

**PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR PROMETAZIN HCI DAN
KARBOSISTEIN DALAM SEDIAAN SIRUP DENGAN METODE KCKT**

Laporan Tugas Akhir

MOHAMAD AKBAR

12161025



Universitas Bhakti Kencana

Fakultas Farmasi

Program Strata I Farmasi

Bandung

2020

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR PROMETAZIN HCI DAN
KARBOSISTEIN DALAM SEDIAAN SIRUP DENGAN METODE KCKT**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

MOHAMAD AKBAR


12161025

Bandung, 20 Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Drs.apt.Indro Pamudjo,M.Si)



(apt.Winasih Rachmawati)

ABSTRAK

PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR PROMETAZIN HCl DAN KARBOSISTEIN DALAM SEDIAAN SIRUP DENGAN METODE KCKT

Oleh :

MOHAMAD AKBAR

12161025

Salah satu sediaan sirup obat batuk alergi yang beredar adalah kombinasi dari Prometazin HCl dan karbosistein. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengembangkan metode analisis penetapan kadar dari campuran prometazin HCl dan karbosistein menggunakan metode KCKT secara simultan. Pada penelitian ini dilakukan optimasi Uji Kesesuaian Sistem terhadap fase gerak dan kolom KCKT untuk memperoleh pemisahan kromatogram yang baik serta bentuk kromatogram yang memenuhi persyaratan yang diharapkan. Sistem KCKT yang digunakan adalah kolom Shimadzu 5 μ m C₁₈ (4,6 mm x 150 mm), fase gerak asetonitril : air pH 3 (40:60), laju alir 0,8 mL/menit, dan detektor UV 220 nm. Pada kondisi optimum, metode yang digunakan memberikan hasil UKS prometazin HCl dan karbosistein adalah %RSD 0,546% dan 0,616%, kurva kalibrasi prometazin HCl dan karbosistein dengan persamaan regresi linear $y = 19803,4739x - 29802,0095$ dengan nilai korelasi $r = 0,99965$ dan $y = 51797,3479x + 19511,2754$ dengan nilai korelasi $r = 0,99995$, Batas deteksi dan batas kuantisasi prometazin HCl dan karbosistein adalah 1,583 bpj dan 64,450 bpj. Batas kuantisasi prometazin HCl dan karbosistein adalah 4,798 bpj dan 195,303 bpj, Nilai simpangan baku relatif (SBR) 0,894% dan 0,404% dengan Perolehan kembali sebesar 98,67% -100,794% dan 98,14%–100,58%, penetapan kadar uji diperoleh 100,939% dan 116,852%.

Kata kunci : Sediaan sirup, KCKT, Prometazin HCl dan karbosistein

ABSTRACT

DEVELOPMENT METHODS FOR DETERMINING PROMETAZIN HCl AND CARBOSICTEIN LEVELS IN SYNTHESIS WITH HPLC METHOD

By :

MOHAMAD AKBAR

12161025

One of the circulating allergy cough syrup preparations is a combination of Prometazin HCl and carbocysteine. This study was intended to develop a method of analyzing levels of the mixture of prometazine HCl and carbocysteine using the HPLC method simultaneously. In this research an optimization of the System Suitability Test for the mobile phase and HPLC column is performed to obtain a good chromatogram separation and chromatogram shape that meets the expected requirements. The HPLC system used was a Shimadzu 5 μ m C18 column (4.6 mm x 150 mm), the mobile phase of acetonitrile: water pH 3 (40:60), a flow rate of 0.8 mL / min, and a 220 nm UV detector. Under the optimum conditions, the method used to produce UKS prometazine HCl and carbocysteine is % RSD 0.546% and 0.616%, the prometainal calibration curves of HCl and carbocysteine with linear regression equation $y = 19803.4739x - 29802.0095$ with a correlation value of $r = 0.99965$ and $y = 51797,3479 x + 19511,2754$ with a correlation value of $r = 0.99995$, the detection limit and the limit of quantization of prometazine HCl and carbocysteine are 1,583 ppm and 64,450 ppm. The limit of quantification of prometazine HCl and carbocysteine is 4.798 ppm and 195.303 ppm, the determination of the relative standard deviation (SBR) of 0.894% and 0.404% with the recovery of 98.67%-100.794% and 98.14%-100.58%, the determination of the test standard obtained 100.939% and 116.852%.

Keywords: Syrup preparation, HPLC, Promethazin HCl and carbocysteine.

KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, taufik serta hidayah-Nya kepada Penulis, sehingga pada kesempatan ini Penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul “PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR PROMETAZIN HCl DAN KARBOSISTEIN DALAM SEDIAAN SIRUP DENGAN METODE KCKT” ini dengan baik dan tepat pada waktunya.

Laporan Tugas Akhir merupakan salah satu mata kuliah yang ditentukan oleh program studi Farmasi Universitas Bhakti Kencana dan harus diikuti oleh seluruh mahasiswa semester 8 sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan program studi S1. Penyusunan laporan tugas akhir ini Penulis mendapatkan banyak bantuan moril maupun materil dari berbagai pihak. Kesempatan ini Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini.
2. Ibu Siti Fatimah selaku orang tua yang telah memberikan do'a dan semangat yang mengalir tiada hentinya.
3. Taufik Sanubari, Sri Suhartini, Jakaria selaku Supervisor di laboratorium PT.Errita yang telah memberikan saran, bantuan materil dan hal lainnya kepada penulis hingga menyelesaikan laporan ini.
4. Drs. Indro Pamudjo, M.Si., Apt., Winasih Rachmawati, M.Si., Apt selaku pembimbing yang telah berkenan memberikan waktu, tenaga serta pikirannya untuk membimbing serta memberikan petunjuk dan nasehat yang berarti.
5. Bapak Taufiq Agussalam, S.Farm., Apt. selaku *Head of Quality Control Department* yang telah memberikan kesempatan penulis untuk dapat melakukan kegiatan penelitian di Laboratorium QC PT.Errita Pharma.
6. Seluruh analis Laboratorium QC PT Errita Pharma yang telah memberikan pelajaran dan pengalaman yang berharga dan membantu selama kegiatan penelitian berlangsung khususnya Bpk. Taufik Sanubari.ST.

7. Teman-teman S1 Farmasi 2016 yang saling menyemangati, membagi informasi dan membantu untuk memberikan ide-ide yang dibutuhkan penulis khususnya teman hidup saya Annisa Agtrinurcholis.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini, oleh karena itu segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun sangat Penulis harapkan. Besar harapan Penulis agar laporan ini dapat bermanfaat khususnya bagi Penulis dan umumnya untuk semua pihak yang membutuhkan.

Bandung, Agustus 2020

Mohamad Akbar

DAFTAR ISI

Contents

ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	1
DAFTAR LAMPIRAN	Error! Bookmark not defined.
BAB I. PENDAHULUAN	2
I.1 Latar belakang	2
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan dan manfaat penelitian	3
I.4 Manfaat penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Prometazin HCl	4
II.2 Karbosistein	4
II.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	5
II.4 Validasi Metode	7
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	11
BAB IV. ALAT DAN BAHAN	12
IV. 1 Alat	12
IV. 2 Bahan	12
BAB V. PROSEDUR PENELITIAN	13
V.1 Pemilihan Sampel	13
V.2 Pembuatan Larutan HCl 0,1 N	13
V.3 Pembuatan Larutan Standar	13
V.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	13
V.5 Pembuatan H₂O pH 3	13
V.6 Pembuatan Fase gerak	13
V.7 Optimasi Laju alir dan Fase gerak	14
V.8 Analisa Validasi Metode	14
1. Selektivitas atau Spesifisitas	14
2. Linearitas dan Rentang	15
3. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	15
4. Presisi (Keseksamaan)	15

5. Akurasi (Rekoveri).....	15
V.9 Penetapan Kadar Sampel.....	16
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
VI.1 Hasil Penelitian.....	17
VI.2 Pembahasan.....	26
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
VII.1 KESIMPULAN.....	33
VII.2 SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34

DAFTAR TABEL

TABEL II. 1 TABEL DATA PARAMETER VALIDASI VALIDASI (BPOM., 2012)	7
TABEL V. 1 TABEL KRITERIA PENERIMAAN UKS (DEPKES RI., 2014)	14
TABEL V. 2 PENIMBANGAN SAMPEL SIMULASI	16
TABEL VI. 1 Hasil Optimasi Fase Gerak Dan Laju Alir Larutan Standar Karbosistein 800 bpj Dan Prometazin HCl 20 bpj	20
TABEL VI. 2 DATA HASIL KESESUIAN SISTEM PROMETAZIN HCL 20 BPJ DAN KARBOSISTEIN 800 BPJ	20
TABEL VI. 3 DATA HASIL UJI SPESIFIKASI LARUTAN STANDAR, LARUTAN SAMPEL SIMULASI, FASE GERAK, PELARUT DAN PLASEBO	21
TABEL VI. 4 DATA UJI LINIERITAS KARBOSISTEIN	21
TABEL VI. 5 DATA UJI LINIERITAS PROMETAZIN HCL	22
TABEL VI. 6 TABEL HASIL BATAS DETEKSI DAN BATAS KUANTITASI KARBOSISTEIN	23
TABEL VI. 7 TABEL HASIL NILAI BATAS DETEKSI DAN BATAS KUANTITASI PROMETAZIN HCL	23
TABEL VI. 8 DATA HASIL PERHITUNGAN PRESISI KARBOSISTEIN	24
TABEL VI. 9 DATA HASIL PERHITUNGAN PRESISI PROMETAZIN HCL	24
TABEL VI. 10 HASIL PERHITUNGAN AKURASI KARBOSISTEIN	24
TABEL VI. 11 DATA HASIL PERHITUNGAN AKURASI PROMETAZIN HCL	25
TABEL VI. 12 DATA HASIL PERHITUNGAN PENETAPAN KADAR SEDIAAN SIRUP KARBOSISTEIN	25
TABEL VI. 13 DATA HASIL PERHITUNGAN PENETAPAN KADAR SEDIAAN SIRUP PROMETAZIN HCL	25

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR II. 1 STRUKTUR PROMETAZIN HCL (KIM ET AL., 2019)	4
GAMBAR II. 2 STRUKTUR KARBOSISTEIN (KIM ET AL., 2019)	4
GAMBAR II. 3. INSTRUMEN KCKT (ZAITUNAH & HUT., 2002)	6
GAMBAR VI. 1 HASIL PENENTUAN PANJANG GELOMBANG PROMETAZIN HCL 10 BPJ.....	17
GAMBAR VI. 2 HASIL PENENTUAN PANJANG GELOMBANG KARBOSISTEIN 10 BPJ	17
GAMBAR VI. 3 STANDAR TUNGGAL PROMETAZIN HCL 20 BPJ DETEKTOR 249 NM	18
GAMBAR VI. 4 STANDAR TUNGGAL KARBOSISTEIN 800 BPJ DETEKTOR 249 NM.....	18
GAMBAR VI. 5 HASIL OPTIMASI FASE GERAK DAN KOLOM KCKT DETEKTOR 249 NM.....	19
GAMBAR VI. 6 HASIL OPTIMASI FASE GERAK DAN KOLOM KCKT DETEKTOR 249 NM.....	19
GAMBAR VI. 7 HASIL OPTIMASI FASE GERAK DAN KOLOM KCKT DETEKTOR 249 NM.....	19
GAMBAR VI. 8 KURVA KALIBRASI KARBOSISTEIN.....	22
GAMBAR VI. 9 KURVA KALIBRASI PROMETAZIN HCL	22

BAB I. PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Indonesia merupakan negara dengan tingkat polusi udara yang kurang baik ke-11 di dunia, hal ini disebabkan oleh pencemaran udara seperti kendaraan bermotor, kegiatan industri, perokok, dan lainnya, pencemaran udara ini menyebabkan penyakit salah satunya seperti batuk yang banyak di derita oleh anak-anak maupun orang dewasa lainnya. (Lu et al., 2015).

Berbagai jenis sediaan obat batuk sudah diproduksi oleh industri farmasi salah satunya sediaan sirup batuk alergi. Salah satu sediaan sirup obat batuk alergi yang beredar adalah kombinasi dari Prometazin HCl dan karbosistein. Prometazin HCl berfungsi sebagai antagonis reseptor atau sebagai anti alergi sementara karbosistein berfungsi sebagai agen mukolitik yaitu pengencer dahak.

Berdasarkan USP 40 NF 35 Volume 2, 2017 pemeriksaan kadar prometazin dalam sirup dilakukan dengan metode spektrofotometri dengan panjang gelombang maksimum 249 nm dengan pelarut asam. Berdasarkan Farmakope China Volume 2 tahun 2005 pemeriksaan penetapan kadar karbosistein dilakukan dengan metode titrasi bromatometri.

Berdasarkan dari hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Njuguna et al., 2017 tentang penetapan kadar prometazin HCl dan dipenhidramin dengan fase gerak metanol-trietilamin-ammonium asetat 0,2 M pH 5,0 (50:0,15:9,85) dan kolom Gemini C₈ (250 mm × 4,6 mm) pada panjang gelombang 254 nm menghasilkan waktu retensi 16 menit, untuk karbosistein berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Burugu & Venkateshwarlu, 2012 tentang stabilitas metode ultra kromatografi cair kinerja (UKCK) dalam penentuan kadar karbosistein dengan fase gerak 0,01M ammonium dihidrogen orto fosfat buffer (pH 2,5) dengan H₃PO₄ dan kolom nukleosil C18 3µm (100 mm x 4,6 mm) pada panjang gelombang uv 220 nm menghasilkan waktu retensi 3 menit, dengan retensi waktu 11 menit.

Metode analisis yang telah dipublikasikan seringkali dimodifikasi untuk menyesuaikan kondisi dengan peralatan yang tersedia di laboratorium pengujian serta campuran zat aktif dalam suatu sediaan. Modifikasi ini harus divalidasi untuk memastikan pelaksanaan pengujian yang sesuai dari metode analisis. Dalam penelitian ini dimaksudkan untuk mengembangkan metode analisis dari campuran Prometazin HCl dan

Karbosistein menggunakan KCKT dengan modifikasi campuran fase gerak dan laju. Kelebihan dari KCKT ini jika dibandingkan dengan metode yang lain ialah dapat digunakan untuk penetapan kadar dengan berbagai komponen, waktu yang lebih cepat, resolusi yang baik, dapat digunakan untuk penetapan kadar dengan kandungan zat aktif kecil, serta kolom yang digunakan dapat digunakan kembali.

I.2 Rumusan masalah

1. Apakah sediaan campuran Prometazin HCl dan Karbosistein dapat di analisis dengan menggunakan metode KCKT secara simultan.
2. Apakah kadar Prometazin HCl dan Karbosistein dalam sediaan dipasaran memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia.

I.3 Tujuan dan manfaat penelitian

1. Melakukan Uji Kesesuaian Sistem dan validasi metode Spesifisitas, Linearitas, Presisi dan Akurasi.
2. Melakukan penetapan kadar sediaan sirup dipasaran.
3. Membandingkan hasil uji dengan persyaratan Farmakope Indonesia.

I.4 Manfaat penelitian

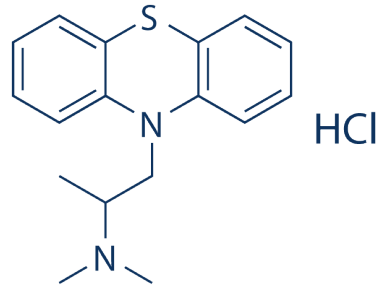
1. Mendapatkan data autentik yang sesuai dengan hasil validasi metode
2. Sumber data awal pengembangan metode analisis selanjutnya bagi mahasiswa Fakultas Farmasi UBK.
3. Sebagai Masukkan pengembangan metode sediaan sirup prometazin HCl dan Karbosistein.

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian dilakukan dilaboratorim *Quality Control* PT.Errita Pharma. Penelitian dilakukan pada bulan februari sampai bulan mei 2020.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Prometazin HCl

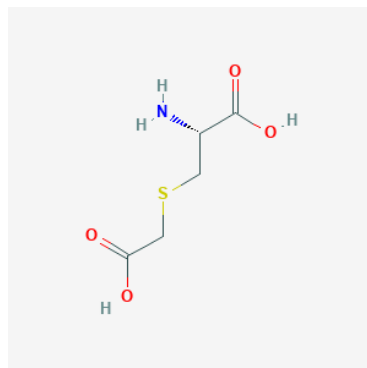


Gambar II. 1 Struktur Prometazin HCl (kim et al., 2019)

Prometazin HCl atau *N,N*-dimethyl-1-phenothiazin-10-ylpropan-2-amine;hydrochloride memiliki rumus molekul $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ dengan berat molekul 320,9 g/mol. Prometazin HCl mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,5% $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ dihitung terhadap zat anhidrat. Pemerian serbuk hablur, putih sampai kuning lemah, praktis tidak berbau, jika dibiarkan lama diudara bewarna biru. Sangat mudah larut dalam etanol mutlak panas dan dalam kloroform, praktis tidak larut dalam eter, dalam aseton, dan dalam etil asetat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014; Rowe et al., 2009)

Promethazine HCl merupakan generasi pertama antagonis reseptor H1 derivat dari Phenothiazine yang digunakan secara medis sebagai antihistamin, antiemetik, serta memberikan efek sedatif. (PIONAS BPOM, 2015)

II.2 Karbosistein



Gambar II. 2 Struktur Karbosistein (kim et al., 2019)

Karbosistein atau *S-Carboxymethyl-L-Cysteine* memiliki rumus molekul $C_5H_9NO_4S$ dengan berat molekul 179,19 g/mol. Karbosistein mengandung tidak kurang 98,0% dan tidak lebih dari 101,5% $C_5H_9NO_4S$, dihitung terhadap zat yang dikeringkan. Karbosistein memiliki pemerian Bubuk kristal putih; bau, sedikit larut dalam air panas; sangat sedikit larut dalam air; tidak larut dalam etanol atau aseton; bebas larut dalam larutan asam atau basa. (Pharmacopeia Republic Of China vol 2.2005).

Karbosistein merupakan golongan anti mukolitik yang digunakan untuk mengatasi batuk berdahak yang dapat mengurangi viskositas sputum (PIONAS BPOM, 2015).

II.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah suatu metoda pemisahan yang dapat digunakan untuk uji identitas, uji kemurnian dan penetapan kadar. Titik beratnya adalah untuk analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap dan tidak stabil pada suhu tinggi, analisis ketidak murnian (impurities). Berbagai senyawa dapat dianalisis dengan KCKT mulai dari senyawa ion anorganik sampai senyawa organik makromolekul.

Prinsip KCKT yaitu teknik pemisahan solut atau zat zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Dalam Pemisahan solut ini diatur oleh fase gerak dan fase diam. (Zaitunah & Hut, 2002)

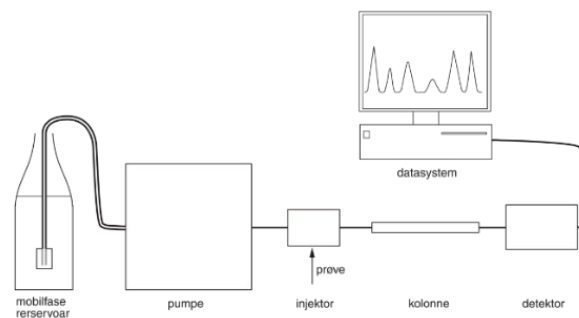
1. Kelebihan KCKT

Banyak kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan metode lainnya (TYSON, 1981) Kelebihan itu antara lain:

- a. Cepat : Waktu yang dibutuhkan analisa kurang dari 1 jam. Banyak analisis yang dapat diselesaikan sekitar 15-30 menit. Untuk analisis yang tidak rumit, waktu analisi kurang dari 5 menit bisa dicapai.
- b. Resolusi : Kromatografi Cair mempunyai dua fase dimana interaksi selektif dapat terjadi, dengan fase diam dan fase gerak pada KCKT memberikan parameter tambahan untuk mencapai pemisahan yang diinginkan.

- c. Sensitivitas detektor : detektor yang biasa digunakan dalam KCKT salah satunya adalah sinar UV yang dapat mendeteksi kadar dalam jumlah yang sangat kecil dari bermacam- macam zat dalam sampai picogram (10⁻¹² gram).
- d. Kolom yang dapat digunakan kembali : Berbeda dengan kolom kromatografik klasik, kolom KCKT dapat digunakan kembali (reversible). Banyak analisis yang dapat dilakukan dengan kolom yang sama dari jenis sampel yang diinjeksikan.
- e. Perolehan Kembali Sampel : Dalam KCKT detektor yang digunakan umumnya tidak menyebabkan kerusakan pada komponen zat aktif yang dianalisa, karena itu komponen sampel tersebut dapat dengan mudah dikumpulkan setelah melewati detektor.

2. Komponen KCKT



Gambar II. 3. Instrumen KCKT (Zaitunah & Hut., 2002)

3. Fase Gerak

Pada kromatografi cair komposisi dari pelarut atau fase gerak adalah salah satu yang mempengaruhi pemisahan. Beberapa sifat umum pada fase gerak harus :

- a. Murni, Tidak terdapat kontaminan
- b. Tidak bereaksi dengan wadah
- c. Sesuai dengan defector
- d. Melarutkan sampel
- e. Memiliki viskositas rendah
- f. Bila diperlukan, memudahkan "sample recovery"
- g. Diperdagangan dapat diperoleh dengan harga murah (reasonable price).
- h. prosedur pemumiannya kembali sangat membosankan dan mahal biayanya.

II.4 Validasi Metode

Menurut BPOM 2012 Validasi metoda adalah suatu pembuktian terhadap parameter tertentu bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode ini dilakukan untuk memastikan bahwa metode analisis mendapatkan hasil yang akurat, spesifik, keterulangan dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis.

1. Uji Kesesuaian Sistem

Menurut BPOM 2012 uji kesesuaian sistem dilakukan untuk menunjukkan bahwa sistem kromatografi memadai untuk dilakukan analisis. Parameter dari uji kesesuaian system diantaranya:

- a. Nilai resolusi diusahakan $\geq 1,5$ agar puncak satu dan yang lainnya terpisah sempurna, dapat dilakukan dengan mengubah perbandingan maupun komposisi dari fase gerak.
- b. RSD atau simpangan baku relatif ditentukan dari hasil respon area puncak atau tinggi puncak dari lima kali replikasi dinyatakan $<2\%$.
- c. Faktor ikutan puncak atau simetris (tailing factor) <2.0 , semakin besar nilai Tf maka kolom yang digunakan kurang efisien, $Tf < 1$ menunjukkan kromatogram tersebut simetris.
- d. jumlah plat teoritis > 2000 . Jumlah plat > 2000 menunjukkan ukuran efisiensi kolom baik.

Tabel II. 1 Tabel Data Parameter Validasi Validasi (BPOM., 2012)

Parameter Validasi	Identifikasi	Pengujian Impiuritas		Penetapan Kadar
		Kuantitatif	Batas	- Disolusi - Kandungan/Potensi
Akurasi	-	+	-	+
Presisi				
Ripitabilitas	-	+	-	+
Presisi Intermediat	-	+	-	+
Spesifisitas	+	+	+	+
Limit Deteksi	-	-	+	-
Limit Kuantitasi	-	+	-	-
Linearitas	-	+	-	+
Rentang	-	+	-	+

2. Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Konsentrasi analit di dalam larutan dapat ditentukan dengan

mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan rumus Hukum Lambert-beer. Menurut Hukum Lambert-beer menyatakan bahwa hubungan antara absorban dengan konsentrasi larutan analit berbanding terbalik dengan transmitan. (Jim Clark, 2017) Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam persamaan :

$$E1\% = A \times B \times C$$

E1% = Nilai Absoptivitas

A = Absorban

B = Tebal Kuvet (cm)

C = Konsentrasi

Linieritas dapat dilakukan dengan pengukuran tunggal larutan zat aktif baku kerja pada konsentrasi yang berbeda – beda. Data yang diperoleh selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (slope), intersep, dan koefisien korelasinya. Linieritas dapat dilihat melalui kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara respon dengan konsentrasi analit pada beberapa seri larutan baku. Dari kurva kalibrasi ini kemudian akan ditemukan regresi linearnya yang berupa persamaan $y=bx+a$, dimana x adalah konsentrasi, y adalah respon, a adalah intersep y yang sebenarnya dan b adalah slope yang sebenarnya. Tujuan dari dibuatnya regresi ini adalah untuk menentukan estimasi terbaik untuk slope dan intersep y sehingga akan mengurangi residual error, yaitu perbedaan nilai hasil percobaan dengan nilai yang diprediksi melalui persamaan regresi linear.

Sebagai parameter adanya hubungan linear digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linear. Hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai b adalah 0 dan r adalah +1 atau -1 tergantung arah garis (BPOM, 2012).

3. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi merupakan jumlah analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi (*Limit Of Detection*) dapat dihitung secara statistik dengan persamaan :

$$LOD = \frac{3 \times SD}{Slope}$$

Batas kuantitasi merupakan jumlah analit terkecil dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria. Batas Kuantitasi (*Limit Of Quality*) dapat dihitung secara statistik dengan persamaan :

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{Slope}$$

4. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dapat dikatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery) analit yang ditambahkan. Akurasi merupakan ketepatan metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan.

Terdapat tiga cara yang dapat digunakan untuk menentukan akurasi suatu metode analisis yaitu:

- a. Uji perolehan kembali atau perolehan kembali dengan memasukkan analit ke dalam matriks blanko (*spiked placebo*).
- b. Penambahan baku pada matriks sampel yang mengandung analit (*standard addition method*) (Yuwono & Indrayanto, 2005).

5. Presisi

Presisi atau keseksamaan adalah ukuran kedekatan hasil analisis diperoleh dari serangkaian pengukuran ulangan dari ukuran yang sama. Hal ini mencerminkan kesalahan acak yang terjadi dalam sebuah metode. Penentuan presisi dapat dibagi menjadi tiga kategori yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*).

Presisi antara (*intermediate precision*), ketertiruan (*reproducibility*) dan keterulangan merupakan ketepatan yang ditentukan pada laboratorium yang sama oleh satu analis serta menggunakan peralatan dan dilakukan pada hari yang sama. Presisi antara merupakan ketepatan pada kondisi percobaan pada laboratorium yang sama oleh analis, peralatan, reagen, dan kolom yang berbeda. Ketertiruan mempresentasikan presisi hasil yang dapat dilakukan pada tempat yang lain dengan tujuan untuk memverifikasi bahwa metode akan menghasilkan hasil yang sama pada fasilitas tempat yang berbeda (Yuwono & Indrayanto, 2005). Keseksamaan dapat dihitung dengan persamaan :

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

KV = Koevisien Korelasi

SD = Simpangan Deviasi

X = Kadar Rata-rata

6. Spesifisitas atau Selektivitas

Menurut (USP, 2017) Spesifisitas atau Selektivitas merupakan suatu analisa yang dilakukan untuk mengukur analit yang spesifik secara tepat dengan adanya komponen – komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks.

Dalam teknik kromatografi, selektivitas dapat dibuktikan dengan pemisahan yang baik antara analit dengan kompinen yang lain. Bukti dari persyaratan ini didapatkan resolusi analit dari komponen lain lebih besar dari 1,5 – 2,0.