

**PENGEMBANGAN METODE PENENTUAN KADAR VALSARTAN
DALAM PLASMA DARAH MANUSIA SECARA *IN VITRO*
MENGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**



HENDRIANTO

2443012018

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2016

**PENGEMBANGAN METODE PENENTUAN KADAR VALSARTAN
DALAM PLASMA DARAH MANUSIA SECARA *IN VITRO*
MENGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
Memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
Di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

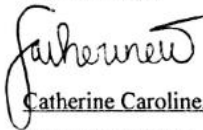
OLEH:

HENDRIANTO

2443012018

Telah disetujui pada tanggal 18 Maret 2016 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Catherine Caroline, M.Si., Apt

NIK. 241.00.0444


Pembimbing II,



Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt.

NIK. 241.01.0520

Mengetahui,
Ketua Penguji



(Henry Kurnia Setiawan, S.Si., M.Si., Apt)

NIK. 241.97.0283

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengembangan Metode Penentuan Kadar Valsartan dalam Plasma Darah Manusia secara *In Vitro* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 18 Maret 2016


**PETERAI
TEMPEL**
5297FADF268261980
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Hendrianto
2443012018

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 18 Maret 2016



Hendrianto

2443012018

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga skripsi dengan judul “Pengembangan Metode Penentuan Kadar Valsartan dalam Plasma Darah secara *In Vitro* menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi” dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Ibu Senny Y. Esar, S.Si., M.Si., Apt. Dan Ibu Catherine Caroline, M.Si., Apt selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta dukungan, petunjuk, pemikiran, dan saran yang sangat berharga selama proses perancangan hingga penyusunan naskah skripsi ini.
2. LPPM Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas bantuan dana penelitian.
3. Bapak Henry Kurnia Setiawan, M.Si., Apt dan Ibu Dra. Hj. Emi Sukarti., M.Si., Apt selaku tim penguji yang telah memberikan arahan, kritik serta saran yang sangat berguna dalam pengembangan skripsi ini.
4. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., G.Dip.Sc., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas sarana dan prasarana serta kesempatan yang diberikan selama menempuh

pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

5. Dekan Fakultas Farmasi Ibu Martha Ervina, S.Si, M.Si., Apt yang telah membantu dalam menyediakan sarana dan fasilitas sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
6. Ibu Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt dan Ibu Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt selaku Prodi Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas waktu yang diberikan selama proses penyelesaian naskah ini.
7. Mbak Tyas sebagai Laboran di Laboratorium Analisis Sediaan Farmasi yang telah sabar dan tulus dalam membantu penulis selama proses pengerjaan skripsi.
8. Teman – teman seperjuangan analisis Marcel dan Sari yang telah membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
9. Teman – teman Yolo serta seperjuangan angkatan 2012 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu peratu yang telah membantu serta memberikan dukunga semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah Skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, 18 Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Hipotesa Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tinjauan tentang Valsartan	6
2.1.1. Sifat Fisika Kimia	7
2.1.2. Mekanisme Kerja Valsartan	7
2.1.3. Farmakokinetika & Farmakodinamik Valsartan	8
2.1.4. Efek Samping Valsartan	8
2.2. Tinjauan tentang Kromatografi	9
2.2.1. Kromatografi Cair	10
2.2.2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	11
2.2.3. Penggolongan KCKT	12
2.2.4. Instrumentasi KCKT	12
2.2.4.1. Wadah Fase Gerak	13

	Halaman
2.2.4.2. Sistem Pompa	14
2.2.4.3. Gerbang Suntik	15
2.2.4.4. Kolom	16
2.2.4.5. Detektor	18
2.2.4.6. Alat Penggumpul Data	18
2.3. Parameter KCKT	19
2.3.1. Waktu Retensi	19
2.3.2. Faktor Kapasitas	20
2.3.3. Harga Pelat Teoritis	20
2.3.4. Tinggi Setara Pelat Teoritis	21
2.3.5. Faktor Asimetri	21
2.3.6. Selektivitas	22
2.3.7. Resolusi	23
2.4. Cairan Biologis	24
2.4.1. Darah	24
2.4.2. Plasma	24
2.5. Persiapan Sampel	25
2.5.1. Deproteinasi	26
2.6. Penelitian Terdahulu	27
2.7. Validasi Metode	29
2.7.1. Parameter Validasi Metode Analisis	30
2.7.1.1. Spesifisitas dan Selektivitas	31
2.7.1.2. Kisaran	32
2.7.1.3. Linieritas	33
2.7.1.4. Batas Deteksi	35
2.7.1.5. Batas Kuantifikasi	34
2.7.1.6. Akurasi	35

	Halaman
2.7.1.7. Presisi	36
2.7.1.8. Kekasaran	38
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	39
3.1. Bahan dan Alat	39
3.1.1. Bahan	39
3.1.2. Alat	39
3.2. Metode Penelitian	40
3.2.1. Jenis Penelitian	40
3.2.2. Rancangan Penelitian	40
3.2.3. Tahapan Penelitian	40
3.2.3.1. Pembuatan Larutan Baku Induk	40
3.2.3.2. Uji Selektivitas	41
3.2.3.2.1. Penyiapan Fase Gerak	41
3.2.3.2.2. Optimasi Fase Gerak	41
3.2.3.3. Uji Linieritas	43
3.2.3.4. Uji Batas Deteksi & Batas Kuantifikasi ..	43
3.2.3.5. Uji Akurasi dan Presisi	44
3.3. Teknik Analisis Data	45
3.3.1. Perhitungan Selektivitas	45
3.3.2. Perhitungan Linieritas	45
3.3.3. Perhitungan Batas Deteksi & Batas Kuantifikasi	46
3.3.4. Perhitungan Akurasi dan Presisi	46
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1. Uji Selektivitas	47
4.2. Uji Linieritas	53
4.3. Uji Batas Deteksi & Batas Kuantifikasi	55
4.4. Uji Akurasi dan Presisi	56

	Halaman
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1. Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Sifat Fisika Kimia Valsartan	7
2.2. Parameter Farmakokinetik & Farmakodinamik Valsartan	8
2.3. Parameter Validasi Metode Analisa	31
2.4. Persentase Perolehan Kembali Berdasarkan Konsentrasi	36
2.5. Nilai Persentase RSD menurut Horwitz & AOAC PVM .	37
3.1. Kadar Valsartan untuk Uji Linieritas	43
3.2. Kadar Valsartan untuk Uji LOD dan LOQ	44
4.1. Hasil Uji Selektivitas untuk Valsartan	48
4.2. Perhitungan Linieritas	54
4.3. Hasil Uji Akurasi dan Presisi	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Pengelompokkan Kromatografi	10
2.2. Diagram Instrumen KCKT	13
2.3. Gerbang Suntik	16
4.1. Kromatogram Valsartan Tunggal	49
4.2. Kromatogram Plasma Tunggal	50
4.3. Kromatogram Campuran Valsartan dan Plasma	51
4.4. Gambar Spektrum Valsartan	53
4.5. Kurva Linieritas	55
4.6. Kurva Linieritas LOD dan LOQ	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Contoh Perhitungan Selektivitas	65
2. Hasil Uji Linieritas	67
3. Perhitungan Harga F	68
4. F tabel	70
5. Perhitungan LOD dan LOQ	71
6. Perhitungan Akurasi dan Presisi	72
7. R tabel	75
8. Lembar <i>Certificate of Analysis</i> (COA)	76

ABSTRAK

Pengembangan Metode Penentuan Kadar Valsartan dalam Plasma Darah Manusia secara *In Vitro* Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

HENDRIANTO

2443012018

Telah dilakukan validasi metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk penentuan kadar valsartan dalam plasma darah manusia secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan metode KCKT yang dapat digunakan untuk penetapan kadar valsartan dalam plasma darah manusia secara *in vitro*. Validasi metode KCKT untuk penentuan kadar valsartan dalam plasma darah manusia. Pemisahan kromatografi dari valsartan diperoleh menggunakan kolom kromatografi RP-C18 (5 μ m, 4 mm x 250 mm) dan fase gerak asetonitril : dapar fosfat (0,04 M) pH 3,5 (54:46, %v/v) pada kecepatan alir 0,6 mL/min dan panjang gelombang deteksi 225 nm. Pengendapan protein yang digunakan adalah metanol : asetonitril (2:1). Hasil uji linieritas valsartan menunjukkan ada korelasi yang linier antara konsentrasi dan luas area dari valsartan. Rata-rata persen perolehan kembali \pm KV valsartan dalam plasma adalah $85 \pm 0,24\%$. Batas deteksi dan batas kuantitasi dari valsartan adalah 0,05 dan 0,17 ppm. Metode kromatografi cair kinerja tinggi dengan pengendap protein metanol : asetonitril (2:1) dapat digunakan untuk penetapan kadar valsartan dalam plasma darah manusia secara *in vitro*.

Kata kunci : Valsartan, Plasma darah manusia, kromatografi cair kinerja tinggi, *in vitro*, validasi.

ABSTRACT

Method Development for Quantification of Valsartan in Human Plasma *In Vitro* Using High Performance Liquid Chromatography

HENDRIANTO

2443012018

High performance liquid chromatography (HPLC) method for quantification of valsartan in human plasma *in vitro* was developed and validated. The aim of this study was to develop HPLC method for quantitate valsartan in Human plasma *in vitro*. The chromatography separation of valsartan was achieved using a RP-C18 (5 μ m, 4 mm x 250 mm) chromatography column and mobile phase consisting of acetonitrile : phosphate buffer (0.04 M) pH 3.5 (54:46, %v/v) at flow rate 0.6 mL/min and the wavelength detection was 225 nm. The Protein precipitation used methanol : acetonitril (2:1). The linearity study revealed a linear correlation between concentration and peak areas of valsartan. The average percent recovery \pm KV were found to be $85 \pm 0.24\%$. Limit of detection and limit of quantification for valsartan were 0.05 and 0.17 ppm. HPLC method using methanol : acetonitril (2:1) as a protein precipitation can be used for the *in vitro* determination of valsartan in human plasma.

Keywords : Valsartan, human plasma, high performance liquid chromatography, *in vitro*, validation.