

SKRIPSI SARJANA FARMASI

**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE ANALISIS TABLET
KANDESARTAN SILEKSETIL DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET SECARA LUAS DAERAH
DIBAWAH KURVA**

Oleh:



FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2021

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Anisa Herni Nofian

No.BP : 1711012029

Judul Skripsi : Pengembangan Dan Validasi Metode Analisis Tablet Kandesartan Sileksetil Dengan Metode Spektrofotometri Ultraviolet Secara Luas Daerah Dibawah Kurva

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Padang, 10 Oktober 2021

(Anisa Herni Nofian)



Skripsi ini Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Menempuh Ujian

Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Andalas

Padang



Disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

[Handwritten signature of Fithriani Armin] *[Handwritten signature of Regina Andayani]*

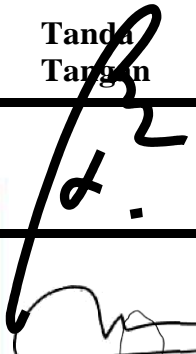




apt. Fithriani Armin, S.Si, M.Si

Dr. apt. Regina Andayani, S.Si, M.Si

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Pembahas Seminar Hasil Penelitian

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Pada tanggal : 20 September 2021

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. apt. Rustini, M.Si	Ketua	
2	apt. Purnawan Pontana Putra, S.Si, M.Si.	Pembahas	
3	Dr. apt. Friardi Ismed	Pembahas	
4	apt. Fithriani Armin, S.Si, M.Si	Pembimbing I	
5	Dr. apt. Regina Andayani, S.Si, M.Si	Pembimbing II	



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya tanpa henti-hentinya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi sarjana farmasi ini dengan judul **“Pengembangan Dan Validasi Metode Analisis Tablet Kandesartan Sileksetil Dengan Metode Spektrofotometri Ultraviolet Secara Luas Daerah Dibawah Kurva”**. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Strata-1 pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Selesainya penelitian dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari doa dan dukungan yang diberikan oleh orang-orang yang ada disekitar penulis baik moril dan materil. Terima kasih yang tak terhingga untuk orang tua tercinta serta seluruh keluarga besar, kakak dan abang atas do'a, motivasi, dan kasih sayang yang telah diberikan hingga selesainya skripsi ini.

Pada kesempatan ini, dengan rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu apt. Fithriani Armin, S.Si, M.Si. selaku pembimbing I dan ibu Dr. apt. Regina Andayani, S.Si, M.Si. selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Bapak alm. Prof. Dr. Harrizul Rivai, MS. yang telah bersedia memberikan izin melanjutkan penelitian beliau sebagai tugas akhir penulis dan telah bersedia meluangkan waktu selama penelitian untuk memberikan saran dan arahan kepada penulis.
3. Bapak Dr. apt. Salman, M.Si. sebagai penasehat akademis yang telah memberikan nasehat, motivasi, serta petunjuk selama penulis melaksanakan pendidikan.

4. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang selama ini telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat berguna bagi penulis, karyawan-karyawati dan analis laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah membantu penulis selama melaksanakan pendidikan.
5. Fatizah Rahmi, SIP., sahabat penulis yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan masukan, serta waktu luang kepada penulis untuk mendengarkan semua cerita dan keluhan penulis baik selama penulis menjalankan pendidikan hingga dititik penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
6. Rama Hanny Mardisa, sahabat penulis yang selalu bertukar semangat, dukungan dan cerita dengan penulis untuk sama-sama dapat menyelesaikan pendidikan bersama-sama.
7. Elva dan Ranti, sahabat penulis yang selalu memberikan motivasi dan dukungan kepada penulis selama penulis berkuliah hingga bisa menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman kuliah penulis (Indah, Rindang, Ismah, Riny, dan Ocha) yang selalu membantu dan menyemangati penulis baik selama kuliah hingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
9. Medlyn Jhofi, teman penulis yang selalu membantu dan memberikan solusi selama penulis penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Qanita Rahmadhani, teman seperbimbingan penulis yang menjadi teman bertukar pikiran, membantu penulis untuk mencari solusi dalam penelitian, dan selalu memberikan dukungan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman Phosphate yang sama-sama berjuang selama masa pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada pihak yang membantu penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu dan banyak orang.

Padang, Agustus 2021

Penulis

ABSTRAK

PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE ANALISIS TABLET KANDESARTAN SILEKSETIL DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET SECARA LUAS DAERAH DIBAWAH KURVA

Oleh:
ANISA HERNI NOFIAN
NIM : 1711012029
(Program Studi Sarja Farmasi)

Pemeriksaan kadar zat aktif merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam menjamin kualitas sediaan obat, untuk melakukan penetapan kadar obat dibutuhkan suatu metode yang telah tervalidasi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengembangan dan validasi metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva dalam menganalisis tablet kandesartan sileksetil. Metode ini dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut, yaitu etanol, NaOH 0,1 N, dan HCl 0,1 N. Pada penentuan pelarut terpilih etanol sebagai pelarut yang memberikan panjang gelombang serapan maksimum 254,40 nm dengan memberikan bentuk spektrum seperti lonceng dan luas daerah di bawah kurva terukur pada panjang gelombang 243,40-263,00 nm. Hasil penelitian terhadap parameter validasi; linearitas kandesartan sileksetil pada rentang konsentrasi 6-22 µg/ml menunjukkan hasil persamaan regresi linear $y = 0,0324x + 0,0084$ dengan nilai koefisien korelasi terhadap metode luas daerah di bawah kurva adalah 0,9975, batas deteksi 2,855 µg/ml, batas kuantitasi 9,517 µg/ml, presisi dinyatakan dalam %RSD, presisi *intraday* dan *interday* pada metode luas daerah di bawah kurva secara berturut-turut adalah $0,37\% \pm 0,054$ dan $0,57\% \pm 0,082$ dengan rata-rata persen perolehan kembali sebesar 109,86%. Hasil validasi dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva menunjukkan bahwa semua parameter uji memenuhi persyaratan sebagai metode yang dapat digunakan dalam penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil.

Kata kunci: kandesartan sileksetil, metode luas daerah di bawah kurva, spektrofotometri ultraviolet

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE ANALYSIS METHOD OF CANDESARTAN CILEXETIL TABLETS USING ULTRAVIOLET SPECTROPHOTOMETRY METHODS IN AREA UNDER THE CURVE

By:

ANISA HERNI NOFIAN
Student ID Number : 1711012029
(Bachelor of Pharmacy)

Examination of active substance levels is one of the requirements that must be met in ensuring the quality of drug preparations, to determine drug levels, a validated method is needed. This study aims to develop and validate the ultraviolet spectrophotometric method in the area under the curve in analyzing candesartan cilexetil tablets. This method was carried out using three solvents, namely ethanol p.a, NaOH 0.1 N, and HCl 0.1 N. In the determination of the solvent, ethanol was chosen as the solvent that gave a maximum absorption wavelength of 254.40 nm by giving the shape of a bell-like spectrum and broad area. below the measured curve at a wavelength of 243.40-263.00 nm. The results of the research on the validation parameters; The linearity of candesartan cilexetil in the concentration range of 6-22 g/ml shows the results of the linear regression equation $y = 0.0324x + 0.0084$ with the correlation coefficient value against the area under the curve method is 0.9975, the limit of detection is 2.855 g/ml, the limit quantitation 9.517 g/ml, precision expressed in %RSD, intraday and interday precision in the area under the curve method were $0.37\% \pm 0.054$ and $0.57\% \pm 0.082$ with an average percent recovery of 109,86%. The results of the validation using the ultraviolet spectrophotometric method in the area under the curve showed that all the test parameters met the requirements as a method that could be used in the determination of candesartan cilexetil tablets.

Keywords: candesartan cilexetil, area under the curve method, ultraviolet spectrophotometry

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING	iii
LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kandesartan Sileksetil	6
2.1.1 Sifat Fisikomia	7
2.1.2 Tinjauan Farmakologi.....	8
2.1.3 Tinjauan Farmakokinetik	8
2.1.3.1 Absorpsi	8
2.1.3.2 Distribusi.....	9
2.1.3.3 Metabolisme.....	9
2.1.3.4 Eliminasi	9
2.1.3.5 Toksisitas	10

2.1.4	Tinjauan Farmakodinamik	10
2.2	Spektrofotometri.....	10
2.2.1	Pengertian Spektrofotometri UV-Vis.....	10
2.2.2	Prinsip dan Instrumen Spektrofotometri UV-Vis	12
2.2.3	Kegunaan Spektrofotometri UV-Vis.....	15
2.2.4	Cara-Cara Pengukuran dengan Spektrofotometer Ultraviolet	15
2.2.5	Hukum Lambeert-Beer.....	17
2.3	Validasi Metode Analisis	19
2.3.1	Linearitas.....	21
2.3.2	Akurasi (Kecermatan)	22
2.3.3	Presisi	23
2.3.4	Batas Deteksi/ <i>Limit of Detection</i> (LoD)	25
2.3.5	Batas Kuantitasi/ <i>Limit of Quantitation</i> (LoQ)	26
III.	METODE PENELITIAN	27
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2	Alat dan Bahan	27
3.2.1	Alat.....	27
3.2.2	Bahan.....	27
3.3	Prosedur Penelitian.....	27
3.3.1	Pembuatan Larutan.....	27
3.3.2	Larutan Induk Kandesartan Sileksetil 1000 µg/ml	28
3.3.3	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Kandesartan Sileksetil	28
3.3.4	Pembuatan Kurva Kalibrasi Kandesartan Sileksetil	28
3.4	Validasi Meode Analisis	29
3.4.1	Uji Linearitas.....	29
3.4.2	Uji Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	29
3.4.3	Uji Akurasi	29
3.4.4	Uji Presisi.....	29
3.4.5	Penetapan Kadar Tablet Kandesartan Sileksetil	30
3.5	Analisis Data	30
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Penentuan Pelarut Untuk Analisis Tablet Kandesartan Sileksetil.....	33

4.2	Pembuatan Kurva Kalibrasi.....	36
4.3	Validasi Metode Analisis	38
4.3.1	Linearitas.....	38
4.3.2	Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)	38
4.3.3	Akurasi	39
4.3.4	Presisi	39
4.4	Penetapan Kadar Tablet Kandesartan Sileksetil.....	40
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1	Kesimpulan.....	42
5.2	Saran.....	42
	DAFTAR PUSTAKA	43



DAFTAR TABEL

Tabel I. Tingkat presisi (34).....	25
Tabel II. Data serapan larutan kandesartan sileksetil 10 µg/ml dalam pelarut etanol p.a.....	35
Tabel III. Data serapan larutan kandesartan sileksetil 10 µg/ml dalam pelarut NaOH 0,1 N.....	35
Tabel IV. Data kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol dengan metode luas daerah di bawah kurva.....	47
Tabel V. Data kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol dengan metode absorbansi pada λ_{mak} 254,40 nm.....	47
Tabel VI. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 6 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	48
Tabel VII. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	49
Tabel VIII. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 14 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	50
Tabel IX. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 18 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	51
Tabel X. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 22 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	52
Tabel XI. Linearitas kandesartan sileksetil dengan metode luas daerah di bawah kurva.....	53
Tabel XII. Linearitas kandesartan sileksetil dengan metode absorbansi.....	53
Tabel XIII. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi kandesartan sileksetil dengan metode luas daerah di bawah kurva.....	54
Tabel XIV. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi kandesartan sileksetil dengan metode absorbansi.....	54
Tabel XV. Data uji akurasi tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva.....	55

Tabel XVI. Data uji presisi <i>intraday</i> tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva	56
Tabel XVII. Data uji presisi <i>interday</i> tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva	57
Tabel XVIII. Penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva	58
Tabel XIX. Data luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil generik dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 1)	58
Tabel XX. Data luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil generik dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 2)	59
Tabel XXI. Data luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil generik dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 3)	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kimia kandesartan sileksetil (4)	7
Gambar 2. Instrumen spektrofotometer ultraviolet (29).....	13
Gambar 3. Dispersi cahaya putih oleh prisma (monokromatik) (23)	14
Gambar 4. Spektrum larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut etanol p.a.....	34
Gambar 5. Spektrum larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut NaOH 0,1 N	35
Gambar 6. Kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol 10 µg/ml dengan metode luas daerah di bawah kurva.....	37
Gambar 7. Kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol 10 µg/ml dengan metode absorbansi pada λ_{mak} 254,40 nm.....	37
Gambar 8. Kelarutan kandesartan sileksetil dalam pelarut HCl 0,1 N.....	47
Gambar 9. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 6 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	48
Gambar 10. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	49
Gambar 11. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 14 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	50
Gambar 12. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 18 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	51
Gambar 13. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 22 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm.....	52
Gambar 14. Spektrum luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 1)	58
Gambar 15. Spektrum luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 2)	59
Gambar 16. Spektrum luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 3)	60
Gambar 17. Sertifikat analisi kandesartan sileksetil.....	61
Gambar 18. Sampel tablet kandesartan sileksetil generik	83

Gambar 19. Timbangan analitik 84

Gambar 20. Sonikator..... 84

Gambar 21. Spektrofotometer UV-Vis..... 85

Gambar 22. Bagan alir prosedur penelitian secara keseluruhan..... 86

Gambar 23. Bagan alir pembuatan larutan baku kandesartan sileksetil dan penentuan panjang gelombang maksimum..... 87

Gambar 24. Bagan alir pembuatan dan pengukuran kurva kalibrasi larutan standar kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol dengan metode luas daerah di bawah kurva..... 88

Gambar 25. Bagan alir penentuan kadar kandesartan sileksetil dalam sediaan tablet 89



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data dan Hasil Penelitian.....	47
Lampiran 2. Perhitungan Hasil.....	62
Lampiran 3. Prosedur dan Alat Bahan Penelitian	83



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, hipertensi masih menjadi salah satu penyakit tidak menular sebagai penyebab utama kejadian kematian prematur di dunia. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) prevalensi hipertensi secara global pada tahun 2019 sebesar 22% dari total penduduk dunia dan mencapai 25% angka kejadian di Asia Tenggara. Indonesia adalah salah satu negara dengan tingkat penderita hipertensi yang tinggi. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang telah dilakukan oleh Kementerian Kesehatan pada tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi kejadian hipertensi di Indonesia meningkat menjadi 34,11% dibandingkan dengan prevalensi pada tahun 2013 sebesar 25,8% (1). Dalam pelaksanaan terapi farmakologi untuk hipertensi umumnya diawali dengan penggunaan obat tunggal. Dalam *guideline* JBC VIII merekomendasikan terapi awal hipertensi adalah *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACE-I), *Angiotensin Resepor Blocker* (ARB), *diuretic thiazide* dosis rendah, dan *Calcium Channel Blocker* (CCB) (2).

Kandesartan sileksetil adalah salah satu obat hipertensi golongan *angiotensin II receptor blocker* (ARB) tipe 1 yang kuat dan sangat selektif tanpa aktivitas agonis. Golongan ARB banyak digunakan dalam pengobatan penyakit salah satunya hipertensi. Obat kandesartan sileksetil yang diindikasikan sebagai pengobatan hipertensi, gagal jantung kongestif dan penggunaan pada terapi profilaksis untuk mengurangi keparahan terjadinya migrain. Penyerapan kandesartan yang buruk menyebabkan disintesisnya kandesartan dalam bentuk *prodrug* ester, yaitu kandesartan sileksetil. Sediaan kandesartan sileksetil yang tersedia di pasaran, yaitu dalam bentuk sediaan tunggal atau kombinasi dengan antihipertensi lainnya. (3)

Kandesartan sileksetil adalah turunan tetrazol (cincin heterosiklik beranggota lima dengan 4 atom nitrogen). Secara klinis kandesartan sileksetil merupakan bentuk *prodrug ester* dari metabolit aktifnya, yaitu kandesartan. (3) Kandesartan sileksetil secara kimiawi adalah (\pm) -1-Hidroksietil 2-etoksi-1-[p-(o-1H-tetrasol-5-ilfenil)benzil]-7-benzimidazolkarboksilat, sikloheksilkarbonat (ester), dengan rumus kimia $C_{33}H_{34}N_6O_6$ dan memiliki berat molekul 610,66. Kandesartan sileksetil berbentuk kristal putih atau serbuk putih dengan sifat kelarutannya yang praktis tidak

larut dalam air dan agak sukar larut dalam metanol (4). Berdasarkan strukturnya kandesartan sileksetil memiliki gugus fungsi ester dan gugus tetrazol dengan rantai samping lipofilik. Pada metabolit aktifnya, yaitu kandesartan terdapat gugus karboksil pada posisi 7 cincin benzimidazol yang memberikan sifat pemblokiran reseptor angiotensin II (5).

Kualitas dan keamanan suatu sediaan obat dapat dibuktikan melalui pengujian penjaminan mutu obat, diantaranya seperti uji identifikasi, uji kemurnian, dan penetapan kadar. Sediaan obat yang berkualitas baik dapat menunjang tercapainya efek terapeutik yang diharapkan. Persyaratan mutu obat salah satunya adalah kadar zat yang dikandung dalam obat tersebut mengacu pada persyaratan di dalam Farmakope Indonesia. Kadar kandesartan sileksetil yang tertera pada Farmakope Indonesia adalah tidak kurang dari 98,7% dan tidak lebih dari 101,0% $C_{33}H_{34}N_6O_6$, dihitung terhadap zat anhidrat (4). Penetapan kadar suatu obat tersebut dapat dilakukan dengan berbagai metode yang berbeda-beda dan telah tervalidasi.

Dalam menggunakan metode yang dipilih untuk melakukan penetapan kadar obat perlu dilakukan validasi. Validasi metode merupakan suatu proses yang digunakan untuk memastikan bahwa prosedur analitik yang digunakan untuk pengujian tertentu sesuai dengan tujuan penggunaannya. Hasil pengujian dari validasi metode dapat digunakan untuk menilai kualitas, reliabilitas dan konsistensi analitik (6). Validasi memastikan bahwa kinerja metode dan pedoman yang mencakup parameter dasar akurasi, presisi, selektivitas, sensitivitas, reproduktifitas, dan stabilitas telah sesuai dengan syarat yang ditetapkan. *United States Pharmacopoeia* (USP), 2014 mengklasifikasikan validasi metode analisis ke dalam 3 kategori dengan salah satunya digunakan untuk penetapan kadar suatu komponen melalui percobaan laboratorium dengan tujuan memastikan bahwa prosedur yang digunakan dalam percobaan tersebut memenuhi persyaratan untuk aplikasi analisis (7).

Analisis kandesartan sileksetil telah banyak dilakukan sebelumnya oleh beberapa peneliti baik dalam sediaan tunggal maupun kombinasi. Berdasarkan studi literatur didapatkan beberapa metode yang telah dilaporkan dalam analisis kandesartan sileksetil, yaitu pada Farmakope Indonesia Edisi VI analisis dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT/HPLC) (4) dan juga

telah dikembangkan oleh para peneliti, seperti yang dilakukan oleh Kamalakkanan *et al*, 2011 dengan menganalisis kandesartan menggunakan fase terbalik HPLC, yaitu fase gerak yang digunakan adalah campuran buffer fosfat (pH 2,5) dan asetonitril 20:80 (v/v) dan menggunakan panjang gelombang deteksi 215 nm (8). Madhavi *et al*, 2017 telah melakukan analisis pada kandesartan dalam sediaan kombinasi dengan hidroklorothiazid menggunakan fase terbalik HPLC dan fase gerak yang digunakan adalah air (pH 2,8): asetonitril (30:70% v/v) serta panjang gelombang deteksi yang digunakan adalah 210 nm menggunakan detektor *photodiode array* (PDA) (9).

Metode lain yang telah dilaporkan adalah *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) yang dilakukan oleh Ambekar dan Kuchekar, 2016 dengan mengembangkan dan memvalidasi stabilitas metode HPTLC untuk analisis kandesartan sileksetil (CDT) dan hydrochlorothiazide (HCT) secara simultan dalam bentuk sediaan farmasi yang menggunakan pelarut toluena: kloroform: etanol: asam asetat glasial (2: 7: 1: 0,1 v/v) sebagai fase gerak dan panjang gelombang yang dipilih untuk pemindaian densitometri adalah 270 nm (10), metode Spektrofluorometri yang dilakukan oleh Sakur dan Hanan, 2010 menganalisis sediaan tablet kandesartan sileksetil pada panjang gelombang eksitasi dan emisi masing-masing adalah 260 nm dan 381 nm (11), dan metode spektrofotometri yang telah banyak dikembangkan, seperti yang dilakukan oleh Jignesh *et al*, 2010 yang menggunakan metode spektrofotometri Q-analisis (12), oleh Arfaraj *et al*, 2013 yang menggunakan metode bivariat spektrofotometri dengan adanya degradasi basa (13), oleh Mukthinuthalapati dan Josyula, 2015 yang menggunakan metode spektrofotometri derivatif secara simultan pada kandesartan sileksetil dan hydrochlorothiazide (14), dan Ravisankar *et al*, 2016 yang menggunakan metode spektrofotometri UV dalam analisis kandesartan sileksetil (15).

Pada penelitian ini metode analisis kandesartan sileksetil yang digunakan adalah pengembangan dengan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva (AUC). Pemilihan metode spektrofotometri ini dinilai lebih mudah dan efisien dari segi biaya maupun waktu dibandingkan dengan KCKT, bersifat selektif, dan sensitif sehingga menjadi salah satu alternatif metode analisis yang dapat dikembangkan dengan praktis jika dibandingkan dengan metode KCKT. Metode AUC dipilih karena dapat memberikan peningkatan sensitivitas terhadap

metode spektrofotometri serta metode yang sederhana. Metode AUC melibatkan perhitungan nilai yang terintegrasi dari absorban sehubungan dengan panjang gelombang antara dua panjang gelombang yang dipilih (16). Dalam proses perhitungan area terikat oleh kurva dan sumbu horizontal sehingga melibatkan perhitungan secara kuantitatif dengan tetap didasarkan pada hukum Lambert-Beer.

Dalam melakukan validasi metode digunakan beberapa pelarut untuk analisis kandesartan sileksetil. Pelarut yang akan digunakan adalah etanol p.a, asam klorida (HCl 0,1 N), dan natrium hidroksida (NaOH 0,1 N). Penentuan pelarut terpilih dari beberapa pelarut tersebut dilihat dari kelarutannya, absorptivitas dan keamanan dari pelarut tersebut. Penggunaan pelarut HCl dan NaOH juga bertujuan untuk melihat keterlibatan asam dan basa terhadap kelarutan kandesartan sileksetil sehingga memberikan penyerapannya yang baik saat proses pengukuran. Pelarut yang dipilih adalah pelarut yang akan memberikan bentuk spektrum serapan maksimum berbentuk lonceng (17). Pelarut yang dipilih kemudian akan digunakan untuk analisis obat kandesartan sileksetil dengan metode luas daerah di bawah kurva. Pemilihan pelarut ini bertujuan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurasi, presisi, dan linearitas serta menguji batas deteksi dan batas kuantitasnya dengan tepat.

Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan analisis terhadap kandesartan sileksetil dalam sediaan tablet menggunakan metode spektrofotometri secara luas daerah di bawah kurva dengan menggunakan pelarut yang memberikan bentuk spektrum seperti lonceng. Metode ini diharapkan bisa menjadi informasi terbaru untuk analisis kandesartan sileksetil dalam sediaan tablet.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva (AUC) dapat dikembangkan dengan beberapa pelarut sebagai analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil?
2. Apakah hasil uji validasi terhadap metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva (AUC) memenuhi persyaratan validasi sebagai analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah metode spektrofotometri ultraviolet secara luas

daerah di bawah kurva (AUC) dapat dikembangkan dengan beberapa pelarut sebagai analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil.

2. Untuk mengetahui apakah hasil uji validasi terhadap metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva (AUC) memenuhi persyaratan validasi sebagai analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil.

1.4 Hipotesis

H₁ : Metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva (AUC) dapat dikembangkan dengan beberapa pelarut sebagai analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil.

H₂ : Hasil uji validasi terhadap metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva (AUC) memenuhi persyaratan validasi sebagai analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kandesartan Sileksetil

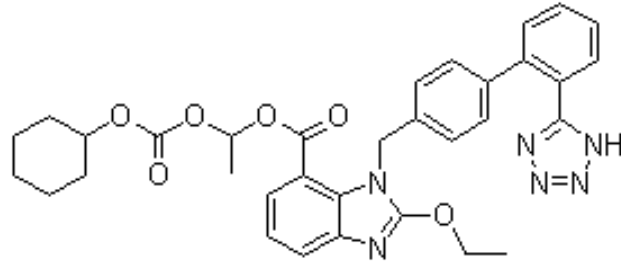
Kandesartan sileksetil adalah obat hipertensi golongan *angiotensin II receptor blocker* (ARB) tipe I. Golongan *angiotensin II receptor blocker* memiliki keunggulan potensial dibandingkan dengan golongan ACE-Inhibitor sebagai hasil dari peningkatan spesifisitasnya dalam memblokir efek sirkulasi dan jaringan angiotensin II pada tingkat reseptor AT1. Golongan ARB dapat digunakan untuk menggantikan ACE-Inhibitor pada pasien yang tidak mentolerir golongan senyawa ini dan mengalami batuk atau angioedema. Seperti halnya obat golongan ARB lainnya, kandesartan sileksetil ini banyak digunakan sebagai obat hipertensi dan gagal jantung kongestif. Kandesartan sileksetil juga digunakan sebagai terapi profilaksis untuk mengurangi keparahan dan durasi terjadinya migrain. Dalam penggunaan klinis, kandesartan sileksetil merupakan bentuk *prodrug ester* dari metabolit aktifnya, yaitu kandesartan yang memberikan efek terapeutik (3). Dengan demikian, efek terapeutik kandesartan sileksetil hanya bergantung pada pembentukan metabolit kandesartan aktifnya (18).

Kandesartan sileksetil merupakan turunan tetrazol (cincin heterosiklik beranggota lima dengan 4 atom nitrogen) non-peptida yang aktif secara oral. *Prodrug* kandesartan sileksetil berdasarkan strukturnya memiliki gugus fungsi ester dan gugus tetrazol dengan rantai samping lipofilik. Gugus ester pada kandesartan sileksetil akan mengalami proses hidrolisis ester yang menghasilkan gugus karboksilat sehingga membentuk metabolit aktifnya, yaitu kandesartan. Pengenalan gugus karboksil pada posisi 7 cincin benzimidazol inilah yang memberikan sifat pemblokiran reseptor angiotensin II yang kemudian digunakan dalam terapi hipertensi (5).

Sediaan kandesartan sileksetil yang beredar di pasaran dapat berupa sediaan tunggal maupun kombinasi. Sediaan tunggal yang beredar berupa tablet 4 mg, 8 mg, 16 mg, dan 32 mg, serta berupa suspensi oral. Namun, sediaan kandesartan sileksetil yang beredar di Indonesia hanya dalam bentuk tablet. Dosis awal yang digunakan dalam pemberian oral pada pasien dewasa adalah 16 mg dalam sehari atau dengan dosis biasa 8-32 mg sehari yang diberikan dalam 1 dosis atau 2 dosis terbagi.

2.1.1 Sifat Fisikomia

- 1) Rumus Struktur Kandesartan sileksetil



Gambar 1. Struktur kimia kandesartan sileksetil (4)

- 2) Nama Kimia : (\pm) -1-Hidroksietil 2-etoksi-1-[p-(o-1H-tetrasol-5-ilfenil)benzil]-7-benzimidazolkarboksilat, sikloheksilkarbonat (ester)
- 3) Rumus Molekul : $C_{33}H_{34}N_6O_6$
- 4) Berat Molekul : 610,66
- 5) Pemerian : Serbuk, putih sampai hampir putih
- 6) Kelarutan : Praktis tidak larut dalam air; agak sukar larut dalam metanol
- 7) Sisa Pemijaran : Tidak lebih dari 0,1%; lakukan penetapan menggunakan 1 g zat
- 8) Wadah dan Penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat, pada suhu ruang terkendali
- 9) Identifikasi
 - a. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P, menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada Kandesartan Sileksetil BPFi. Jika spektrum yang diperoleh berbeda, lakukan penetapan sebagai berikut: Larutkan secara terpisah sejumlah Kandesartan Sileksetil BPFi dan Kandesartan sileksetil dengan etanol P. Catatan panaskan larutan agar larut sempurna. Dinginkan dalam tangas es, saring hablur, dan keringkan pada suhu 105° (4).

2.1.2 Tinjauan Farmakologi

Mekanisme kerja dari *angiotensin II receptor blocker* (ARB) berbeda dengan *angiotensin converting enzim-inhibitor* (ACE-inhibitor). ARB dikembangkan untuk mengatasi permasalahan atau kekurangan-kekurangan yang dihasilkan dari ACE-inhibitor. ARB dapat menghambat angiotensin II yang lebih lengkap dengan berinteraksi secara selektif pada lokasi reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1). Angiotensin II ini bertindak sebagai vasokonstriktor dan merangsang pelepasan aldosteron yang menyebabkan natrium dan air diserap kembali sehingga menghasilkan peningkatan tekanan darah. Oleh karena itu, kandesartan yang dapat berikatan secara selektif untuk menghambat reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1) menyebabkan terjadinya pencegahan angiotensin II berikatan dengan reseptornya, seperti otot polos pembuluh darah dan kelenjar adrenal. Hal ini menyebabkan terhalangnya vasokonstriksi dan efek sekresi aldosteron dari angiotensin II yang dapat menurunkan tekanan darah (3).

Kandesartan sileksetil memiliki efek samping yang rendah, seperti sakit kepala, infeksi saluran pernapasan atas, nyeri punggung, kram otot, kelelahan dan pusing. Kandesartan sileksetil dapat diberikan secara bersamaan dengan obat lain dan tidak mengalami interaksi obat yang signifikan dengan glyburide, nifedipin, digoksin, warfarin, hidroklortiazid dan kontrasepsi oral. Kandesartan tidak dimetabolisme oleh sistem sitokrom P-450 dan tidak berpengaruh pada enzim, tetapi mengalami de-etilasi dan glukuronidasi dalam jumlah kecil. Hal itu menyebabkan penghambatan dan perangsangan enzim P-450 tidak diharapkan berinteraksi dengan kandesartan (19).

2.1.3 Tinjauan Farmakokinetik

2.1.3.1 Absorpsi

Setelah pemberian oral, kandesartan sileksetil dihidrolisis dengan cepat dan lengkap secara enzimatis menjadi kandesartan selama penyerapan di saluran pencernaan. Ketersediaan hayati oral pada manusia rendah sekitar 40% karena proses absorpsinya yang tidak sempurna (18). Bioavailabilitas dan penyerapan dari kandesartan sileksetil tidak dipengaruhi oleh makanan yang memiliki kandungan lemak tinggi (19). Konsentrasi plasma kandesartan sileksetil oral di awal pemberian

tidak terdeteksi. Metabolit kandesartan aktif muncul setelah waktu jeda rata-rata 1 jam (setelah dosis tunggal serta setelah 8 hari pengobatan berturut-turut). Waktu pembentukan rata-rata adalah 1,2 dan 1,3 jam pada hari ke-1 dan ke-8. Konsentrasi maksimum (C_{max}) dicapai antara 3,5 dan 6 jam (18).

2.1.3.2 Distribusi

Kandesartan berikatan dengan protein plasma manusia lebih dari 99% yang sebagian besarnya terikat pada albumin. Kandesartan tidak menembus sel darah dan memiliki sifat yang buruk dalam melintasi sawar darah otak. Namun, kandesartan dapat melewati sawar plasenta dan didistribusikan pada janin. Volume distribusi kandesartan pada sukarelawan yang sehat diperkirakan 0,13 L/kg. Nilai rendah ini dijelaskan oleh pengikatan protein plasma yang tinggi dari obat tersebut. Investigasi yang telah dilakukan pada pasien menunjukkan bahwa volume distribusi dipengaruhi oleh usia dan berat badan (18).

2.1.3.3 Metabolisme

Prodrug kandesartan sileksetil yang diesterifikasi dianggap sepenuhnya dimetabolisme menjadi kandesartan selama diabsorpsi di dinding gastrointestinal, karena tidak ada kandesartan sileksetil yang terdeteksi dalam plasma manusia (18). Sebagian kecil metabolisme kandesartan sileksetil terjadi di hepar (<20%) untuk membentuk metabolit yang tidak aktif terjadi oleh *O-deethylation* melalui sitokrom P450 2C9. Kandesartan mengalami N-glukuronidasi pada cincin tetrazol oleh *uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A3* (UGT1A3) serta terjadi proses O-glukuronidasi.

2.1.3.4 Eliminasi

Bersihan total plasma kandesartan yaitu 0,37 ml/menit/kg dengan pembersihan ginjal sekitar 0,19 ml/menit/kg. Ketika kandesartan sileksetil diberikan secara oral, sekitar 26% dari dosis diekskresikan dalam bentuk kandesartan yang tidak berubah melalui urin. Setelah dosis oral kandesartan sileksetil sekitar 33% radioaktivitas ditemukan dalam urin dan sekitar 67% di dalam tinja. Ekskresi bilier juga berkontribusi pada eliminasi kandesartan (3).

2.1.3.5 Toksisitas

Pengujian toksisitas kandesartan sileksetil pada hewan uji (tikus dan anjing) dengan menggunakan dosis oral tunggal hingga 2000 mg/kg tidak menunjukkan adanya letalitas atau penyebab kematian. Pada dosis tinggi yang diberikan selama 4 minggu berturut-turut pada hewan uji dapat menyebabkan peningkatan nitrogen urea plasma dan penurunan jumlah eritrosit serta berat jantung (5).

2.1.4 Tinjauan Farmakodinamik

Kandesartan sileksetil merupakan *prodrug* yang cocok digunakan dalam bentuk oral. Dalam saluran pencernaan dengan cepat mengalami perubahan menjadi metabolit aktif kandesartan oleh hidrolisis ester. Respon penurunan tekanan darah bergantung terhadap dosis dan telah terjadi dengan dosis 4-32 mg. Efek antihipertensi yang diberikan maksimum terjadi setelah 4-6 jam pemberian oral. Hubungan tingkat plasma ditemukan setelah diberikan dosis berulang, terlepas dari keadaan usia, berat badan, atau jenis kelamin pasien. Efek antihipertensi yang diberikan mampu bertahan dengan baik selama 24 jam setelah dosis 8-16 mg per hari kandesartan sileksetil diberikan. Adapun efisiensi puncak dari efek antihipertensinya dicapai dalam waktu 4-6 minggu dosis harian (19).

Dosis awal pemberian kandesartan sileksetil yang dianjurkan untuk dewasa dengan penyakit hipertensi adalah 16 mg satu kali pemberian dalam sehari. Berdasarkan respon tekanan darah atau efek samping kandesartan, dosis dapat diturunkan atau dinaikkan sesuai keadaan pasien. Perubahan tiap dosis membutuhkan waktu beberapa minggu untuk melihat efek penuh dari kandesartan dalam menurunkan tekanan darah. Secara umum dosis akhir dari kandesartan sileksetil yang biasa digunakan adalah 2 mg sampai 32 mg baik sebagai dosis harian atau dua bagian yang lebih kecil (19).

2.2 Spektrofotometri

2.2.1 Pengertian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer merupakan instrumen yang memberikan informasi yang berkaitan tentang intensitas sinar yang diserap atau ditransmisikan sebagai fungsi panjang gelombang (20). Spektrofotometri adalah salah satu metode analisis dalam bidang kimia analitik. Metode ini didasarkan kepada interaksi antara radiasi

elektromagnetik sebagai fungsi panjang gelombang dengan spesies kimia (materi). Interaksi dapat terjadi melalui absorpsi (penyerapan), luminesensi (pemendaran), emisi (pemancaran), ataupun penghamburan, tergantung pada materinya. Berdasarkan interaksi tersebut dapat diperoleh informasi tentang spesies kimia yang dianalisis, baik secara kualitatif maupun kuantitatif menggunakan suatu alat yang disebut dengan spektrofotometer. Interaksi yang terjadi antara radiasi elektromagnetik dengan spesies kimia merupakan fungsi panjang gelombang. Untuk saat ini, telah dikenal beberapa metode analisis diantaranya, yaitu metode spektrofotometri ultraviolet, spektrofotometri sinar tampak, dan spektrofotometri infra merah (21).

Spektrofotometer ada di mana-mana diantara laboratorium modern. Spektrofotometri Ultraviolet (UV) dan Visible (VIS) telah menjadi metode pilihan di sebagian besar laboratorium yang berkaitan dengan identifikasi dan kuantifikasi senyawa organik dan anorganik di berbagai produk dan proses. Metodenya telah diterapkan di seluruh penelitian, kualitas, dan manufaktur, dengan fokus berkelanjutan pada berbagai ilmu (22).

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorbsikan oleh sampel. Spektroskopi banyak digunakan sebagai pengukuran untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam suatu larutan. Spectrum dari UV-Vis mempunyai bentuk lebar dan hanya memberikan sedikit informasi mengenai struktur dari sampel. Namun, dengan bentuk seperti spectrum seperti ini sangat berguna dalam pengukuran secara kuantitatif, yaitu pengukuran konsentrasi analit atau sampel menggunakan nilai absorban pada rentang panjang gelombang tertentu dengan berdasarkan pada aplikasi penggunaan hukum Lambert-Beer. Sinar ultraviolet memiliki rentang panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak (*visible*) memiliki rentang panjang gelombang 400-800 nm (23).

Spektrofotometri ultraviolet (UV) bekerja berdasarkan pada interaksi sampel dengan sinar UV yang memiliki panjang gelombang 190-380 nm atau 200-400 nm. Sumber sinar UV yang biasa digunakan berasal dari lampu deuterium. Lampu deuterium merupakan isotop hidrogen yang stabil dan berlimpah di lautan maupun di daratan. Inti atom deuterium mempunyai jumlah proton dan neutron masing-masing

satu, sementara hidrogen mempunyai satu proton dengan tanpa adanya neutron. Sinar UV merupakan sinar yang tidak tampak atau tidak dapat dilihat oleh mata manusia sehingga senyawa yang dapat menyerap sinar ini adalah senyawa yang tidak berwarna (24).

Serapan cahaya yang terjadi pada molekul di daerah sinar ultraviolet dan *visible* bergantung pada struktur elektronik molekul itu sendiri. Spektrum ultraviolet dan *visible* senyawa-senyawa berkaitan dengan transisi antara tingkat-tingkat energi elektronik. Oleh karena itu, serapan radiasi ultraviolet-*visible* disebut juga sebagai spektroskopi elektronik (25).

Keuntungan utama dari metode spektrofotometri adalah metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat karena angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (26).

2.2.2 Prinsip dan Instrumen Spektrofotometri UV-Vis

Pada saat ini, secara umum spektrofotometer telah dilengkapi dengan perangkat lunak yang dapat memberikan kemudahan dalam pengolahan data dengan dioperasikan melalui komputer yang telah dihubungkan pada spektrofotometer (27).

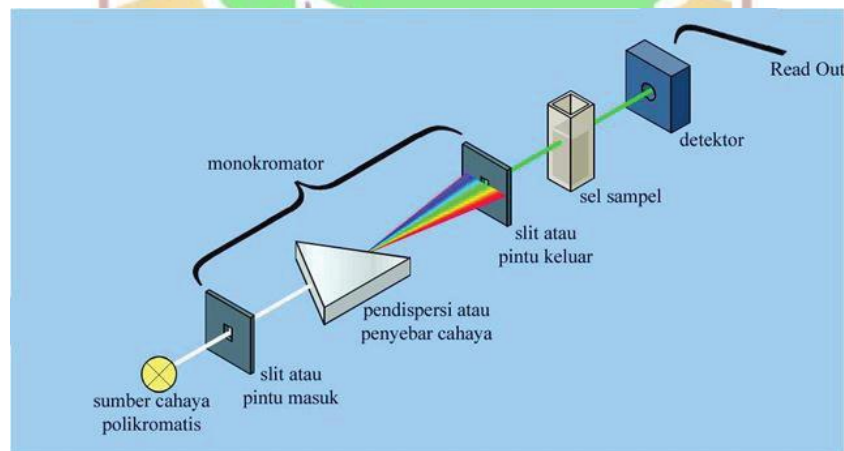
Spektrofotometer ultraviolet dibagi menjadi dua, yaitu *single beam* dan *Double beam*. *Single beam* adalah spektrofotometer dengan sumber cahaya tunggal sehingga dalam pengukura, sinyal pelarut dihilangkan terlebih dahulu dengan mengukur pelarut tanpa sampel (blanko) yang kemudian larutan sampel dapat diukur. Adapun *double beam* adalah spektrofotometer dengan sumber cahaya ganda. Pada spektrofotometer jenis ini kuvet yang berisikan larutan sampel dapat dimasukkan bersamaan dengan dengankuvet yang berisikan pelarut yang tidak mengandung sampel. Hal ini menyebabkan spektrofotometer *double beam* lebih banyak digunakan dalam proses analisis karena pengerjaannya yang praktis, efisien, mudah digunakan, dan memberikan hasil yang optimal (23).

Spektrofotometer secara umum terdiri dari dua alat, yaitu spektrometer dan fotometer. Spektrometer adalah alat yang menghasilkan sinar dari spektrum pada panjang gelombang tertentu. Fotometer biasanya akan menjadi detektor foto yang mengukur intensitas cahaya. Spektrometer menghasilkan rentang panjang gelombang

cahaya yang diinginkan. Cahaya yang berasal dari sumber pertama ditangkap oleh kolimator (lensa) yang kemudian dipancarkan sebagai berkas cahaya lurus (foton) dengan melewati monokromator (prisma) untuk membaginya menjadi beberapa komponen panjang gelombang (spektrum). Kemudian, selektor panjang gelombang (slit) hanya mentransmisikan panjang gelombang yang diinginkan. Setelah rentang panjang gelombang cahaya yang diinginkan melewati larutan sampel dalam kuvet, fotometer mendeteksi jumlah foton yang diserap dan kemudian mengirimkan sinyal ke galvanometer atau tampilan digital (28).

Ketika suatu atom atau molekul menyerap cahaya maka energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya disebut dengan kromofor (23).

Instrumen dari spektrofotometer secara sederhana terdiri dari (Gambar 2) :



Gambar 2. Instrumen spektrofotometer ultraviolet (29)

Fungsi masing-masing bagian instrumen spektrofotometer adalah :

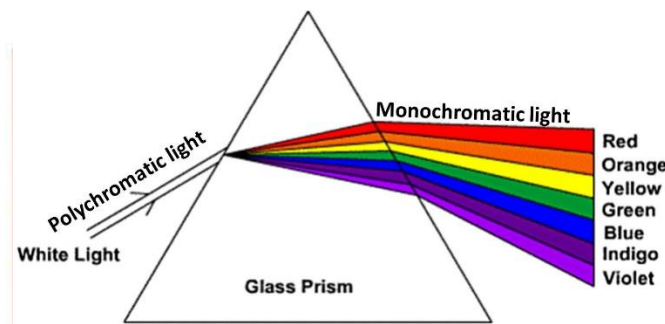
1) Sumber Cahaya

Sumber cahaya yang digunakan adalah sinar polikromatis yang berfungsi sebagai sumber sinar dengan berbagai macam rentang panjang gelombang. Adapun sumber cahaya yang umum digunakan adalah lampu deuterium atau hidrogen pada

pengukuran menggunakan spektrofotometri ultraviolet dan lampu tungsten pada spektrofotometri cahaya tampak (*Visible*) (23).

2) Monokromator

Monokromator memiliki fungsi esensial, yaitu berfungsi untuk mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Dengan kata lain, yang bertanggung jawab untuk menghasilkan berkas radiasi monokromatik dari sumber cahaya yang terdiri dari lensa, filter, cermin, dan celah (26).



Gambar 3. Dispersi cahaya putih oleh prisma (monokromatik) (23)

3) Sel Sampel

Sel sampel merupakan tempat menyimpan atau meletakkan sampel. Pada spektrofotometri, sel sampel ini disebut sebagai kuvet. Kuvet terbuat dari bahan kuarsa atau gelas, akan tetapi kuvet dengan bahan kuarsa yang berasal dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini dikarenakan kuvet dengan bahan kaca atau plastik dapat menyerap sinar ultraviolet sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometri sinar tampak (*visible*). Kuvet berbentuk seperti persegi panjang dengan memiliki ukuran lebar 1 cm (26).

4) Detektor

Detektor pada spektrofotometer berfungsi sebagai pendeteksi cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi energi listrik. Detektor yang terbuat dari bahan silikon merupakan detector yang paling umum digunakan pada spektrofotometri UV-Vis yang sensitif pada panjang gelombang 200-800 nm (26).

5) *Read Out*

Read Out yaitu system pembaca yang berfungsi untuk menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor (26).

2.2.3 Kegunaan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis umumnya digunakan dalam analisis kuantitatif, yaitu untuk menentukan konsentrasi atau kadar dari suatu senyawa yang dapat mengabsorpsi radiasi ultraviolet-visible dengan melakukan perbandingan pada absorbansi sampel yang diuji terhadap absorbansi senyawa standar yang telah diketahui konsentrasinya dan dilakukan pengukuran dalam kondisi larutan yang sama (25). Pengukuran absorbansi dalam penetapan kadar dilakukan pada panjang gelombang maksimum, dengan tujuan untuk mendapatkan nilai absorbansi tertinggi pada setiap konsentrasi sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimal.

Adapun kegunaan spektrofotometri uv-vis dalam analisis kualitatif sangat terbatas. Hal ini dikarenakan rentang dari daerah radiasinya relatif sempit dan hanya dapat mengakomodasi sedikit sekali puncak absorpsi maksimum dan minimum. Oleh karena itu, identifikasi senyawa yang belum teridentifikasi atau tidak diketahui tidak memungkinkan menggunakan metode ini.

2.2.4 Cara-Cara Pengukuran dengan Spektrofotometer Ultraviolet

1) **Metode Persamaan Simultan (Metode Vierodt)**

Konsentrasi dari beberapa komponen yang ada dalam campuran yang sama dapat ditentukan dengan menyelesaikan satu set persamaan simultan bahkan jika spektrumnya tumpang tindih. Jika hukum Beer diikuti, persamaan ini linear. Jika sampel mengandung dua obat yang dapat menyerap (x dan y) yang masing-masing menyerap pada λ_{max} obat lain, maka metode ini dapat diaplikasikan untuk penentuan dua obat tersebut (16).

2) *Derivative spectrophotometry*

Spektrofotometri derivatif menggunakan turunan pertama atau lebih tinggi dari absorbansi terhadap panjang gelombang untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Metode ini bertujuan untuk analisis spektral dalam rangka menghubungkan spektrum kimia dengan transisi elektronik dan untuk situasi analitis dimana campuran mungkin mengganggu penyerapan. Metode yang memanipulasi data spektral ini disebut

spektroskopi derivatif. Spektrofotometri derivatif melibatkan konversi dari spektrum normal ke spektrum turunan pertama, kedua atau lebih (16).

3) Metode Rasio Absorbansi (*Q-absorbance*)

Metode rasio absorbansi bergantung pada sifat yang mematuhi hukum Beer pada semua panjang gelombang. Rasio absorbansi pada dua panjang gelombang adalah nilai konstan independen dari konsentrasi atau panjang jalur. Misalnya, dua pengenceran yang berbeda dari substansi yang sama memberikan rasio absorbansi yang sama A_1/A_2 . Dalam USP, rasio ini dikenal sebagai nilai Q . Dari tes kuantitatif dari dua komponen dalam suatu campuran dengan metode rasio absorbansi, absorbansi diukur pada dua panjang gelombang. Salah satu menjadi λ_{max} dari salah satu komponen dan yang lainnya adalah panjang gelombang absorptivitas yang sama dari dua komponen yaitu titik isoabsorptif (16).

4) *Difference Spectrometry*

Difference Spectrometry atau spektrofotometri perbedaan menyiapkan metode yang sensitif untuk mendeteksi perubahan kecil dalam lingkungan dari sebuah kromofor atau dapat digunakan untuk menunjukkan ionisasi dari kromofor yang mengarah kepada identifikasi dan kuantisasi berbagai komponen dalam suatu campuran. Selektivitas dan akurasi analisis spektrofotometri dari sampel yang mengandung interferensi penyerapan mungkin akan meningkat tajam dengan teknik spektrofotometri perbedaan. Fitur penting dari spektrofotometri perbedaan adalah bahwa nilai yang terukur merupakan perbedaan absorbansi (ΔA) antara dua solusi ekimolar analit dalam benak yang berbeda yang menunjukkan karakteristik spektral yang berbeda (16).

5) Metode Area di Bawah Kurva (AUC)

Spektrofotometri UV dengan metode luas area menurut Muchlisyam dan Pardede, yaitu suatu metode penetapan kadar dengan mengukur dan menghitung luas area yang berada di bawah kurva dari 2 buah panjang gelombang sebelum dan sesudah panjang gelombang absorpsi maksimum dari satu komponen obat. Metode inilah yang kemudian disebut dengan metode pengukuran pada luas area dibawah kurva dan disingkat dengan nama metode AUC. Pada metode AUC ini tidak mempunyai bentuk kurva dimana tidak ada puncak yang tajam, melainkan bentuk

spektrum yang diperoleh merupakan spektrum berbentuk parabola atau spektrum yang luas. Metode ini mempunyai nilai pada dua panjang gelombang terpilih, yaitu λ_1 dan λ_2 (30).

Pemilihan titik absorbansi kedua panjang gelombang dalam metode AUC ini bukanlah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimum, melainkan titik yang terikat dengan kurva, yaitu titik panjang gelombang sisi kiri dan sisi kanan dari daerah puncak area yang memberikan absorbansi maksimum (30).

Metode AUC melibatkan perhitungan nilai yang terintegrasi dari absorbansi sehubungan dengan panjang gelombang antara dua panjang gelombang yang dipilih. Proses perhitungan area terikat oleh kurva dan sumbu horizontal. Sumbu horizontal dipilih dengan memasukkan berbagai daerah panjang gelombang yang harus dihitung. Rentang panjang gelombang yang dipilih atas dasar pengamatan ulang sehingga mendapatkan linearitas antara daerah di bawah kurva dan konsentrasi (16).

6) Metode Panjang Gelombang Ganda

Kegunaan program pengolahan data panjang gelombang ganda adalah untuk menghitung konsentrasi yang tidak diketahui dari suatu komponen dalam suatu campuran yang mengandung komponen yang dianalisis dan komponen pengganggu yang tidak diinginkan dengan mekanisme perbedaan absorbansi antara dua titik spektrum pada suatu campuran. Persyaratan untuk metode panjang gelombang ganda adalah dua panjang gelombang dimana komponen campuran menunjukkan absorbansi yang sama sedangkan komponen yang dianalisis menunjukkan perbedaan absorbansi yang signifikan terhadap konsentrasi (16).

2.2.5 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (*Beer's Law*) merupakan hukum yang menunjukkan adanya hubungan linearitas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan intensitas sinar yang diteruskan. Hukum Lambert-Beer dapat dinyatakan sebagai berikut: (23)

$$A = E \cdot B \cdot C$$

Keterangan :

A : Absorbansi (serapan)

ϵ : Koefisien ekstingsi molar (M/cm)

b : Tebal kuvet (cm)

C : Konsentrasi (M)

Pada beberapa buku ditulis juga :

$$A = \epsilon \cdot B \cdot C$$

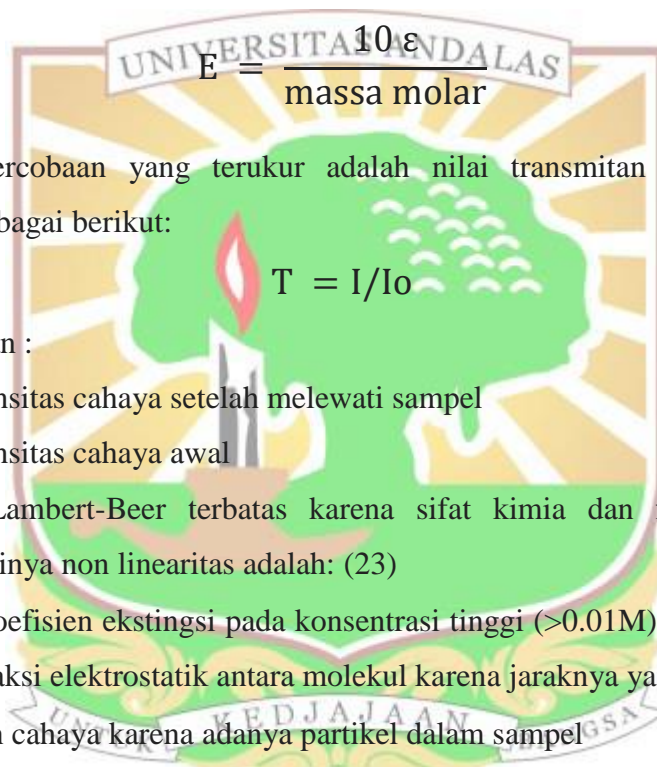
Keterangan :

ϵ : Koefisien ekstingsi spesifik (ml/g.cm)

b : Tebal kuvet (cm)

C : Konsentrasi (gram/100 ml)

Hubungan antara E dan ϵ adalah:



Berdasarkan percobaan yang terukur adalah nilai transmittan (T) maka dapat didefinisikan sebagai berikut:

$$T = I/I_0$$

Keterangan :

I : Intensitas cahaya setelah melewati sampel

I₀ : Intensitas cahaya awal

Hukum Lambert-Beer terbatas karena sifat kimia dan faktor instrumen.

Penyebab terjadinya non linearitas adalah: (23)

- Deviasi koefisien ekstingsi pada konsentrasi tinggi (>0.01M), yang disebabkan oleh interaksi elektrostatik antara molekul karena jaraknya yang terlalu dekat.
- Hamburan cahaya karena adanya partikel dalam sampel
- Fluoresensi atau fosforesensi sampel
- Berubahnya indeks bias pada konsentrasi yang tinggi
- Pergeseran kesetimbangan kimia sebagai fungsi dari konsentrasi
- Radiasi non-monokromatik, deviasi bisa dikurangi dengan menggunakan bagian yang datar pada absorban yaitu pada panjang gelombang maksimum.
- Kehilangan cahaya

Berdasarkan poin-poin di atas, dapat dinyatakan bahwa Hukum Lambert-Beer ini perlu diperhatikan beberapa hal, diantaranya : (25)

- Radiasi yang masuk dan berinteraksi dengan sampel adalah monokromatik.

- Spesies penyerap yang digunakan tidak bergantung satu terhadap lainnya dalam proses penyerapan.
- Penyerapan dilakukan pada volume dengan luas penampang yang sama.
- Dengan tenaga radiasi yang cepat tidak mengalami fluoresensi.
- Indeks bias tidak bergantung pada konsentrasi (tidak berlaku pada konsentrasi yang tinggi).

Instrumen modern bisa menampilkan data dalam persen transmitan (T) atau absorban (A). Untuk menentukan konsentrasi analit, bisa dilakukan dengan mengukur banyaknya cahaya yang diabsorpsi sampel dengan menggunakan hukum Beer. Jika koefisien ekstingsi molar tidak diketahui, maka konsentrasi bisa diukur dengan menggunakan kurva kalibrasi absorban vs konsentrasi dari larutan standar yang dibuat. Larutan standar dibuat dalam berbagai konsentrasi yang terukur, kemudian diukur absorbannya. Setelah itu dibuat hubungan antara konsentrasi dengan absorban. Atau dapat juga dengan mencari koefisien ekstingsi molar (ϵ) dari larutan standar tersebut dengan memakai persamaan garis lurus (23).

$$Y = a \cdot b \cdot X$$

Keterangan :

Y : ΣA per banyak sampel

X : ΣC per banyak sampel

b : Tebal kuvet

a = ϵ : Koefisien ekstingsi molar

2.3 Validasi Metode Analisis

Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan dalam penggunaannya (31). Validasi metode digunakan untuk memastikan bahwa prosedur analitik yang digunakan untuk pengujian tertentu sesuai dengan tujuan penggunaannya. Hasil dari validasi metode dapat digunakan untuk menilai kualitas, reliabilitas dan konsistensi analitik (6). Validasi berlaku untuk protokol yang ditentukan, untuk penentuan analit tertentu dan kisaran konsentrasi dalam jenis bahan uji tertentu, dan digunakan untuk tujuan tertentu. Secara umum, validasi harus memeriksa bahwa metode tersebut bekerja

secara memadai untuk tujuan di seluruh rentang konsentrasi analit dan bahan uji yang diterapkan (32).

Validasi metode menurut United States Pharmacopeia (USP) dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan dan menjamin metode analisis yang akan digunakan memberikan hasil yang akurat, spesifik, reproduksibel, dan tahan pada kisaran analit yang dianalisis. Dapat disimpulkan bahwa validasi merupakan salah satu aksi untuk mengkonfirmasi metode analisis yang akan digunakan sesuai dengan tujuan yang diharapkan (20).

Menurut International Conference on Harmonization (ICH), suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya mampu untuk mengatasi masalah analisis (20). Oleh karena itu, suatu metode analisis perlu dilakukan validasi untuk mengatasi problem analisis tersebut, ketika (33):

- Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu.
- Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem.
- Penjaminan mutu yang mengidentifikasi bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu.
- Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda.
- Untuk mendemostrasikan kesetaraan antara 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

Dalam USP dan ICH telah dinyatakan bahwa tidak selamanya parameter untuk mengevaluasi validasi metode harus diuji. USP membagi metode-metode analisis ke dalam beberapa kategori yang berbeda, yaitu (1) kategori I untuk menentukan kuantitatif komponen-komponen utama atau bahan aktif, (2) kategori II untuk menentukan pengotor (*impurities*) atau produk-produk hasil degradasi, (3) kategori III untuk penentuan karakteristik-karakteristik senyawa, dan (4) kategori IV digunakan untuk pengujian identifikasi (34).

Pada uji kategori I, evaluasi parameter LoD dan LoQ tidaklah begitu penting karena komponen utamanya atau bahan aktif pada umumnya berada dalam jumlah yang besar. Pengujian kategori II dapat dibagi lagi menjadi dua subkategori, yaitu (1)

analisis kuantitatif dan (2) uji batas. Jika yang diterapkan adalah analisis kuantitatif, maka parameter LoD tidak begitu penting, tetapi parameter lainnya sangat dibutuhkan. Keadaan yang berlawanan berlaku untuk uji batas karena jika informasi kuantitatifnya tidak dibutuhkan, maka pengukuran LoD, spesifisitas, dan kekerasan sudah mencukupi. Pada kategori III karena tujuannya untuk menentukan karakteristik senyawa maka sangat perlu dilakukan uji-uji pelepasan obat dan presisi merupakan parameter yang diisyaratkan. Adapun kategori IV yang digunakan untuk uji identifikasi hanya membutuhkan uji spesifikasi dalam validasinya (34).

2.3.1 Linearitas

Linearitas adalah kemampuan prosedur analitik untuk menghasilkan hasil pengujian yang sebanding dengan konsentrasi (jumlah) analit dalam sampel dengan rentang konsentrasi tertentu. Pelaksanaannya dapat dilakukan secara langsung maupun melalui transformasi matematis yang terdefinisi dengan baik. Linearitas harus ditentukan dengan menggunakan minimal lima atau enam standar yang konsentrasinya berbeda berkisar 80-120% dari kisaran konsentrasi yang diharapkan (35).

Linearitas harus ditetapkan dengan inspeksi visual dari plot respon analitik sebagai fungsi konsentrasi analit. Linearitas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Jika terdapat hubungan yang linear, hasil pengujian harus dievaluasi dengan metode statistik yang sesuai, misalnya dengan perhitungan garis regresi dengan metode kuadrat terkecil. Laporan yang disampaikan harus mencakup data kemiringan garis, intersep dan koefisien korelasi (35). Respon harus berbanding lurus dengan konsentrasi analit atau proporsional. Persamaan regresi linier yang diterapkan pada hasil harus memiliki intersep yang tidak berbeda secara signifikan dari nol. Jika intersep bukan nol yang signifikan diperoleh, harus ditunjukkan bahwa hal tersebut tidak berpengaruh terhadap keakuratan metode (36).

Parameter linearitas metode yang menunjukkan adanya hubungan linear biasanya digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linear, yaitu : $Y = a + bX$. Hubungan linear terjadi ketika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 tergantung pada arah garis. Nilai a menunjukkan kepekaan suatu analisis terutama instrumen yang digunakan (31).

2.3.2 Akurasi (Kecermatan)

Akurasi diukur untuk menunjukkan ketelitian dari suatu metode analisis atau derajat kedekatan antara nilai yang terukur, baik dengan nilai yang sebenarnya, nilai konversi, ataupun nilai rujukan. Akurasi dinyatakan sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali dalam suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* atau penambahan standar pada suatu sampel. Pada pengujian senyawa obat, akurasi didapatkan dengan membandingkan hasil pengukuran terhadap bahan rujukan standar (*standard reference material, SRM*) (33).

Dengan artian, dapat dikatakan bahwa akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Keakuratan dari suatu hasil sangat tergantung kepada sebaran galat sistemik di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu, untuk mencapai keakuratan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistemik tersebut, seperti dengan menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, melakukan pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat sesuai dengan prosedur yang berlaku (31).

Akurasi dapat diukur dengan cara yang berbeda dan metode tersebut harus sesuai dengan matriks. Keakuratan metode analisis dapat ditentukan dengan salah satu cara berikut, yaitu (35):

- Menganalisis sampel dari konsentrasi yang diketahui dan membandingkan nilai terukur dengan nilai yang sebenarnya.
- Metode pemulihan *spiked-placebo* (produk matriks) dilakukan dengan menambahkan sejumlah konstituen aktif murni ke dalam sampel dan campuran dianalisis, yang kemudian hasil uji yang diperoleh dibandingkan dengan hasil yang diharapkan.
- Metode penambahan standar, yaitu dengan melakukan pengujian pada sampel, dan menambahkan sejumlah konstituen aktif murni, yang kemudian campuran tersebut diuji kembali. Perbedaan antara hasil kedua tes tersebut dibandingkan dengan hasil yang diharapkan.

Dalam kedua metode (*spiked-placebo* dan metode penambahan standar), pemulihan didefinisikan sebagai rasio hasil pengamatan terhadap hasil yang diharapkan dan dinyatakan dalam persentase. Keakuratan suatu metode dapat

bervariasi di seluruh rentang nilai uji. Akurasi harus mencakup setidaknya 3 konsentrasi (80, 100 dan 120%) dalam kisaran yang diharapkan. Adapun kriteria penerimaan perolehan kembali akan bergantung pada matriks sampel, prosedur dalam pembuatan sampel, dan konsentrasi analit. (35).

Akurasi idealnya ditentukan dengan menggunakan *Certified Reference Materials* (CRMs) jika tersedia, metode referensi, studi kolaboratif atau dengan perbandingan dengan metode lain. Referensi standar yang umumnya digunakan adalah berasal dari organisasi-organisasi, seperti UNODC, Drug Enforcement Administration (DEA), dan lainnya. Kriteria penerimaan untuk akurasi mencerminkan kriteria penerimaan untuk presisi (37).

Akurasi dinyatakan sebagai % perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Dengan demikian, akurasi dapat dihitung dengan cara berikut (31) :

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_s - C}{C_d} \times 100$$

Keterangan :

- C_s : Konsentrasi larutan uji yang diperoleh setelah penambahan larutan baku ($\mu\text{g/ml}$)
- C : Konsentrasi larutan uji sebelum penambahan larutan baku ($\mu\text{g/ml}$)
- C_d : Konsentrasi larutan baku yang ditambahkan ($\mu\text{g/ml}$)

2.3.3 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan antara nilai hasil pengukuran dari sampel yang homogen pada kondisi normal. Dengan artian sampel yang sama diuji secara berulang kali dengan menggunakan alat yang sama dan menunjukkan kedekatan hasil. Uji presisi berarti kedekatan antara tiap hasil uji pada suatu pengujian yang sama dengan tujuan untuk melihat sebaran diantara nilai yang benar. Nilai presisi yang didapatkan dapat dipengaruhi oleh kesalahan acak (*random error*), seperti instrumen, variasi suhu tau pereaksi, keragaman teknik dan operator yang berbeda (38).

Presisi merupakan prosedur analitis yang mengungkapkan kedekatan pengulangan hasil pengukuran analisis yang dilakukan pada sampel sama di bawah kondisi yang juga sama. Dalam proses penentuan hasil dari presisi minimal 5

penentuan sampel ulangan harus dibuat bersama dengan penilaian statistik sederhana dari hasil, termasuk persen deviasi standar relatif (35). Ketepatan prosedur analitik biasanya dinyatakan sebagai variasi, deviasi standar, atau koefisien variasi dari serangkaian pengukuran. Presisi dapat dipertimbangkan pada tiga tingkatan, yaitu (39):

- Pengulangan (*Repeatability*): untuk mengekspresikan ketepatan dalam kondisi pengoperasian yang sama dalam selang waktu yang singkat. Pengulangan juga disebut *intra-assay precision*.
- Presisi menengah (*Intermediate precision*): untuk menunjukkan variasi dalam laboratorium, seperti hari berbeda, analisis berbeda, peralatan berbeda, dll.
- Reprodusibilitas: untuk mengekspresikan ketepatan antar laboratorium (studi kolaboratif, biasanya diterapkan pada standardisasi metodologi).

Presisi dapat dihitung dengan cara sebagai berikut: (31)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X_n - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Simpangan baku relative atau koefisien variasi (KV) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut: (31)

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

Keterangan :

SD : Standar deviasi

KV : Koevisien variasi

\bar{X} : Rata-rata konsentrasi larutan dalam sampel ($\mu\text{g/ml}$)

X_n : Konsentrasi larutan ke-n ($\mu\text{g/ml}$)

n : Jumlah data

Kriteria keberterimaan dari suatu metode jika memberikan nilai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) adalah 2% atau kurang. Namun, kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium (38). Berikut adalah tingkat presisi yang direkomendasikan menurut European Medicines Agency:

Tabel I. Tingkat presisi (35)

Component measured in sample	Precision
≥10.0%	≤ 2%
1.0 up to 10.0%	≤ 5%
0.1 up to 1.0%	≤ 10%
< 0.1%	≤ 20%
≥10.0%	≤ 2%

2.3.4 Batas Deteksi/*Limit of Detection* (LoD)

Batas deteksi prosedur analitik dapat diartikan sebagai jumlah analit terendah di dalam sampel yang masih dapat dideteksi, tetapi tidak harus dihitung sebagai nilai pasti. Batas deteksi sering kali disalah artikan dengan sensitivitas metode. Sensitivitas metode sendiri merupakan kemampuan metode untuk membedakan perbedaan kecil dalam konsentrasi atau massa analit. Dalam istilah praktis, sensitivitas adalah kemiringan kurva kalibrasi yang diperoleh dengan memetakan respons terhadap konsentrasi atau massa analit (36).

Batas deteksi adalah jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi dengan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas, dimana penentuannya dalam metode berbeda-beda tergantung kepada analisis menggunakan instrumen atau tidak. Pada analisis tanpa instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel yang didapatkan dari pengenceran bertingkat. Adapun pada analisis menggunakan instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali dan kemudian dihitung simpangan baku respon blanko.

Batas deteksi (LoD) dapat ditentukan dengan analisis sampel dengan konsentrasi analit yang diketahui dan dengan menetapkan level minimum (standar kalibrasi terendah), di mana analit dapat dideteksi dengan andal. Standar kalibrasi terendah yang menghasilkan respon puncak sesuai dengan analit harus diukur n kali (biasanya 6-10) (35). Dalam perhitungan LoD dapat digunakan cara sebagai berikut:

$$LoD = \frac{3 SD}{b}$$

2.3.5 Batas Kuantitasi/*Limit of Quantitation* (LoQ)

Batas kuantitasi (LoQ) dari prosedur analitik diartikan sebagai jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang sesuai. Batas kuantitatif adalah parameter uji kuantitatif untuk senyawa dengan kadar rendah dalam matriks sampel, dan digunakan terutama untuk penentuan senyawa pengotor atau produk degradasi. Batas kuantitasi umumnya ditentukan dengan menyiapkan solusi standar pada perkiraan konsentrasi berdasarkan studi pendahuluan (36). Dalam perhitungan LoQ dapat digunakan cara sebagai berikut :



Keterangan :

- LoD : Batas deteksi ($\mu\text{g/ml}$)
- LoQ : Batas kuantifikasi ($\mu\text{g/ml}$)
- SD : Standar deviasi
- b : Slope kurva kalibrasi

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan April-Agustus 2021 di Laboratorium Kimia Farmasi Kualitatif, Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif, dan Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900), timbangan analitik (Shidmazu[®]), sonikator, lumpang, mortir, corong, labu ukur, erlenmeyer, gelas ukur, beker gelas, pipet gondok, pipet tetes, spatel, batang pengaduk, dan alat-alat kaca lainnya.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan baku standar kandesartan sileksetil BPFI (BPOM), sampel tablet kandesartan sileksetil[®] generik, aquadest, etanol p.a (Merck[®]), asam klorida (HCl) p.a (Merck[®]), natrium hidroksida (NaOH) p.a (Merck[®]), kertas saring Whatman No.42, dan aluminium foil.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pembuatan Larutan

- 1) NaOH 0,1 N

Ditimbang seksama 2 gram natrium hidroksida P, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 500 ml, dilarutkan dengan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan, konsentrasi larutan NaOH adalah 0,1 N (40).

- 2) HCl 0,1 N

Sebanyak 25 mL aquadest dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan 4,2 ml asam klorida P (HCl 12 N) secara perlahan-lahan melalui dinding labu, dikocok dan homogenkan. Kemudian, dicukupkan dengan aquadest hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan HCl adalah 0,1 N (40).

3.3.2 Larutan Induk Kandesartan Sileksetil 1000 µg/ml

- 1) Kandesartan sileksetil dengan pelarut etanol

Ditimbang seksama 50 mg kandesartan sileksetil standar, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan sebagian etanol, kocok hingga larut dan dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas.

- 2) Kandesartan sileksetil dengan pelarut NaOH 0,1 N

Ditimbang seksama 50 mg kandesartan sileksetil standar, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan sebagian NaOH 0,1 N, kocok hingga larut dan dicukupkan dengan NaOH 0,1 N sampai tanda batas.

- 3) Kandesartan sileksetil dengan pelarut HCl 0,1 N

Ditimbang seksama 50 mg kandesartan sileksetil standar, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan sebagian HCl 0,1 N, kocok hingga larut dan dicukupkan dengan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

3.3.3 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Kandesartan Sileksetil

Masing-masing dari larutan induk kandesartan sileksetil 1000 µg/ml di dalam berbagai pelarut diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi kandesartan sileksetil 10 µg/ml dengan dipipet sejumlah 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian dicukupkan dengan masing-masing pelarut hingga tanda batas. Ukur serapan dari masing-masing larutan kandesartan sileksetil dalam berbagai pelarut pada rentang panjang gelombang 200–400 nm. Tentukan panjang gelombang serapan maksimum dan amati bentuk spektrum larutan kandesartan sileksetil dalam masing-masing pelarut. Tentukan pelarut terpilih yang akan digunakan dalam analisis penetapan kadar dengan metode spektrofotometri secara luas daerah di bawah kurva.

3.3.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi Kandesartan Sileksetil

Kurva kalibrasi dibuat terhadap pelarut terpilih yang memberikan gambaran spektrum berbentuk lonceng. Dibuat 5 deret konsentrasi bertingkat dengan melakukan pengenceran larutan induk kandesartan sileksetil 1000 µg/ml yang memberikan rentang nilai absorban 0,2-0,8. Larutan induk dipipet masing-masing 0,06 ml, 0,1 ml, 0,14 ml, 0,18 ml, dan 0,22 ml dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan dicukupkan dengan pelarut tersebut hingga tanda batas. Ukur luas daerah di

bawah kurva berbagai konsentrasi pada rentang panjang gelombang 243,40-263,00 nm dalam pelarut terpilih. Buat kurva kalibrasi antara masing-masing konsentrasi terhadap luas daerah di bawah kurva, kemudian ditentukan persamaan regresinya ($y = a + bx$).

3.4 Validasi Metode Analisis

3.4.1 Uji Linearitas

Linearitas ditentukan melalui persamaan linear atau regresi ($y = a + bx$) dari kurva kalibrasi larutan standar. Berdasarkan data pengukuran kurva kalibrasi dilakukan analisis dengan persamaan regresi linear sehingga akan diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebagai gambaran kelinearitasan.

3.4.2 Uji Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung melalui persamaan linearitas atau persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan standar kandesartan sileksetil. Adapun batas deteksi adalah jumlah terkecil analit (konsentrasi analit) dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko dan batas kuantitasi adalah jumlah analit (konsentrasi analit) terendah dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan.

3.4.3 Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan metode penambahan standar “*standard addition method*” dengan menambahkan sejumlah larutan baku kandesartan sileksetil ke dalam suatu larutan uji yang kadarnya telah diketahui. Konsentrasi larutan baku yang ditambahkan, yaitu 40%, 80%, dan 120% dengan dilakukan 3 kali pengulangan. Kemudian, dihitung nilai perolehan kembali baku pembanding yang ditambahkan pada larutan uji yang dinyatakan dengan % perolehan kembali. Metode validasi memenuhi syarat jika persen perolehan kembalinya berada dalam rentang nilai 80% - 120% (34).

3.4.4 Uji Presisi

Penentuan presisi *intra-day* dilakukan dengan menganalisis 3 konsentrasi yang berbeda pada waktu yang berbeda dalam hari yang sama. Penentuan presisi *inter-day* larutan tersebut dianalisis selama 3 hari berturut-berturut. Pengujian dilakukan

dengan pengulangan 3 kali untuk setiap konsentrasi sehingga didapatkan 9 data setiap uji presisi. Kriteria keberterimaan dari suatu metode jika memberikan nilai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) adalah $\leq 2\%$ (34). Namun, kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium (38).

3.4.5 Penetapan Kadar Tablet Kandesartan Sileksetil

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara diambil sebanyak 20 tablet kandesartan sileksetil 8 mg dan ditimbang berat totalnya kemudian dihitung berat rata-rata satu tablet. Semua tablet digerus hingga halus di dalam lumpang dan ditimbang serbuk tablet yang setara dengan 8 mg (131,4 mg) serbuk kandesartan sileksetil. Serbuk tablet dilarutkan dengan pelarut yang memberikan gambaran spektrum kandesartan seperti lonceng di dalam labu ukur 100 ml, kemudian dicukupkan dengan pelarut sampai tanda batas, sonikasi selama kurang lebih 20 menit, dan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 42 untuk menghilangkan bahan yang tidak larut. Volume filtrat dicukupkan kembali hingga tanda batas. Larutan sampel dipipet sebanyak 0,75 ml ke dalam labu ukur 10 ml dan dicukupkan dengan pelarut tersebut sampai tanda batas, kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi $6 \mu\text{g/ml}$ (15). Ukur luas daerah di bawah kurva pada rentang panjang gelombang 243,40-263,00 nm. Dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali pengulangan. Tentukan konsentrasi kandesartan sileksetil menggunakan perbandingan terhadap konsentrasi kandesartan sileksetil standar.

3.5 Analisis Data

1) Linearitas

Linearitas ditentukan dengan persamaan regresi $y = a + bx$, dengan persamaan ini dapat ditentukan nilai koefisien korelasi (r). Adapun syarat untuk dapat digunakan persamaan regresi adalah jika faktor korelasinya (nilai r) berada dalam rentang kriteria keberterimaan, yaitu $0,99 \leq r < 1$ (31).

$$r = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

2) Batas Deteksi (*Limit of Detection*) dan Batas Kuantitasi (*Limit of Quantitation*)

Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut: (33)

$$LoD = \frac{3 SDr}{b} \quad LoQ = \frac{10 SDr}{b}$$

Keterangan : SD =Standar Deviasi Residual

b = Slope kurva kalibrasi

3) Presisi

Presisi dinyatakan sebagai persen simpangan baku relatif (%RSD) atau persen koefisien variasi. Adapun presisi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut: (31)

$$S^2_{yx} = \frac{|\sum y^2 - a\sum y - b\sum xy|}{n - 2}$$
$$Syx/SD = \sqrt{S^2_{yx}}$$

Simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) dapat dihitung dengan cara sebagai berikut: (31)

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

Keterangan :

SD : Standar deviasi

RSD=KV : Koevisien variasi

\bar{X} : Rata-rata konsentrasi larutan dalam sampel ($\mu\text{g/ml}$)

Xn : Konsentrasi larutan ke-n ($\mu\text{g/ml}$)

n : Jumlah data

4) Akurasi

Akurasi dinyatakan sebagai % perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan, dapat dihitung dengan cara sebagai berikut: (31)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{Cs - C}{Cd} \times 100\%$$

Keterangan :

- Cs : Konsentrasi larutan uji yang diperoleh setelah penambahan larutan baku ($\mu\text{g/ml}$)

- C : Konsentrasi larutan uji sebelum penambahan larutan baku ($\mu\text{g/ml}$)
- Cd : Konsentrasi larutan baku yang ditambahkan ($\mu\text{g/ml}$)

5) Analisis Penetapan Kadar

Konsentrasi kandesartan sileksetil dapat dihitung menggunakan metode perbandingan antara konsentrasi sampel dengan konsentrasi standar, yaitu :

$$\frac{AUC \text{ sampel}}{AUC \text{ standar}} = \frac{\text{Konsentrasi sampel}}{\text{Konsentrasi standar}}$$

Adapun untuk menghitung persen kadar kandesartan sileksetil dalam tablet digunakan persamaan:

$$\% \text{ Kadar} = \frac{C \times fp \times V}{\text{bobot sampel}} \times 100\%$$

Keterangan :

- AUC : Luas daerah di bawah kurva
- C : Konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$)
- V : Volume total sampel (ml)
- Fp : Faktor pengenceran



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan validasi metode baru dalam menganalisis tablet kandesartan sileksetil menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva dengan memodifikasi pelarut yang digunakan. Pengembangan dilakukan dengan tujuan untuk mencari metode lain yang lebih sederhana dalam menganalisis, terutama dalam analisis penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil. Dilakukannya validasi metode maka akan diketahui apakah metode analisis tersebut dapat digunakan sesuai dengan tujuan yang diharapkan. Metode yang valid akan menunjang keberhasilan pemeriksaan kadar zat aktif dalam mencapai hasil yang memenuhi persyaratan untuk menjamin kualitas sediaan obat. Sediaan obat yang berkualitas baik akan menunjang tercapainya efek terapi yang diharapkan.

Metode luas daerah dibawah kurva ini merupakan metode yang sederhana dan relatif cepat untuk dikembangkan. Prinsip pada metode ini dengan mengukur nilai luas daerah yang berada di bawah kurva pada spektrum yang didapatkan. Pengukuran luas daerah akan secara otomatis terbaca pada spektrofotometer ketika daerah yang akan diukur telah ditentukan. Daerah dibawah kurva yang akan diukur adalah daerah yang berada pada dua rentang panjang gelombang sebelum dan sesudah panjang gelombang maksimum.

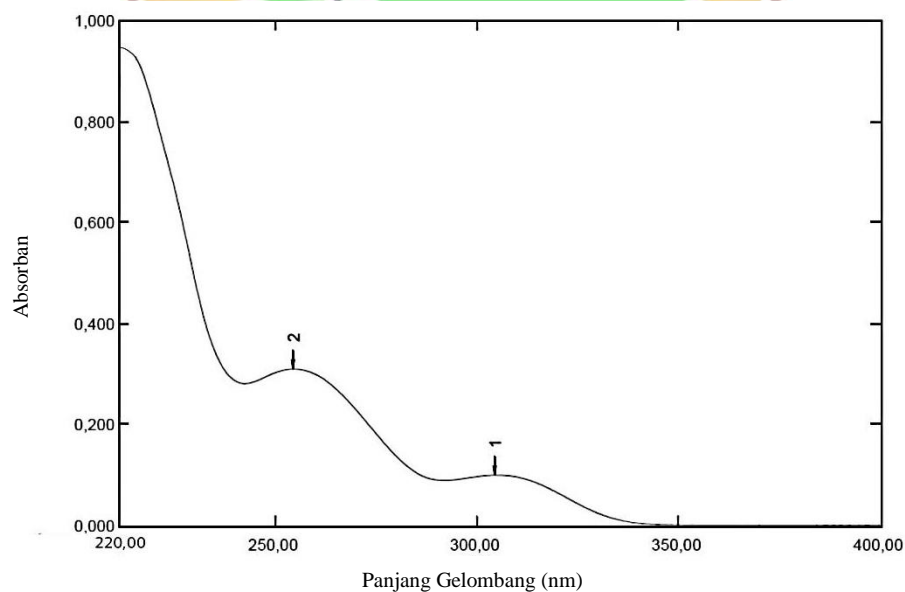
Rentang panjang gelombang yang dipilih merupakan panjang gelombang yang memberikan hubungan linearitas antara nilai luas daerah di bawah kurva (AUC) dan konsentrasi, yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi mendekati satu. Pada penelitian ini didapatkan rentang panjang gelombang 243,40-263,00 nm yang memberikan garis horizontal terhadap kurva. Setelah dua titik panjang gelombang didapatkan dan daerah yang akan diukur telah ditentukan maka akan secara otomatis alat atau spektrofotometer mengarsir daerah tersebut dan mengukur luas daerah dibawah kurvanya. Dengan demikian, nilai luas daerah di bawah kurva (AUC) dapat terbaca pada spektrofotometer.

4.1 Penentuan Pelarut Untuk Analisis Tablet Kandesartan Sileksetil

Penentuan pelarut yang digunakan pada penelitian ini dilakukan dengan mengujicoba beberapa pelarut, yaitu etanol p.a, NaOH 0,1 N, dan HCl 0,1 N.

Pertimbangan dalam pemilihan ketiga pelarut dilihat dari kelarutannya. Etanol dipilih karena kelarutannya yang dapat melarutkan kandesartan sileksetil dengan sifatnya toksiknya yang cukup rendah. Adapun NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N dipilih untuk melihat keterlibatan asam dan basa terhadap kelarutan obat kandesartan sileksetil, dengan kata lain melihat adanya pengaruh pemberian pH terhadap kelarutan kandesartan sileksetil sehingga dapat memberikan penyerapan yang akan memberikan nilai absorban maksimum.

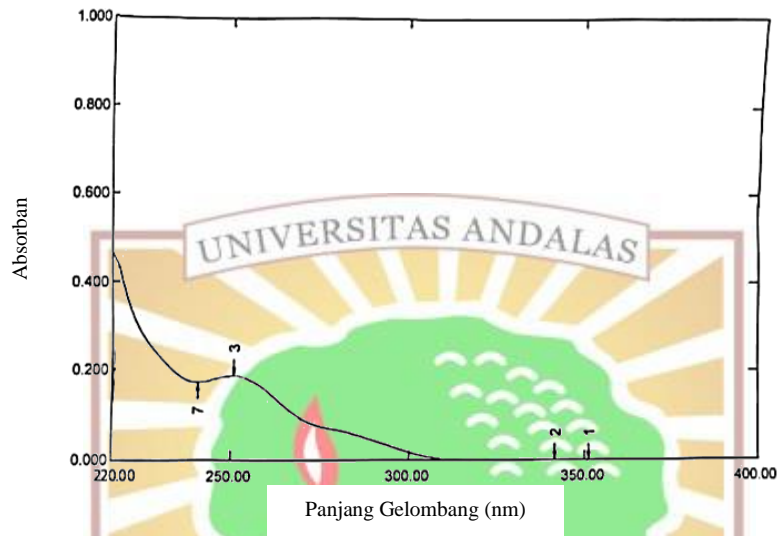
Penentuan pelarut yang dipakai dalam penelitian ini ditentukan dari beberapa aspek, seperti; kelarutan, panjang gelombang serapan maksimum, absorban, dan bentuk spektrum seperti lonceng sesuai dengan bentuk spektrum kandesartan sileksetil. Pelarut yang di pakai pada percobaan ini adalah etanol p.a, NaOH 0,1 N, dan HCl 0,1 dengan konsentrasi kandesartan pada masing-masing pelarut adalah 10 µg/ml yang selanjutnya diukur panjang gelombang maksimum (λ_{mak}) kandesartan dengan rentang panjang gelombang 200-400 nm.



Gambar 4. Spektrum larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut etanol p.a

Tabel II. Data serapan larutan kandesartan sileksetil 10 µg/ml dalam pelarut etanol

Panjang Gelombang (λ_{mak})	Absorban
304,40	0,100
254,40	0,310



Gambar 5. Spektrum larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut NaOH 0,1 N

Tabel III. Data serapan larutan kandesartan sileksetil 10 µg/ml dalam pelarut NaOH 0,1 N

Panjang Gelombang (λ_{mak})	Absorban
250,80	0,186

Hasil analisis yang didapatkan bahwa pada pelarut etanol diperoleh λ_{mak} 254,40 nm dengan absorban 0,310. Dipilihnya panjang gelombang maksimum pada etanol 254,40 nm ini dikarenakan pada panjang gelombang tersebut memberikan nilai absorban yang paling tinggi dengan nilai yang berada pada rentang 0,2-0,8. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan tersebut juga mendekati panjang gelombang maksimum kandesartan sileksetil yang tertera pada Farmakope Jepang, yaitu 254 nm (41). Pada pelarut NaOH 0,1 N diperoleh λ_{mak} 250,80 nm dengan absorban 0,186, dan pada pelarut HCl 0,1 N tidak dilanjutkan ke tahap pengukuran. Hal ini dikarenakan kandesartan sileksetil praktis tidak larut dalam HCl 0,1 N

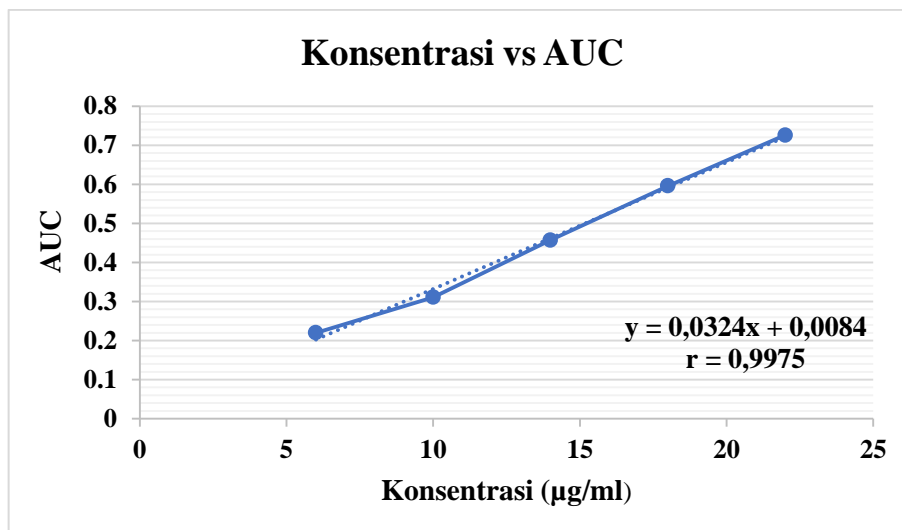
sehingga tidak memenuhi kriteria suatu larutan untuk dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri.

Pada uji kelarutan dalam 10 mg kandesartan sileksetil dilarutkan dalam 300 ml HCl 0,1 N (1:30.000) tetap tidak melarutkan kandesartan sehingga termasuk dalam golongan praktis tidak larut, dapat dilihat pada (gambar 8). Adapun pada uji kelarutan dengan etanol didapatkan bahwa etanol termasuk berada pada rentang 30-100 yang merupakan golongan agak sukar larut, yaitu dengan melarutkan 140 mg kandesartan sileksetil dalam 10 ml etanol (1:71), sedangkan untuk kelarutan kandesartan sileksetil dengan NaOH 0,1 N dilakukan dengan melarutkan 30 mg kandesartan sileksetil dalam 30 ml NaOH (1:1000) sehingga termasuk ke dalam kategori sukar larut. Dengan demikian, dari ketiga pelarut tersebut yang mampu melarutkan kandesartan sileksetil adalah etanol sehingga etanol dipilih sebagai pelarut yang digunakan untuk analisis tablet kandesartan sileksetil dengan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva.

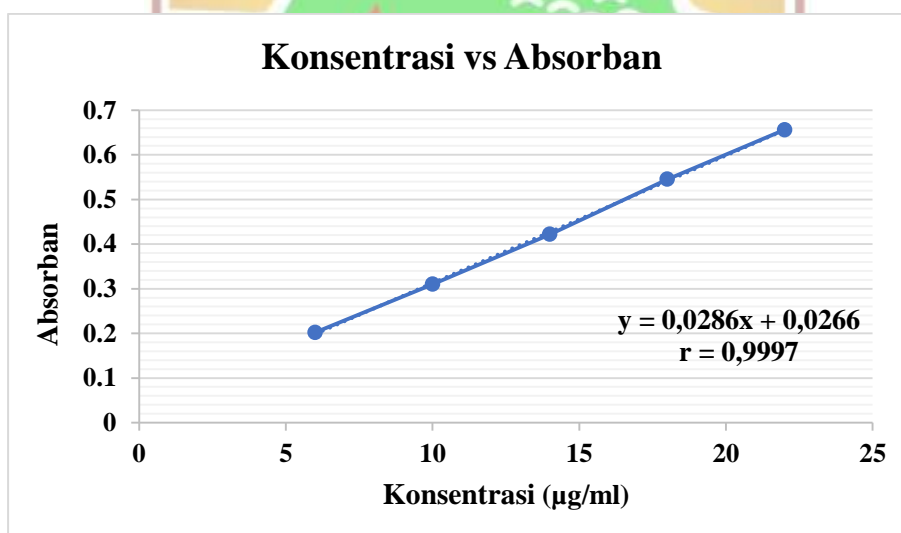
Dipilihnya pelarut etanol juga didukung dengan terbentuknya spektrum seperti lonceng yang memberikan nilai absorban pada panjang gelombang maksimum berada pada rentang 0,2-0,8. Menggunakan konsentrasi yang sama dengan etanol dalam pengukuran kandesartan sileksetil pada pelarut NaOH 0,1 N memberikan nilai absorban pada panjang gelombang maksimum dibawah rentang 0,2-0,8 sehingga pelarut NaOH tidak dipilih sebagai pelarut yang digunakan dalam analisis pada penelitian ini (Lampiran 1, Gambar 8).

4.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi larutan baku kandesartan sileksetil dilakukan dengan membuat 5 konsentrasi bertingkat larutan baku dalam konsentrasi 6 µg/ml, 10 µg/ml, 14 µg/ml, 18 µg/ml, dan 22 µg/ml dengan menggunakan pelarut etanol. Larutan tersebut diukur luas daerah di bawah kurvanya dengan rentang panjang gelombang 243,40-263,00 nm yang memberikan garis horizontal terhadap kurva. Adapun kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dengan luas daerah di bawah kurva dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol 10 µg/ml dengan metode luas daerah di bawah kurva



Gambar 7. Kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol 10 µg/ml dengan metode absorbansi pada λ_{max} 254,40 nm

Hasil pengukuran hubungan antara konsentrasi dengan luas daerah di bawah kurva secara berturut-turut pada gambar 6, yaitu diperoleh 0,220; 0,311; 0,457; 0,596; dan 0,726 sehingga didapatkan persamaan regresinya, yaitu $y = 0,0324x + 0,0084$ dengan nilai $r = 0,9975$. Metode sebelumnya yang telah dilaporkan untuk penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil, seperti metode spektrofotometri ultraviolet secara absorbansi juga dilakukan pada percobaan dengan didapatkan hasil

antara konsentrasi dan absorban seperti pada (gambar 7) masing-masing 0,202; 0,310; 0,422; 0,545; dan 0,656 sehingga didapatkan persamaan regresi linear, yaitu $y = 0,0286x + 0,0266$ dengan nilai $r = 0,9997$ (Lampiran 1, Gambar 9, 10, 11, 12, dan 13, Tabel IV, V, VI, VII, VIII, VIX, dan X).

4.3 Validasi Metode Analisis

4.3.1 Linearitas

Hasil pembuatan kurva kalibrasi dari hubungan antara konsentrasi dengan luas daerah di bawah kurva ditentukan linearitasnya. Tujuan dari uji linearitas ini untuk menunjukkan seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) yang menunjukkan nilai luas daerah di bawah kurva dengan konsentrasi (x). Linearitas ditentukan dengan cara mengolah data antara konsentrasi (x) dengan luas daerah di bawah kurva (y) yang didapatkan dari kurva kalibrasi menggunakan persamaan regresi linear sehingga didapatkan nilai koefisien korelasi (r).

Hasil yang didapatkan pada uji linearitas dengan menggunakan metode luas daerah di bawah kurva didapatkan nilai $r = 0,9975$. Adapun pengujian yang dilakukan dengan menggunakan metode absorbansi yang telah dilaporkan sebelumnya didapatkan hasil linear dengan nilai $r = 0,9997$. Dilihat dari hasil linearitas yang didapatkan dari kedua metode menunjukkan bahwa kedua metode memberikan linearitas yang memenuhi kriteria penerimaan, yaitu berada pada rentang nilai koefisien korelasi (r) $0,99 \leq r < 1$ dengan arti semakin tinggi konsentrasi akan meningkatkan luas daerah dibawah kurva atau serapan dari kandesartan sileksetil secara proporsional (34) (Lampiran 1, Tabel XI dan XII).

4.3.2 Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menggambarkan sensitivitas dari suatu metode analisis. Tujuan dilakukan pengujian batas deteksi yaitu untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. Adapun tujuan dari penentuan batas kuantitasi yaitu mengetahui konsentrasi analit terendah yang ada dalam sampel dan masih dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (34).

Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi yang diperoleh dari metode luas daerah di bawah kurva secara berturut-turut, yaitu 2,855 $\mu\text{g/ml}$ dan 9,517 $\mu\text{g/ml}$. Adapun dengan menggunakan metode absorbansi yang telah dilaporkan sebelumnya, yaitu didapatkan sebesar 0,449 $\mu\text{g/ml}$ dan 1,499 $\mu\text{g/ml}$. Dengan demikian, dari hasil uji didapatkan bahwa kedua metode (luas daerah di bawah kurva dan absorbansi) memiliki tingkat sensitivitas yang berbeda (Lampiran 1, Tabel XIII dan XIV).

4.3.3 Akurasi

Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran. Tujuan dilakukannya uji akurasi ini untuk mengetahui bahwa metode analisis memberikan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (31). Proses pengujian dilakukan dengan metode penambahan standar "*standard addition method*" dengan menambahkan sejumlah larutan baku kandesartan sileksetil ke dalam suatu larutan uji yang kadarnya telah diketahui. Adapun konsentrasi standar yang akan ditambahkan ke dalam sampel sebesar 40%, 80%, dan 120%.

Hasil persen perolehan kembali dari sampel tablet kandesartan sileksetil generik dengan menggunakan metode luas daerah di bawah kurva pada level akurasi 40%, 80%, dan 120% memberikan hasil persen perolehan kembali berturut-turut sebesar 104,61%, 107,66%, dan 117,35% dengan rata-rata persen perolehan kembalinya 109,87%. Dengan demikian hasil uji akurasi dari luas daerah di bawah kurva memberikan hasil yang akurat karena berada pada rentang keberterimaannya, yaitu 80-120% (34). Hasil akurasi yang didapatkan menunjukkan adanya peningkatan hasil pada setiap level akurasi. Hal ini membuktikan bahwa berlakunya Hukum Beer yang ditandai dengan adanya hubungan linearitas antara nilai absorban atau luas daerah di bawah kurva dengan bertambahnya konsentrasi (23) (Lampiran 1, Tabel XV).

4.3.4 Presisi

Pengujian presisi ditujukan untuk mengetahui kedekatan antara hasil analisis yang dilakukan secara berulang kali dengan memberikan perlakuan yang sama pada waktu yang berbeda. Presisi juga memberikan gambaran terkait kestabilan dari senyawa uji, yaitu kandesartan sileksetil di dalam pelarut yang digunakan. Penentuan presisi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi berbeda,

yaitu 6 µg/ml, 14 µg/ml, dan 22 µg/ml. Pada presisi *intraday* dilakukan dalam 1 hari pada waktu yang berbeda dan *interday* dilakukan dalam tiga hari berturut-turut. Adapun kriteria penerimaan keberterimaan dari suatu metode jika memberikan nilai persin simpangan baku relatif (%RSD) atau koefisien variasi (KV) adalah 2% atau kurang.

Pada hasil pengujian didapatkan bahwa nilai persen simpangan baku relatif pada presisi *intraday* dan *interday* dari metode luas daerah di bawah kurva didapatkan secara berturut-turut $0,37\% \pm 0,054$ dan $0,57\% \pm 0,082$. Dengan demikian, hasil yang didapatkan dalam pengujian menunjukkan bahwa metode tersebut memberikan nilai keterberulangan yang memenuhi persyaratan karena berada di bawah rentang nilai keberterimaan, yaitu $\%RSD \leq 2\%$ (Lampiran 1, Tabel XVI dan XVII).

4.4 Penetapan Kadar Sampel Tablet Kandesartan Sileksetil

Pada penetapan kadar digunakan sampel tablet kandesartan sileksetil generik dengan menggunakan pembanding standar kandesartan sileksetil BPF1 dari BPOM. Pengujian dilakukan dengan membuat preparasi larutan induk sampel konsentrasi 80 µg/ml dari 131,4 mg serbuk kandesartan sileksetil yang dilarutkan dalam 100 ml etanol. Dalam proses preparasi juga perlu dilakukan bantuan sonikasi dengan tujuan untuk mempercepat proses kelarutan dari kandesartan sileksetil dalam pelarut. Pada pengukuran dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 6 µg/ml yang diencerkan dari larutan induk sampel.

Penetapan kadar kandesartan sileksetil dilakukan dengan metode spektrofotometri secara luas daerah di bawah kurva. Kadar kandesartan sileksetil dalam sampel ditentukan dengan menggunakan persamaan perbandingan konsentrasi sampel dengan konsentrasi standar. Hasil dari penetapan kadar menggunakan metode luas daerah di bawah kurva ini didapatkan sebesar $74,395\% \pm 0,083$.

Kadar yang didapatkan dari pengujian didapatkan rendah karena beberapa faktor. Dalam sediaan kandesartan sileksetil yang berbentuk tablet, tentu terdapat bahan-bahan tambahan atau bahan campuran dan inilah kemungkinan yang dapat mempengaruhi kelarutannya. Adanya kemungkinan tidak sempurna dalam proses pengestrakan sehingga sampel tidak larut di dalam pelarut secara keseluruhan atau homogen sehingga mempengaruhi konsentrasi yang terbentuk. Oleh sebab itu, saat

dilakukan pengukuran dan perhitungan didapatkan kadar yang rendah (Lampiran 1, Gambar 14,15, dan 16, Tabel XVIII, XIX, XX, dan XXI).



V. KESIMPULAN DAN SARAN

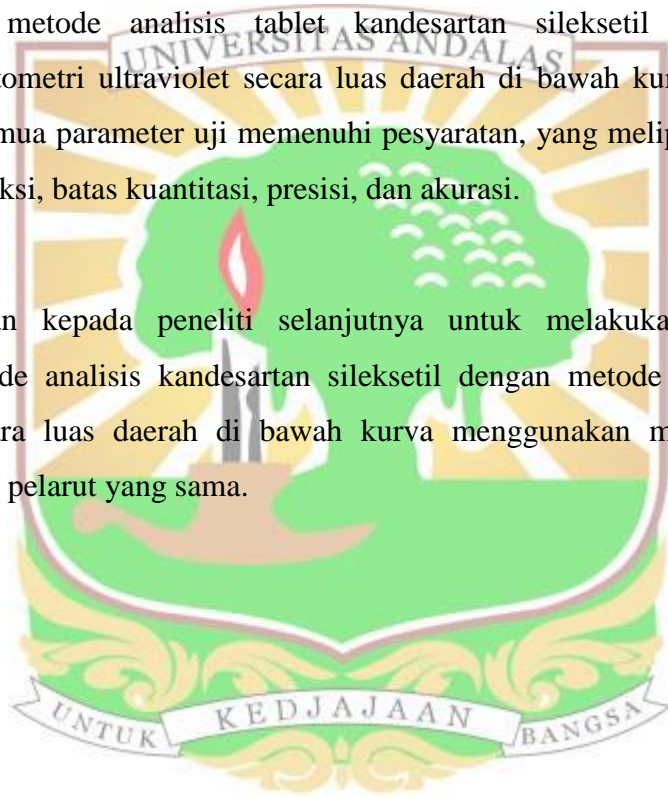
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Metode analisis tablet kandesartan sileksetil dengan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva telah dikembangkan menggunakan pelarut etanol dengan memberikan kelarutan yang baik dan menghasilkan bentuk spektrum seperti lonceng.
2. Validasi metode analisis tablet kandesartan sileksetil dengan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva menunjukkan bahwa semua parameter uji memenuhi persyaratan, yang meliputi uji linearitas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, dan akurasi.

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan optimasi dan verifikasi metode analisis kandesartan sileksetil dengan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah di bawah kurva menggunakan modifikasi pelarut maupun dengan pelarut yang sama.



DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI. Hipertensi Si Pembunuh Senyap. Kementrian Kesehat RI. 2019;1-5.
2. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. 2014 Evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: Report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA - J Am Med Assoc.* 2014;311(5):507-20.
3. Husain A, Azim Md Sabir MS, Mitra M, Bhasin PS. A review on Candesartan: Pharmacological and pharmaceutical profile. *J Appl Pharm Sci.* 2011;1(10):12-7.
4. Kementerian Kesehatan RI. Famakope Indonesia. Edisi VI. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2020.
5. Gleiter CH, Jägle C, Gresser U, Mörike K. Candesartan. *Cardiovasc Drug Rev.* 2004;22(4):263-84.
6. Patel M, Dhagash A. Patel, Balram Gajra. Validation of Analytical Procedures: Methodology ICH-Q2B. *Int J Pharm.* 2011;1(2):2249-1031.
7. Pharmacopeia US. The United States Pharmacopeia : The National Formulary. USP 37 NF. 2014. 564 p.
8. Kamalakkannan V et. al. Analytical method development and validation for Candesartan Cilexetil as bulk drug and in pharmaceutical dosage forms by HPLC. *Der Pharm Lett.* 2011;3(3):286-96.
9. Madhavi K, Navamani M, Prasanthi C. Simple analytical method for the simultaneous estimation of hydrochlorothiazide and candesartan by RP-HPLC. *Int J Appl Pharm.* 2017;9(6):34-8.
10. Ambekar AM, Kuchekar BS. Application of a validated stability-indicating hptlc method for simultaneous quantitative determination of Candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2016;8(5):151-7.
11. Sakur AA, Fael H. Determination of candesartan cilexetil in tablets by

- spectrofluorimetry. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2010;4(1):60–3.
12. Jignesh P, Dave J B, Patel C N, Patel Dhruvil. Q-Analysis spectrophotometric methods for estimation of Candesartan Cilexetil and Hydrochlorothiazide in tablet dosage form. *J Chem Pharm Res.* 2011;2(3):10–4.
 13. Al-Arfaj N, Al-Onazi W, Al-Brashy A. Spectrophotometric bivariate method for determination of candesartan cilexetil in presence of its alkaline induced degradation product. *Asian J Chem.* 2013;25(2):719–25.
 14. Mathrusri Annapurna M, Phani Kumar JS. Simultaneous Derivative Spectrophotometric Determination of Candesartan Cilexetil and Hydrochlorothiazide. *Pharm Methods.* 2015;6(3):148–51.
 15. Ravisankar, Panchumarthy, V. Sree Vidya, K. Manjusha YNM and PSB. Validated UV spectrophotometric method for quantitative determination of candesartan cilexetil in bulk and pharmaceutical dosage form. *Der Pharm Lett.* 2016;8(9):252–7.
 16. Chauhan, V. C., Patel, D. D., Rana, M. J., dan Shah MA. A review different UV spectrophotometric method for determination of quinolone derivatives. *J Pharm Sci Biosci Res,* 5(6). 2015;5(2271):521–9.
 17. Rivai H, Sianturi YM, Asra R. Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Tablet Simetidin dengan Metode Absorbansi dan Metode Luas Daerah di Bawah Kurva secara Spektrofotometri Ultraviolet. 2018.
 18. Gleiter CH, Mörike KE. Clinical Pharmacokinetics of Candesartan. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(1):7–17.
 19. Israili ZH. Clinical Pharmacokinetics of Angiotensin II (AT 1) Receptor Blockers in Hypertension. *J Hum Hypertens.* 2000;
 20. Gandjar IG dan AR. *Spektroskopi Molekuler Untuk Analisis Farmasi.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2018.
 21. Khaldun I. *Kimia Analisa Instrumen.* Aceh: Syiah Kuala University Press Darussalam; 2018.
 22. Evans L. UV-VIS Spectrophotometry A Brief Background to Spectrophotometry Contents. *J Biochrom.* 2017;5(1).
 23. Dachriyanus. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi.* Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi

- (LPTIK) Universitas Andalas; 2004.
24. Nazar M dan MH. Spektroskopi Molekul. Aceh: Syiah Kuala University Press Darussalam; 2018.
 25. Sastrohamidjojo H. Dasar-Dasar Spektroskopi. Cetakan Pe. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2013.
 26. APRILIAN R. Validasi Metode Spektrofotometri Ultraviolet Untuk Analisis Zinc Bacitracin. Universitas Andalas; 2020.
 27. Moffat, Anthony C et al. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. Fourth Edi. London: Pharmaceutical Press; 2011.
 28. Dileep D. Spectrophotometry and Spectrometry - Concept and Applications. Ijariie-Issn(O)-2395-4396. 2017;2(4):2395-4396.
 29. Suhartati T. Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Senyawa Organik. Bandar Lampung: Aura; 2017.
 30. Nasution DA. Aplikasi Metode Luas Area Dibawah Kurva Pasa Penetapan Kadar Simultan Binary Mixture Hidrokortison Asetat Dan Kloramfenikol Dalam Sediaan Krim Secara Spektrofotometri Ultraviolet. Universitas Sumatera Utara; 2019.
 31. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. Maj Ilmu Kefarmasian. 2004;1(3):117-35.
 32. Thompson M, Ellison SLR, Wood R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). Pure Appl Chem. 2002;74(5):835-55.
 33. Gandjar IG dan AR. Kimia Farmasi Analisis. Cetakan I. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007.
 34. Rohman A. Validasi dan Penjaminan Mutu. Metode Analisis Kimia. Cetakan Pe. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2014.
 35. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. Guidelines for the validation of analytical methods for active constituent, agricultural and veterinary chemical products. 2004;(October):1-9.
 36. Huber L. Validation of Analytical Methods. New Yor, USA: Agilent Technologies; 2017.
 37. United Nations Office on Drugs and Crime. A commitment to quality and

continuous improvement. 2009.

38. Riyanto. Validasi dan Verifikasi Metode Uji. Yogyakarta: Deepublish; 2002.
39. Agency EM. ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Eur Med Agency. 1995;
40. Kementerian Kesehatan RI. Farmakope Indonesia. Edisi V. 2014.
41. Japanes Pharmacopoeia. Japanese Pharmacopoeia Sixteenth Edition XVI. Powder Diffr. 2011;2011(65).



Lampiran 1. Data dan Hasil Penelitian



Gambar 8. Kelarutan kandesartan sileksetil dalam pelarut HCl 0,1 N

Tabel IV. Data kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol dengan metode luas daerah di bawah kurva

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Luas Daerah
1	6	0,220
2	10	0,311
3	14	0,457
4	18	0,596
5	22	0,726

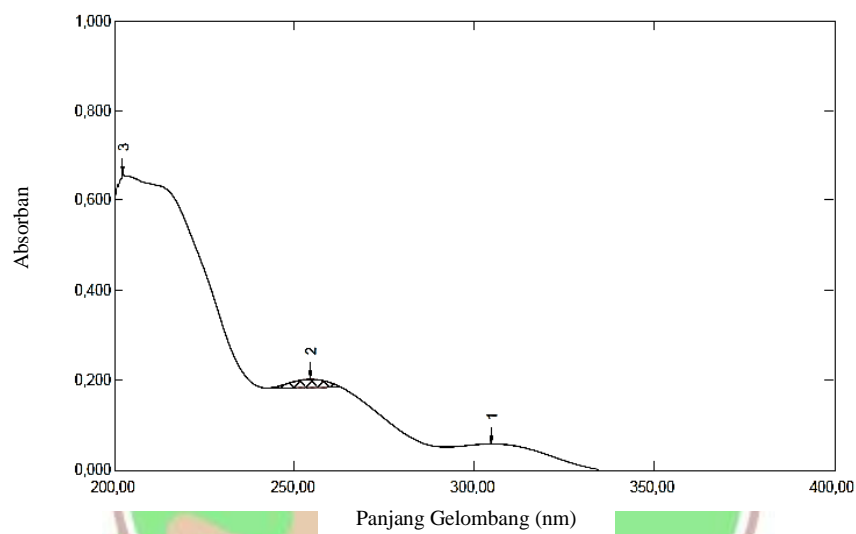
Tabel V. Data kurva kalibrasi kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol dengan metode absorbansi pada λ_{maks} 254,40 nm

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorban
1	6	0,202
2	10	0,310
3	14	0,422
4	18	0,545
5	22	0,656

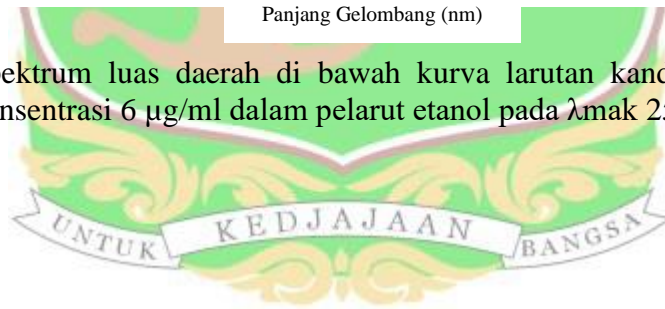
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel VI. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 6 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,220



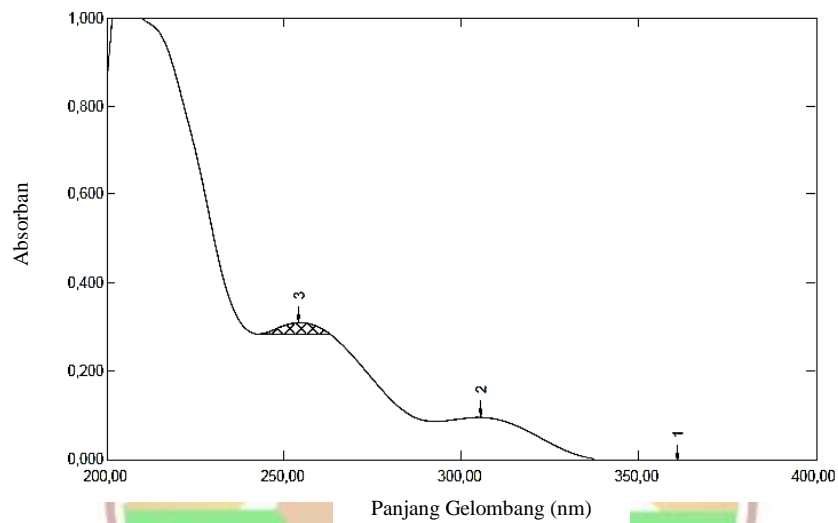
Gambar 9. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 6 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm



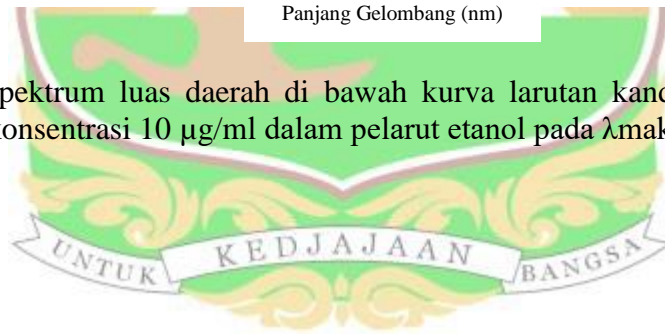
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel VII. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{maks} 254,40 nm

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,311



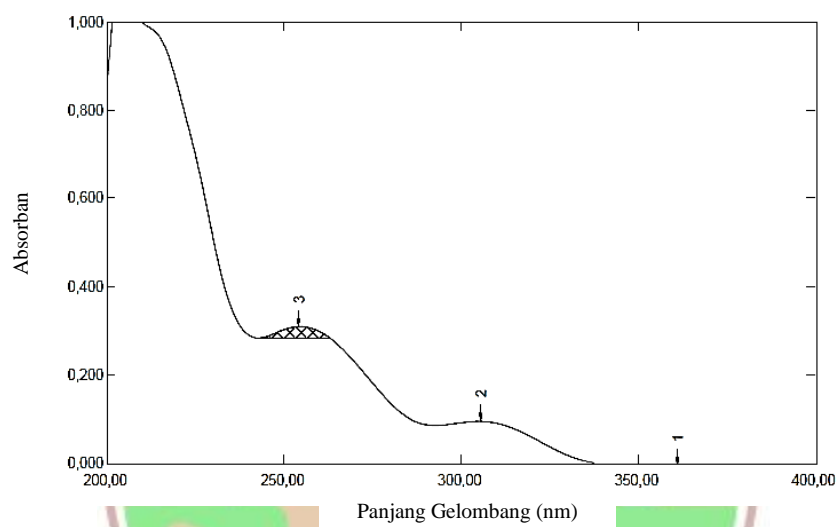
Gambar 10. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 10 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{maks} 254,40 nm



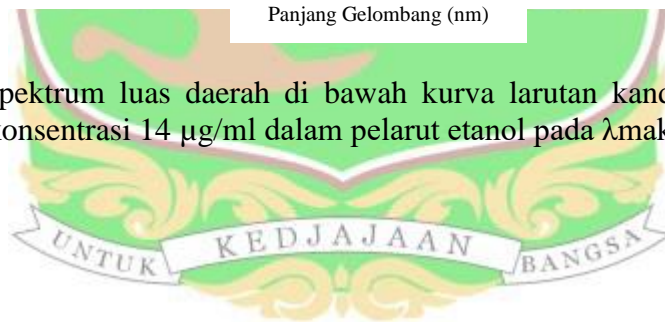
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel VIII. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 14 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,311



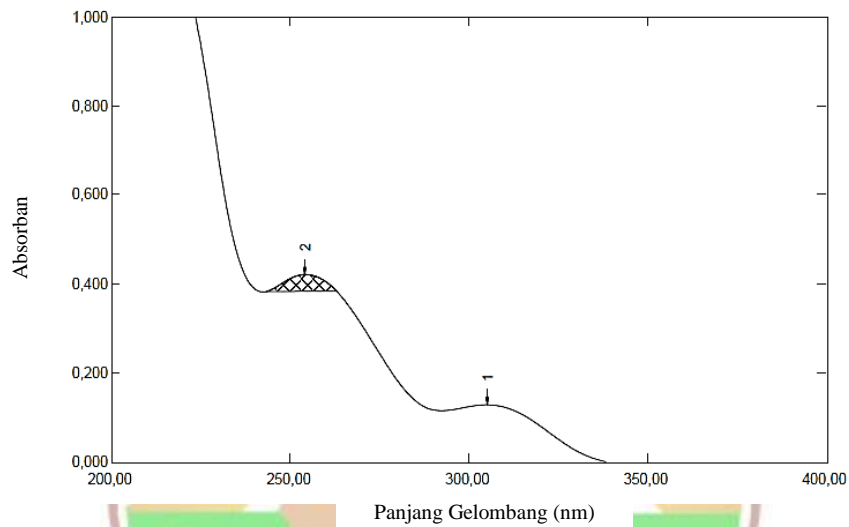
Gambar 11. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 14 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm



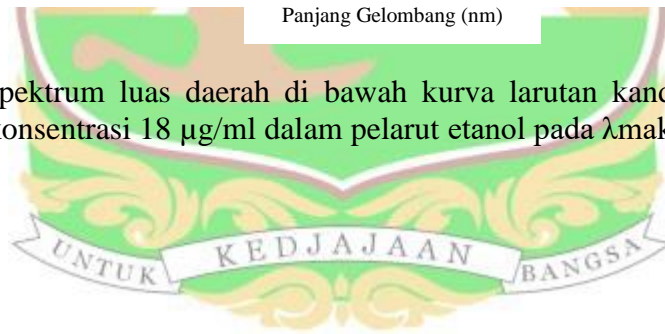
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel IX. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 18 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,457



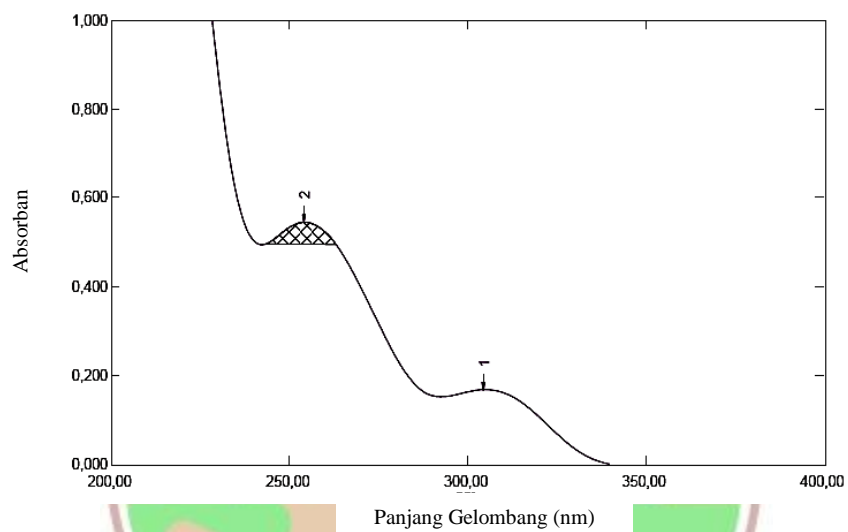
Gambar 12. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 18 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm



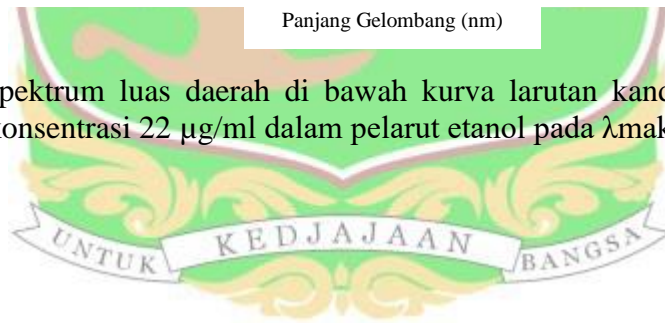
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel X. Data luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 22 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,596



Gambar 13. Spektrum luas daerah di bawah kurva larutan kandesartan sileksetil konsentrasi 22 µg/ml dalam pelarut etanol pada λ_{mak} 254,40 nm



Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XI. Linearitas kandesartan sileksetil dengan meode luas daerah di bawah kurva

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) (X)	AUC (Y)	X.Y	X ²	Y ²
1	6	0,220	1,32	36	0,0484
2	10	0,311	3,11	100	0,096721
3	14	0,457	6,398	196	0,208849
4	18	0,596	10,728	324	0,355216
5	22	0,726	15,972	484	0,527076
Jumlah	70	2,31	37,528	1140	1,236262
Rata-rata	14	0,462	7,506	228	0,2472524
b	0,0324				
a	0,0084				
r	0,9975				

Tabel XII. Linearitas kandesartan sileksetil dengan metode absorbansi

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) (X)	Absorban (Y)	X.Y	X ²	Y ²
1	6	0,202	1,212	36	0,040804
2	10	0,310	3,1	100	0,096100
3	14	0,422	5,908	196	0,178084
4	18	0,545	9,81	324	0,297025
5	22	0,656	14,432	484	0,430336
Jumlah	70	2,135	34,462	1140	1,042349
Rata-rata	14	0,427	6,892	228	0,2084698
b	0,0286				
a	0,0266				
r	0,9997				

Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XIII. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi kandesartan sileksetil dengan metode luas daerah di bawah kurva

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) (X)	AUC (Y)	X.Y	X ²	Y ²
1	6	0,220	1,320	36	0,048400
2	10	0,311	3,110	100	0,096721
3	14	0,457	6,398	196	0,208849
4	18	0,596	10,728	324	0,355216
5	22	0,726	15,972	484	0,527076
Jumlah	70	2,31	37,528	1140	1,236262
Rata-rata	14	0,462	7,506	228	0,2472524
S²yx	0,0009508				
Syx	0,0308550				
BD	2,85509676 $\mu\text{g/ml}$				
BK	9,516989198 $\mu\text{g/ml}$				

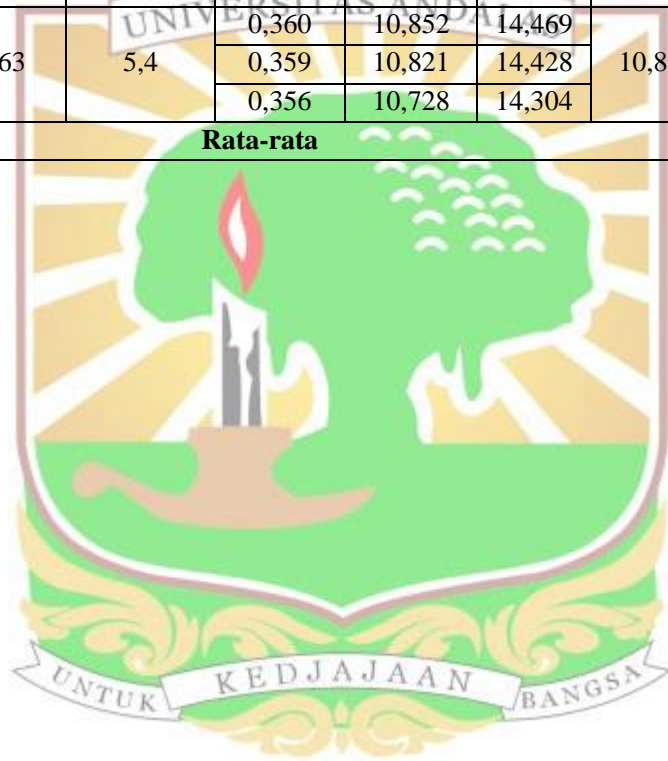
Tabel XIV. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi kandesartan sileksetil dengan metode absorbansi

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) (X)	Absorban (Y)	X.Y	X ²	Y ²
1	6	0,202	1,212	36	0,040804
2	10	0,310	3,100	100	0,096100
3	14	0,422	5,908	196	0,178084
4	18	0,545	9,810	324	0,297025
5	22	0,656	14,432	484	0,430336
Jumlah	70	2,135	34,462	1140	1,042349
Rata-rata	14	0,427	6,892	228	0,2084698
S²yx	0,0000184				
Syx	0,0042895				
BD	0,4499498725 $\mu\text{g/ml}$				
BK	1,499832908 $\mu\text{g/ml}$				

Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XV. Data uji akurasi tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva

Level Akurasi	Kadar Awal ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar yang Ditambah ($\mu\text{g/ml}$)	AUC	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Bobot (mg)	Kadar Rata-rata ($\mu\text{g/ml}$)	%Recovery
40%	4,463	1,8	0,213	6,315	8,420	6,346	104,61 %
			0,219	6,500	8,666		
			0,210	6,222	8,296		
80%	4,463	3,6	0,276	8,529	11,012	8,339	107,66 %
			0,274	8,198	10,931		
			0,277	8,290	11,053		
120%	4,463	5,4	0,360	10,852	14,469	10,800	117,35 %
			0,359	10,821	14,428		
			0,356	10,728	14,304		
Rata-rata							109,87 %



Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XVI. Data uji presisi *intraday* tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva

Kadar (µg/ml)	Waktu	AUC	Kadar (µg/ml)	Kadar Rata-rata (µg/ml)	%Kadar Rata-rata	SD	%RSD	Rata-rata %RSD
6	Pagi	0,197	5,821	5,842	99,37 %	0,018	0,31 %	0,95 %
		0,198	5,852					
		0,198	5,852					
	Siang	0,210	6,222	6,315	105,25 %	0,092	1,45 %	
		0,213	6,315					
		0,216	6,407					
	Sore	0,220	6,530	6,489	108,15 %	0,071	1,09 %	
		0,220	6,530					
		0,216	6,407					
14	Pagi	0,474	14,370	14,349	102,49 %	0,036	0,25 %	0,24 %
		0,472	14,308					
		0,474	14,370					
	Siang	0,474	14,370	14,370	102,64 %	0,031	0,22 %	
		0,475	14,401					
		0,473	14,339					
	Sore	0,475	14,401	14,359	102,56 %	0,036	0,25 %	
		0,473	14,339					
		0,473	14,339					
22	Pagi	0,741	22,611	22,590	102,68 %	0,064	0,28 %	0,30 %
		0,738	22,518					
		0,742	22,642					
	Siang	0,747	22,769	22,754	103,42 %	0,072	0,32 %	
		0,747	22,769					
		0,743	22,672					
	Sore	0,750	22,888	22,847	103,85 %	0,071	0,31 %	
		0,750	22,888					
		0,746	22,765					
Rata-rata				14,435	103,38 %	0,054	0,50 %	

Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XVII. Data uji presisi *interday* tablet kandesartan sileksetil dengan metode luas daerah di bawah kurva

Kadar (µg/ml)	Hari ke	AUC	Kadar (µg/ml)	Kadar Rata-rata (µg/ml)	%Kadar Rata-rata	SD	%RSD	Rata-rata %RSD
6	1	0,197	5,821	5,842	97,37 %	0,018	0,31 %	1,31 %
		0,198	5,852					
		0,198	5,852					
	2	0,202	5,975	5,800	96,66 %	0,152	2,6 %	
		0,194	5,728					
		0,193	5,697					
	3	0,197	5,821	5,821	97,02 %	0,061	1,04 %	
		0,195	5,760					
		0,199	5,882					
14	1	0,474	14,370	14,349	102,49 %	0,036	0,25 %	0,47 %
		0,472	14,308					
		0,474	14,370					
	2	0,477	14,463	14,525	103,75 %	0,106	0,73 %	
		0,477	14,463					
		0,483	14,648					
	3	0,483	14,648	14,586	104,18 %	0,053	0,36 %	
		0,480	14,555					
		0,480	14,555					
22	1	0,741	22,611	22,590	102,68 %	0,064	0,28 %	0,45 %
		0,738	22,518					
		0,742	22,642					
	2	0,747	22,769	22,850	103,85 %	0,140	0,61 %	
		0,747	22,769					
		0,754	23,012					
	3	0,758	13,135	23,248	105,67 %	0,108	0,46 %	
		0,762	23,259					
		0,765	23,351					
Rata-rata				14,401	101,52 %	0,082	0,74 %	

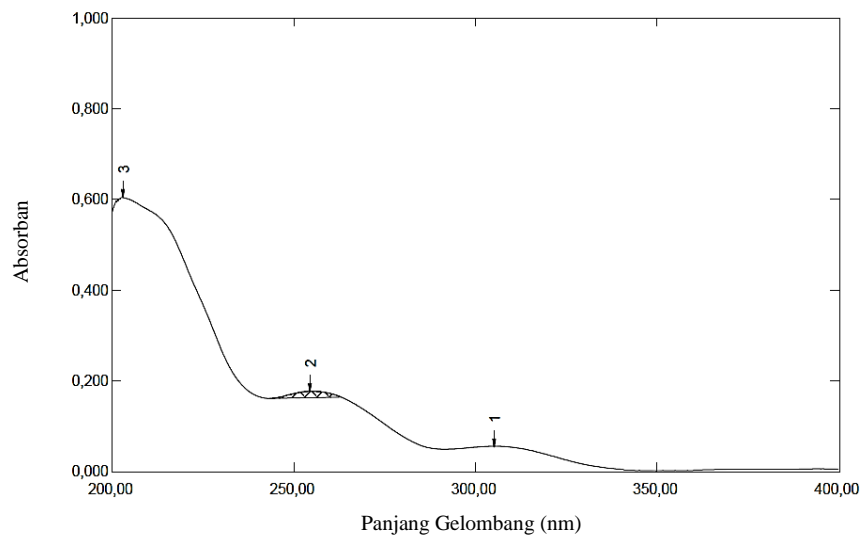
Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XVIII. Penetapan kadar tablet kandesartan sileksetil generik dengan metode luas daerah di bawah kurva

No	AUC	Kadar yang diperoleh (ppm)	Bobot (mg)	% Kadar
1	0,163	4,445	5,927	74,08 %
2	0.161	4,391	5,855	73,19 %
3	0,167	4,554	6,072	75,90 %
Rata-rata		4,463	5,951	74,39 %
		SD		0,083

Tabel XIX. Data luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil generik dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 1)

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,163

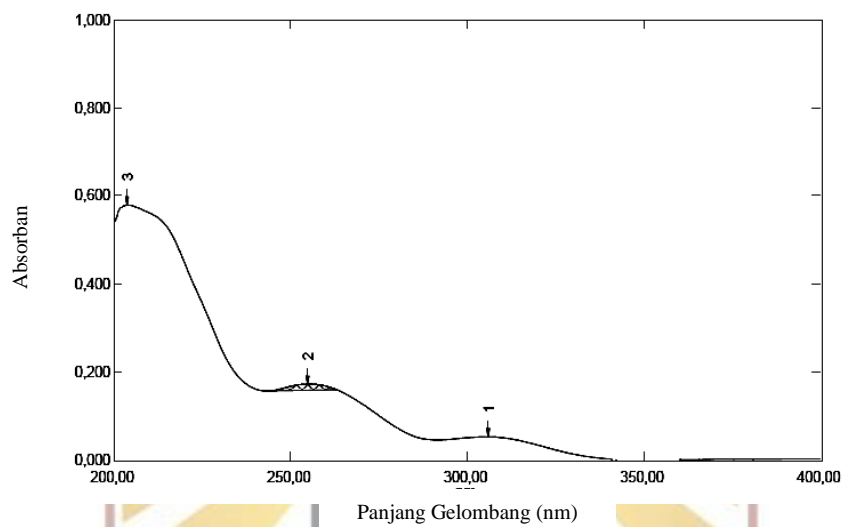


Gambar 14. Spektrum luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 1)

Lampiran 1. (Lanjutan)

Tabel XX. Data luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil generik dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 2)

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,161

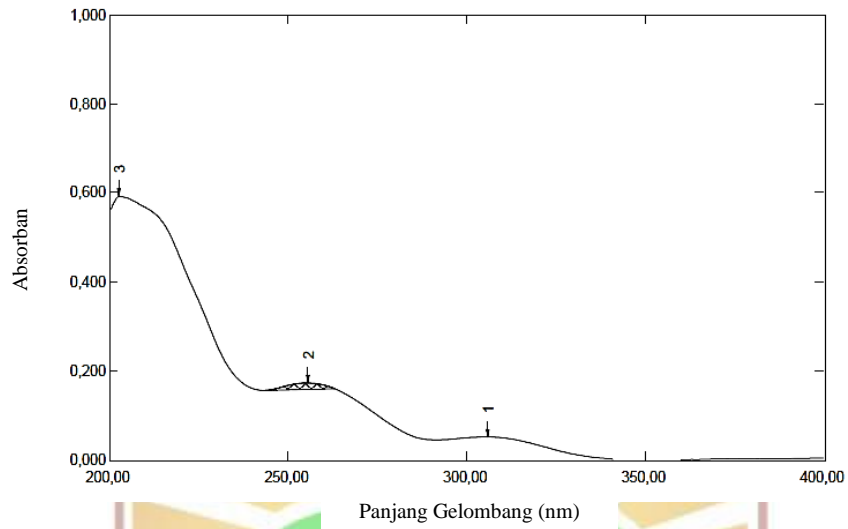


Gambar 15. Spektrum luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 2)

Tabel XXI. Data luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil generik dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 3)

Titik Awal	Titik Akhir	Luas Daerah
243,40	263,00	0,167

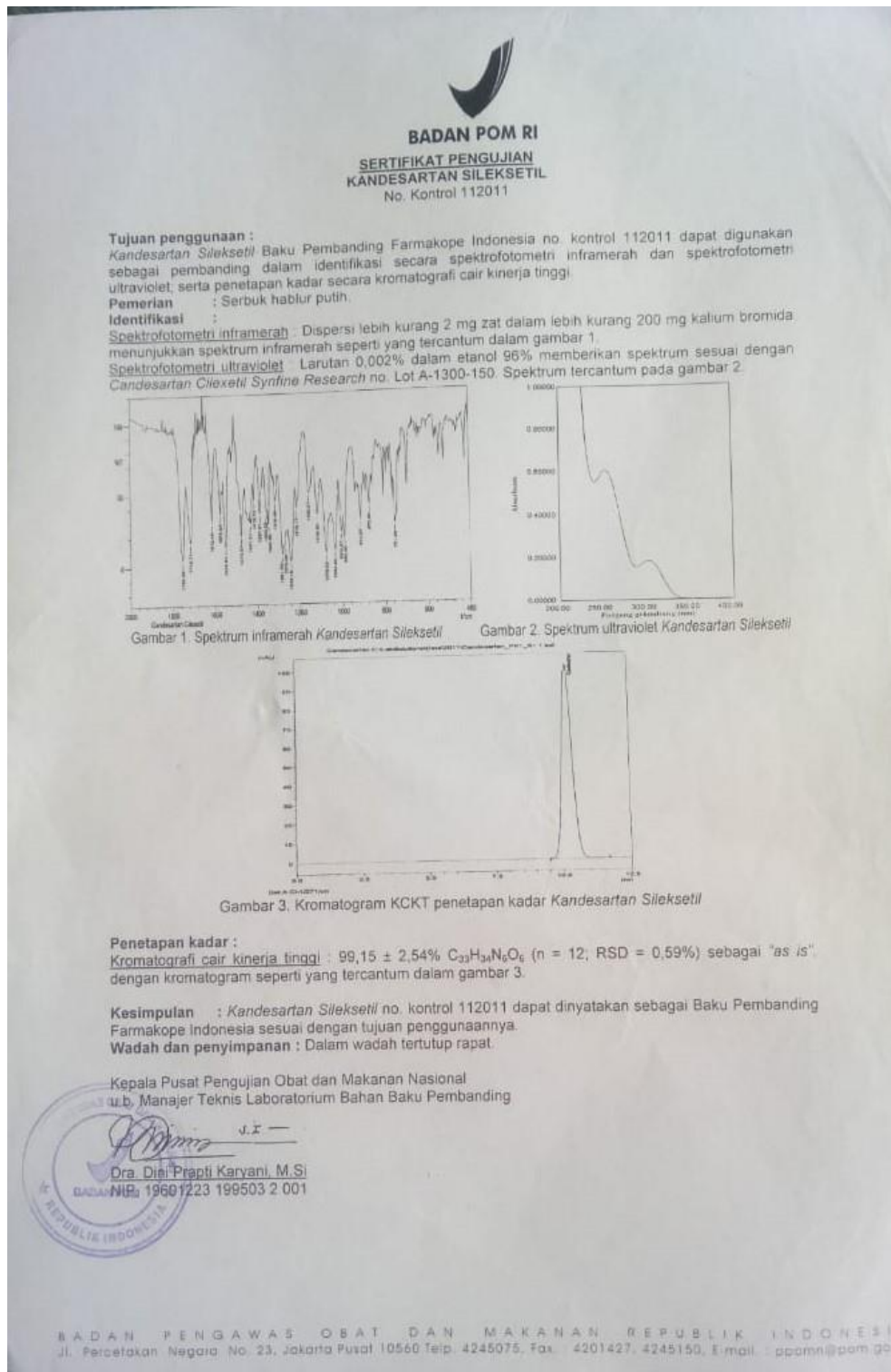
Lampiran 1. (Lanjutan)



Gambar 16. Spektrum luas daerah di bawah kurva tablet kandesartan sileksetil dalam pelarut etanol konsentrasi 6 µg/ml (pengulangan 3)



Lampiran 1. (Lanjutan)



Gambar 17. Sertifikat analisis kandesartan sileksetil

Lampiran 2. Perhitungan Hasil

1. Perhitungan Kurva Kalibrasi dan Linearitas

a. Metode Luas Daerah Dibawah Kurva

$$\begin{aligned} b &= \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \\ &= \frac{5 \times 37,528 - (70 \times 2,31)}{5 \times 1140 - (70)^2} \\ &= \frac{187,64 - 161,7}{5.700 - 4900} = 0,0324 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} a &= \frac{\sum y - b \sum x}{n} \\ &= \frac{2,31 - (0,0324 \times 70)}{5} = 0,0084 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} r &= \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}} \\ r &= \frac{(5 \times 37,528) - (70 \times 2,31)}{\sqrt{5 \times 1140 - (70)^2} \sqrt{5 \times 1,236262 - (2,31)^2}} \\ &= 0,9975 \end{aligned}$$

b. Metode Absorbansi

$$\begin{aligned} b &= \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \\ &= \frac{5 \times 34,462 - (70 \times 2,135)}{5 \times 1140 - (70)^2} \\ &= \frac{172,31 - 149,45}{5.700 - 4900} = 0,0286 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} a &= \frac{\sum y - b \sum x}{n} \\ &= \frac{2,135 - (0,0286 \times 70)}{5} = 0,0266 \end{aligned}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$r = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$
$$r = \frac{(5 \times 34,462) - (70 \times 2,135)}{\sqrt{5 \times 1140 - (70)^2} \sqrt{5 \times 1,042349 - (2,135)^2}}$$
$$= 0,9997$$

2. Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

a. Metode Luas Daerah di Bawah Kurva

$$S^2_{yx} = \frac{|\sum y^2 - a \sum y - b \sum xy|}{n - 2}$$
$$= \frac{|1,236262 - (0,0084 \times 2,31) - (0,0324 \times 37,528)|}{5 - 2}$$
$$= 0,0009508$$

$$S_{yx} = \sqrt{0,0009508}$$
$$= 0,0308550$$

$$\text{Batas Deteksi} = \frac{3 \times S_{yx}}{b}$$
$$= \frac{3 \times 0,0308550}{0,0324}$$
$$= 2,85509676 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Batas Kuantitasi} = \frac{10 \times S_{yx}}{b}$$
$$= \frac{10 \times 0,0308550}{0,0324}$$
$$= 9,516989198 \mu\text{g/ml}$$

b. Metode Absorbansi

$$S^2_{yx} = \frac{|\sum y^2 - a \sum y - b \sum xy|}{n - 2}$$
$$= \frac{|1,042349 - (0,0266 \times 2,135) - (0,0286 \times 34,462)|}{5 - 2}$$
$$= 0,0000184$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$S_{yx} = \sqrt{0,0000184}$$

$$= 0,0042895$$

$$\text{Batas Deteksi} = \frac{3 \times S_{yx}}{b}$$

$$= \frac{3 \times 0,0042895}{0,0286}$$

$$= 0,4499498725 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Batas Kuantitasi} = \frac{10 \times S_{yx}}{b}$$

$$= \frac{10 \times 0,0042895}{0,0286}$$

$$= 1,499832908 \mu\text{g/ml}$$

3. Perhitungan Perolehan Kembali (Akurasi) Tablet Kandesartan Sileksetil Dengan Metode Luas Daerah di Bawah Kurva

$$Y = 0,0324x + 0,0084$$

- **Penambahan baku standar baku 40%**

Konsentrasi sampel = 4,463 ppm

Konsentrasi standar baku yang ditambahkan = 40% x 4,463 ppm = 1,785 ppm

= 1,8 ppm

- **Pengulangan 1**

AUC = 0,213

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,213 - 0,0084}{0,0324} = 6,315 \text{ ppm} = 6,315 \text{ mg/ml}$$

Bobot (mg) = 0,006315 mg/ml x 10/0,75 x 100 ml = 8,420 mg

- **Pengulangan 2**

AUC = 0,219

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,219 - 0,0084}{0,0324} = 6,5 \text{ ppm} = 0,0065 \text{ mg/ml}$$

Bobot (mg) = 0,0065 mg/ml x 10/0,75 x 100 ml = 8,666 mg

Lampiran 2. (Lanjutan)

- Pengulangan 3

$$\text{AUC} = 0,210$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,210 - 0,0084}{0,0324} = 6,222 \text{ ppm} = 0,006222 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,006222 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 8,296 \text{ mg}$$

Konsentrasi rata-rata setelah penambahan bahan baku standar

$$\frac{6,315 + 6,5 + 6,222}{3} = 6,346 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{C_{\text{sampel+standar}} - C_{\text{sampel}}}{C_{\text{ditambahkan}}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{6,346 - 4,463}{1,8} \times 100\% = 104,61 \%$$

• Penambahan baku standar baku 80%

$$\text{Konsentrasi sampel} = 4,463 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar baku yang ditambahkan} &= 80\% \times 4,463 \text{ ppm} = 3,57 \text{ ppm} \\ &= 3,6 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Pengulangan 1

$$\text{AUC} = 0,276$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,276 - 0,0084}{0,0324} = 8,529 \text{ ppm} = 0,008529 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,008259 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 11,012 \text{ mg}$$

- Pengulangan 2

$$\text{AUC} = 0,274$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,274 - 0,0084}{0,0324} = 8,198 \text{ ppm} = 0,008198 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,008198 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 10,931 \text{ mg}$$

- Pengulangan 3

$$\text{AUC} = 0,277$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,277 - 0,0084}{0,0324} = 8,290 \text{ ppm} = 0,008290 \text{ mg/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$\text{Bobot (mg)} = 0,008290 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 11,053 \text{ mg}$$

Konsentrasi rata-rata setelah penambahan bahan baku standar

$$\frac{8,529 + 8,198 + 8,290}{3} = 8,339 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{C_{\text{sampel+standar}} - C_{\text{sampel}}}{C_{\text{ditambahkan}}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{8,339 - 4,463}{3,6} \times 100\% = 107,66 \%$$

- **Penambahan baku standar baku 120%**

$$\text{Konsentrasi sampel} = 4,463 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar baku yang ditambahkan} &= 120\% \times 4,463 \text{ ppm} = 5,355 \text{ ppm} \\ &= 5,4 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- **Pengulangan 1**

$$\text{AUC} = 0,360$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,360 - 0,0084}{0,0324} = 10,852 \text{ ppm} = 0,010852 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,010852 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 14,469 \text{ mg}$$

- **Pengulangan 2**

$$\text{AUC} = 0,359$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,359 - 0,0084}{0,0324} = 10,821 \text{ ppm} = 0,010821 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,010821 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 14,428 \text{ mg}$$

- **Pengulangan 3**

$$\text{AUC} = 0,356$$

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,356 - 0,0084}{0,0324} = 10,728 \text{ ppm} = 0,010728 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,010728 \text{ mg/ml} \times 10/0,75 \times 100 \text{ ml} = 14,304 \text{ mg}$$

Konsentrasi rata-rata setelah penambahan bahan baku standar

$$\frac{10,852 + 10,821 + 10,728}{3} = 10,800 \text{ ppm}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{C_{\text{sampel+standar}} - C_{\text{sampel}}}{C_{\text{ditambahkan}}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{10,800 - 4,463}{5,4} \times 100\% = 117,35 \%$$

4. Perhitungan Presisi Tablet Kandesartan Sileksetil Dengan Metode Luas Daerah Dibawah Kurva

a. Perhitungan Presisi *Intraday*

$$\text{Standar Deviasi} = 0,054$$

$$\text{Rata-rata kadar} = 14,435$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0,054}{14,435} \times 100\% = 0,37 \%$$

a) Konsentrasi 6 ppm

- Pagi

- AUC = 0,197

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,197 - 0,0084}{0,0324} = 5,821 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,198

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,198 - 0,0084}{0,0324} = 5,852 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,198

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,198 - 0,0084}{0,0324} = 5,852 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{5,821 + 5,852 + 5,852}{3} = 5,842 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{5,842}{6} \times 100\% = 97,37 \%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$SD = \sqrt{\frac{(5,821 - 5,842)^2 + (5,852 - 5,842)^2 + (5,852 - 5,842)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,018$$

$$\%RSD = \frac{0,018}{5,842} \times 100\% = 0,31 \%$$

- **Siang**

- AUC = 0,210

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,210 - 0,0084}{0,0324} = 6,222 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,213

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,213 - 0,0084}{0,0324} = 6,315 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,216

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,216 - 0,0084}{0,0324} = 6,407 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{6,222 + 6,315 + 6,407}{3} = 6.315 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{6.315}{6} \times 100\% = 105,25 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(6,222 - 6.315)^2 + (6,315 - 6.315)^2 + (6,407 - 6.315)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,092$$

$$\%RSD = \frac{0,092}{6,315} \times 100\% = 1,45 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

- **Sore**

- AUC = 0,220

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,220 - 0,0084}{0,0324} = 6,530 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,220

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,220 - 0,0084}{0,0324} = 6,530 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,216

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,216 - 0,0084}{0,0324} = 6,407 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{6,530 + 6,530 + 6,407}{3} = 6,489 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{6,489}{6} \times 100\% = 108,15 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(6,530 - 6,489)^2 + (6,530 - 6,489)^2 + (6,407 - 6,489)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,071$$

$$\%RSD = \frac{0,071}{6,489} \times 100\% = 1,09 \%$$

b) Konsentrasi 14 ppm

- **Pagi**

- AUC = 0,474

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,474 - 0,0084}{0,0324} = 14,370 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,472

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,472 - 0,0084}{0,0324} = 14,308 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

- AUC = 0,474

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,474 - 0,0084}{0,0324} = 14,370 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{14,370 + 14,308 + 14,370}{3} = 14,349 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{14,349}{14} \times 100\% = 102,49 \%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(14,370 - 14,349)^2 + (14,308 - 14,349)^2 + (14,370 - 14,349)^2}{3 - 1}}$$

$$\text{SD} = 0,036$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0,036}{14,349} \times 100\% = 0,25 \%$$

• Siang

- AUC = 0,474

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,474 - 0,0084}{0,0324} = 14,370 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,475

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,475 - 0,0084}{0,0324} = 14,401 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,473

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,473 - 0,0084}{0,0324} = 14,339 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{14,370 + 14,401 + 14,339}{3} = 14,370 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{14,370}{14} \times 100\% = 102,64 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(14,370 - 14,370)^2 + (14,401 - 14,370)^2 + (14,339 - 14,370)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,031$$

$$\%RSD = \frac{0,031}{14,370} \times 100\% = 0,22 \%$$

- **Sore**

- AUC = 0,475

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,475 - 0,0084}{0,0324} = 14,401 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,473

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,473 - 0,0084}{0,0324} = 14,339 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,473

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,473 - 0,0084}{0,0324} = 14,339 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{14,401 + 14,339 + 14,339}{3} = 14,359 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{14,359}{14} \times 100\% = 102,56 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(14,401 - 14,359)^2 + (14,339 - 14,359)^2 + (14,339 - 14,359)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,036$$

$$\%RSD = \frac{0,036}{14,359} \times 100\% = 0,25 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

c) Konsentrasi 22 ppm

- **Pagi**

- AUC = 0,741

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,741 - 0,0084}{0,0324} = 22,611 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,738

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,738 - 0,0084}{0,0324} = 22,518 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,742

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,742 - 0,0084}{0,0324} = 22,642 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{22,611 + 22,518 + 22,642}{3} = 22,590 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{22,590}{22} \times 100\% = 102,68 \%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(22,611 - 22,590)^2 + (22,518 - 22,590)^2 + (22,642 - 22,590)^2}{3 - 1}}$$

$$\text{SD} = 0,064$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0,064}{22,590} \times 100\% = 0,28 \%$$

- **Siang**

- AUC = 0,747

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,747 - 0,0084}{0,0324} = 22,796 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,747

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,747 - 0,0084}{0,0324} = 22,796 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

- AUC = 0,743

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,743 - 0,0084}{0,0324} = 22,672 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{22,796 + 22,796 + 22,672}{3} = 22,754 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{22,754}{22} \times 100\% = 103,42 \%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(22,796 - 22,754)^2 + (22,796 - 22,754)^2 + (22,672 - 22,754)^2}{3 - 1}}$$

$$\text{SD} = 0,072$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0,072}{22,754} \times 100\% = 0,32 \%$$

• Sore

- AUC = 0,750

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,750 - 0,0084}{0,0324} = 22,888 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,750

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,750 - 0,0084}{0,0324} = 22,888 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,746

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,746 - 0,0084}{0,0324} = 22,765 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{22,888 + 22,888 + 22,765}{3} = 22,847 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{22,847}{22} \times 100\% = 103,85 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(22,888 - 22,847)^2 + (22,888 - 22,847)^2 + (22,765 - 22,847)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,071$$

$$\%RSD = \frac{0,071}{22,847} \times 100\% = 0,31 \%$$

b. Presisi *Interday* Metode Luas Daerah di Bawah Kurva

$$\text{Standar Deviasi} = 0,082$$

$$\text{Rata-rata kadar} = 14,401$$

$$\%RSD = \frac{0,082}{14,401} \times 100\% = 0,57 \%$$

a) Konsentrasi 6 ppm

- Hari ke-1

- AUC = 0,197

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,197 - 0,0084}{0,0324} = 5,821 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,198

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,198 - 0,0084}{0,0324} = 5,852 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,198

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,198 - 0,0084}{0,0324} = 5,852 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{5,821 + 5,852 + 5,852}{3} = 5,842 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{5,842}{6} \times 100\% = 97,37 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(5,821 - 5,842)^2 + (5,852 - 5,842)^2 + (5,852 - 5,842)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,018$$

$$\%RSD = \frac{0,018}{5,842} \times 100\% = 0,31 \%$$

- **Hari ke-2**

- AUC= 0,202

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,202 - 0,0084}{0,0324} = 5,975 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,194

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,194 - 0,0084}{0,0324} = 5,728 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,193

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,193 - 0,0084}{0,0324} = 5,697 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{5,975 + 5,728 + 5,697}{3} = 5,800 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{5,800}{6} \times 100\% = 96,66 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(5,975 - 5,800)^2 + (5,728 - 5,800)^2 + (5,697 - 5,800)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,152$$

$$\%RSD = \frac{0,152}{5,800} \times 100\% = 2,6 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

- **Hari ke-3**

- AUC = 0,197

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,197 - 0,0084}{0,0324} = 5,821 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,195

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,195 - 0,0084}{0,0324} = 5,760 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,199

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,199 - 0,0084}{0,0324} = 5,882 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{5,821 + 5,760 + 5,882}{3} = 5,821 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{5,821}{6} \times 100\% = 97,02 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(5,821 - 5,821)^2 + (5,760 - 5,821)^2 + (5,882 - 5,821)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,061$$

$$\%RSD = \frac{0,061}{5,821} \times 100\% = 1,04 \%$$

b) Konsentrasi 14 ppm

- **Hari ke-1**

- AUC = 0,474

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,474 - 0,0084}{0,0324} = 14,370 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,472

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,472 - 0,0084}{0,0324} = 14,308 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

- AUC = 0,474

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,474 - 0,0084}{0,0324} = 14,370 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{14,370 + 14,308 + 14,370}{3} = 14,349 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{14,349}{14} \times 100\% = 102,49 \%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(14,370 - 14,349)^2 + (14,308 - 14,349)^2 + (14,370 - 14,349)^2}{3 - 1}}$$

$$\text{SD} = 0,036$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0,036}{14,349} \times 100\% = 0,25 \%$$

- **Hari ke-2**

- AUC = 0,477

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,477 - 0,0084}{0,0324} = 14,463 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,477

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,477 - 0,0084}{0,0324} = 14,463 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,483

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,483 - 0,0084}{0,0324} = 14,648 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{14,463 + 14,463 + 14,648}{3} = 14,525 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{14,525}{14} \times 100\% = 103,75 \%$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(14,463 - 14,525)^2 + (14,463 - 14,525)^2 + (14,648 - 14,525)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,106$$

$$\%RSD = \frac{0,106}{14,525} \times 100\% = 0,73 \%$$

- **Hari ke-3**

- AUC = 0,483

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,483 - 0,0084}{0,0324} = 14,648 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,489

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,480 - 0,0084}{0,0324} = 14,555 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,480

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,480 - 0,0084}{0,0324} = 14,555 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,011253 \text{ mg/ml} \times 50/8,75 \times 100 = 6,43 \text{ mg}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{14,648 + 14,555 + 14,555}{3} = 14,586 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{14,586}{14} \times 100\% = 104,18 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(14,648 - 14,586)^2 + (14,555 - 14,586)^2 + (14,555 - 14,586)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,053$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$\%RSD = \frac{0,053}{14,586} \times 100\% = 0,36 \%$$

c) Konsentrasi 22 ppm

- **Hari ke-1**

- AUC = 0,741

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,741 - 0,0084}{0,0324} = 22,611 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,738

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,738 - 0,0084}{0,0324} = 22,518 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,742

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,742 - 0,0084}{0,0324} = 22,642 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{22,611 + 22,518 + 22,642}{3} = 22,590 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{22,590}{22} \times 100\% = 102,68 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(22,611 - 22,590)^2 + (22,518 - 22,590)^2 + (22,642 - 22,590)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,064$$

$$\%RSD = \frac{0,064}{22,590} \times 100\% = 0,28 \%$$

- **Hari ke-2**

- AUC = 0,747

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,747 - 0,0084}{0,0324} = 22,796 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

- AUC = 0,747

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,747 - 0,0084}{0,0324} = 22,796 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,754

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,754 - 0,0084}{0,0324} = 23,012 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{22,796 + 22,796 + 23,012}{3} = 22,850 \mu\text{g/ml}$$

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{22,850}{22} \times 100\% = 103,86 \%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(22,796 - 22,850)^2 + (22,796 - 22,850)^2 + (23,012 - 22,850)^2}{3 - 1}}$$

$$\text{SD} = 0,140$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0,140}{22,850} \times 100\% = 0,61 \%$$

- **Hari ke-3**

- AUC = 0,758

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,758 - 0,0084}{0,0324} = 23,135 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,762

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,762 - 0,0084}{0,0324} = 23,259 \mu\text{g/ml}$$

- AUC = 0,765

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{0,765 - 0,0084}{0,0324} = 23,351 \mu\text{g/ml}$$

Konsentrasi rata-rata :

$$\frac{23,135 + 23,259 + 23,351}{3} = 23,248 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$\% \text{ Kadar rata - rata} = \frac{23,248}{22} \times 100\% = 105,67 \%$$

Standar Deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi - x)^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(23,135 - 23,248)^2 + (23,259 - 23,248)^2 + (23,351 - 23,248)^2}{3 - 1}}$$

$$SD = 0,108$$

$$\%RSD = \frac{0,108}{23,248} \times 100\% = 0,46 \%$$

5. Perhitungan Kadar Tablet Kandesartan Sileksetil (PT. Beta Pharmacon) Dengan Metode Luas Daerah Dibawah Kurva

a. Luas daerah di bawah kurva: 0,163

$$\frac{\text{AUC standar}}{\text{AUC sampel}} = \frac{\text{Konsentrasi standar}}{\text{Konsentrasi sampel}}$$

$$\frac{0,220}{0,163} = \frac{6 \mu\text{g/ml}}{x}$$

$$x = \frac{6 \times 0,163}{0,220}$$

$$x = 4,445 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,004445 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,004445 \text{ mg/ml} \times \frac{10}{0,75} \times 100 \text{ ml} = 5,927 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Kadar} = \frac{5,927 \text{ mg}}{8 \text{ mg}} \times 100\% = 74,08\%$$

b. Luas daerah di bawah kurva: 0,161

$$\frac{\text{AUC standar}}{\text{AUC sampel}} = \frac{\text{Konsentrasi standar}}{\text{Konsentrasi sampel}}$$

$$\frac{0,220}{0,161} = \frac{6 \mu\text{g/ml}}{x}$$

$$x = \frac{6 \times 0,161}{0,220}$$

$$x = 4,391 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 2. (Lanjutan)

$$= 0,004391 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,004391 \text{ mg/ml} \times \frac{10}{0,75} \times 100 \text{ ml} = 5,855 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Kadar} = \frac{5,855 \text{ mg}}{8 \text{ mg}} \times 100\% = 73,19\%$$

c. Luas daerah di bawah kurva: 0,167

$$\frac{\text{AUC standar}}{\text{AUC sampel}} = \frac{\text{Konsentrasi standar}}{\text{Konsentrasi sampel}}$$

$$\frac{0,220}{0,167} = \frac{6 \mu\text{g/ml}}{x}$$

$$x = \frac{6 \times 0,167}{0,220}$$

$$x = 4,554 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,004554 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Bobot (mg)} = 0,004554 \text{ mg/ml} \times \frac{10}{0,75} \times 100 \text{ ml} = 6,072 \text{ mg}$$

$$\% \text{ Kadar} = \frac{6,072 \text{ mg}}{8 \text{ mg}} \times 100\% = 75,90\%$$

Standar Deviasi :

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - x)^2}{n - 1}}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{(4,445 - 4,463)^2 + (4,391 - 4,463)^2 + (4,554 - 4,463)^2}{3 - 1}}$$

$$\text{SD} = 0,083$$

Lampiran 3. Skema dan Alat Bahan Penelitian



Gambar 18. Sampel tablet kandesartan sileksetil generik



Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar 19. Timbangan analitik



Gambar 20. Sonikator

Lampiran 3. (Lanjutan)

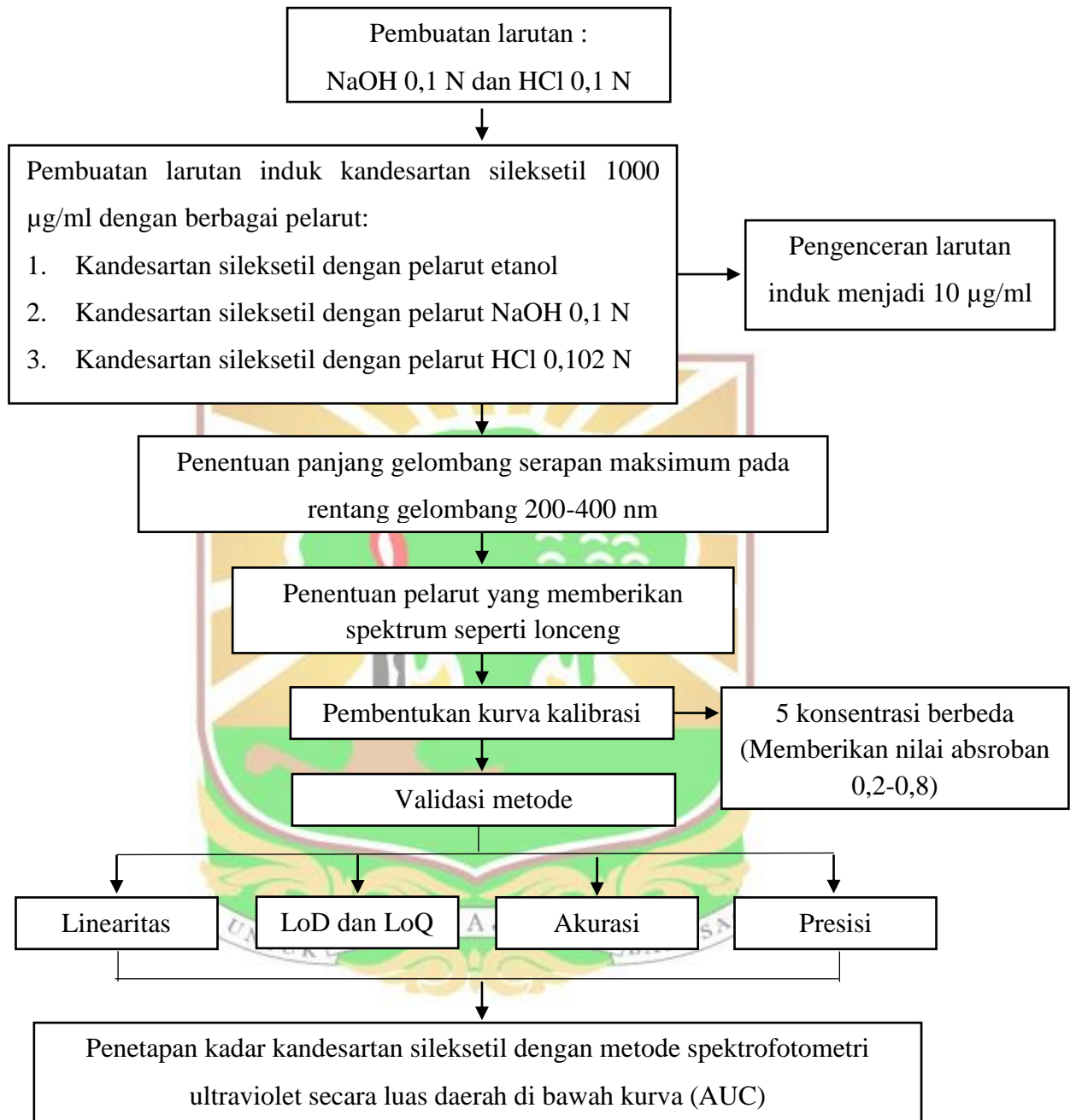


Gambar 21. Spektrofotometer UV-Vis



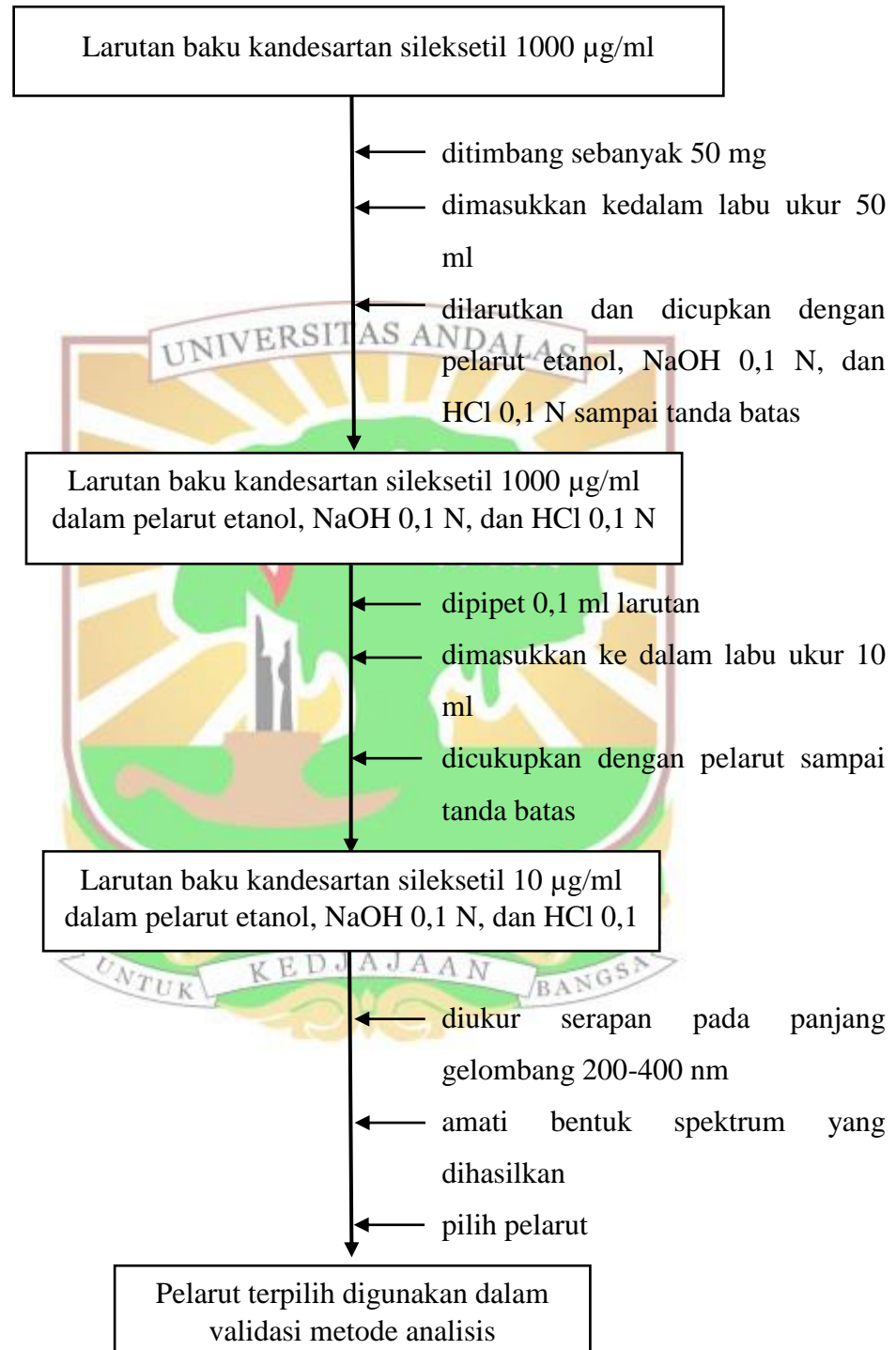
Lampiran 3 (Lanjutan)

Gambar 22. Bagan alir prosedur penelitian secara keseluruhan



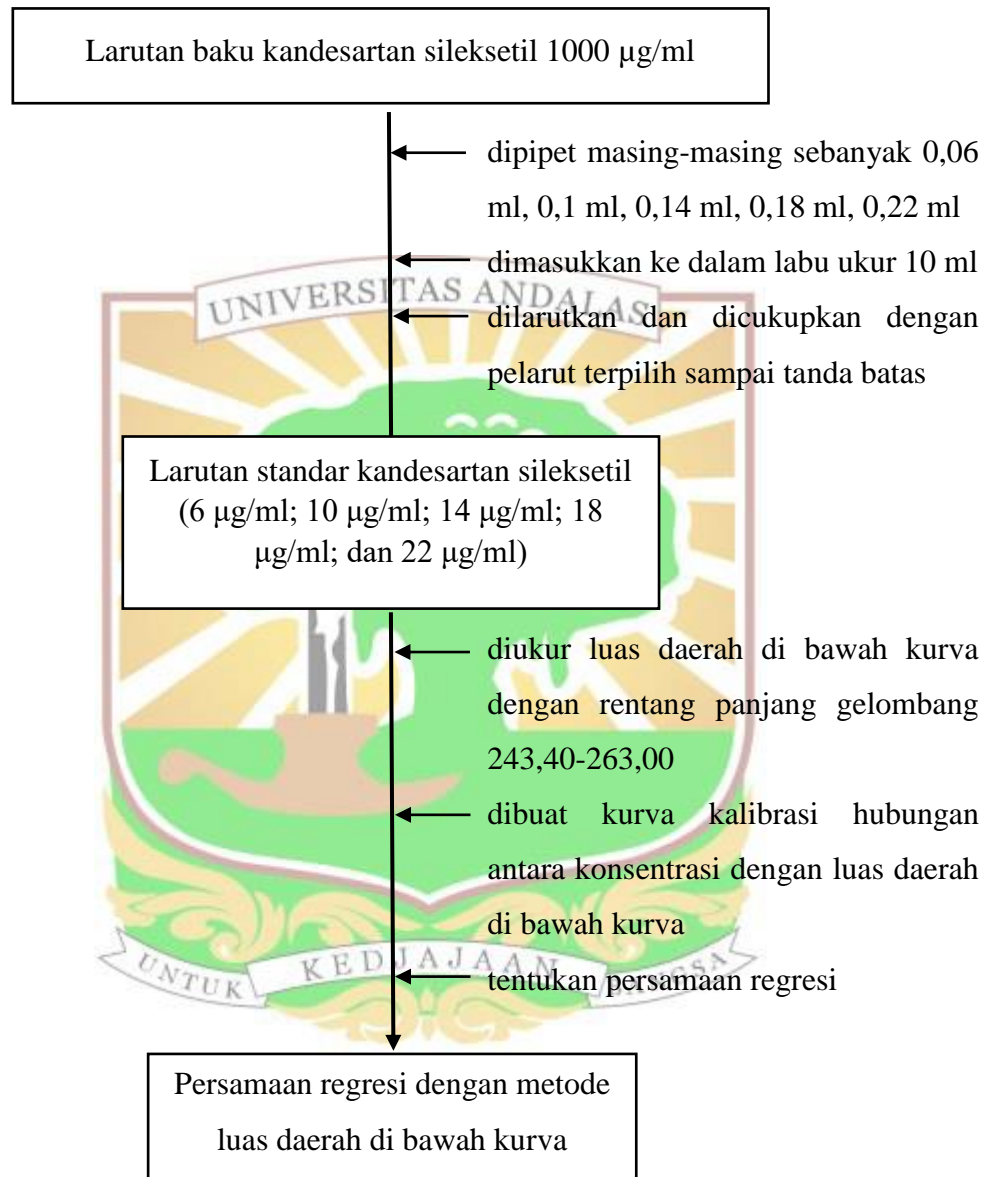
Lampiran 3. (Lanjutan)

Gambar 23. Bagan alir pembuatan larutan baku kandesartan sileksetil dan penentuan panjang gelombang maksimum



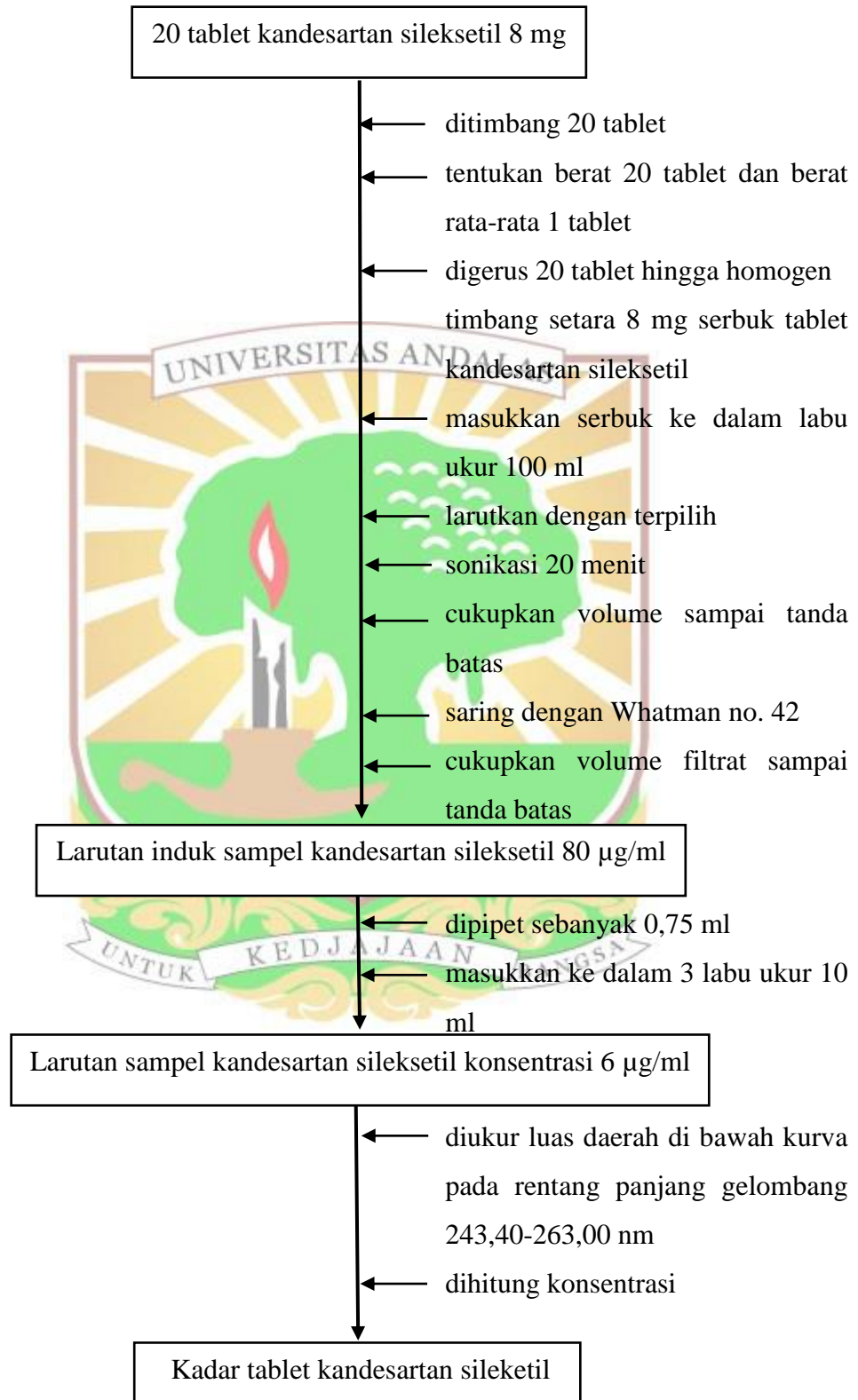
Lampiran 3. (Lanjutan)

Gambar 24. Bagan alir pembuatan dan pengukuran kurva kalibrasi larutan standar kandesartan sileksetil dalam pelarut terpilih dengan metode luas daerah di bawah kurva



Lampiran 3. (Lanjutan)

Gambar 25. Bagan alir penentuan kadar kandesartan sileksetil dalam sediaan tablet



PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE ANALISIS TABLET KANDESARTAN SILEKSETIL DENGAN METODE SPEKTRIFOTOMETRI ULTRAVIOLET SECARA LUAS DAERAH DIBAWAH KURVA

ORIGINALITY REPORT

4%

SIMILARITY INDEX

4%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

docplayer.info
Internet Source

4%

Exclude quotes Off

Exclude bibliography On

Exclude matches < 3%