

# UJI VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET PADA PENETAPAN KADAR TABLET KAPTOPRIL GENERIK DAN NAMA DAGANG

## ULTRAVIOLET SPECTROPHOTOMETRY METHOD VALIDATION TEST ON DETERMINATION OF GENERIC CAPTOPRIL TABLETS AND TRADE NAMES

<sup>1\*</sup>Jon Kenedy Marpaung, <sup>2</sup>Fatur Rahman Harun, <sup>3</sup>Febriyanti Girsang

<sup>1</sup>Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sumatera Utara

<sup>3</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: jonkenedymp@gmail.com

**Abstrak.** Dalam pembuatan obat, pengecekan kadar zat aktif merupakan syarat yang harus dipenuhi untuk menjamin mutu sediaan obat. Sediaan obat yang berkualitas baik akan mendukung tercapainya efek terapeutik yang diinginkan. Salah satu syarat mutu obat adalah kandungan yang dikandungnya harus memenuhi syarat kadar sebagaimana tercantum dalam Farmakope Indonesia yaitu tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%. Penelitian ini bertujuan untuk menguji validasi metode spektrofotometri ultraviolet pada penentuan tablet kaptopril generik dan nama dagang. Sampel yang digunakan terdiri dari 3 sediaan tablet generik dan 2 nama dagang. Penentuan konsentrasi tablet kaptopril dalam sediaan tablet dilakukan dengan spektrofotometri ultraviolet menggunakan pelarut NaOH 0,1N pada panjang gelombang 236,2 nm dan uji validasi ini dilakukan dengan metode adisi standar. Parameter uji validasi metode meliputi akurasi (keakuratan), presisi (ketepatan), batas deteksi (Limit of Detection), dan batas kuantisasi (Limit of Quantitation). Metode ini memberikan determinasi dan akurasi yang baik, LOD (Limit Of Detection) 0,575486 mcg/ml & LOQ (Limit Of Quantitation) 1,9179 mcg/ml dinyatakan valid. Hasil uji validasi, diperoleh nilai recovery rata-rata 100,6% dengan nilai RSD 1,05%. Berdasarkan penelitian, kadar kaptopril tablet merek A adalah  $97,47 \pm 2,3670$ , tablet kaptopril merek B  $98,08 \pm 2,4911$ , tablet captopril merek C  $98,03 \pm 2,4223$ , tablet captopril merek D  $98,93 \pm 1,5138$ , captopril tablet merek E  $99,57 \pm 2,3985$ .

**Kata kunci:** Tablet Kaptopril, Validasi Spektrofotometri Ultraviolet.

**Abstract.** In the manufacture of drugs, checking the levels of active substances is a requirement that must be met to ensure the quality of drug preparations. Good quality drug preparations will support the achievement of the desired therapeutic effect. One of the requirements for drug quality is that the content contained must meet the level requirements as stated in the Indonesian Pharmacopoeia, which is not less than 90% and not more than 110%. This study aims to test the validation of the ultraviolet spectrophotometric method on the determination of generic captopril tablets and trade names. The sample used consisted of 3 generic tablet preparations and 2 trade names. Determination of the concentration of captopril tablets in tablet preparations was carried out by ultraviolet spectrophotometry using 0.1N NaOH solvent at a wavelength of 236.2 nm and this validation test was carried out using the standard addition method. Parameters of the method validation test include accuracy (accuracy), precision (accuracy), limit of detection (Limit of Detection), and limit of quantitation (Limit of Quantitation). This method provides good determination and accuracy, LOD (Limit Of Detection) 0.575486 mcg/ml & LOQ (Limit Of Quantitation) 1.9179 mcg/ml is declared valid. The results of the validation test, obtained an average recovery value of 100.6% with an RSD value of 1.05%. Based on the research, the levels of captopril brand A tablets were  $97.47 \pm 2.3670$ , captopril brand B tablets were  $98.08 \pm 2.4911$ , captopril brand C tablets were  $98.03 \pm 2.4223$ , captopril brand D tablets were  $98.93 \pm 1.5138$ , captopril brand E tablets of  $99.57 \pm 2.3985$ .

**Keywords:** Captopril Tablets, Ultraviolet Spectrophotometry Validation.

## PENDAHULUAN

Kaptopril merupakan derivat prolin, yang dapat menghambat *Angiotensin Converting Enzym (ACE)*. Hipertensi merupakan penyakit kardiovaskular yang paling lazim dengan gejala adanya gangguan pada mekanisme regulasi tekanan darah. Hipertensi bercirikan kenaikan tekanan darah yang mendadak dengan gejala encelopati akut (sakit kepala hebat, gangguan kesadaran, serangan epilepsi) [5]. Dalam pembuatan obat, pemeriksaan kadar zat aktif merupakan persyaratan yang harus dipenuhi untuk menjamin kualitas dari sediaan obat. Sediaan obat yang berkualitas baik akan menunjang tercapainya efek terapeutik yang diharapkan. Salah satu persyaratan mutu sediaan obat adalah kadar zat aktifnya harus memenuhi persyaratan kadar seperti yang tercantum dalam Farmakope Indonesia atau buku standar lainnya [2]. Dalam Farmakope Indonesia Edisi V, 2014 dan USP (United States Pharmacopoeia) XXX, 2013 [9], penetapan kadar kaptopril dalam sediaan tablet dapat dilakukan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Metode kromatografi cair kinerja tinggi memiliki kepekaan analisis yang tinggi namun memerlukan biaya yang relatif mahal dalam pelaksanaannya. Dilihat dari struktur Kaptopril yang mempunyai gugus kromofor (ikatan rangkap) dan gugus ausokrom (electron non-bonding), maka senyawa ini dapat menyerap radiasi pada panjang gelombang didaerah ultraviolet. Dalam clarke, kaptopril memiliki serapan maksimum dalam larutan NaOH pada panjang gelombang 238 nm ( $A_{1\text{cm}}^{1\%}=235\text{c}$ ). Metode analisa yang digunakan untuk menganalisis bahan baku atau zat aktif sediaan farmasi dapat memberikan hasil yang dapat diulang dan diandalkan dan untuk mendapatkan hal tersebut metode yang digunakan harus tervalidasi. Beberapa parameter validasi yang harus dilakukan antara lain, akurasi, presisi, linieritas, selektifitas, limit deteksi (LOD), limit kuantitasi (LOD), ketangguhan (*Ruggednes*), dan kekuatan (*Robustness*). Selanjutnya metode ini digunakan untuk menentukan apakah sediaan tablet kaptopril yang beredar dipasaran tersebut memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi V [2] [3].

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer ultra violet (Shimadzu 1800) dan neraca analitik (Shimadzu) dan alat – alat gelas.

### Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: NaOH 0,1 N, Kaptopril (BPFI): tablet kaptopril.

### Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan antara satu sampel dengan yang lain, karena sampel dianggap homogen. Sampel yang digunakan adalah Tablet Kaptopril Merk A, B, C, D, dan E. Proses sampel dilakukan dengan menggunakan rumus [6].

$$n = \sqrt{N} + 1$$

Keterangan:

n = jumlah sampel yang diteliti

N = Populasi sampel

Dari survey yang dilakukan di pasaran diperoleh populasi sampel tablet kaptopril sebanyak 19, maka jumlah sampel yang diambil yaitu:

$$n = \sqrt{19} + 1$$

$$n = 19 + 1$$

$$n = 5,3 \text{ sampel}$$

$$n = 5 \text{ sampel.}$$

Sehingga sampel yang diteliti berjumlah 5 sampel, terdiri dari 3 nama generik dan 2 nama dagang.

## Prosedur Penelitian

### 1. Pembuatan Larutan Natrium Hidroksida 0,1N

Dilartukan sebanyak 4 g NaOH dalam akuades bebas CO<sub>2</sub> kemudian dicukupkan sampai 1000 ml.

### 2. Pembuatan Larutan Induk Baku Katopril BPFI

Ditimbang saksama 50 mg Katopril BPFI, dimasukan kedalam labu tentukur 50 ml, dilarutkan dengan NaOH 0,1N dan dikocok homogen, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 mcg/ml, larutan ini disebut larutan induk baku (LIB I). Dari larutan ini dipipet 5 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml, diencerkan dengan NaOH 0,1N sampai garis tanda sehingga diperoleh konsentrasi 100 mcg/ml (LIB II).

### 3. Penentuan Panjang Gelom bang Serapan Maksimum

Dipipet 4.5 ml dari larutan induk baku (LIB) II (100 mcg/ml) dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, diencerkan dengan NaOH 0,1N sampai garis tanda (18 mcg/ml). Lalu dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengankonsentrasi 18 mcg/ml. Kemudian diukur serapan pada panjang gelombang 200-400 nm.

### 4. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dipipet larutan induk baku II BPFI (100 mcg/ml) 2,5;3,5;4,5;5,5;6,5 ml, masing-masing dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan NaOH 0,1N sampai garis tanda. Lalu dikocok sampai homogen. Diperoleh larutan dengan konsentrasi 10,14,18,22,26mcg/ml. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan sebagai blanko digunakan NaOH 0,1N.

### 5. Penentuan Kadar Katopril dalam Sediaan Tablet

Ditimbang dan diserbukkan tidak kurang dari 20 tablet. ditimbang saksama sejumlah serbuk dengan 50 mg katopril (Penimbangan serbuk sebanyak 6 kali perlakuan), dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml. Lalu ditambahkan 5 ml NaOH 0,1N, dikocok dan diencerkan dengan NaOH 0,1N sampai garis tanda. Kemudian disaring, 5 ml filtrat pertama dibuang. Dipipet 5 ml filrat, dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, dicukupkan dengan NaOH 0,1N garis tanda dan dikocok homogen. Kemudian dipipet 4,5 ml larutan. Dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml. lalu dicukupkan dengan NaOH 0,1N sampai garis tanda, dikocok homogen dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

### 6. Uji Presisi

Uji presisi (keseksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*) dengan rumus:

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\%$$

Keterangan:

RSD = Relative Standart Deviasi

SD = Standart Deviasi

X = Kadar Rata-rata Katopril dalam Sampel [4] [10]

### 7. Penentuan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas Kuantitasi (LOQ) dapat digunakan rumus:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(Y-Y_i)^2}{n-2}}$$

$$LOD = \frac{3xS_{y/x}}{Slope}$$

$$LOQ = \frac{10xS_{y/x}}{Slope}$$

Keterangan:

SD = Simpangan Baku

LOD = Batas Deteksi

LOQ = Batas Kuantitasi

## 8. Analisis Data Secara Statistik

Untuk menghitung standar deviasi (SD) digunakan rumus:

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

Untuk mengetahui apakah data diterima atau ditolak digunakan rumus seperti dibawah ini:

$$t = \frac{x_i - \bar{X}}{SD/\sqrt{n}}$$

Dasar penolakan data jika  $t_{hitung} \geq t_{tabel}$  dan bila  $t_{hitung}$  mempunyai nilai negatif, ditolak jika  $t_{hitung} \leq -t_{tabel}$ . Untuk mencari kadar sebenarnya dengan taraf kepercayaan 99%, dengan derajat kebebasan  $dk = n-1$ , digunakan rumus:

$$\mu = x \pm t\left(\frac{1}{2}\alpha\right)dk \times SD/\sqrt{n}$$

Keterangan:

$\mu$  = interval kepercayaan

$\bar{X}$  = kadar rata-rata sampel

$X$  = kadar sampel

$t$  = harga  $t_{tabel}$  sesuai dengan  $dk = n-1$

$\alpha$  = tingkat kepercayaan

$dk$  = derajat kebebasan

SD = standar deviasi

$n$  = jumlah perlakuan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

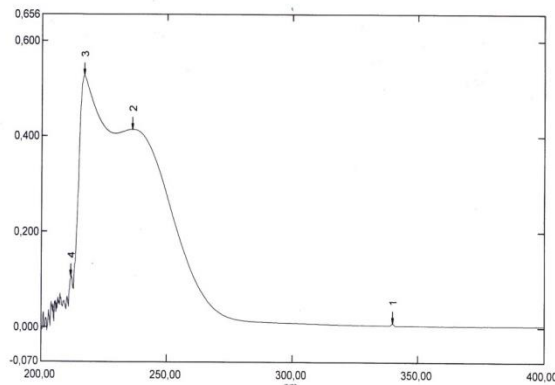
Menurut Farmakope Indonesia Edisi V [2], kaptopril mudah larut dalam air, methanol, etanol, dan kloroform. Penetapan kadar kaptopril dapat dilakukan dengan cara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan spektrofotometri uv/vis. Dalam penelitian ini penetapan kadar kaptopril dalam sediaan tablet dilakukan dengan metode spektrofotometr uv. Kaptopril mempunyai spektrum serapan maksimum pada daerah ultraviolet dalam larutan asam pada panjang gelombang 230nm dan 360nm, dalam larutan basa pada panjang gelombang 238nm ( $A_1^{1-}=235C$ ) [6].

### Penentuan Panjang Gelom bang Serapan Maksimum Kaptopril BPF1

Sebelum dilakukan penetapan kadar dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum, meskipun panjang gelombang tersebut sudah diketahui dalam literatur. Hal ini dikarenakan panjang gelombang suatu senyawa dapat berbeda bila ditentukan pada kondisi dan alat yang berbeda. Penentuan panjang gelombang ini dilakukan pada konsentrasi yang memberikan serapan dengan kesalahan fotometrik terkecil ( $\pm 0,4343$ ). Dari hasil perhitungan menggunakan nilai  $A_1^1 = 235cd$  didapatkan konsentrasi pengukuran adalah 18mcg/ml dan dari hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum pada 236,2nm dengan serapan 0,414. Panjang gelombang yang diperoleh ini dapat diterima. Selanjutnya, untuk penetapan kadar kaptopril dalam sediaan tablet yang beredar dipasaran dilakukan pada panjang gelombang maksimum kaptopril BPF1 yang diperoleh yaitu pada panjang gelombang 236,2nm. Menurut satiadarma (2004), penentuan kadar dilakukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang maksimum, agar dapat memberikan serapan tertinggi untuk setiap konsentrasi. Data dan kurva serapan dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 1 dibawah ini.

**Tabel 1.** Data Kurva Serapan Kaptopril (18mcg/ml)

No	P/V	Wavelength	Abs
1	●	236,2	0.414

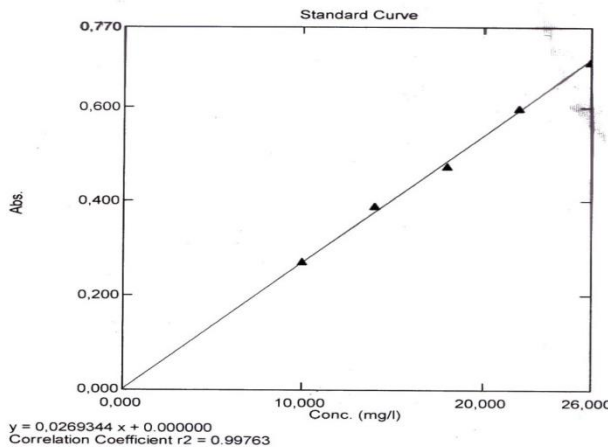


**Gambar 2.** Kurva serapan kaptopril Baku Pembanding Farmakope Indonesia dengan (konsentrasi 18 mcg/ml) dalam pelarut NaOH 0,1N.

Selanjutnya, untuk penetapan kadar kaptopril dalam sediaan tablet yang beredar di pasaran dilakukan pada panjang gelombang maksimum kaptopril BPFi yaitu 236,2nm.

**Penentuan Linieritas Kurva Kalibrasi**

Penentuan linieritas kurva kalibrasi kaptopril BPFi dalam pelarut NaOH dengan konsentrasi 10; 14; 18; 22; 26 mcg/ml pada panjang gelombang maksimum 236.2nm dengan menggunakan NaOH sebagai blanko dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 3** berikut ini. Gelombang maksimum, meskipun panjang gelombang tersebut sudah diketahui dalam literatur. Hal ini dikarenakan panjang gelombang suatu senyawa dapat berbeda bila ditentukan pada kondisi dan alat yang berbeda. Penentuan panjang gelombang ini dilakukan pada konsentrasi yang memberikan serapan dengan kesalahan fotometrik terkecil ( $\pm 0.4343$ ). Untuk mendapatkan konsentrasi tersebut dapat dihitung menggunakan nilai absorptivitas molar ( $\epsilon$ ) dari literatur, dalam NaOH panjang gelombang 236,2nm dengan absorptivitas molarnya 235 [5]. Dari perhitungan didapatkan konsentrasi pengukuran adalah 18 mcg/ml dan dari hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum, pada 236,2 dengan serapan 0,414 seperti terlihat pada **Gambar 2** dan **Tabel 1**.



**Gambar 3.** Kurva kalibrasi kaptopril BPFi dalam pelarut NaOH 0,1N pada  $\lambda$  236,2 nm.

**Tabel 2.** Data Kurva Kalibrasi dari kaptopril BPFi

No.	Konsentrasi (mcg/ml)	Absorbansi
1.	0,000	0,000
2.	10,000	0,258
3.	14,000	0,390
4.	16,000	0,475
5.	22,000	0,597
6.	26,000	0,696

Dari hasil pembuatan kurva kalibrasi kaptopril BPFi diperoleh hubungan yang linier antara konsentrasi dan serapan dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,99763 dan persamaan garis regresi  $Y = 0,0269344 x + 0.0000$  yang dapat dilihat pada gambar 3. Kriteria penerimaan untuk korelasi adalah  $r \geq 0,995$  [8].

### Hasil Pemeriksaan Kadar Tablet Kaptopril

Dari hasil uji penetapan kadar kaptopril sediaan tablet dengan menggunakan persamaan regresi, maka diperoleh kadar rata-rata dan rentang kadar seperti **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Kadar rata-rata dan rentang kadar kaptopril dalam sediaan tablet

No.	Sampel	Rata-rata (%)	Rentang kadar (%)
1.	Tablet Kaptopril Merk A	97,47	97,47 ± 2,3670
2.	Tablet Kaptopril Merk B	98,08	98,08 ± 2,4911
3.	Tablet Kaptopril Merk C	98,03	98,03 ± 2,4223
4.	Tablet Kaptopril Merk D	98,97	100,6 ± 1,6301
5.	Tablet Kaptopril Merk E	99,57	99,57 ± 2,3956

Dari tabel diatas maka diperoleh hasil kadar kaptopril dalam sediaan Tablet Kaptopril Merk A, B, C, D, dan E memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi V 2014, yaitu tidak kurang dari 90,00 % dan tidak lebih dari 110,0 % dari jumlah yang tertera pada etiket.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka kesimpulan dari penelitian ini adalah

1. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa uji validasi metode spektrofotometri UV terhadap tablet kaptopril memenuhi persyaratan uji validasi dengan persen perolehan kembali 100,6 %, RSD 1,05 % dengan batas deteksi (LOD) 0,575486 mcg/ml dan batas kuantitasi (LOQ) 1,9179 mcg/ml.
2. Dari hasil penetapan kadar tablet kaptopril yang diproduksi oleh lima industri farmasi yang berbeda yaitu, Tablet Kaptopril Merk A 97,47, Tablet Kaptopril Merk B 98,08, Tablet Kaptopril Merk C 98,03, Tablet Kaptopril Merk D 98,97, Tablet Kaptopril Merk E 99,57 maka kadar tablet dari kelima industri farmasi tersebut memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi V, 1995 yaitu tidak kurang dari 97,5 % dan tidak lebih dari 102,0 % dari jumlah yang tertera dari etiket.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dachriyanus (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri*. Padang : Andalas University Press. Halaman 1.
- [2] Ditjen POM. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Halaman 611-613.
- [3] Harmita, (2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol.I, No.3. Halaman 117-128.
- [4] Indriyanto, G. dan Yuwono M., (2003). In Gazales, J.Ed. *Encyclopedia of Chromatography* (Marcel Dekker).Suplement.
- [5] Katzung, B.G., (2001). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Penerjemah dan Editor Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Edisi Pertama. Jakarta: Penerbit Salemba Medika. Halaman 332-340.
- [6] Moffat, A.C., (2004). *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. Third Edition. London: The Pharmaceutics Press. Page 1337.
- [7] Siswandono dan Soekardjo, B. (1995). *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press. Hal 364, 367.
- [8] Shargel, L. (1985). *Biofarmasetika Dan Farmakokinetika Terapan*. Penerjemah Fasich. Edisi Kedua. Surabaya: Penerbit Universitas Airlangga. Halaman 16.
- [9] USP Pharmacopeia, (2008). *The National Formulary*. 31<sup>st</sup> Edition. The United State Pharmacopeia Convention. Page 1247
- [10] WHO. (1992). *Validation of Analytical Procedures Used in Examination of Pharmaceutical materials*. WHO Technical Report Series. No. 823