

**VALIDASI METODE ANALISIS FUROSEMID DALAM PLASMA
SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**



MARCELINO NOVIANTO

2443012192

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2016

**VALIDASI METODE ANALISIS FUROSEMID
DALAM PLASMA SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI (KCKT)**

SKRIPSI

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

OLEH:
MARCELINO NOVIANTO
2443012192

Telah disetujui pada tanggal 24 juni 2016 dan dinyatakan LULUS

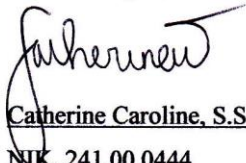
Pembimbing I,



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

NIK. 241.01.0520

Pembimbing II,



Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt.

NIK. 241.00.0444

Mengetahui,
Ketua Penguji



Henry Kurnia, S.Si., M.Si., Apt.

NIK. 241.97.0283

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil akhir tugas 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 atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 10 Juni 2016



Marcelino Novianto

2443012192

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi kepentingan ilmu pengetahuan saya meyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Validasi Metode Analisis Furosemid dalam Plasma Secara 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, 10 Juni 2016



Marcelino Novianto

2443012192

ABSTRAK
VALIDASI METODE ANALISIS FUROSEMID DALAM PLASMA
SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

MARCELINO NOVIANTO
2443012192

Hipertensi merupakan penyakit kardiovaskular yang paling sering terjadi dan merupakan penyebab utama stroke, faktor resiko utama arteri koroner, serta kontributor utama penyakit jantung. Obat anti-hipertensi yang paling banyak digunakan oleh pasien hipertensi adalah furosemid. Menurut peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor HK.03.1.23.12.11.10217 tahun 2011 tentang obat wajib bioekivalensi, furosemid tercantum di dalam daftar obat *copy* yang mengandung zat aktif wajib uji bioekivalensi dan bioavailabilitas, oleh sebab itu diperlukan metode analisis yang valid untuk menetapkan kadar furosemid dalam plasma. Validasi metode analisis furosemid dalam plasma menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan kolom fase terbalik C18, kecepatan alir 0,8 mL/menit, dan detektor *diode array* telah dilakukan. Fase gerak berupa campuran asetonitril : buffer KH_2PO_4 (54%: 46%) pH 3,5 dengan waktu retensi 7,9 menit. Linieritas diperoleh dengan rentang konsentrasi 0,36 – 1,35 $\mu\text{g/mL}$ dan koefisien korelasi 0,9997. LOD dan LOQ masing-masing 0,0319 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,1063 $\mu\text{g/mL}$, untuk akurasi dan presisi didapatkan % *recovery* \pm % KV sebesar 98,4%-102% \pm 0,24-0,57.

Kata kunci: Furosemid, Plasma, Metode Validasi, KCKT, detektor *Diode Array*

ABSTRACT
VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS FUROSEMIDE IN
PLASMA BY HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY (HPLC)

MARCELINO NOVIANTO
2443012192

Hypertension is a cardiovascular disease that is most common and is a major cause of stroke, a major risk factor of coronary arteries, as well as a major contributor to heart disease. Anti-hypertensive drugs most widely used by patients with hypertension is furosemide. According to the regulations Head of National Agency of Drug and Food of the Republic of Indonesia number HK.03.1.23.12.11.10217 of 2011 about Bioequivalence of mandatory drug, furosemide is listed in the list of copy drug containing the active substance shall test bioequivalence and bioavailability, it therefore requires a valid analytical methods to assign furosemide levels in plasma. Validation of analytical methods furosemide in plasma using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a reversed phase C18 column, flow rate of 0.8 mL / min, and a diode array detector have been done. The mobile phase is a mixture of acetonitrile : buffer KH_2PO_4 (54% : 46%) pH 3,5 with retention time retention time of 7.9 minutes. Linearity obtained with a concentration range of 0.36 to 1.35 mg / mL and the correlation coefficient of 0.9997. LOD and LOQ respectively 0.0319 mg / mL and 0.1063 mg / mL, for accuracy and precision obtained %recovery \pm %RSD of 98.4% -102% \pm 0.24 to 0.57.

Keywords: Furosemide, Plasma, Method Validation, HPLC, Diode Array Detector

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan kasih karunia-Nya sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Validasi Metode Analisis Furosemid dalam Plasma Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)” dapat terselesaikan dengan baik. Penulisan skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Keberhasilan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bantuan dan doa dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini, disampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Senny Yesery Esar, S.Si., M.Si., Apt. dan Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Henry Kurnia Setiawan, M.Si., Apt. dan Dra. Hj. Emi Sukarti, M.Si., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberikan saran dan masukan untuk kesempurnaan skripsi ini.
3. Martha Ervina, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.Surabaya.
4. Drs. Teguh Widodo, M.Sc., Apt. selaku wali studi yang telah membimbing dan memberi saran-saran serta nasehat selama masa studi sebagai mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
5. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan.

6. Ibu Tyas selaku petugas laboratorium yang telah membantu dalam peminjaman alat.
7. Mama yang telah memberikan bantuan moril maupun materil sehingga pendidikan Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya ini dapat terselesaikan.
8. Cece Merry dan Jigi yang telah banyak memberikan semangat, arahan dan juga dukungan sehingga pendidikan Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya ini dapat terselesaikan.
9. Teman-teman Farmasi angkatan 2012, terutama Sari, Hendri, Albert, Karolin, dan Yufita yang telah banyak membantu sejak awal studi hingga selesainya skripsi ini.
10. Sahabat saya Yongki dan Billy yang telah banyak memberikan semangat, arahan dan juga dukungan hingga selesainya skripsi ini.
11. Pemimpin rohani, teman-teman dalam *Connect group*, dan teman-teman di Gereja Mawar Sharon yang banyak memberi semangat, arahan dan dukungan sejak awal studi sampai skripsi ini selesai.

Akhir kata diharapkan semua yang tertulis dalam skripsi ini dapat memberikan sumbangan dan masukan yang berarti bagi pembaca, khususnya masyarakat Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Surabaya, 10 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB	
I PENDAHULUAN	1
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	6
2.2 Validasi Metode	11
2.3 Cairan Biologis	20
2.4 Tinjauan Tentang Furosemid	24
III METODE PENELITIAN	28
3.1 Alat dan Bahan	28
3.2 Metode Penelitian	29
3.3 Tahapan Penelitian	29
3.4 Teknik Analisis Data	34
3.5 Skema Kerja	37
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Pemilihan Panjang Gelombang	38
4.2 Uji Selektivitas	38

4.3	Uji Linieritas	43
4.4	Uji Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)	45
4.5	Uji Akurasi dan Presisi	46
4.6	Pembahasan dan Interpretasi Data	48
V	KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1	Kesimpulan	53
5.2	Saran	53
	DAFTAR PUSTAKA	54
	LAMPIRAN	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Contoh Perhitungan Resolusi (R_s), Faktor Kapasitas (k'), Jarak Setara Plat Teoritis (H), dan Jumlah Lempeng (N)	58
2 Daftar Penimbangan Furosemid	59
3 Hasil Uji Linieritas	60
4 Perhitungan Harga F	62
5 Perhitungan LOD dan LOQ	65
6 Contoh Perhitungan Akurasi dan Presisi	66
7 Tabel $F_{(0,05)}$	67
8 Tabel R	68
9 <i>Certificate of Analysis Furosemide</i>	69

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Parameter Validasi Metode Analisis Kuantitatif	20
4.1 Hasil Uji Selektivitas Pemisahan Furosemid dengan Matriks Plasma	42
4.2 Hasil Uji Linieritas Hari Pertama	43
4.3 Hasil Uji Linieritas Hari Kedua	43
4.4 Hasil Uji Linieritas Hari Ketiga	44
4.5 Hasil Uji LOD dan LOQ	45
4.6 Hasil Uji Akurasi dan Presisi	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Skema Instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	7
2.2 Spektrum yang identik diperoleh dari puncak dan lembah, menunjukkan puncak murni	12
2.3 Struktur furosemid	25
3.1 Bagan skema kerja	37
4.1 Profil spektrum absorbansi furosemid menggunakan fase gerak Asetonitril:air (60:40 v/v)	38
4.2 Kromatogram furosemid tunggal dengan fase gerak asetonitril:air (60:40 v/v)	39
4.3 Kromatogram plasma bangko dengan fase gerak asetonitril:air (60:40 v/v)	39
4.4 Kromatogram campuran furosemid dan plasma dengan fase gerak asetonitril:air (60:40 v/v)	40
4.5 Kromatogram furosemid tunggal dengan fase gerak asetonitril:buffer pH 3,5(54%:45%)	40
4.6 Kromatogram plasma blangko dengan fase gerak asetonitril:buffer pH 3,5 (54%:45%)	41
4.7 Kromatogram campuran furosemid dan plasma dengan fase gerak asetonitril:buffer pH 3,5 (54%:45%)	41
4.8 Kurva baku linieritas antara konsentrasi dan respon (luas area)	44
4.9 Kurva baku LOD dan LOQ	46