

**PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR
TEOFILIN DAN EFEDRIN HIDROKLORIDA PADA
TABLET KOMBINASI SECARA SIMULTAN
DENGAN METODE KCKT**

SKRIPSI TUGAS AKHIR

DEA NADIA ULFA

(13171011)



**UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
PROGRAM STUDY STRATA 1 FARMASI
BANDUNG
2019**

**PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR
TEOFILIN DAN EFEDRIN HIDROKLORIDA PADA TABLET
KOMBINASI SECARA SIMULTAN DENGAN METODE
KCKT**

SKRIPSI TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan

Program Strata Satu

DEA NADIA ULFA

13171011

Bandung, Mei 2019

Menyetujui

Pembimbing I



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

Pembimbing I



(Emma Emawati, M.Si., Apt)

ABSTRAK

PENGEMBANGAN METODE PENETAPAN KADAR TEOFILIN DAN EFEDRIN HIDROKLORIDA PADA TABLET KOMBINASI SECARA SIMULTAN DENGAN METODE KCKT

Oleh :

Dea Nadia Ulfa

13171011

Asma merupakan suatu penyakit yang menyerang sistem pernapasan sehingga menyebabkan sesak dada, batuk dan mengi berulang. Kombinasi teofilin dan efedrin HCl digunakan untuk meredakan asma. Menurut Farmaope V teofilin kadarnya ditentukan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan efedrin HCl dengan cara titrasi bebas air menggunakan asam perkolat 0,1 N LV. Telah dilakukan pengembangan metode analisis kombinasi teofilin dan efedrin HCl dengan metode KCKT. Validasi metode analisis kombinasi teofilin dan efedrin HCl menggunakan kolom C₁₈ (150×4,6 mm) fase gerak metanol dan air 40:60, laju alir 1 ml/menit, waktu elusi 15 menit, sistem elusi isokratik, detektor ultraviolet dan panjang gelombang 265 nm. Hasil penelitian diperoleh nilai linieritas teofilin R² = 0,9996 efedrin HCl R² = 0,9981. Nilai LoD dan LoQ teofilin 2,96 bpj dan 9,87 bpj dan efedrin HCl 0,60 bpj dan 2,01 bpj. Uji presisi teofilin 0,29% dan efedrin HCl 1,85%. Uji akurasi untuk teofilin dan efedrin HCl 80% : (98,02%:99,30%); 100%: (101,49%:99,66%); 120% : (99,83%:99,10)%. Uji spesifitas teofilin 24,139 dan efedrin HCl 5,269.

Kata Kunci: *Efedrin Hidroklorida, KCKT, Teofilin, Validas*

ABSTRACT

DEVELOPMENT METHOD OF DETERMINATION THEOPHYLLINE AND EFEDRINE HYDROCLORIDA ON SIMULTANEOUS COMBINATION TABLET USING HPLC

By :

Dea Nadia Ulfa

13171011

Asthma is a disease that attacks the respiratory system and causes tightness, coughing and wheezing repeatedly. The combination of theophylline and ephedrine HCl is used to relieve asthma. According to the Farmaope V, these drugs contain HCV by means of free water titration using 0.1 N percolate acid LV. The method of combining theophylline and ephedrine HCl with the HPLC method has been developed. Validation of theophylline and ephedrine HCl combination analysis method using C18 column (150 × 4.6 mm) methanol and air phase 40:60, flow rate of 1 ml / minute, 15 minutes elution time, isocratic elution system, ultraviolet detector and wavelength 265 nm. The results showed that theophylline R2 = 0.9996 ephedrine HCl R2 = 0.9981. Theophylline LoD and LoQ values were 2.96 ppm and 9.87 ppm and ephedrine HCl 0.60 ppm and 2.01 ppm. Theophylline precision test 0.29% and ephedrine HCl 1.85%. Accuracy test for theophylline and 80% ephedrine HCl: (98.02%: 99.30%); 100%: (101.49%: 99.66%); 120%: (99.83%: 99.10)%. Test theophylline specificity 24,139 and ephedrine HCl 5,269.

Keywords: *Ephedrine Hydrochloride, HPLC, Theophylline, Validatio*

KATA PENGANTAR

Asalamualaikum wr, wb

Dengan memanjatkan puji dan sukur kehadiran Allah SWT atas segala berkah, rahmat serta karunia-Nya yang telah memberikan kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “Pengembangan Metode Penetapan Kadar Teofilin dan Efedrin Hidroklorida Pada Tablet Kombinasi Secara Simultan Dengan metode KCKT” yang disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan STRATA 1 pada program studi Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya terutama kepada Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan kemudahan dalam penyelesaian laporan tugas akhir dan terwujudnya laporan tugas akhir ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari semua pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak H. Mulyana, SH., M.Pd., MH.Kes selaku ketua Yayasan Adhi Guna Kencana.
2. Bapak Dr. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt. selaku ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
3. Ibu Lia Marliani, M.Si., Apt selaku ketua Program Studi Strata Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

4. Bapak Drs. Indro Pamudjo, M.Si.,Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktu, saran selama penulis menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini.
5. Ibu Emma Emawati,M.Si,Apt. selaku dosen Pembimbing serta yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan saran selama penulis menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini.
6. Seluruh dosen dan staff program studi Farmasi yang telah memberikan bantuan yang sangat berharga selama penulis mengikuti perkuliahan.
7. Bapak Feri Dali,SE dan Ibu Irawati selaku orang tua yang telah memberikan motifasi, semangat dan material dalam menyelesaikan perkuliahan.
8. Rekan-rekan se-Almamater dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Laporan Tugas Akhir ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena ini penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak agar laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca dan pengembang ilmu pengetahuan.

Wasalamualaikum wr.wb

Bandung, Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	ix
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
Bab II Tinjauan Pustaka	4
II.1 Asma.....	4
II.2 Tablet Kombinasi Teofilin dan Efedrin Hidroklorida.....	5
II.3 Teofilin	5

II.4 Efedrin Hidroklorida.....	7
II.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	8
II.6 Validasi.....	12
II.7 Penetapan Kadar	15
II.8 Definisi Operasional	16
Bab III Metode Penelitian.....	18
Bab IV Alat dan Bahan.....	19
IV.1 Alat.....	19
IV.2 Bahan	19
Bab V Prosedur Kerja.....	20
V.1 Preparasi Larutan Standar	20
V.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	20
V.3 Optimasi Kondisi Analisis.....	21
V.4 Penentuan Waktu Retensi.....	21
V.5 Uji Kesesuaian Sistem.....	21
V.6 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar.....	22
V.7 Pembuatan <i>Spiked Placebo</i>	23
V.8 Validasi Metode	24

V.9 Penetapan Kadar Sampel.....	26
V.10 Pengolahan dan Analisis Data	27
Bab VI Hasil dan Pembahasan	28
VI.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	28
VI.2 Optimasi Kondisi Analisis	30
VI.3 Penentuan Watu Retensi	32
VI.4 Uji Kesesuaian Sistem	34
VI.5 Validasi Metode Analisis	37
VI.6 Penetapan Kadar Sampel.....	45
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia Teofilin	5
Gambar 2.2 Struktur Efedrin Hidroklorida	7
Gambar 2.3 Sistem	9
Gambar 2.4 Injektor.....	10
Gambar 6.1 Panjang Gelombang Teofilin	28
Gambar 6.2 Panjang Gelombang efedrin Hidroklorida	29
Gambar 6.3 Kromatografi Teofilin.....	32
Gambar 6.4 Kromatografi Efedrin Hidroklorida	32
Gambar 6.5 Kromatografi Teofilin-Efedrin Hidroklorida	33
Gambar 6.6 Kurva Kalibrasi Standar Teofilin	38
Gambar 6.7 Kurva Kalibrasi Standar Efedrin Hidroklorida	38
Gambar 6.8 Kromatogram Spesifitas Larutan Standar	45
Gambar 6.8 Kromatogram Spesifitas Larutan Sampel	45

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Definisi Operasional.....	16
Tabel 5.1 Konsentrasi Kurva Kalibrasi Standar.....	22
Tabel 5.2 Formulasi Spike Plasebo.....	23
Tabel 6.1 Serapan Teofilin.....	28
Tabel 6.2 Serapan Efedrin Hidroklorida.....	29
Tabel 6.3 Hasil Modifikasi Laju Alir dan Fase Gerak.....	30
Tabel 6.4 Hasil Uji Kesesuaian Sistem Teofilin	34
Tabel 6.5 Hasil Uji Kesesuaian Sistem Efedrin Hidroklorida.....	34
Tabel 6.5.2 Hasil Uji LoD dan LoQ.....	39
Tabel 6.6 Hasil Uji Akurasi.....	42
Tabel 6.7 Hasil Uji Presisi.....	43
Tabel 6.8 Hasil Perhitungan Kadar Sampel.....	46

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
KCKT	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
LoD	<i>Limit of Detection</i>
LoQ	<i>Limit of Quantification</i>
TF	<i>Tailing Factor</i>
k'	Faktor Kapasitas
N	Plat teoritis
RSD	<i>relative standar deviation</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet – Visible</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
Ppm	<i>Part per Milion</i>
SBR	Simpangan Baku Relatif

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut *World Health Organization* (WHO), diperkirakan terdapat 235 juta orang didunia menderita asma. Asma merupakan penyakit kronis yang mempersempit saluran udara pada pernapasan yang menyebabkan sesak dada, sesak napas, batuk dan mengi berulang (Fany,2017). Salah satu obat untuk penyakit asma yang banyak beredar di indonesia yaitu kombinasi teofilin dan efedrin hidroklorida dalam bentuk sediaan tablet.

Tablet merupakan sediaan padat yang mengandung bahan obat dengan atau tanpa bahan pengisi. Pada tablet kombinasi, teofilin bekerja sebagai bronkodilator yang berfungsi sebagai relaksasi langsung otot polos bronkus. Sedangkan efedrin hidroklorida merupakan golongan simpatomimetik non katekolamin yang memiliki efek langsung dan tak langsung terhadap α dan β -adrenoseptor. Karena sifat vasokonstriksinya, efedrin hidroklorida digunakan untuk bronkodilator, dekongestan hidung, dan dekongestan mata (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Teofilin merupakan derivat metil xanthin yang berguna untuk relaksasi otot polos bronkus dan mempunyai lingkup terapi sempit, yaitu jarak antara dosis terapi dengan dosis toksis dekat (Bayomi dkk, 2001). Teofilin menimbulkan efek aditif bila digunakan bersama agonis beta-2

seperti efedrin hidroklorida. Oleh karena itu, perlu adanya suatu jaminan mutu dari kedua obat tersebut baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Hjay dan Rahardja, 2007).

Menurut Farmakope edisi V (2014) dan USP XXXII (2009) tablet teofilin kadarnya ditentukan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi menggunakan kolom ODS (4,6 mm x 30 cm) dengan fase gerak campuran asetonitril dan air (7:3), volume penyuntikan antara 5 µl dan 20 µl. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 270 nm (Verawati, 2007). Penetapan kadar efedrin hidroklorida menurut Farmakope Indonesia edisi V yaitu dengan cara titrasi bebas air menggunakan asam perkolat 0,1 N LV (Depkes RI, 2014). Analisis kombinasi teofilin dan efedrin hidroklorida dalam sediaan tablet jadi yang beredar dipasaran sudah pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Pratiwi, 2011) dengan metode KCKT menggunakan system kromatografi fase terbalik dengan kolom Zorbac C8, fase gerak metanol-air (40:60), laju alir 1 ml/menit pada panjang gelombang 257 nm.

Prosedur metode analisis harus dibuktikan validitasnya agar sesuai dengan tujuan penggunaan dan memenuhi semua persyaratan, sehingga hasil pengukurannya dapat dipertanggungjawabkan dan dipergunakan sebagai landasan dalam perhitungan dan pengukuran selanjutnya. Oleh karena itu peneliti akan melakukan pengembangan metode penetapan kadar teofilin dan efedrin hidroklorida pada tablet kombinasi secara simultan dengan metode *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* (KCKT). Adapun parameter validasi yang akan ditentukan yaitu linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi, presisi dan spesifitas.

Alasan untuk memilih metode KCKT ini karena metode ini memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, daya pisah baik, peka, kolom dapat dipakai berulang kali dan perangkatnya dapat digunakan secara otomatis dan kuantitatif (Syarif, 2009).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah penetapan kadar teofilin dan efedrin hidroklorida pada tablet kombinasi dapat dilakukan secara simultan dengan metode KCKT dengan parameter validasi yang memenuhi syarat Farmakope Indonesia?

1.3 Tujuan Penelitian

1. *Mencari* kondisi optimum KCKT yang digunakan untuk menetapkan kadar teofilin dan efedrin hidroklorida.
2. Mencari Batas Deteksi (LoD), Batas Kuantisasi (LoQ), Akurasi, Presisi dan Spesifitas tablet kombinasi teofilin dan efedrin hidroklorida.
3. Melakukan validasi metode KCKT untuk menetapkan kadar campuran teofilin dan efedrin hidroklorida dalam sediaan tablet.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan data otentik parameter validasi dari hasil penelitian pengembangan metode penetapan

kadar tablet kombinasi teofilin dan efedrin hidroklorida secara simultan dengan metode KCKT. Sehingga melalui penelitian ini metode KCKT dapat digunakan untuk menetapkan kadar campuran teofilin dan efedrin hidroklorida dalam sediaan tablet serta dikembangkan menjadi salah satu metode unggulan dalam penetapan kadar beberapa sediaan lain yang mengandung dua campuran zat aktif obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asma

Menurut *World Health Organization* (WHO), diperkirakan terdapat 235 juta orang didunia menderita asma. Asma adalah penyakit kronis yang umum dan berpotensi serius yang menyebabkan beban substansial pada pasien, keluarga dan masyarakat. Penyakit ini menyebabkan gejala pernapasan, pembatasan kegiatan, dan eksaserbasi (serangan) yang kadang-kadang memerlukan perawatan kesehatan yang mendesak dan mungkin berakibat fatal (GINA, 2014).

Kebanyakan dokter akan menggambarkan penyakit ini sebagai penyakit yang ditandai dengan meningkatnya responsivitas trakea dan bronkus terhadap berbagai rangsangan dan dimanifestasikan oleh penyempitan saluran udara (bronkokonstriksi atau bronkospasma) yang meluas yang mengubah tingkat keparahan baik secara spontan atau sebagai hasil terapi (Kryger, 1981).

Asma bronkial adalah kondisi peradangan dimana ada penyumbatan jalan napas reversibel berulang dalam menanggapi rangsangan iritan yang terlalu lemah untuk mempengaruhi subjek non-asma. Penyumbatan biasanya menyebabkan mengi, meskipun riwayat asma alami mencakup remisi spontan. Reversibilitas penyumbatan saluran pernapasan erat kaitannya antara asma dengan PPOK. Paparan

dari berbagai rangsangan seperti serbuk sari yang dihirup, spora jamur, debu, danders hewan, zat kimia berbahaya, obat-obatan, olahraga dan mungkin faktor psikologis dapat menimbulkan asma (Rang dkk, 2012).

2.2 Tablet Kombinasi Teofilin dan Efedrin Hidroklorida

Tablet kombinasi merupakan bahan obat yang mengandung lebih dari satu zat aktif dalam bentuk sediaan padat yang biasanya dibuat dengan penambahan bahan tambahan farmasetika yang sesuai (Ansel, 1989). Salah satu tablet kombinasi yaitu tablet teofilin dan efedrin hidroklorida dimana kombinasi tablet ini digunakan pada terapi asma.

2.3 Teofilin

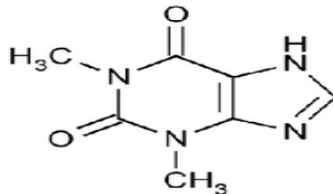
Teofilin merupakan golongan methylxanthine yang bekerja dengan menghambat fosfodiesterase dan menghambat reseptor adenosin dan memiliki jendela terapeutik yang sempit (Rang dkk, 2012). Teofilin memiliki sejumlah khasiat, antara lain berdaya spasmolitik terhadap otot polos, khususnya otot bronki, menstimulasi jantung, dan mendilatasinya. Teofilin juga menstimulasi sistem saraf pusat dan pernapasan, serta bekerja diuretik lemah dan singkat. Kini obat ini banyak digunakan sebagai obat prevensi dan terapi serangan asma (Tjay dan Rahardja, 2007).

Teofilin diabsorpsi dengan baik di saluran pencernaan, didistribusikan ke seluruh tubuh, termasuk plasenta dan air susu ibu.

Teofilin dieliminasi melalui metabolisme di hati dan diekskresi sebagian besar melalui urin dalam bentuk asam metilurat atau metilxantin. Waktu paruh plasma teofilin yang relatif pendek, pada orang dewasa 4-5 jam (BPOM, 2008).

Menurut Ditjen BKAK (2014), uraian mengenai teofilin adalah sebagai berikut:

Rumus Struktur



Sumber : USP 30, 2006

Gambar 2.1 Struktur Teofilin

Nama Senyawa	:Teofilin
Rumus Kimia	: $C_7H_8N_4O_2 \cdot H_2O$ BM 198,18
Pemerian	:Serbuk atau hablur halus; putih; tidak berbau; rasa pahit; stabil di udara

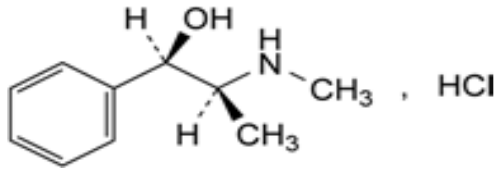
Kelarutan	:Sukar larut dalam air; tetapi lebih mudah larut dalam air panas; mudah larut dalam larutan alkali hidroksida dan dalam amonia; agak sukar larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter
Wadah dan Penyimpanan	:Dalam wadah tertutup baik
Penetapan Kadar	:Lakukan penetapan kadar dengan cara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
Sjakekida 101,Defin	ngandung tidak kurang dari 98,5 % dan
Kegunaan	:Inhibitor PDE non-selektif

2.4 Efedrin Hidroklorida

Efedrin HCl merupakan simpatomimetik yang bekerja secara langsung dan tidak langsung terhadap reseptor adrenergik, bersifat bronkodilatasi, menurunkan irama dan pergerakan usus, menurunkan aktivitas uterus serta menstimulasi pusat pernapasan (Sweetman, 2009). Pemberian efedrin dapat menimbulkan gejala seperti perasaan takut, khawatir, gelisah, tegang, nyeri kepala berdenyut, tremor, rasa lemah, pusing, pucat, sukar bernafas dan palpitasi (BPOM, 2008).

Menurut Ditjen BKAK (2014), uraian mengenai efedrin hidroklorida adalah sebagai berikut:

Rumus Struktur :



Sumber : European Pharmacopoeia, 2013

Gambar 2.2 Efedrin Hidroklorida

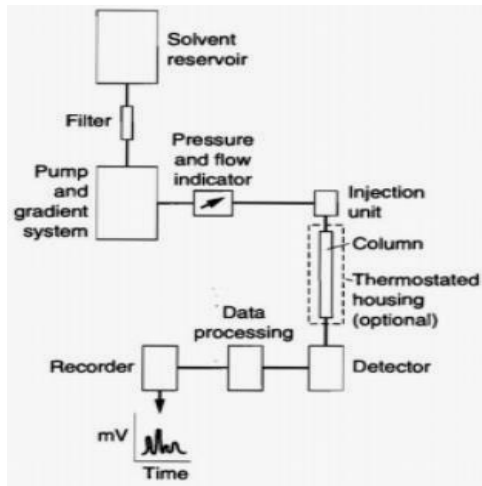
Nama Senyawa	: Efedrin Hidroklorida
Rumus Kimia	: $C_{10}H_{15}NO.HCl$ BM 201,70
Pemerian	: Serbuk atau hablur halus; putih; tidak berbau
Kelarutan	: Mudah larut dalam air; larut dalam etanol; tidak larut dalam eter
Wadah dan Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik, tidak tembus cahaya
Penetapan Kadar	: Lakukan penetapan kadar dengan titrasi
Kegunaan	: Agonis reseptor adrenergic

2.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

KCKT merupakan jenis kromatografi yang penggunaannya paling luas dimana KCKT dapat digunakan untuk pemisahan dan pemurnian senyawa obat serta untuk analisis kuantitatif senyawa obat pada sediaan farmasetika. KCKT dapat digunakan sebagai uji identitas, uji kemurnian dan penetapan kadar, serta untuk analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap, tidak stabil pada suhu tinggi, senyawa ion anorganik sampai senyawa organik makromolekul sehingga dibidang farmasi metode KCKT sering digunakan untuk menganalisis secara simultan beberapa analit dalam matriks sederhana maupun kompleks. Keterbatasan penggunaan KCKT adalah jika sampelnya sangat kompleks, karena resolusi atau daya pisah yang baik sulit diperoleh (Gandjar, 2012).

Prinsip kerja KCKT yaitu pemisahan dengan KCKT dapat dilakukan baik pada fase normal atau fase terbalik menggunakan fase diam silika atau silika fase terikat yang terdapat dalam suatu kolom, sedangkan untuk fase gerak itu sendiri digunakan zat cair, akan tetapi penggunaan zat cair pada fase gerak mendapatkan kesukaran untuk mengalir didalam kolom, sehingga membutuhkan pompa bertekanan tinggi untuk dapat melalui kolom yang selanjutnya masuk ke detektor. Sampel dimasukan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan.

Pada dasarnya instrumen KCKT terdiri atas : yaitu wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukan sampel, pompa, kolom, detektor, dan rekorder (Gandjar, 2007).



Gambar 2.3. Sistem KCKT (Sumber: Settle, 1997)

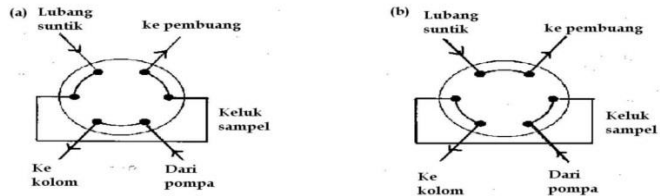
a. Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilang gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis (Rohman, 2007).

b. Injektor

Ada tiga macam sistem injektor pada KCKT yaitu, injektor dengan memakai diafragma (septum), injektor tanpa septum, dan injektor dengan pipa dosis. Sistem dengan pipa dosis saat ini merupakan

pilihan yang sangat tepat pada KCKT khususnya untuk analisis kuantitatif (Mulja,1995).



Gambar 2.4. Skema penyuntikan keluk. (a) posisi pada saat memuat sampel; dan (b) posisi pada saat menyuntik sampel.

(Sumber: Kealey and Haines, 2002 dalam Gandjar 2012)

c. Pompa

Pompa dalam KCKT dapat diartikan sebagai jantung pada manusia yang berfungsi untuk mengalirkan fase gerak cair melalui kolom. Terdapat dua tipe pompa yang digunakan, yaitu kinerja konstan (*constant pressure*) dan pemindahan konstan (*constant displacement*). Pemindahan konstan dapat dibagi menjadi dua, yaitu pompa *reciprocating* dan pompa *syringe*. Pada pompa *reciprocating* menghasilkan suatu aliran yang berdenyut teratur. Sedangkan pada pompa *syringe* memberikan aliran yang tidak berdenyut, tetapi reservoirnya terbatas (Putra, 2004).

d. Kolom (*column*)

Kolom merupakan jantung dari KCKT sebab kunci keberhasilan analisis sangat bergantung kepada efisiensi kolom sebagai alat untuk memisahkan senyawa dalam campuran yang kompleks.

Perbedaan jenis kolom pada KCKT adalah :

1. Kromatografi Fase Normal

Kromatografi dengan kolom konvensional yang fase diamnya "normal" bersifat polar, misalnya silika gel, sedangkan fase geraknya bersifat polar.

2. Kromatografi Fase Terbalik

Kromatografi dengan kolom yang fase diamnya bersifat non polar, sedangkan fase geraknya bersifat polar, kebalikan dari fase normal. Untuk mendapatkan fase yang non polar silika gel direaksikan dengan klorosilan Cl-Si-(R)_n. Fase diam yang non polar yang banyak dipakai adalah jenis C18, C8, dan C2 (Mulja,1995).

e. Detektor

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif) (Putra, 2004). Ada beberapa detektor yang digunakan pada KCKT, misalnya detektor spektrofotometri UV-Vis. Detektor ini didasarkan pada adanya penyerapan radiasi ultraviolet (UV) dan sinar tampak. Selain

detektor UV-Vis adapula detektor-detektor lain yang digunakan pada metode KCKT ini, misalnya detektor Fluorometer, detektor Ionisasi Nyala, detektor Elektrokimia, detektor Spektrofotometer Massa, detektor Refraksi Indeks, detektor Reaksi Kimia, dan detektor *Photodiode-Array* (PDA) (Putra, 2004).

f. Rekorder

Hasil pembacaan dari detektor kemudian diolah oleh suatu prosesor dan dikirim ke perekam lalu perekam akan membuat suatu tampilan. Dalam kromatografi tampilan ini disebut kromatogram (Rohman, 2007).

g. Waktu Retensi (tR)

Waktu tambat atau waktu retensi (*retention time*) adalah selang waktu yang diperlukan oleh senyawa pada saat diinjeksikan sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor. Waktu retensi dinyatakan dalam satuan waktu (menit) dan memberikan arti yang sangat penting dalam analisis kualitatif dengan KCKT (Mulja, 1995).

2.6 Validasi

Metode yang digunakan di laboratorium kimia analitik harus dievaluasi dan diuji untuk memastikan bahwa metode tersebut mampu menghasilkan data yang valid dan sesuai dengan tujuan, maka metode tersebut harus divalidasi (Riyanto, 2015). Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu,

berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi, ketika:

- a. Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu
- b. Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi.
- c. Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu
- d. Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda
- e. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku (Gandjar, 2012).

Sebelum melakukan analisis, seorang analis harus memastikan bahwa sistem dan prosedur yang digunakan harus mampu memberikan data yang dapat diterima. Hal ini dapat dilakukan dengan percobaan kesesuaian sistem yang didefinisikan sebagai serangkaian uji untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan

presisi yang dapat diterima. Persyaratan-persyaratan kesesuaian sistem biasanya dilakukan setelah pengembangan metode dan validasi metode (Gandjar, 2012).

United States Pharmacopeia (USP) menentukan parameter-parameter yang dapat digunakan untuk menetapkan kesesuaian sistem sebelum analisis. Parameter-parameter yang digunakan meliputi: bilangan lempeng teori (N), faktor tailing, kapasitas (k' atau α) dan nilai standar deviasi relatif (RSD) tinggi puncak atau luas puncak dari 5 kali injeksi larutan baku pada dasarnya dapat diterima sebagai salah satu kriteria baku untuk pengujian komponen yang jumlahnya banyak (komponen mayor) jika nilai $RSD \leq 1\%$ untuk 5 kali injeksi. Sementara untuk senyawa- senyawa dengan kadar sekelumit, nilai RSD dapat diterima jika antara 5-15% (Gandjar, 2012).

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya antara lain:

1. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan.

2. Batas Deteksi (*limit of detection*, LoD)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu

dapat dikuantifikasi. LoD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu.

3. Batas Kuantifikasi (*limit of quantification*, LoQ)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan.

4. Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks (Gandjar, 2012).

5. Ketepatan (akurasi)

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel.

6. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik.

2.7 Penetapan kadar

Penetapan kadar teofilin menurut Farmakope Indonesia edisi V dan USP XXXII (2009) tablet teofilin kadarnya ditentukan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi menggunakan kolom ODS (4,6 mm x 30 cm) dengan fase gerak campuran asetonitril dan air (7:3), volume penyuntikan antara 5 μ l dan 20 μ l. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 270 nm (Verawati, 2007). Penetapan kadar efedrin hidroklorida menurut Farmakope Indonesia edisi V yaitu dengan cara titrasi bebas air menggunakan asam perkolat 0,1 N LV (Depkes RI, 2014).