

Available online at: <http://reactor.poltekadipdg.ac.id/>**REACTOR****Journal of Research on Chemistry and Engineering**

| ISSN Online 2746-0401 |



Penentuan Kadar Senyawa Aktif *Cyanocobalamine* Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS

Risma Sari¹, Aisyah Salma Billa²

¹ Politeknik ATI Padang, Bungo Pasang-Tabing, Padang, 25171, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Received: December 05, 2020

Revised: Desember 20, 2020

Available online: Desember 31, 2020

KEYWORDS

Cyanocobalamine, Pharmacopeia, UV-Vis Spectrophotometric

CORRESPONDENCE

Name: Risma Sari

E-mail: rismasari171@gmail.com

ABSTRACT

Cyanocobalmine is vitamin B12 which is widely used to treat or prevent deficiency (deficiency of vitamins) in various types of preparations. Cyanocobalmine in the 5th edition of Indonesian Pharmacopoeia literature can determine by UV-Vis Spectrophotometric method with water solvent. The purpose of this testing was to determine whether the levels of the active compound Cyanocobalamine from the 3 test parameters. In the description test where the sample tested is the same as the Cyanocobalamine specification, namely, crystal powder is dark red. Hot plate was used to determine drying shrinkage. Shrink drying was 2.25% - 2.75% from the $\leq 12\%$ requirement. The determination of the levels of the active compound of Cyanocobalamine fulfills the requirements, namely 96% - 102.0%. The results of the assay showed that the average level of Cyanocobalamine from 4 samples was 96.02%, which met the standards set by the Pharmacopeia. Indonesia Edition V as a requirement for determining the levels of the active compound Cyanocobalamine.

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan teknologi serta ilmu pengetahuan dan adanya berbagai macam penyakit, membuat kebutuhan masyarakat akan produk obat yang berkualitas meningkat, sehingga menjadikan industri farmasi sebagai produsen obat bersaing untuk menghasilkan obat yang bermutu. Mutu obat sebagai parameter mencakup berbagai aspek, yaitu aman (*safety*), berkhasiat (*efficacy*) dan dapat diterima oleh konsumen (*acceptable*). Mutu obat harus dibentuk sejak awal mulai dari penanganan bahan awal, proses produksi (pengolahan dan pengemasan), penyimpanan hingga distribusi obat [1,2].

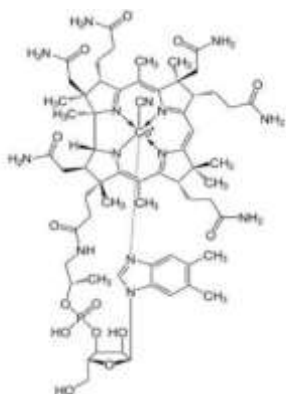
Senyawa aktif harus melalui pengujian laboratorium untuk mengetahui standar mutu untuk pembuatan obat. Senyawa aktif yang digunakan adalah vitamin B12 (*Cyanocobalamine*) dimana harus memenuhi spesifikasi atau standar yang ditetapkan meliputi pemerian, uji susut pengeringan dan kadar *Cyanocobalamine* dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Vitamin B12 (*Cyanocobalamine*) berfungsi untuk membantu pertumbuhan sel darah merah dan mencegah penyakit anemia pernisirosa. Anemia pernisirosa yaitu penyakit kekurangan zat besi dalam darah yang menyebabkan penyakit anemia. Anemia pernisirosa dapat disembuhkan saat mengonsumsi 100-200 gram hati sapi. Karena vitamin B12 ini hanya terdapat pada hewan khusus nya hati sehingga penyakit anemia ini bisa disembuhkan oleh obat vitamin B12 (*Cyanocobalamine*) [2,3].

Sumber Vitamin B12 dari makanan adalah hati (ayam/sapi), daging, susu dan produk olahannya (telur, ikan, sayur, kedelai) dan produk olahan lainnya (tahu, tempe, taucu dan rumput laut), Vitamin B12 diproduksi juga oleh banyak mikroorganisme. Vitamin B12 memiliki stabilitas yang tinggi terhadap panas, sehingga vitamin B12 dalam bahan pangan yang dimasak dapat dipertahankan. Namun, vitamin B12 menunjukkan rangsangan yang tinggi terhadap cahaya, oksigen, serta lingkungan yang asam atau basa [4].

Vitamin B12 (*Cyanocobalamine*) memiliki pemerian hablur merah tua atau serbuk hablur merah, mudah larut dalam air dan dalam etanol, tidak larut dalam aseton, kloroform, dan eter. Vitamin B12 memiliki bentuk anhidrat dan sangat higroskopik. Jika terpapar udara menyerap air tidak lebih dari 12%. *Cyanocobalamine* mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102%, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. (FIV, 2014). Vitamin B12 dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan menggunakan pelarut air dengan panjang gelombang maksimum 361 nm (USP 38 – NF 33, 2015) [1,5,6].

Molekul vitamin B12 memiliki dua bagian yang khas yaitu bagian yang menyerupai nukleotida dimana 5,6 dimetil benzimidazol terikat pada D-ribosa melalui ikatan glikosida bagian ribosa mengandung gugus fosfat pada posisi 3, dan bagian pusat suatu sistem cincin “corrin” yang menyerupai forfirin tetapi mengandung atom cobalt. Keempat atom nitrogen dibagian dalam cincin “corrin” terikat pada sebuah atom Co dan karena itulah vitamin B12 sering disebut sebagai kobalamin. Pada bentuk yang biasa diisolasi, misalnya dari hati, keenam koordinatnya tersebut mengikat 5-deoksiadenosin melalui gugus metilnya [7].



Gambar 1. Rumus Bangun Vitamin B12

Nama Kimia : ∞ - (5,6-dimethylbenzimidazolyl) cobamidcyanide
 Rumus Molekul : C₆₃H₈₈CoN₁₄P
 Berat Molekul : 1355,37
 Pemerian : Serbuk kristal merah tua
 Kelarutan : Mudah larut dalam air dan dalam etanol, tidak larut dalam Aseton, kloroform, dan eter.

Berdasarkan sifat Vitamin B12 yang tidak stabil dengan udara dan cahaya maka penentuan kadar *Cyanocobalamine* dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang maksimum 361 nm. Menurut european pharmacopoeia panjang gelombang untuk *Cyanocobalamine* mempunyai dua panjang gelombang maksimum yaitu pada 361 nm dan 550 nm.

Panjang gelombang 361 nm merupakan panjang gelombang mutlak untuk menentukan kadar senyawa aktif *Cyanocobalamine* sedangkan panjang gelombang maksimum untuk sampel obat bisa menggunakan panjang gelombang 361 nm dan 550 nm tergantung dari sifat obat yang dianalisis [1,6].

METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia dengan menggunakan, aquades, aseton, etanol (96%). Sampel yang digunakan *Cyanocobalamine* Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat Spektrofotometri UV-Vis, labu ukur 200 mL dan 500 mL, erlenmeyer 100 mL, cawan penguap, timbangan analitik, bulp, pipet tetes, *hot plate*, spatula, pipet gondok 1 ml, gelas ukur 100 ml, tabung kecil 10 ml.

Pemerian

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan masing-masing dengan air, aseton dan etanol (96%), lalu diamati warna, wujud dan kelarutan.

Susut Pengeringan

ditimbang cawan penguap kosong (A gram). Ditimbang 40 mg sampel kedalam cawan penguap, dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam dengan menggunakan Hot Plate. Dinginkan dalam desikator lalu timbang (B gram). Syarat susut pengeringan dari *Cyanocobalamine* adalah ≤ 12 %.

Penetapan Kadar

Sebanyak 100 mg *Cyanocobalamine* dilarutkan dalam labu ukur 500 ml dengan Aquades (larutan 1). Lalu Dipipet 25 ml larutan 1 dan dilarutkan dalam labu ukur 200 ml dengan Aquades. Diukur absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 361 nm dengan menggunakan blanko aquades. Diukur sebanyak 4 sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pemerian

Hasil yang diperoleh dari Uji Pemerian yaitu Kristal berwarna merah kegelapan, mudah larut dalam air dan etanol (96%), tidak larut dalam aseton, kloroform dan eter. Bahan tidak berair dan sangat higroskopik. Berdasarkan parameter uji pemerian, sampel yang diuji sama dengan spesifikasi *Cyanocobalamine* yaitu, serbuk hablur berwarna merah kegelapan dan dapat larut dalam air. Pengujian pemerian ini dilakukan secara visual. Pengujian pemerian dilakukan untuk melihat fisik dari *Cyanocobalamine*, agar disaat pembuatan obat jadi tersebut memenuhi kriteria syarat secara fisik. Karena jika secara fisik *Cyanocobalamine* tidak memenuhi

syarat, maka obat yang akan dihasilkan tidak memenuhi standar dari obat jadi, dikarenakan fisik dari *Cyanocobalamine* yang tidak sesuai.



Gambar 2. Hasil Sampel dengan Pelarut air

Uji Susut Pengerinan

Hasil yang didapatkan saat uji Susut Pengerinan yaitu $\leq$

12% sesuai dengan standar yang telah ditetapkan oleh Farmakope Indonesia Edisi V. Susut pengerinan adalah untuk melihat adanya zat mudah menguap ataupun adanya kadar air yang ada pada sampel tersebut. Sedangkan parameter uji dari kadar *Cyanocobalamine* dilakukan untuk memastikan kadar yang terkandung ke dalam sampel *Cyanocobalamine* tersebut.

Uji susut pengerinan dilakukan untuk melihat adanya zat mudah menguap ataupun adanya kadar air yang ada pada sampel tersebut yang nantinya akan menentukan kadar kering dari *Cyanocobalamine*. Uji susut pengerinan ditentukan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel tersebut. Pada tabel 4.1 kadar air dalam sampel *Cyanocobalamine* didapatkan sebesar 2,25 % - 2,75%. Syarat dari susut pengerinan adalah ≤ 12 %, Hasil telah memenuhi standar yang ditetapkan *Pharmacopeia*.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kadar Susut Pengerinan

No	Berat cawan kosong + sampel sebelum susut pengerinan	Berat cawan kosong + sampel sebelum susut pengerinan	Berat sampel tertimbang (gram)	Hasil susut pengerinan (LOD)	Hasil (%)
1	27,2091	27,2082	0,0400	0,0225	2,25
2	26,2792	26,2783	0,0400	0,0225	2,25
3	26,6120	26,6109	0,0402	0,0273	2,73
4	26,3103	26,3092	0,0400	0,0275	2,75
Standar menurut Pharmacopeia					≤ 12

Penentuan Kadar *Cyanocobalamine*

Penentuan kadar dilakukan dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 361 nm.

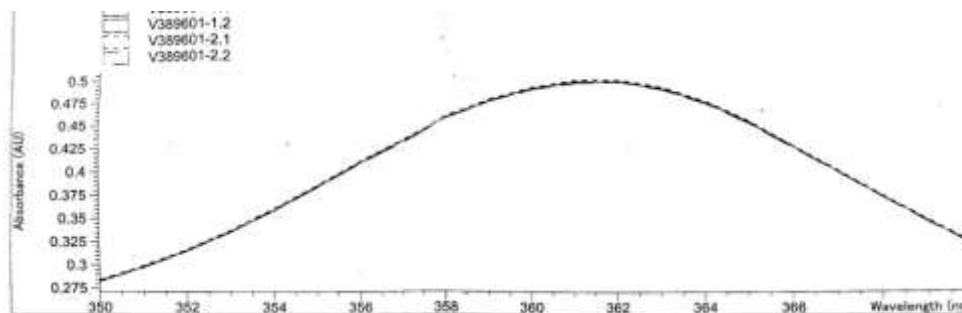
Tabel 2 Hasil Penetapan Kadar *Cyanocobalamine*

No.	Berat (mg)	Absorban	Hasil (%)
1.	100,10	0,49700	95,96
2.	100,01	0,49589	95,83
3	100,06	0,49866	96,32
4	100,07	0,49686	95,97
Rata-rata			96,02
Standar Menurut Pharmacopeia			96-102

Penentuan kadar *Cyanocobalamine* dilakukan dengan

metode Spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan panjang gelombang maksimum pada literatur adalah 361 nm dan menggunakan pelarut air yang mudah larut dalam *Cyanocobalamine*, hasil yang didapatkan yaitu 96,02%. Jika dosis atau kadar dari *Cyanocobalamine* kurang, maka obat tersebut tidak berfungsi sebagaimana mestinya dan jika kadar *Cyanocobalamine* melebihi dosis maka akan diekskresikan melalui urin. Oleh karena itu harus dilakukan pengujian senyawa aktif *Cyanocobalamine* secara akurat sesuai dengan standar.

Kadar *Cyanocobalamine* yang didapatkan memenuhi syarat yang ditentukan yaitu 96,0-102,0%. Tingginya syarat kadar *Cyanocobalamine* dikarenakan kadar ini akan mengalami penurunan pada produksi nantinya.



Gambar 3. Hasil Absorbansi Penentuan kadar *Cyanocobalamine* dengan Spektrofotometer

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di dapatkan kesimpulan bahwa senyawa aktif *Cyanocobalamine* pada uji susut pengeringan didapatkan sebesar 2,25 % - 2,75 %. Dan kadar *Cyanocobalamine* sebesar 96,02%. Sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi V.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim, *United States Pharmacopeia 38 th edition.*, Rockville, MD United States Pharmacopeia Convention, 2015 pp 2965-2966.
- [2] Lukman Hakim, Farmakoniketik: Pengembangan Obat-Kalkulasi Regigimen Dosis-Pengendalian Mutu Obat, 2018, Bursa Ilmu, Yogyakarta.
- [3] Amalia Hanif, Pemastian Mutu Obat, 2006, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- [4] Gille,,D.,Schmid,A. Vitamin B12 in Meet And Dairy Product Nutr Rev 73, 2015, pp 106-115.
- [5] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia Edisi V Buku II* Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014.
- [6] Hardjono, S. Dasar-Dasar Spektroskopi. 2019. UGM Press. Yogyakarta.
- [7] Kim,J., Gherasm,C, et al,. Decyanation of Vitamin B12 by A Trafficking Chaperone. Proc.Natl Acad. Sci. USA 105, 2008, pp 14551-14554.