batas deteksi atau *limit of detection* (LOD) dan batas kuantifikasi atau *limit of quantification* (LOQ) dapat ditentukan yaitu menggunakan persamaan (2) dan (3).

$$LOD = \frac{3S_{y/x}}{slope} \quad (2)$$

$$LOQ = \frac{10S_{y/x}}{slope} \quad (3)$$

Keterangan:

$S_{y/x}$ = Simpangan baku residual

Slope = kemiringan grafik

2.3.6. Estimasi ketidakpastian pengukuran

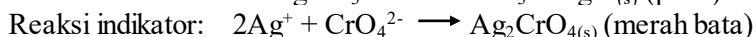
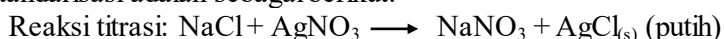
Estimasi ketidakpastian pengukuran pada penelitian menggunakan data penentuan presisi ripitabilitas (*repeatability*) terbaik. Tahapan penentuan estimasi ketidakpastian pengukuran meliputi penentuan rumus penetapan kadar amonium klorida, identifikasi penyumbang ketidakpastian pengukuran serta penentuan nilai ketidakpastian baku, gabungan dan diperluas.

3. HASIL PENELITIAN

3.1. Standardisasi Larutan AgNO₃ 0,1 N

Larutan AgNO₃ merupakan larutan baku sekunder yang secara langsung tidak dapat diketahui kadar dan kestabilannya di dalam proses penimbangan, pelarutan dan penyimpanan, oleh karena itu konsentrasinya ditentukan dengan cara pembakuan atau standarisasi. Standarisasi larutan AgNO₃ dalam penelitian ini menggunakan NaCl. NaCl merupakan garam yang dapat bereaksi dengan AgNO₃ membentuk endapan AgCl yang sukar larut dan memiliki tingkat kemurnian tinggi sehingga NaCl dapat digunakan untuk menstandarisasi larutan AgNO₃.

AgNO₃ akan bereaksi dengan NH₄Cl membentuk endapan AgCl yang berwarna putih. Apabila semua Cl⁻ dalam sampel yang diuji sudah habis bereaksi dengan Ag⁺ dari AgNO₃, maka kelebihan sedikit Ag⁺ akan bereaksi dengan CrO₄²⁻ dari indikator K₂CrO₄ yang ditambahkan dan saat mencapai titik akhir titrasi terbentuk warna merah bata dari endapan Ag₂CrO₄. Reaksi yang terjadi saat standarisasi adalah sebagai berikut:



Normalitas AgNO₃ hasil standarisasi adalah 0,0917 N. Nilai tersebut lebih kecil dari nilai teoritisnya. Berkurangnya konsentrasi AgNO₃ dalam larutan dapat disebabkan karena adanya penyimpangan saat penimbangan, pembuatan larutan ataupun karena faktor penyimpanan.

3.2. Penentuan Akurasi

Penentuan akurasi dapat dilakukan dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan standar. Bahan standar yang digunakan memiliki kadar 2,012 g/L. Pada tahap ini diperoleh nilai % *trueness*. Hasil pengukuran pada tahap ini disajikan pada Tabel I. Persentase akurasi yang baik yaitu 90-108 % [7] sehingga dapat dikatakan bahwa hasil pengukuran ammonium klorida menggunakan titrasi argentometri pada penelitian ini akurat.

TABEL I. Data penentuan akurasi

Titration	Volume AgNO ₃ 0,1 N (mL)	Kadar NH ₄ Cl pengukuran (g/L)	% <i>Trueness</i>
1	2,14	2,0997466	104,36
2	2,09	2,0506871	101,92
3	2,06	2,0212514	100,46
4	2,05	2,0114395	99,97
5	2,15	2,1095585	104,85

3.3. Penetapan Presisi

Penentuan presisi pada penelitian ini dilakukan pada dua kriteria yaitu riptabilitas dan presisi antara. Kadar amonium klorida dalam sampel obat batuk hitam dapat dilihat pada Tabel II. Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penetapan kadar ammonium klorida yang dilakukan, hasil pengukuran memiliki riptabilitas yang baik ditunjukkan oleh Analisis 3 ditunjukkan dengan nilai CV Horwitz < 2/3 % RSD.

TABEL II. Kadar NH₄Cl dalam sampel obat pada berbagai pengulangan

Analisis	Kadar NH ₄ Cl (mg/5 mL)			Mean	SD	% RSD	CV Horwitz	2/3 CV Horwitz
	Titration 1	Titration 2	Titration 3					
1	129,9628	122,6064	122,6064	125,0585	4,24721	3,40	2,7348	1,8232
2	107,8936	111,8170	111,8170	110,5092	2,26518	2,05	2,7862	1,8575
3	114,2692	113,2883	113,2883	113,6153	0,56630	0,50	2,7746	1,8497
	Mean			116,3943				
	SD			7,6624				
	% RSD			6,5832				
	CV Horwitz			2,7645				
	2/3 CV Horwitz			1,8430				

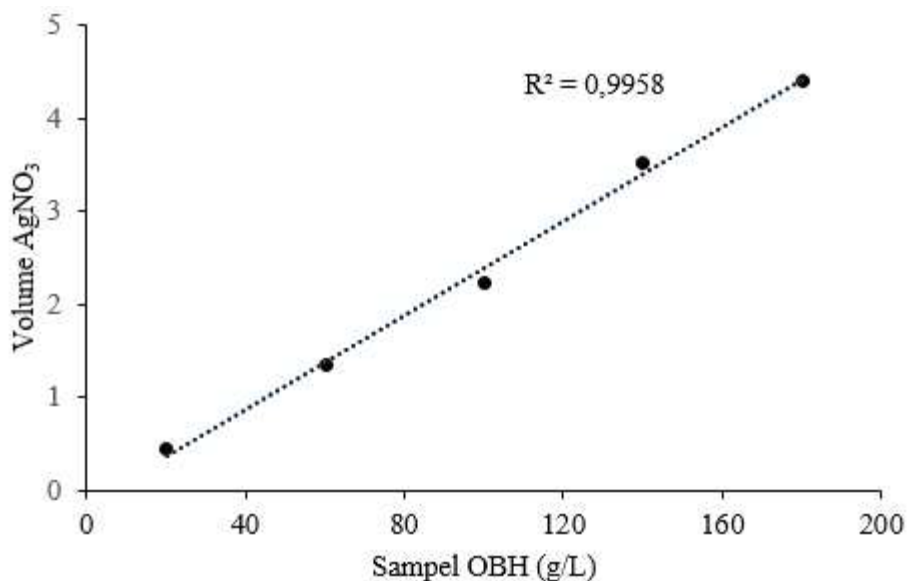
Berdasarkan Tabel II didapatkan informasi bahwa presisi antara tidak memenuhi syarat keberterimaan menurut AOAC (2012) [7] karena nilai CV Horwitz $< 2/3$ % RSD. Lebih lanjut, berdasarkan data yang terdapat pada Tabel 2 dilakukan uji ANOVA *two factor without replication*. Hipotesis yang diusulkan ada dua yaitu:

1. Hipotesis (H_0) 1: tidak ada perbedaan yang signifikan hasil penentuan kadar amonium klorida antar analisis
2. Hipotesis (H_0) 2: tidak ada perbedaan yang signifikan hasil penentuan kadar ammonium klorida antar titrasi.

Hasil dari F_{hitung} untuk variasi analisis adalah 16,5188, F_{hitung} untuk varian penentuan adalah 0,2030 dan $F_{critical}$ adalah 6,9443. Artinya hipotesis 1 ditolak dan hipotesis 2 diterima, karena F_{hitung} untuk varian analisis lebih besar dari $F_{critical}$ dan F_{hitung} untuk variasi penentuan lebih kecil dari $F_{critical}$. Dengan kata lain, ada perbedaan yang signifikan hasil penetapan kadar amonium klorida antar analisis paling tidak salah satu analisis dan tidak ada perbedaan signifikan hasil penetapan kadar amonium klorida antar titrasi.

3.4 Linearitas

Linearitas pada penelitian ini dilakukan dengan cara memvariasi konsentrasi sampel OBH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi memenuhi nilai yang dipersyaratkan yaitu $> 0,99$ [7]. Adapun kurva linearitas antara konsentrasi sampel dengan volume titran disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva linearitas

Berdasarkan persamaan garis pada Gambar 1 diperoleh nilai LOD dan LOQ yaitu sebesar 14,2571 dan 47,5237 g OBH/L. Hal ini menunjukkan bahwa kadar NH_4Cl dalam obat batuk hitam dalam penelitian ini dapat dikatakan terukur secara presisi dan akurasi.

4.8 Estimasi Ketidakpastian Pengukuran

Ketidakpastian (*uncertainty*) pengukuran tidak sama dengan kesalahan atau (*error*). Ketidakpastian pengukuran dapat diminimalkan karena sudah diketahui sebelum dilakukan suatu pengukuran dengan metode analisis tertentu. Hasil pengukuran tidak berarti apa-apa tanpa adanya perkiraan *uncertainty*. Pengukuran yang menghasilkan data *reliable* dan *comparable* sangat penting dalam pengambilan keputusan, oleh karena hal tersebut dilakukan penghitungan ketidakpastian pengukuran pada penentuan kadar amonium klorida dalam sampel obat batuk hitam dalam penelitian ini.

Penetapan kadar amonium klorida dalam obat batuk hitam menggunakan titrasi argentometri yang dilakukan memiliki beberapa sumber ketidakpastian. Data-data dari sumber ketidakpastian dan konversi ketidakpastian baku dari sumber-sumber tersebut disajikan pada Tabel III. Berdasarkan data nilai ketidakpastian baku yang diperoleh, selanjutnya dihitung ketidakpastian gabungan. Ketidakpastian gabungan yang diperoleh sebesar $\mu g = 7,09 \times 10^{-1} \text{ mg/5mL}$ mg/5mL. Tahap selanjutnya perhitungan ketidakpastian diperluas. Ketidakpastian diperluas (U) merupakan hasil perkalian antara ketidakpastian gabungan (μg) dan faktor pencakupan (k), k bernilai 2 yang artinya tingkat kepercayaan yang ditetapkan sebesar 95 %[8]. Nilai ketidakpastian diperluas yang diperoleh sebesar mg/5mL, sehingga dapat dituliskan hasil penetapan kadar ammonium klorida dalam sampel obat batuk hitam sebesar $(113,6153 \pm 1,42) \text{ mg/5 mL}$

TABEL III. Data estimasi ketidakpastian pengukuran kadar NH₄Cl dalam obat batuk hitam

Sumber ketidakpastian	Nilai ketidakpastian	Ketidakpastian baku	Ketidakpastian relatif
Titrasi	0,004984319 mg/5mL	$3,27 \times 10^{-1} \text{ mg/5mL}$	$2,88 \times 10^{-03}$
Standardisasi AgNO ₃	0,05 mL	$4,86 \times 10^{-4} \text{ mL}$	$5,30 \times 10^{-03}$
Neraca	$5,477 \times 10^{-5} \text{ g}$	$3,16 \times 10^{-5} \text{ g}$	$6,32 \times 10^{-06}$
Buret 25 mL	0,06 mL	$3,46 \times 10^{-2} \text{ mL}$	$1,39 \times 10^{-03}$
Pipet 1 mL	0,0013 mL	$7,51 \times 10^{-4} \text{ mL}$	$7,51 \times 10^{-04}$
Pipet 10 mL	0,005 mL	$2,89 \times 10^{-3} \text{ mL}$	$2,89 \times 10^{-04}$
Labu takar 50 mL	0,01mL	$5,77 \times 10^{-3} \text{ mL}$	$1,15 \times 10^{-04}$
		$\mu \text{ gabungan}$	$7,09 \times 10^{-1} \text{ mg/5mL}$
		$\mu \text{ diperluas}$	$1,42 \text{ mg/5mL}$

Berdasarkan data estimasi ketidakpastian pengukuran diperoleh informasi bahwa kontribusi terbesar disumbang oleh pengulangan saat titrasi, sehingga untuk meminimalkan ketidakpastian pengukuran saat pengulangan titrasi harus dilakukan oleh analis yang kompeten.

4. KESIMPULAN

Validasi metode penentuan amonium klorida dalam sampel obat batuk hitam telah dilakukan. Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian parameter uji validasi untuk akurasi, ripitabilitas (%RSD), presisi antara (%RSD), linearitas (R²) dan estimasi ketidakpastian pengukuran secara berurutan yaitu sebesar 100-105%; 0,5-3,4%; 6,58%; 0,9985 dan 1,42 mg/5mL sehingga dapat disimpulkan bahwa metode penentuan amonium klorida dalam obat batuk hitam menggunakan metode titrasi argentometri belum cukup bukti untuk dinyatakan valid karena presisi atau keterulangan belum memenuhi syarat keberterimaan.

Daftar Pustaka

- [1] Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, “*Farmakope Indonesia Edisi V*”, Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2012.
- [2] G. L., Gandjar, and A., Rohman, “*Kimia Farmasi Analisis*”, Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2009.
- [3] M., Kazusaki, S., Ueda, N., Takeuchi, and Y., Ohgami, “Validation of analytical procedures by high– performance liquid chromatography for pharmaceutical analysis,” *Chromatography*, vol.33, no. 2, pp.65–73, 2012.
- [4] Riyanto, “*Validasi dan Verifikasi Metode Uji*”, Yogyakarta: Deepublish Publisher, 2014.
- [5] Harmita, “*Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan perhitungannya*”, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, edisi 1(3), pp. 117–135, 2004.

- [6] M., Taufik, Seveline, and E. R., Saputri, “Validasi metode analisis kadar kalsium pada susu segar secara titrasi kompleksometri”, *Agritech*, vol. 38, no. 2, pp. 187–193, 2018
- [7] AOAC, “*Official Methods of Analysis of AOAC International (19th ed.)*”, Maryland, MD: AOAC International Press, 2012.
- [8] Eurachem, “The Fitness for Purpose of Analytical Methods-A Laboratory Guide to Methods Validation and Related Topics”, Retrieved from <http://www.eurachem.org/index>, 2014.