

**VALIDASI METODE ANALISIS ATENOLOL DALAM URIN MANUSIA
SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-
DENSITOMETRI**



SKRIPSI

**QURROTUL AEN
1308010089**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
2017**

**VALIDASI METODE ANALISIS ATENOLOL DALAM URIN MANUSIA
SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-
DENSITOMETRI**



SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**QURROTUL AEN
1308010089**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

**VALIDASI METODE ANALISIS ATENOLOL DALAM URIN MANUSIA
SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-
DENSITOMETRI**

**QURROTUL AEN
1308010089**

Diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing I



**Pri Iswati Utami, S.Si., M.Si., Apt
NIK. 2160218**

HALAMAN PENGESAHAN

VALIDASI METODE ANALISIS ATENOLOL DALAM URIN MANUSIA
SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-
DENSITOMETRI

QURROTUL AEN
1308010089

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Pada hari Senin tanggal 31 Juli 2017

SUSUNAN PANITIA

<p>Ketua</p>  <p><u>Dr. Asmiventi Ujalasrin Djalil, M. Si.</u> NIP. 197405222000122001</p>	 <p>Penguji I</p>  <p><u>Dr. Pri Iswati Utami, M. Si., Apt</u> NIK. 2160218</p>	<p>Sekretaris</p>  <p><u>Dwi Hartanti, M. Farm, Apt.</u> NIK.2160399</p>
---	---	---

Mengetahui
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Purwokerto

 	<p><u>Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt.</u> NIK.2160309</p>
--	--

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : Qurrotul Aen
NIM : 1308010089
Program Studi : Farmasi S1
Fakultas : Farmasi
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar serta bukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila kelak kemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai ketentuan berlaku.

Purwokerto, 26 Agustus 2017

Yang Menyatakan



Qurrotul Aen
1308010089

Validasi Metode Analisis Atenolol dalam Urin Manusia Secara *In Vitro* Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri

Qurrotul Aen¹, Pri Iswati Utami²

ABSTRAK

Atenolol merupakan obat golongan *beta-blocker* yang digunakan untuk pengobatan penyakit kardiovaskular. Obat kardiovaskular memiliki resiko tinggi, sebab obat-obatan kardiovaskular sering mengalami reaksi obat yang tidak diinginkan (ROTD) sehingga perlu dilakukan pemantauan terapi obat (PTO). Tujuan penelitian ini adalah melakukan validasi metode kromatografi lapis tipis (KLT)-densitometri untuk analisis atenolol dalam sampel urin. Pemisahan dilakukan menggunakan fase diam berupa plat KLT *silica gel* 60 F₂₅₄ (20 cm x 20 cm), fase gerak campuran metanol, kloroform dan amoniak (6 : 4 : 0,2 v/v), deteksi dilakukan dengan densitometer pada panjang gelombang 275 nm. Metode divalidasi berdasarkan parameter-parameter spesifisitas, *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantification* (LOQ), linearitas, akurasi, dan presisi. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh bahwa nilai LOD sebesar 1,34 µg, LOQ 4,08 µg, rentang linearitas pada 6 - 36 µg, diperoleh nilai koefisien korelasi (r) = 0,9990 dan nilai rata-rata % *recovery* 93,86% serta *relative standard deviation* (RSD) untuk presisi sebesar 4,22%. Berdasarkan hasil penelitian, KLT-densitometri dapat digunakan untuk menganalisis atenolol dalam urin manusia secara *in vitro*.

Kata kunci: Validasi metode analisis, atenolol, urin manusia, *in vitro*, KLT-densitometri

Validation of Analytical Method for In Vitro Analysis Atenolol in Human Urine by Thin Layer Chromatography-Densitometry

Qurrotul Aen¹, Pri Iswati Utami²

ABSTRACT

Atenolol is a beta-blocker drug for the treatment of cardiovascular disease. Cardiovascular drugs are at high risk, because cardiovascular drugs often experience adverse drug reactions that require monitoring of drug therapy. The purpose of this study was to prove that the thin layer chromatography (TLC)-densitometry method meet validation parameters including specificity, LOd and LOQ, linearity, accuracy, and precision, so that it can be used for urine atenolol analysis. Separation was done by TLC using silica gel 60 F₂₅₄ (20 cm x 20 cm) as the stationary phase while the mobile phase consist of chloroform-methanol-ammonia (4 : 6 : 0,2 v/v) and UV detection at 275 nm. The result showed that value of LOD that is 1.34 µg and LOQ 4.08 µg, linearity from 6 - 36 µg, correlation coefficient (r) = 0.9990. The means % recovery was 93.86% and relative standard deviation (RSD) of precision was 4.22%. The result showed that TLC-densitometry method could be used for the analysis of atenolol in human urine in vitro.

Keywords: Validation, in vitro, atenolol, human urine, TLC- densitometry

MOTTO

“Kesuksesan hanya dapat diraih dengan segala upaya dan usaha yang disertai dengan doa, karena sesungguhnya nasib seseorang manusia tidak akan berubah dengan sendirinya tanpa berusaha”

“Do the best, be good, then you will be the best”

Lakukan yang terbaik, bersikaplah yang baik maka kau akan menjadi orang yang terbaik.

(penulis)



PERSEMBAHAN

Segala puji bagi *Allah SWT* Tuhan semesta alam yang telah memberikan hamba kekuatan, kesabaran dan membekali hamba dengan ilmu. Atas ridho *Allah SWT* sehingga akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Tidak lupa sholawat dan salam terlimpahkan pada Rasulullah Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya yang sederhana ini kepada orang yang sangat berarti dalam hidupku.

Bapa dan Mama tercinta, sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih, serta kebaikan yang tidak dapat dibalas dengan apapun. Terima kasih atas ketulusan, kasih sayang, dukungan, doa dan bantuannya Bapa Khosiqin dan Mama Khanifiyatus Samkhati.

Mba-mba ku tersayang Mba Ari dan Mba Mais, yang selalu memberikan semangat, doa serta dukungan.

Pembimbing skripsiku ibu peri yang cantik dan baik hati Ibu Pri Iswati Utami, terima kasih telah berkenan memberikan kepercayaan, bimbingan, pengarahan, serta motivasi sehingga tersusun tugas akhir ini.

Para laboran terbaik yang telah membantu dan membimbing selama teknis pelaksanaan penelitian, Pak Mamat-Bu Titi-Bu Woro terima kasih atas saran, tips dan trik serta kemurahan hati yang sangat bermanfaat untuk menambah pengalaman hidup.

Para sahabatku, ter-rempong, ter-sibuk mondar mandir, yang selalu menjadi tempat keluh kesah, tempat cerita rahasia, dari rahasia pribadi sampai rahasia umum, Denilla Estika-Lutfi Alfiyah-Etik Fadilah-Ma'rifatun Mukharomah-Diyah Sobar Astuti, terima kasih atas bantuan, dukungan doa dan semangatnya, juga rekan seperjuangan di laboratorium Deka Maulyani-Sri Endah Eka-Dewi Puspa-Dewi Mel-Tri Suliatin-Lulu Habibah-Dewi Susanti-Aulya Zahra Supriatna-Nisa "Adiyarsa"-Van Fatkhan Sofyan-Mar'atun Yubni Aqidatul Islamiyah-M. Solehudin-Febri serta teman-teman farmasi angkatan 2013 atas kebersamaan, kerjasama dan semangat selama menempuh pendidikan di Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Semoga *Allah SWT* membalas kebaikan dan ketulusan kalian semua di kemudian hari dan selalu dimudahkan dalam segala hal, *Aamiin ya robbal'alaamiin*.

KATA PENGANTAR

Assalaamu'alaikum Warohmatullah Wabarokatuh

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan berkah dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Validasi metode analisis atenolol dalam urin manusia secara *in vitro* menggunakan kromatografi lapis tipis-densitometri”. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada masa penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Bapak Dr. H. Syamsuhadi Irsyad, S.H., M.H. selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
2. Bapak Dr. Agus Siswano, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto atas jasanya telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi.
3. Ibu Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Bapak dan Mama serta saudari-saudari tercinta yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral.
5. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Putwokerto.
6. Semua pihak yang telah membantu selama penulis melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini hingga selesai yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Purwokerto, 26 Agustus 2017

Penulis

Qurrotul Aen

1308010089

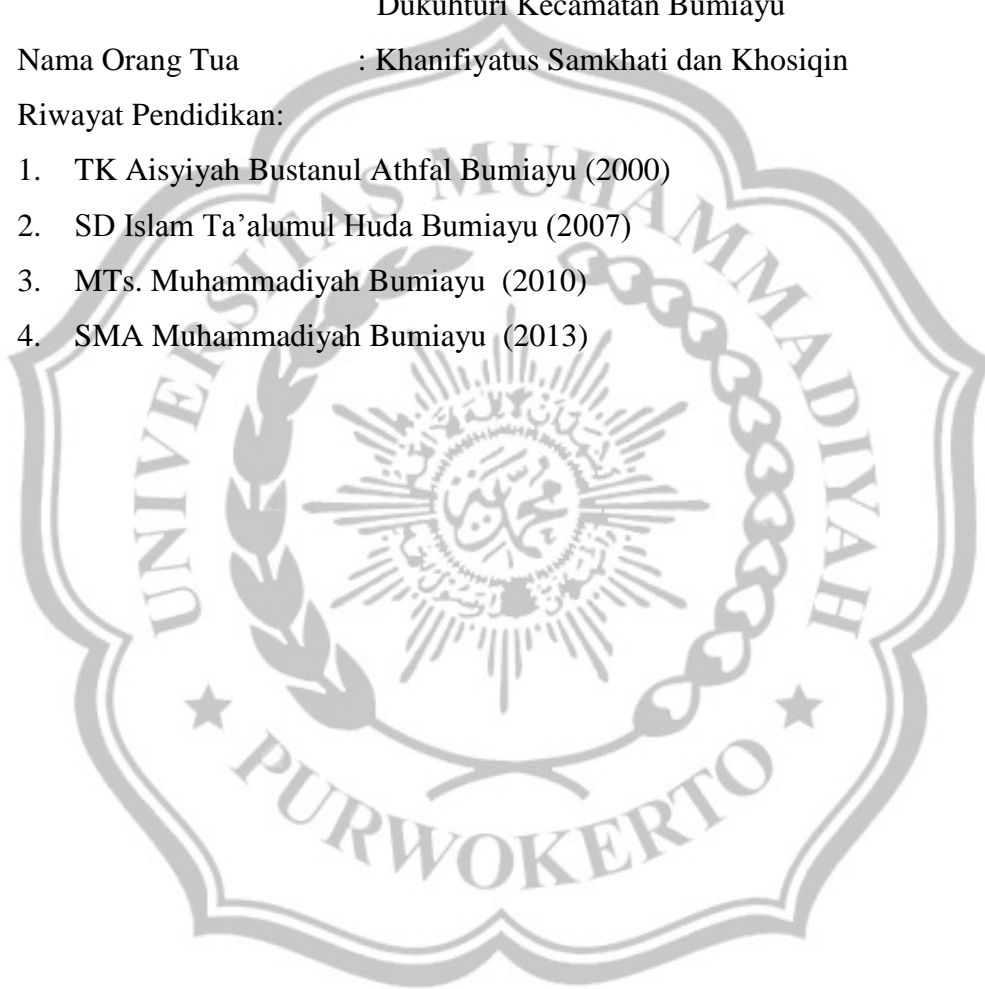


RIWAYAT HIDUP

Nama lengkap : Qurrotul Aen
Tempat, Tanggal Lahir : Brebes, 12 April 1996
Jenis Kelamin : Perempuan
Agama : Islam
Alamat : DK. Karangtuang No.14 RT/RW 9/4 Kelurahan
Dukuhturi Kecamatan Bumiayu
Nama Orang Tua : Khanifiyatus Samkhati dan Khosiqin

Riwayat Pendidikan:

1. TK Aisyiyah Bustanul Athfal Bumiayu (2000)
2. SD Islam Ta'ulumul Huda Bumiayu (2007)
3. MTs. Muhammadiyah Bumiayu (2010)
4. SMA Muhammadiyah Bumiayu (2013)



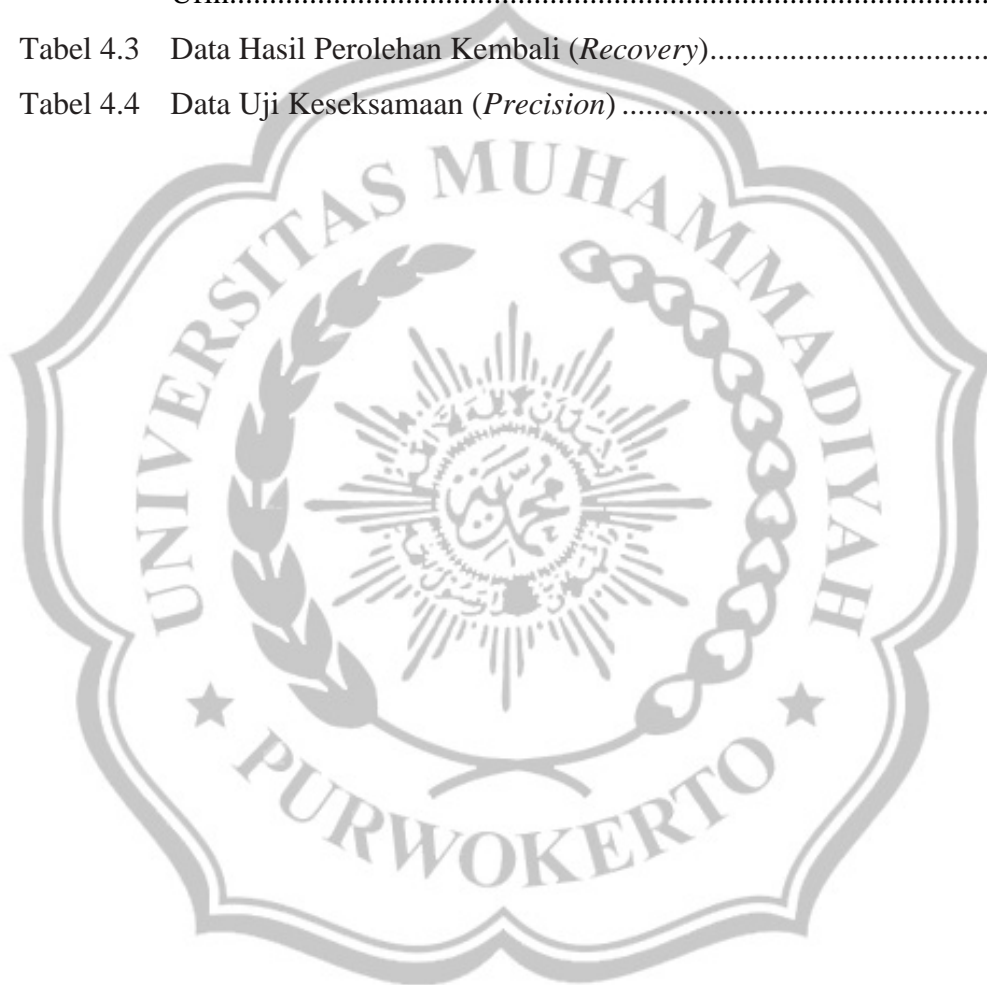
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
MOTTO	vii
PERSEMBAHAN.....	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
1. Bagi Peneliti	3
2. Bagi Akademik.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Hasil Penelitian Terdahulu	4
B. Landasan Teori	5
1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	5
2. Atenolol	12
3. Validasi Metode Analisis	13
BAB III METODE PENELITIAN	19
A. Jenis dan Rancangan Penelitian.....	19
B. Definisi Variabel Operasional	19
C. Waktu dan Tempat Penelitian	19

D. Alat dan Bahan	19
E. Cara penelitian.....	20
F. Analisis Hasil.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. Penentuan λ Maksimal	30
B. Hasil Optimasi Fase Gerak	30
C. Hasil Validasi Atenolol	32
1. Spesifisitas.....	32
2. Hasil Uji Batas Deteksi (<i>Limit of Detection/LOD</i>) dan Batas Kuantifikasi (<i>Limit of Quantification/LOQ</i>)	33
3. Hasil Uji Linearitas	34
4. Hasil Uji Kecermatan (<i>Accuracy</i>)	35
5. Hasil Uji Keseksamaan (Presisi)	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	38
A. Kesimpulan.....	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	42

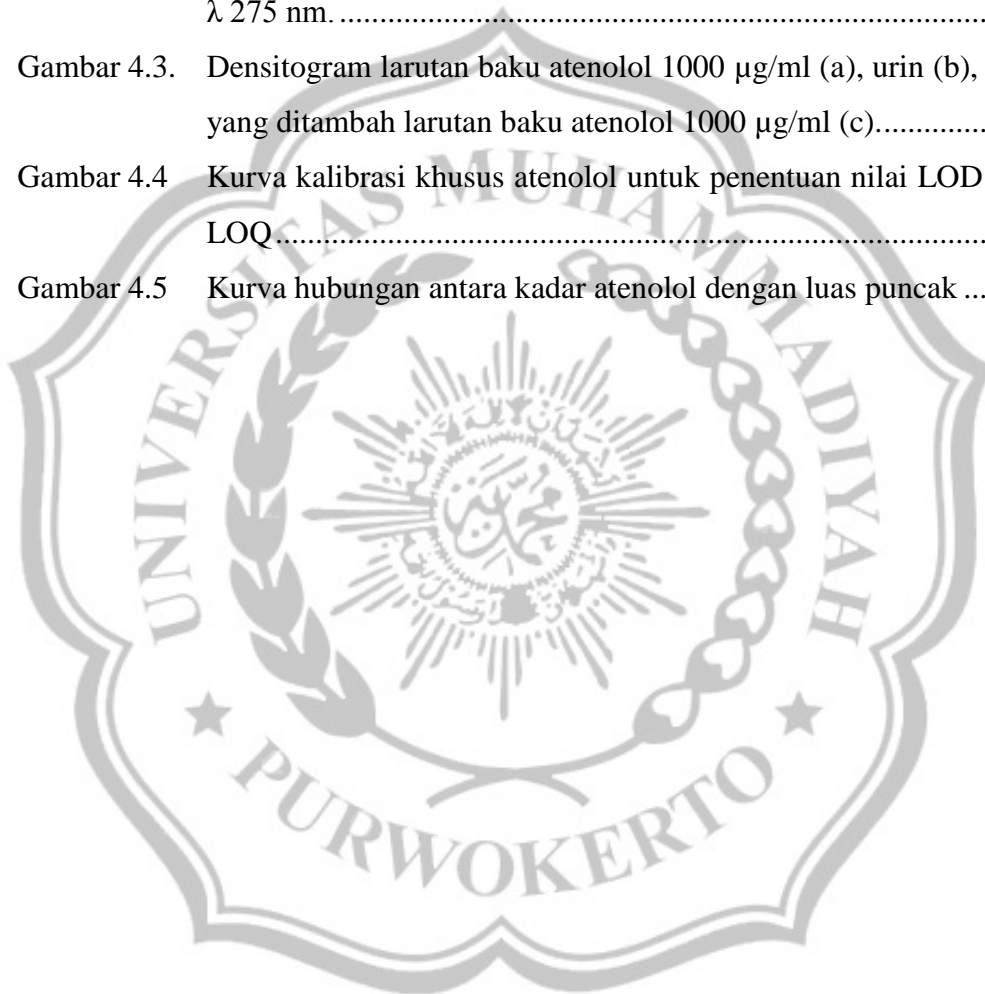
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Beberapa penjerap fase diam yang digunakan pada KLT.....	7
Tabel 2.2. Profil Farmakokinetika Atenolol.....	13
Tabel 3.1. Definisi Variabel Operasional.....	19
Tabel 4.1 Kurva Kalibrasi Khusus Atenolol untuk Penentuan LOD dan LOQ .	33
Tabel 4.2 Data Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi Atenolol dalam Matriks Urin.....	34
Tabel 4.3 Data Hasil Perolehan Kembali (<i>Recovery</i>).....	36
Tabel 4.4 Data Uji Keseksamaan (<i>Precision</i>)	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Atenolol (Martindale, 2009).....	12
Gambar 4.1.	Spektrum serapan larutan atenolol dengan λ maksimal 275nm	30
Gambar 4.2.	Densitogram beberapa percobaan untuk mendapatkan kondisi optimal; (a) komposisi fase gerak kloroform:metanol:ammonia (6:4:0,2 v/v) λ 254 nm; (b) 5:4:0,2 v/v λ 254 nm; (c) 4:6:0,2 v/v λ 275 nm.	31
Gambar 4.3.	Densitogram larutan baku atenolol 1000 $\mu\text{g/ml}$ (a), urin (b), urin yang ditambah larutan baku atenolol 1000 $\mu\text{g/ml}$ (c).....	33
Gambar 4.4	Kurva kalibrasi khusus atenolol untuk penentuan nilai LOD dan LOQ.....	34
Gambar 4.5	Kurva hubungan antara kadar atenolol dengan luas puncak	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Perhitungan LOD dan LOQ	43
Lampiran 2. Data Perhitungan Kurva Kalibrasi Atenolol.....	45
Lampiran 3. Tabel Koefisien Sederhana, r tabel pada taraf nyata 5% dan 1%	44
Lampiran 4. Data Perhitungan Uji Perolehan Kembali	47
Lampiran 5. Data Perhitungan Uji Presisi.....	49
Lampiran 6. Densitogram LOD dan LOQ	50
Lampiran 7. Densitogram Kurva Kalibrasi Atenolol.....	52
Lampiran 8. Densitogram Presisi 1200 µg/ml	55

