

**VALIDASI METODE DAN ANALISIS KUANTITATIF
NATRIUM DIKLOFENAK TABLET GENERIK DALAM
PLASMA TIKUS WISTAR JANTAN SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**



Skripsi

Diajukan Oleh

**VEBRI FUAD LATIFIGANA
0908010111**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
PURWOKERTO
2014**

**VALIDASI METODE DAN ANALISIS KUANTITATIF
NATRIUM DIKLOFENAK TABLET GENERIK DALAM
PLASMA TIKUS WISTAR JANTAN SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi

**VEBRI FUAD LATIFIGANA
0908010111**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
PURWOKERTO
2014**

HALAMAN PERSETUJUAN

**VALIDASI METODE DAN ANALISIS KUANTITATIF
NATRIUM DIKLOFENAK TABLET GENERIK DALAM
PLASMA TIKUS WISTAR JANTAN SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**

**VEBRI FUAD LATIFIGANA
0908010111**

Diperiksa dan disetujui oleh :

Mengetahui,

Pembimbing I



**Susanti, M.Phil,Apt
NIK. 2160386**

Pembimbing II



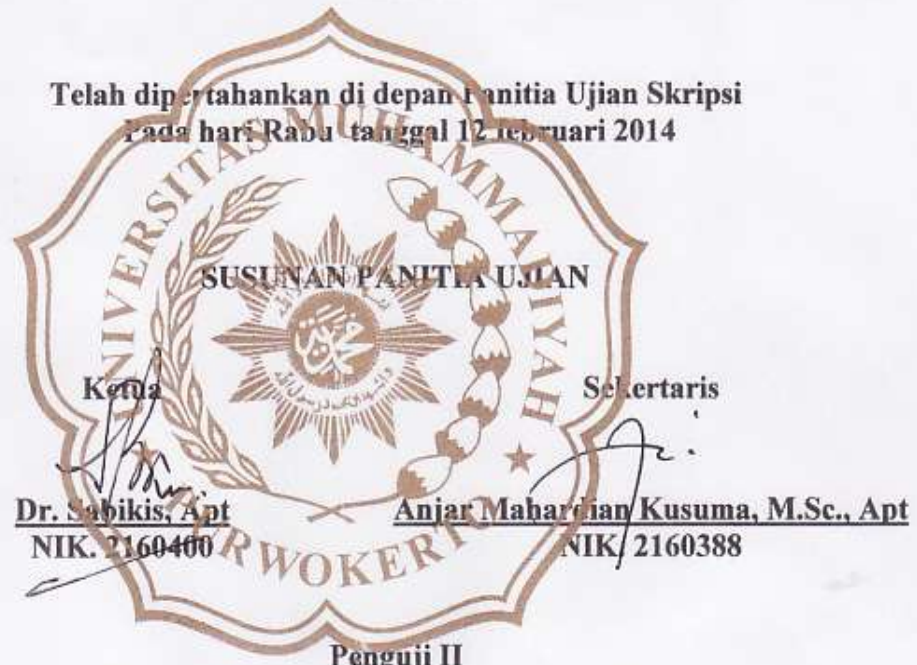
**Dr.Asmiyenti D.D, S.Si, M.Si
NIP. 197405222000122001**

HALAMAN PENGESAHAN

**VALIDASI METODE DAN ANALISIS KUANTITATIF
NATRIUM DIKLOFENAK TABLET GENERIK DALAM
PLASMA TIKUS WISTAR JANTAN SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**

**VEBRI FUAD LATIFIGANA
0908010111**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
pada hari Rabu tanggal 12 Februari 2014



Penguji II

[Signature]
Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si
NIP. 197405222000122001

**Mengetahui,
Dekan fakultas farmasi
Universitas Muhammadiyah Purwokerto**



HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Vebri Fuad Latifigana

NIM : 0908010111

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Farmasi

Universitas : Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya yang telah dilakukan sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan dan arahan dari dosen pembimbing dan bukan hasil karya jiplakan orang lain. Sumber informasi dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain. Sumber dicantumkan pada teks daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini, apabila terbukti ada unsur penjiplakan maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan.

Purwokerto, 25 Januari 2014

Yang menyatakan

Vebri Fuad Latifigana

INTISARI

VEBRI FUAD LATIFIGANA. Validasi Metode dan Analisis Kuantitatif Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma Tikus Wistar Jantan Secara *In Vitro* dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Dibawah bimbingan SUSANTI dan ASMIYENTI DJALIASRIN DJALIL

Latar Belakang: Natrium diklofenak merupakan obat golongan AINS yang mengalami peristiwa metabolisme lintas pertama sehingga menyebabkan variasi kadar obat dalam darah yang tinggi. Analisa kadar obat dalam plasma merupakan suatu metode yang sesuai untuk pemantauan dan kesesuaian dosis pada masing-masing individu sehingga pengobatan dapat optimal. Analisa obat dalam cairan biologis membutuhkan suatu metode yang selektif dan sensitif seperti metode KCKT.

Tujuan Penelitian: Untuk menetapkan kadar natrium diklofenak tablet generik dalam plasma tikus wistar jantas secara *in vitro* dengan metode KCKT dan mengetahui validasiya.

Metode Penelitian: Validasi metode analisis meliputi linearitas, batas deteksi, batas kuantitasi, keseksamaan, kecermatan, serta dilakukan analisis kuantitatif natrium diklofenak tablet generik dalam plasma tikus wistar jantan secara *in vitro*. Pada penelitian ini meggunakan sistem KCKT fase terbalik dengan fase gerak metanol: dapar asetat pH 4,2 (70:30), *coloum liquid chromatography-octadecyl cylane*, detektor UV-Vis pada panjang gelombang 273 nm dan metode ekstrasi plasma menggunakan metode pengendap protein dengan pelarut metanol. Bahan penelitian natrium diklofenak baku (PT.Pharos), natrium diklofenak tablet generik (Kimia Farma), plasma tikus wistar jantan, metanol *grade* HPLC, natrium asetat, HCl_(p).

Hasil: Hasil uji linearitas menunjukkan nilai koefisien korelasi = 0,998 ($r_{tabel} < r_{hitung}$ $0,707 < 0,998$), batas deteksi = 0,2 µg/mL, batas kuantitasi = 0,6 µg/mL, keseksamaan dengan larutan standar natrium diklofenak konsentrasi 4 µg/mL koefisien variasi = 0,57 % ($\leq 2\%$), hasil uji kecermatan untuk penambahan natrium diklofenak 7 µg/mL ke dalam plasma *recovery* sebesar 105,4762 %, dan hasil penetapan kadar natrium diklofenak tablet generik dalam plasma secara *in vitro* berada pada rentang 46,9387–50,9273 mg/tablet (93,8774-101,8564 %).

Kesimpulan: Metode kromatografi cair kinerja tinggi adalah valid untuk menganalisa kadar natrium diklofenak tablet generik dalam plasma tikus wistar secara *in vitro*.

Kata kunci: natrium diklofenak generik , validasi metode, kromatografi cair kinerja tinggi, plasma, *in vitro*.

ABSTRACT

VEBRI FUAD LATIFIGANA. The validation Method and Analysis of Quantitative Sodium diclofenac of Generic Tablet In Mouse Plasma Male Wistar By *In Vitro* By Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Under guidance of SUSANTI and ASMIYENTI DJALIASRIN DJALIL

The Background: Sodium diclofenac is part of non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) that is having metabolism first stage so it caused variation the degree of drug in blood is high. The analysis degree of drug in plasma is a suitable method to monitor and the suitability of dosage for each individu so the healing will be optimal. The analysis of drug in biological liquid need a selective method and sensitive like a HPLC Method.

The Aim of Research: To decide the degree of sodium diclofenac of generic tablet in rat plasma male wistar by *in vitro* by using HPLC method and to know the validity.

The Method of Research: The validity of analysis method was linearity, limit of detection, limit of quantity, precision, accuracy, and analyzing the sodium diclofenac of generic tablet in rat plasma male wistar by *in vitro*. This research used HPLC with reverse phase and mobile phase is a methanol: acetate pH 4.2 (70:30), coloum liquid chromatography-octadecylcyclane, detector UV-Vis with 273 nm and the extraction of plasma method by using protein precipitation with methanol solvent. The materials reserch used standart sodium diclofenac (PT. Pharos), generic tablet sodium diclofenac (Kimia Farma), rat plasma male wistar, methanol grade HPLC, sodium acetate, HCl_(p).

The Result: The result of linierity test showed that the score of coefficient correlation = 0.998 (t table < r count 0.707 < 0.998), limit of detection = 0.2 µ g/mL, limit of quantity = 0.6 µ g/mL the precision with sodium diclofenac standar with concentrate 4 µ g/mL coefficient correlation = 0.57 % (≤ 2%), the result of accuracy for adding sodium diclofenac 7 µ g/mL to recovery plasma 105.4762 %, and the result of decision sodium diclofenac generic tablet degree in plasma by *in vitro* in range of 46.9387-50.9273 mg/tablet (93.8774-101.8564 %).

Conclusion: The method of high performance liquid chromatography was valid to analyze sodium diclofenac degree of generic tablet in rat plasma wistar by *in vitro*.

Key words: sodium diclofenac generic, validation method, high performance liquid chromatography, plasma, *in vitro*.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sebuah karya kecil ini kupersembahkan untuk:

1. Islam sebagai agamaku
2. Allah SWT yang telah memberiku rahmat dan anugrah serta ridhoNYA
3. Ayah dan Ibu tercinta yang sangat aku sayangi. Seibu kata terimakasih takan cukup untuk segala yang telah engkau berikan, materi, dukungan, kasih sayang serta doa restu kalian. Hanya doa yang tulus dari hati yang selalu aku panjatkan untuk kalian.
4. Kakaku beribu-ribu ucapan terima kasih atas bantuan, doa, dan semangat yang engkau berikan tiada henti.
5. Buat teman-teman farmasi angkatan 2009 terimakasih atas kenangannya.



MOTTO

Hari kemarin adalah kenangan, hari ini adalah perjuangan dan hari esok adalah kejutan, jadi manfaatkanlah waktu sebaik dan sesempurna mungkin

Kegagalan adalah pembelajaran yang sangat berharga untuk bangkit dan meraih kesuksesan



PRAKATA

Assalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuuh

Bismillahirrohmanirrohim,

Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat, petunjuk dan kemudahan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi yang berjudul “**validasi Metode Dan Analisis Kuantitatif Natrium Diklofenak Tablet Generik Dalam Plasma Tikus Wistar Jantan Secara *In Vitro* Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan semua pihak. Maka dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Syamsuhadi Irsyad, S.H.,M.H. selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
2. Dr. Nunuk aries Nurulita, M.Si, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
3. Susanti, M.Phil, Apt (pembimbing I) dan Asmiyenti D.D, S.Si, M.Si (pembimbing II) yang telah senantiasa memberikan waktu, didikan, arahan, saran dan masukan serta ilmu pengetahuannya dengan penuh kesabaran dan perhatian, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.
4. Seluruh Dosen dan Staf Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
5. Rochmadi Budi Setiyanto dan Dra. Titi Sumarti yang telah membantu dan mendukung penulis sehingga penelitian ini berjalan lancar.
6. Kedua orangtuaku, kakaku dan seluruh keluarga atas segala bantuan dan semangat yang tak pernah usang untuk membuatku berjuang meraih semua citaku.
7. Teman-teman farmasi '09, serta sahabat-sahabat KKN atas semangat dan senyum selama menempuh pendidikan di Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

8. PT. Pharos yang telah membantu dalam pengadaan baku standar natrium diklofenak.
9. Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Penulis mengharap kritik dan saran yang membangun guna perbaikan dan penyempurnaan tulisan berikutnya. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak.

Wassalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh

Purwokerto, Januari 2014

Vebri Fuad Latifigana



DAFTAR ISI

Halaman

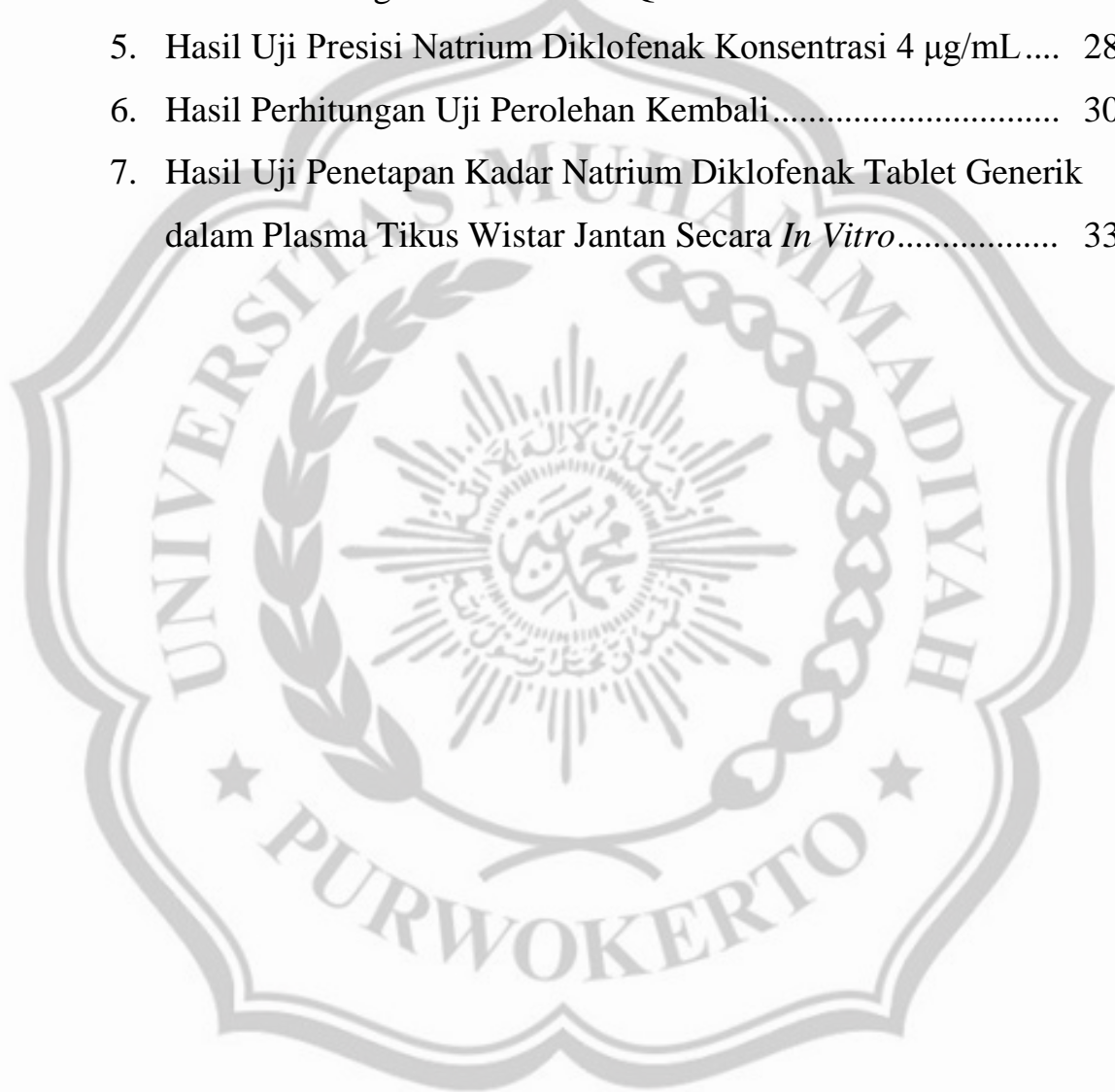
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
INTISARI	v
ABSTRACT	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Natrium Diklofenak	5
B. Bioanalisis	7
C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	8
D. Validasi Metode Analisis	12
E. Penelitian Terdahulu Analisis Natrium Diklofenak dengan Metode KCKT	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	16
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	16
B. Variabel penelitian	16
1. Variabel Bebas	16
2. Variabel Tergantung	16
3. Variabel Terkendali	16
C. Waktu dan Tempat Penelitian	16
D. Alat dan Bahan	16
1. Alat	16
2. Bahan	17
E. Cara Kerja	17
1. Pembuatan Dapar Asetat pH 4,2	17
2. Pembuatan Fase Gerak	17
3. Kondisi KCKT	18
4. Prosedur Pengambilan Plasma Tikus Wistar Jantan	18
5. Pembuatan Larutan Stok dan Seri Konsentrasi	18
6. Validasi Metode KCKT	19

a.	Uji Linearitas	19
b.	Uji Presisi	19
c.	Uji Perolehan Kembali	19
7.	Analisis Kuantitatif Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma Tikus Wistar Jantan Secara <i>In Vitro</i>	20
a.	Uji keseragaman bobot tablet	20
b.	Penetapan Kadar Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma Tikus Wistar Jantan secara <i>in vitro</i> ..	20
c.	Analisa Hasil	21
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A.	Pembuatan Fase Gerak	22
B.	Kondisi KCKT	22
C.	Prosedur Pengambilan Plasma Darah	23
D.	Pembuatan Larutan Stok dan Seri Konsentrasi	24
E.	Validasi Metode Penetapan Kadar Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma	25
1.	Uji Linearitas	25
2.	Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	27
3.	Uji Presisi	28
4.	Uji Perolehan Kembali	29
F.	Analisis Kuantitatif Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma Tikus Wistar Jantan Secara <i>In Vitro</i>	31
1.	Uji Keseragaman Bobot Tablet Natrium Diklofenak Generik	31
2.	Penetapan Kadar Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma Tikus Wistar Jantan secara <i>in vitro</i> ..	32
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	34
A.	Kesimpulan	34
B.	Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul Tabel	Halaman
--------------	--------------------	----------------

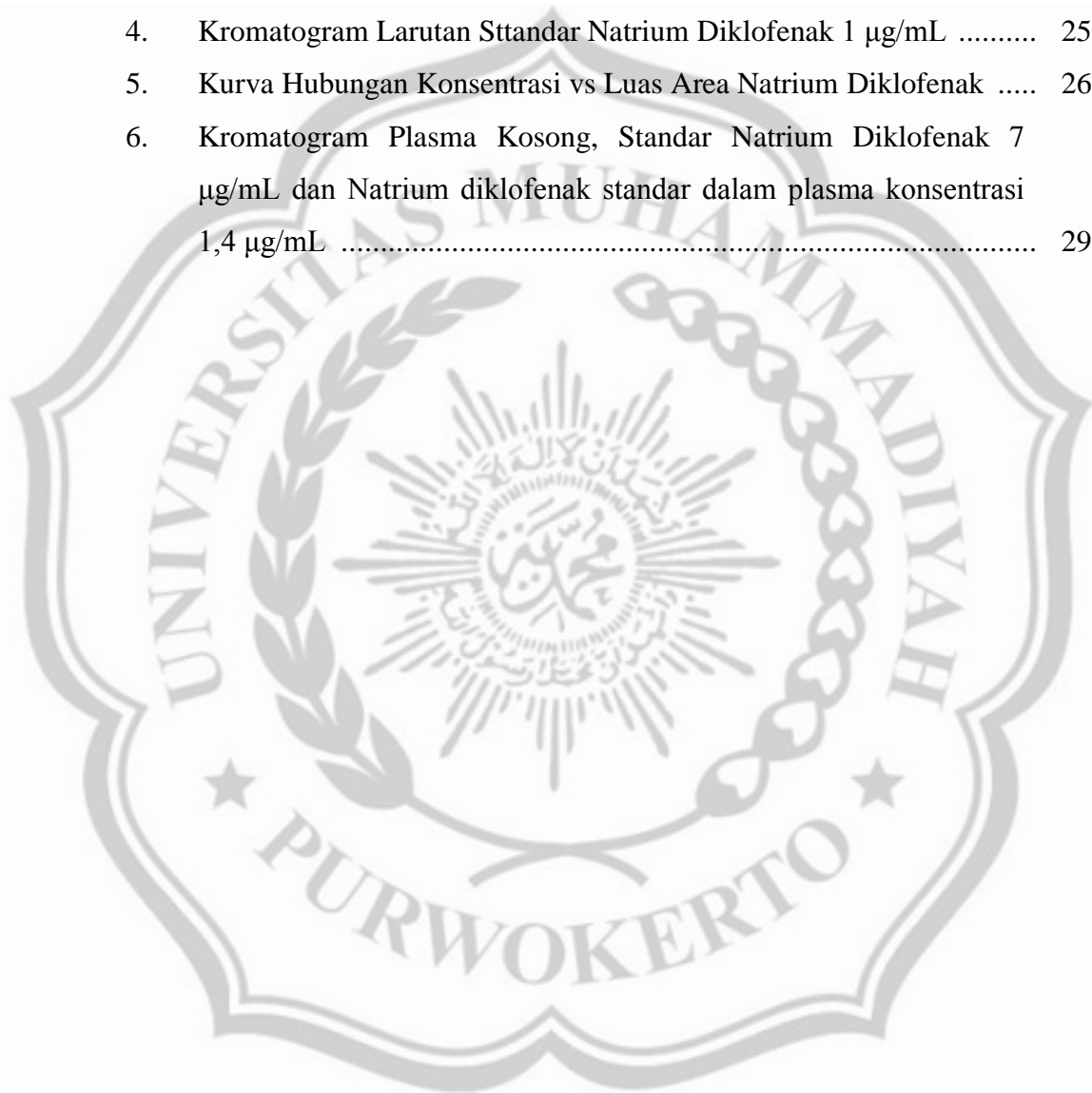
1. Kondisi Sistem KCKT	18
2. Syarat Penyimpangan Bobot Tablet	20
3. Hasil Pengukuran Larutan Standar Natrium Diklofenak	26
4. Hasil Perhitungan LOD dan LOQ	27
5. Hasil Uji Presisi Natrium Diklofenak Konsentrasi 4 µg/mL....	28
6. Hasil Perhitungan Uji Perolehan Kembali.....	30
7. Hasil Uji Penetapan Kadar Natrium Diklofenak Tablet Generik dalam Plasma Tikus Wistar Jantan Secara <i>In Vitro</i>	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul Gambar	Halaman
--------	--------------	---------

1.	Rumus Struktur Natrium Diklofenak	5
2.	Metabolisme Natrium Diklofenak	6
3.	Komponen kromatografi Cair Kinerja Tinggi	10
4.	Kromatogram Larutan Sttandar Natrium Diklofenak 1 µg/mL	25
5.	Kurva Hubungan Konsentrasi vs Luas Area Natrium Diklofenak	26
6.	Kromatogram Plasma Kosong, Standar Natrium Diklofenak 7 µg/mL dan Natrium diklofenak standar dalam plasma konsentrasi 1,4 µg/mL	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Kromatogram uji kurva baku standar natrium diklofenak	39
-------------	---	----

Lampiran 2. Tabel koefisien sederhana, r tabel pada taraf nyata 5% dan 1% ...	43
Lampiran 3. Perhitungan	44
Lampiran 4. Kromatogram uji presisi standar natrium diklofenak 4 µg/mL	45
Lampiran 5. Perhitungan hasil uji presisi standar natrium diklofenak	48
Lampiran 6. Kromatogram plasma blanko	49
Lampiran 7. Kromatogram uji recovery standar natrium diklofenak	50
Lampiran 8. Perhitungan data perolehan kembali	52
Lampiran 9. Penimbangan bobot tablet natrium diklofenak generik dan % penyimpangannya	54
Lampiran 10. Perhitungan penetapan kadar natrium diklofenak tablet generik dalam plasma tikus wistar jantan secara <i>in vitro</i>	55
Lampiran 11. Perhitungan SD uji penetapan kadar natrium diklofenak tablet generik dalam plasma tikus wistar jantan secara <i>in vitro</i> dengan taraf kepercayaan 95%	59
Lampiran 12. Kromatogram penetapan kadar natrium diklofenak tablet generik dalam plasma tikus wistar jantan secara <i>in vitro</i>	61