

**PENGEMBANGAN ANALISIS ASAM ASETIL SALISILAT DAN SULFAMETOKSAZOL
MENGUNAKAN METODE KLT-VIDEO DENSITOMETRI**

Laporan Tugas Akhir

**MEGA KURNIAWATI
11171079**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata IFarmasi
Bandung
2021**

ABSTRAK

Pengembangan Metode Analisis Asam Asetil Salisilat dan Sulfametoksazol Dengan Menggunakan Metode Video Densitometri

Oleh :

MEGA KURNIAWATI

11171079

Sebagian besar obat yang beredar di pasaran saat ini merupakan kombinasi dari beberapa zat aktif. Kombinasi ini bertujuan untuk mendapatkan efek terapeutik lebih luas dan mujarab serta memiliki efek samping yang lebih sedikit. Penetapan kadar multikomponen lebih sulit dibandingkan komponen tunggal. Pengembangan metode analisis diperlukan agar penetapan kadar memenuhi persyaratan. Salah satu metode analisis yang sederhana, sensitif dan kompatibilitas dengan analisis data adalah KLT video densitometri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan metode analisis campuran senyawa asam asetil salisilat dan sulfametoksazol menggunakan metode KLT video densitometri. Hasil uji validasi memenuhi syarat, untuk asam asetil salisilat nilai (r) = 0,9902, koefisien variasi = 0,83 %, BD = 15,6199 bpj, BK = 52,0664 bpj, % recovery = 101.35 %, RSD = 0,60% dan untuk sulfametoksazol diperoleh nilai (r) = 0,9932, koefisien variasi = 0,69%, BD = 12,9963 bpj, BK = 43,3210 bpj, % recovery = 101.68 %, RSD = 0,17%. Pengembangan analisis menggunakan metode KLT video densitometri dapat digunakan secara simultan pada senyawa asam asetil salisilat dan sulfametoksazol, dan hasil uji validasi memenuhi syarat validasi.

Kata kunci : Asam asetil salisilat, Sulfametoksazol, KLT video densitometri, Validasi.

ABSTRACT

Development of Acetylsalicylic acid and Sulfamethoxazole Analysis Method Using Video Densitometry Method

By :

MEGA KURNIAWATI

11171079

Most drugs on the market today are a combination of several active substances. This combination aims to get a wider and more efficacious therapeutic effect and have fewer side effects. Multicomponent assays are more difficult than single-component assays. The development of analytical methods is needed so that the assay meets the requirements. One of the analytical methods that is simple, sensitive and compatible with data analysis is TLC video densitometry. The purpose of this study was to develop an analytical method of mixtures of acetyl salicylic acid and sulfamethoxazole using the video densitometry TLC method. Validation test results meet the requirements, for acetyl salicylic acid value (r) = 0.9902, coefficient of variation = 0.83 %, LoD = 15.6199 bpj, LoQ = 52.0664 bpj, % recovery = 101.35 %, RSD = 0,60% and for sulfamethoxazole the value (r) = 0.9932, coefficient of variation = 0.69%, LoD = 12.9963 bpj, LoQ = 43,3210 bpj, % recovery = 101.68%, RSD = 0.17% . The development of the analysis using the video densitometry TLC method can be used simultaneously on acetyl salicylic acid and sulfamethoxazole compounds, and the results of the validation test meet the validation requirements.

Key words : Acetyl salicylic acid, Sulfamethoxazole, TLC video densitometry, Validation.

LEMBAR PENGESAHAN

PENGEMBANGAN ANALISIS ASAM ASETIL SALISILAT DAN SULFAMETOKSAZOL MENGUNAKAN METODE KLT-VIDEO DENSITOMETRI

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata IFarmasi

MEGA KURNIAWATI
11171079

Bandung, 17 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr, Fauzan Zein Muttaqin, M .Si.,Apt)

Pembimbing Serta,



(apt. Deden Indra Dinata, M.Si)

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis, dan Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Pengembangan Analisis Asam asetil salisilat dan Sulfametoksazol Menggunakan Metode KLT-Video Densitometri” Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana.

Dalam proses penyelesaian penelitian ini banyak hambatan yang penulis jumpai, namun dengan kebesaran dan ketabahan hati serta berkat bimbinganNya, maka penyelesaian penelitian ini dapat terpenuhi. Dorongan dan bantuan baik berupa materi maupun moril banyak penulis terima guna kelancaran skripsi ini. Maka perkenankanlah pada kesempatan ini penulis menyatakan rasa terimakasih saya yang sebesar-besarnya kepada:

Bapak Dr, Fauzan Zein Muttaqin, M .Si.,Apt., dan Bapak Apt. Deden Indra Dinata, M.Si., selaku pembimbing yang telah bersusah payah memberikan arahan dan bimbingan dengan penuh keikhlasan dan kesabaran hati selama penelitian dan penulisan skripsi ini berlangsung. Kepala Laboratorium Penelitian beserta staf laborarorium yang telah memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan fasilitas laboratorium sehingga dapat menyelesaikan tugas ini.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tulus kepada kedua orang tua, Ayahanda Roy Kusnadi dan Ibunda Aniswati, Kakak Dadan Permana, TeteH Heti Haryati dan Susi Nurmayati serta seluruh keluarga besar tercinta atas do'a, dorongan dan pengorbanan dalam penyelesaian tugas ini. Terakhir, penulis ingin menyampaikan banyak terimakasih kepada seluruh teman seperjuangan, serta seluruh pihak yang terkait yang tidak bisa penulis tuliskan satu persatu.

Penulis juga menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan dan penelitian ini, dan dengan rendah hati penulis menerima kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan penelitian ini. Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua khususnya mahasiswa farmasi, dan dapat menjadi sumber informasi.

DAFTAR ISI

Contents

ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
Tabel V.1. Fase Gerak	13
Tabel V.2. Komposisi Tablet Simulasi per Tablet	15
Tabel VI.1. Hasil Perhitungan Faktor Selektivitas (α)	19
DAFTAR GAMBAR	v
Gambar 2.1. Asam asetil salisilat	3
Gambar 2.2. Sulfametoksazol	4
Gambar 2.3. Struktur Silika Gel	6
Gambar 6.1. Optimasi pemisahan baku tunggal Asam asetil salisilat, Sulfametoksazol dan Campuran	17
Gambar 6.2. Grafik plot konsentrasi asam asetil salisilat terhadap AUC	20
Gambar 6.3. Grafik plot konsentrasi sulfametoksazol terhadap AUC	20
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	2
I.3. Tujuan	2
I.4. Hipotesis Penelitian	2
I.5. Manfaat Penelitian	2
I.6. Tempat dan Waktu Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1. Obat Anti-inflamasi Non Steroid (OAINS)	3
II.2. Uraian Bahan	3
II.2.1. Asam Asetil Salisilat	3
II.2.2. Sulfametoksazol	4
II.3. Kromatografi Lapis Tipis	5
II.3.1. Fase Diam	6
II.3.2. Fase Gerak	7

II.3.3. Penotolan Sampel.....	7
II.3.4. Pengembangan	7
II.4. Video Densitometri.....	7
II.4.1. KLT-Video Densitometri.....	7
II.4.2. Prinsip Video Densitometri	7
II.4.3. Validasi Metode.....	8
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	10
III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	10
III.2. Subyek Penelitian.....	10
III.3. Metodologi	10
BAB IV. ALAT DAN BAHAN.....	11
IV.1. Alat	11
IV.1.1. Seperangkat alat video densitometri	11
IV.1.2. Alat-alat gelas laboratotium kimia analisis	11
IV.2. Bahan	11
BAB V. PROSEDUR PENELITIAN.....	12
V.1. Uji Kesesuaian Sistem	12
V.1.1. Pembuatan Larutan Baku	12
V.1.2. Penyiapan Fase Diam.....	13
V.1.3. Penyiapan Fase Gerak	13
V.1.4. Penampak Bercak dan Optimasi Kamera.....	13
V.1.5. Analisa Kromatogram	14
V.2. Validasi Metode	14
V.2.1. Uji Selektivitas.....	14
V.2.2. Uji Linieritas dan Uji Sensitifitas.....	14
V.2.3. Uji Akurasi	15
V.2.4. Uji Presisi.....	16
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
VI.1. Pemeriksaan Bahan	17
VI.2. Uji Kesesuaian Sistem	17
VI.3. Visuasilasi dan Perekaman Bercak.....	18
VI.4. Validasi Metode.....	18
VI.4.1. Selektivitas	18
VI.4.2. Linearitas	19
VI.4.3. Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)	20
VI.4.4. Akurasi	21

VI.4.5. Presisi	21
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	22
VI.1. Simpulan	22
VII.2 Saran.....	22
DAFTAR PUSTAKA.....	23
LAMPIRAN	25

DAFTAR TABEL

Tabel V.1. Fase Gerak

Tabel V.2. Komposisi Tablet Simulasi per Tablet

Tabel VI.1. Hasil Perhitungan Faktor Selektivitas (α)

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Asam asetil salisilat

Gambar 2.2. Sulfametoksazol

Gambar 2.3. Struktur Silika Gel

Gambar 6.1. Kondisi Optimum Pemisahan Campuran Asam asetil salisilat dan Sulfametoksazol

Gambar 6.2. Grafik plot konsentrasi asam asetil salisilat terhadap AUC

Gambar 6.3. Grafik plot konsentrasi sulfametoksazol terhadap AUC

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
AUC	Area Under Curve
ICH	International Conference on Harmonization
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
OAINS	Obat Anti-inflamasi Non Steroid
Rf	Retention Faktor/Faktor Retensi
TLC	Thin Layer Chromatograohy
BD	Batas Deteksi
LOD	Limit Of Detection
BK	Batas Kuantitasi
RSD	Relative Standard Deviation
LOQ	Limit Of Quantitation

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Semakin berkembang industri farmasi sehingga semakin banyaknya jenis produk obat yang beredar di pasaran. Peningkatan produksi obat ini perlu diimbangi dengan peningkatan pengendalian mutu agar keamanan dan efektivitas obat yang beredar dapat terjamin (Savitri & Megantara, 2019).

Sebagian besar obat yang beredar di pasaran saat ini merupakan campuran atau kombinasi dari beberapa bahan aktif, yang bertujuan agar efek terapeutik lebih luas dan berkhasiat serta jika memungkinkan memiliki efek samping yang lebih sedikit. Penggunaan obat dalam sediaan multi komponen harus memenuhi persyaratan mutu, khasiat dan keamanan (Akbar, 2007). Hal ini dapat dilakukan melalui berbagai analisis, salah satunya adalah analisis kuantitatif obat dalam sediaan untuk memastikan bahwa obat tersebut mengandung jumlah senyawa yang tepat untuk mencapai efek yang diinginkan.

Asam asetil salisilat digunakan untuk mengurangi rasa nyeri seperti pada sakit gigi, sakit kepala, nyeri pada saat menstruasi, nyeri pada otot dan menurunkan demam. Sulfametoksazol diindikasikan untuk infeksi saluran pernapasan, saluran kemih dan saluran pencernaan (IAI, 2017).

Sediaan yang komposisi bahan aktifnya campuran diakukam dengan metode analisis yang memerlukan perlakuan lebih lanjut sebelum dilakukan pengukuran karena adanya perbedaan sifat farmakokimia dari senyawa yang terkandung didalamnya (Savitri & Megantara, 2019). Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisis yang jika memungkinkan sederhana, murah dan yang terpenting adalah ketepatan metode analisis untuk menganalisis kandungannya. Salah satu metode yang sederhana dan mampu memberikan hasil yang akurat adalah KLT video densitometri. Selain itu, metode KLT video densitometri banyak digunakan untuk mengetahui kadar bahan aktif dalam sediaan kombinasi, yang bertujuan untuk meningkatkan efektifitas waktu dalam pemisahan dan penggunaan reagen yang minimal untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dan tepat (Sugihartini, Achmad, Suwidjiyo, & Sismindari, 2012).

Metode KLT video densitometri akan divalidasi, sehingga hasilnya dapat valid sepenuhnya jika semua faktor terpenuhi (Savitri & Megantara, 2019). Tujuan dari

penelitian ini yaitu pengembangan analisis senyawa asam asetil salisilat dan sulfametoksazol menggunakan metode KLT video densitometri.

I.2 . Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat dibuat suatu rumusan masalah yaitu apakah senyawa kombinasi asam asetil salisilat dan sulfametoksazol menggunakan metode KLT video densitometri dapat memenuhi validitas suatu metode analisis?

I.3. Tujuan

Untuk mengaplikasikan metode KLT video densitometri pada senyawa asam asetil salisilat dan sulfametoksazol secara simultan.

I.4. Hipotesis Penelitian

Senyawa kombinasi asam asetil salisilat dan sulfametoksazol dapat dianalisis dengan menggunakan metode KLT video densitometri.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang dilakukan adalah sebagai informasi bahwa aplikasi metode KLT video densitometri dapat digunakan dalam analisis campuran senyawa asam asetil salisilat dan sulfametoksazol.

1.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilakukan mulai dari bulan Maret 2021. Tempat pelaksanaannya akan dilakukan di Laboratorium Instrumen Universitas Bhakti Kencana, Jalan Soekarno Hatta No. 754, Bandung.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Obat Anti-inflamasi Non Steroid (OAINS)

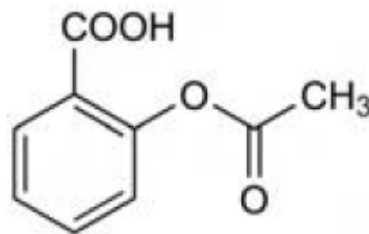
Obat Anti-inflamasi Non-Steroid (OAINS) adalah salah satu obat yang paling sering diresepkan diseluruh dunia. Formulasi OAINS juga tersedia sebagai sediaan farmasi *over counter*. Meningkatnya permintaan terhadap OAINS menyebabkan perlunya kontrol yang lebih baik terhadap penggunaan dan pembuatannya (Patel, Samanthula, Shrigod, Modh, & Chaudhari, 2013).

II.2. Uraian Bahan

II.2.1. Asam Asetil Salisilat

II.2.1.1. Sifat Fisika dan Kimia

Rumus Struktur



Gambar 2.1. Asam asetil salisilat(Moffat, Osselton, & Widdop, 2004).

Rumus molekul	: $C_9H_8O_4$.
Berat Molekul	: 180,2.
Nama IUPAC	: 2-Acetyloxybenzoic acid.
Pemerian	: “Hablur putih, umumnya seperti jarum atau lempengan tersusun, atau serbuk hablur putih, tidak berbau atau berbau lemah.Stabil di udara kering, di dalam udara lembap secara bertahap terhidrolisa menjadi asam salisilat dan asam asetat”.
Kelarutan	: Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, larut dalam kloroform dan dalam eter, agak sukar larut dalam eter mutlak..
Kandungan	: Dihitung terhadap zat kering mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% $C_9H_8O_4$.

(Moffat et al., 2004)

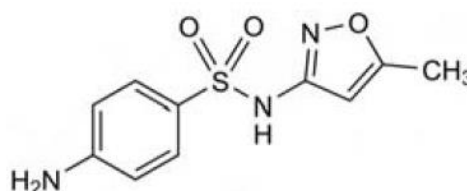
II.2.1.2. Farmakologi

Asam asetil salisilat adalah salah satu obat salisilat yang paling umum digunakan. Asam asetil salisilat termasuk dalam kelas farmasi obat antiinflamasi nonsteroid. Selanjutnya, asam asetil salisilat memiliki sifat analgesik, antiinflamasi, dan antipiretik. Ini digunakan pada orang dewasa untuk menghilangkan nyeri ringan hingga sedang seperti sakit kepala, dismenore, mialgia, dan sakit gigi. Dalam pengobatan kondisi demam ringan, seperti pilek atau influenza, asam asetil salisilat dapat menurunkan suhu dan meredakan sakit kepala serta nyeri sendi dan otot. Dosis oral biasa asam asetil salisilat sebagai analgesik dan antipiretik adalah 300-1000 mg sebagai dosis tunggal, diulang setiap 4-8 jam sesuai dengan kebutuhan klinis. Dosis harian maksimum adalah 3-4 g. Asam asetilsalisilat juga digunakan untuk aktivitas antiplatelet dalam pengobatan awal gangguan kardiovaskular seperti angina pektoris dan infark miokard. Kegunaan terkait lainnya termasuk pengobatan dan pencegahan gangguan serebrovaskular seperti stroke (Dressman, Nair, Abrahamsson, & Barends, 2012).

Efek samping yang diamati selama pengobatan dengan asam asetil salisilat umumnya ringan dan reversibel dengan pengurangan dosis atau penghentian pengobatan. Mereka termasuk gangguan saluran gastrointestinal (GI) atas dan bawah (dispepsia, GI, dan sakit perut, dll), peningkatan risiko perdarahan (perdarahan perioperatif, hematoma, epistaksis, dll), reaksi hipersensitivitas (sindrom asma, ruam, edema, dll), gangguan hati sementara dengan peningkatan transaminase hati (sangat jarang), pusing, dan tinnitus (Dressman et al., 2012). Mekanisme kerja asam asetil salisilat terutama menekan produksi prostaglandin dan tromboksan (Mustaba, Oka Winaya, & Berata, 2012).

II.2.2. Sulfametoksazol

Rumus Struktur



Gambar 2.2. Sulfametoksazol (Moffat et al., 2004)

Rumus Molekul	: C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S.
Berat Molekul	: 253.3
Nama IUPAC	: 4-Amino-N-(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)benzenesulfonamide

- Pemerian : Serbuk hablur, putih sampai hampir putih, praktis tidak berbau.
- Kelarutan : “Praktis tidak larut dalam air, dalam eter dan dalam kloroform, mudah larut dalam aseton dan dalam larutan natrium hidroksida encer; agak sukar larut dalam etanol”.
- Kandungan : Sulfametoksazol mengandung tidak lebih dari 101,0% dan tidak kurang dari 99,0% $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, dihitung terhadap zat kering.

(Ditjen, 2020; Moffat et al., 2004)

Sulfametoksazol adalah turunan sulfisoksazol dengan penyerapan dan ekskresi yang lambat. Sulfametoksazol dapat digunakan untuk pasien dengan infeksi saluran kemih dan infeksi sistemik, namun karena proporsi asetilasi yang tinggi, penggunaan obat ini lebih sering menyebabkan pembentukan kristal urin. Obat ini umumnya digunakan dalam kombinasi tetap dengan trimetoprim. (Setiawan P, 2017). Derivatif sulfonamida juga sering dikombinasikan dalam bentuk sediaan padat, suspensi, larutan injeksi untuk memperoleh aktivitas antibakteri yang sinergis atau potensial dibandingkan dengan efek masing-masing penyusunnya (Zaini, Sumirtapura, & Soewandhi, 2010).

II.3. Kromatografi Lapis Tipis

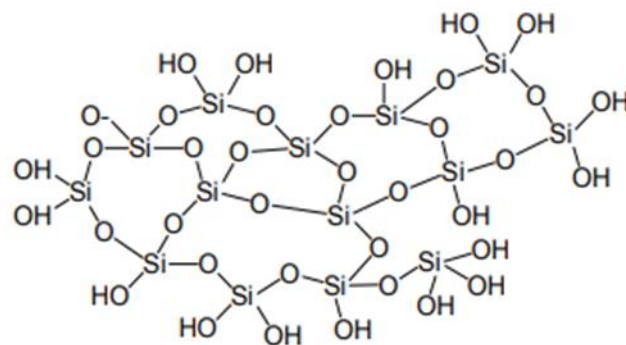
Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu metode termudah dan paling serbaguna untuk melakukan hal ini karena biaya rendah, kesederhanaan, waktu pengembangan cepat, sensitivitas tinggi, dan reproduktifitas yang baik. KLT digunakan oleh banyak industri dan bidang penelitian, termasuk produksi farmasi, analisis klinis, kimia industri, toksikologi lingkungan, kimia makanan, air, anorganik, dan analisis pestisida, kemurnian pewarna, kosmetik, bahan tanaman, dan analisis herbal. Dalam bentuknya yang paling sederhana, plat kaca dilapisi dengan lapisan silika gel (SiO_2). Sampel terlarut ditempatkan di silika gel, dan plat dimasukkan ke dalam chamber berisi pelarut yang berkembang dan selebar kertas saring. Ketika pelarut telah naik mendekati bagian atas plat, plat diangkat, dikeringkan, dan divisualisasikan menggunakan sinar UV. Variasi pada protokol ini digunakan untuk tujuan yang berbeda, termasuk perlakuan awal sampel, mengubah sorben, bahan plat, sistem pelarut, teknik pengembangan, dan metode deteksi dan visualisasi atau dengan menggabungkan TLC ke teknik lain (Santiago & Strobel, 2013; Wulandari, 2011).

Keuntungan utama dari metode analisis kromatografi lapis tipis dibandingkan metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi adalah dapat digunakan untuk menganalisis beberapa sampel pada saat yang sama, yang dimana dapat menghemat waktu dan biaya analisis (Wulandari, 2011).

KLT densitometri adalah bentuk modern dari Kromatografi lapis tipis. Sedangkan KLT-Video Densitometri adalah metode analisis kualitatif dan kuantitatif yang berdasarkan analisis gambar (Muttaqin, Yuliantini, Fitriawati, & Asnawi, 2016).

II.3.1. Fase Diam

Fase diam KLT yang paling umum adalah berbasis silika. Silica gel (SiO_2) adalah bahan berpori putih. Ini terdiri dari silikon terikat dan oksigen dengan gugus hidroksil. Banyak fase diam dengan ukuran partikel standar dapat diperoleh secara komersial terikat pada plastik, aluminium, atau pelat kaca. Plat silika gel dapat memisahkan semua kelas senyawa dan dapat diresapi dengan senyawa lain untuk meningkatkan selektivitas. Fase diam berbasis gel non-silika meliputi: kieselguhr (terdiri dari sisa-sisa diatom yang dinding selnya tersusun dari silika), selulosa (unit glukopiranososa yang disatukan oleh jembatan oksigen), poliamida (diproduksi dari polikaprolaktam, polihexamethyldiaminoadipate, atau asam poliaminoundekanoat), dan aluminium oksida (Al_2O_3 : juga disebut alumina, dapat diproduksi dalam tiga rentang pH yang berbeda) (Santiago & Strobel, 2013).



Gambar 2.3. Struktur Silika Gel (Sulastrri & Kristianingrum, 2010).

Fase diam yang paling umum digunakan dalam KLT adalah silika gel (64%), diikuti oleh selulosa (9%), dan alumina (3%) (Rohman, 2009). Gel silika dan aluminium oksida adalah adsorben aktif (Boison, Dowling, Matus, Kinar, & Johnson, 2017).

II.3.2. Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan untuk silika gel dan pelat silika gel yang dimodifikasi biasanya satu pelarut atau satu pelarut dengan pelarut polar ditambahkan untuk meningkatkan polaritas fase gerak (Santiago & Strobel, 2013)

Saat memilih fase gerak, fase gerak harus memiliki kemurnian yang tinggi, karena KLT merupakan teknik pemisahan yang sangat peka. Untuk pemisahan dengan menggunakan KLT, maka polaritas fase gerak akan menentukan nilai R_f dari analisis akan menentukan nilai R_f analit (Rohman, 2009).

II.3.3. Penotolan Sampel

Untuk tujuan kuantisasi, tidak hanya area sampel harus dijaga agar tetap kecil, tetapi volume sampel yang diterapkan pada pelat harus diketahui secara akurat. Penotolan sampel secara mekanik dapat diperoleh secara komersial dan dapat menotolkan sejumlah tertentu sampel secara akurat pada posisi yang telah ditentukan (Miller, 2005).

II.4. Video Densitometri

II.4.1. KLT-Video Densitometri

Video densitometri merupakan metode yang mempunyai prinsip kerja pemindaian optik yang berlangsung secara elektronik. Keuntungan dari metode ini dalam KLT dapat menghasilkan akuisisi data cepat dan simultan, desain instrument sederhana, terjadi peningkatan sensitivitas, dan kompatibilitas dengan analisis data (Fitriawati, 2016).

Pada penetapan kadar menggunakan metode KLT video densitometri terdapat empat sumber utama:

1. Penotolan bercak secara kuantitatif menggunakan jarum suntik atau pipa kapiler volumetri.
2. Pengambilan data dengan kamera digital.
3. Kuantifikasi dengan perangkat lunak pengolah gambar TLC *Analyzer*. Diaplikasikan ke dalam persamaan matematika yang sederhana untuk mengubah data mentah ke dalam bentuk linear.

II.4.2. Prinsip Video Densitometri

Pemindaian optik dilakukan secara elektronik, menggunakan komputer dengan video digital, sumber cahaya, monokromator dan elemen optik yang sesuai untuk menerangi panel datar dan memfokuskan gambar pada perangkat *charge-coupled* kamera video.

Daya Tarik utama video densitometri untuk deteksi dalam KLT terletak pada akuisisi data yang cepat dan tersinkronisasi, desain instrumen yang sederhana tanpa bagian yang bergerak, sensitivitas yang lebih tinggi, dan keandalan analisis data. Video densitometri tidak dapat menyaingi pemindaian densitometri dalam hal sensitivitas, resolusi, dan kegunaan berbagai pengukuran panjang gelombang (Fitriawati, 2016).

II.4.3. Validasi Metode

Menurut FDA (Food Drug Administration) validasi metode merupakan suatu proses yang menunjukkan bahwa prosedur analitik telah sesuai dengan penggunaan yang dikehendaki (M Bliesner, 2006). Tujuan validasi prosedur analitis adalah untuk menunjukkan bahwa prosedur tersebut sesuai dengan tujuan yang dimaksudkan (Dagron, 2014).

Validasi metode dilakukan dengan mengacu pada (Muttaqin et al., 2016) meliputi selektivitas, linieritas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ), akurasi dan presisi.

II.4.3.1. Selektivitas

Parameter selektivitas diperoleh dengan membandingkan Rf standar dengan sampel Rf. Setelah menganalisa bintik-bintik tersebut, selanjutnya gunakan *Microsoft Excel* untuk menghitung nilai luasnya. Setelah didapatkan parameter selektivitas dan konsentrasi pembotolan minimum, analisis ini dapat dilanjutkan untuk verifikasi lebih lanjut.

II.4.3.2. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode untuk mendapatkan hasil pengujian yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam rentang tertentu. Linearitas dapat diperoleh dengan memplot serangkaian kurva kalibrasi konsentrasi dengan respons puncak.

II.4.3.3. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi dan batas kuantifikasi adalah dua karakteristik kinerja penting dalam validasi metode. Batas deteksi adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, tetapi tidak perlu dikuantifikasi, di bawah kondisi pengujian yang dinyatakan. Sedangkan batas kuantitasi adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Shrivastava & Gupta, 2011).

II.4.3.4. Akurasi

Uji akurasi metode diperoleh dengan mengukur laju perolehan kembali sampel simulasi dari konsentrasi aktual zat aktif dalam sampel yang disimulasikan. Hasil perhitungan uji akurasi dinyatakan dalam % recovery.

II.4.3.5. Presisi

Presisi dinyatakan dalam deviasi standar relatif (RSD) dan koefisien variasi (KV). Metode sampel simulasi 100% digunakan untuk melakukan uji akurasi pada siang hari. Sampel simulasi disiapkan pada konsentrasi yang sama antara dua senyawa, dan respon luas puncak (AUC) diukur.

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilakukan mulai dari bulan Februari 2021. Tempat pelaksanaannya dilakukan di Laboratorium Universitas Bhakti Kencana, Jalan Soekarno Hatta No. 754, Bandung.

III.2. Subyek Penelitian

Adapun subyek penelitian dalam penulisan ini adalah campuransenyawa asam asetil salisilat dan sulfametosazol. Komposisi pada penelitian ini mengandung sebanyak asam asetil salisilat 100mg dan sulfametosazol 100mg (1:1).

III.3. Metodologi

Kerangka utama pengujian dari penelitian ini dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu uji kesesuaian sistem dan validasi metode senyawa asam asetil salisilat dan sulfametoksazol.

Parameter yang digunakan dalam uji kesesuaian sistem dengan menggunakan KLT adalah nilai RF. Cobalah untuk mendapatkan nilai RF rata-rata 0,2-0,8 dengan mengubah kombinasi dan komposisi fase gerak. Hitung nilai Rf dan gunakan lampu ultraviolet untuk menunjukkan bintik-bintik pada KLT. Selain itu, gunakan kamera untuk merekambintik-bintik pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) silika GF₂₅₄ berlisensi. Kemudian gunakan perangkat lunak *ImageJ* untuk menganalisis gambar yang direkam. Setelah diperoleh uji kesesuaian sistem, maka metode analisis diverifikasi. Parameter yang digunakan adalah selektivitas, linieritas, batas deteksi dan batas kuantifikasi, akurasi dan presisi. Setelah semua parameter verifikasi memenuhi persyaratan, maka dilihat apakah hasil dari penelitian tersebut memenuhi persyaratan validasi atau tidak.