

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan antara lain: Spektrofotometer UV-Vis (UV-1600PC), *Dissolution tester* (*Electro Lab*), Timbangan analitik (*Adam Equipment PW 254*), serta berbagai peralatan gelas laboratorium seperti gelas ukur (100 mL dan 10 mL) (*Iwaki*), labu ukur (1000 mL, 100 mL, dan 10 mL) (*Pyrex*), gelas piala (*Iwaki*), kaca arloji, corong (*Pyrex*), pipet volume (10 mL dan 1 mL) (*Iwaki*), pipet tetes, batang pengaduk, dan spatula. Selain itu, digunakan juga *vessel* dan *paddle*, serta botol coklat kapasitas 2,5 L dan 100 mL.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Lisinopril murni BPFI (Baku Pembanding Farmakope Indonesia), Tablet Lisinopril, HCl (*Hydrochloric Acid*) 0,1 N (Merck), aquadest, kertas saring *Whatman*.

3.2 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Tekno Sediaan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang Selama Februari 2025 – Juni 2025.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini meliputi validasi metode analisis, meliputi linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LoD), dan batas kuantifikasi (LoQ).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat mencakup kadar lisinopril dalam tablet yang diukur dengan metode Spektrofotometri UV VIS.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Berikut ini adalah tabel definisi operasional variabel.

Tabel 3.2 Definisi Opeasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
1.	Validasi metode analisis	Proses pengujian parameter analitik untuk memastikan metode Spektrofotome-tri UV VIS valid untuk mengukur kadar lisinopril.	Spektrofotometri UV VIS	Nominal	Linearitas, Akurasi, Presisi, Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi
Variabel Terikat					
2.	Kadar Lisinopril	Jumlah lisinopril yang terukur dalam sampel tablet setelah diuji dengan metode Spektrofotome-tri UV VIS	Spektrofotometri UV VIS	Rasio	mg/tablet

3.5 Prosedur Penelitian

Tablet lisinopril mengandung lisinopril, $C_{21}H_{35}N_2O_5$ tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket berikut adalah prosedur percobaan yang akan dilakukan menurut farmakope indonesia edisi 6 tahun 2020.

3.5.1 Baku Pembanding

Baku pembanding Lisinopril merupakan bentuk dihidrat lisinopril, tidak boleh dikeringkan, laukan penetapan kadar air secara titrimetri pada saat digunakan untuk penetapan kuantitatif, simpan dalam wadah tertutup rapat sedangkan pada identifikasi waktu retensi puncak untuk kromatogram larutan uji sesuai dengan larutan baku seperti yang diperoleh pada penetapan kadar.

3.5.2 Pembuatan Larutan Asam Klorida 0,1 N (HCL 0,1 N)

Perhitungan dilakukan berdasarkan volume yang telah ditetapkan, sehingga diperoleh sebanyak 8,3 mL larutan asam klorida. Larutan tersebut kemudian diambil menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL. Selanjutnya, larutan dilarutkan terlebih dahulu dengan sedikit air suling sambil diaduk, kemudian ditambahkan air suling hingga mencapai tanda batas volume 1000 mL, dan dikocok hingga tercampur secara homogen. (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

3.5.3 Pembuatan Larutan Baku Lisinopril dengan Pelarut HCL 0,1 N

Sebanyak 10 mg lisinopril murni ditimbang dengan teliti, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Setelah itu, ditambahkan sedikit larutan HCl 0,1 N untuk melarutkan, kemudian volumenya dicukupkan hingga tanda batas dengan larutan yang sama. Larutan dikocok sampai benar-benar homogen sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Dari larutan induk tersebut, diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambah larutan HCl 0,1 N hingga batas volume. Larutan ini merupakan larutan baku kerja dengan konsentrasi 100 µg/mL, yang kemudian digunakan untuk membuat larutan seri pada tahap berikutnya

3.5.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi Baku Lisinopril

Larutan standar dibuat dengan mengambil larutan baku lisinopril 100 µg/mL. Kemudian larutan tersebut dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 0,4 mL, 0,8 mL, 1,2 mL, 1,6 mL, dan 2,0 mL ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL. Setiap labu diisi dengan larutan HCl 0,1 N sampai mencapai tanda batas, kocok larutan hingga homogen.

Maka akan menghasilkan larutan standar lisinopril dengan konsentrasi 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm, 16 ppm, dan 20 ppm. Masing-masing larutan kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum lisinopril.

3.5.4 Validasi Metode Analisis

1. Uji Linearitas

Kurva kalibrasi dianalisis menggunakan regresi linear untuk menentukan koefisien korelasi (r) yang menunjukkan tingkat linearitas. Linearitas dianggap baik jika nilai r berada dalam rentang 0,995 hingga 1 (Umar *et al.*, 2021).

2. Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk mengevaluasi perolehan kembali (recovery test) dengan menambahkan jumlah lisinopril yang diketahui pada sampel. Pengujian dilakukan pada tiga tingkat konsentrasi, yaitu 80%, 100%, dan 120% dari konsentrasi standar lisinopril. Setiap tingkat konsentrasi diuji menggunakan dua sampel, kemudian dianalisis dan dihitung persentase perolehan kembalinya.

Untuk menghitung presentasi perolehan kembalinya yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Recovery} = C_{\text{terukur}} / C_{\text{target}} \times 100\%$$

Keterangan :

C_{terukur} = Konsentrasi yang dihitung dari nilai absorbansi

C_{target} = Konsentrasi yang seharusnya (atau konsentrasi yang ditargetkan)

Metode validasi memenuhi syarat jika persen perolehan kembalinya dengan nilai rentang 80 %-120 % (Fauziah *et al.*, 2023)

3. Uji presisi

Uji presisi dalam penelitian ini mencakup pengujian keterulangan (*repeatability*) yang dilakukan dalam satu hari (*intraday*), sebanyak tiga kali pada waktu yang berbeda. Meskipun secara umum presisi juga dapat diuji antar hari (*interday*), dalam penelitian ini hanya dilakukan pengujian intraday karena keterbatasan waktu dan sumber daya. Setiap pengukuran dilakukan pada konsentrasi yang sama untuk menilai konsistensi hasil. Metode dinyatakan memenuhi standar presisi apabila

nilai persen simpangan baku relatif (% RSD) kurang dari 2% (Fauziah et al., 2023). Adapun untuk mencari nilai % RSD yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ RSD} = \text{Simpangan Baku (SD)} / \text{Rata-rata (Mean)} \times 100$$

Keterangan :

Simpangan Baku (SD) = Mengukur seberapa besar penyebaran data dari nilai rata-rata

Rata-rata (Mean) = Nilai rata-rata dari hasil pengukuran

4. Batas Kuantifikasi (BK) dan Batas Deteksi (BD)

Menurut Harmono (2020) Batas Deteksi adalah kadar analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan berbeda dibandingkan blanko atau noise. Batas deteksi dihitung berdasarkan kadar analit yang menghasilkan respon sebesar tiga kali simpangan baku pengukuran blanko. Rumus yang digunakan untuk menghitung Batas Deteksi (LOD) yaitu :

$$\text{Batas Deteksi (LOD)} = 3.3 \times \text{SD} / \text{Slope}$$

Batas Kuantifikasi adalah konsentrasi analit terendah yang dapat dikuantifikasi dengan tingkat akurasi dan presisi yang memadai. BK menunjukkan tingkat sensitivitas metode analisis yang digunakan. Rumus untuk mencari nilai batas kuantifikasi atau LOQ yaitu sebagai berikut.

$$\text{Batas Kuantifikasi (LOQ)} = 10 \times \text{SD} / \text{Slope}$$

Keterangan :

SD = Simpangan baku dari nilai absorbansi (biasanya dari blanko atau dari replikasi kadar rendah).

Slope = Kemiringan dari kurva kalibrasi (diperoleh dari regresi linear absorbansi terhadap konsentrasi).

3.5.5 Disolusi Tablet

Pada uji ini adalah penggabungan dari sampel media disolusi yaitu 900 ml. asam hidroklorida 0,1 N pada alat tipe 2 (Dayung) dengan kecepatan 50 rpm dan waktu 30 menit lakukan penetapan jumlah tablet lisinopril yang terlarut dengan cara Spektrofotometri UV-VIS. Semua peralatan dicuci dan dikeringkan. Gelas kimia dalam pengujian disolusi diisi dengan 0,1N hidroklorida. Suhu disesuaikan ke 37°C dan Perangkat disesuaikan ke 50 putaran per menit. Pengujian disolusi dilakukan dengan metode penarikan sampel disertai penggantian (*replace sampling*). Sebanyak 6 tablet dimasukkan ke dalam medium disolusi. Sampel sebanyak 5 mL diambil dari masing-masing vessel pada waktu 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60 menit, dan dilanjutkan setiap 60 menit hingga menit ke-720 (12 jam). Setiap kali pengambilan sampel, volume yang diambil diganti dengan 5 mL media segar yang untuk menjaga volume dan kondisi larutan tetap konstan. Sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 210 nm.

3.5.6 Penetapan Kadar Tablet

Penentuan kadar lisinopril dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang mengacu pada jurnal (Harizul Rival., *et al* 2018) dengan beberapa penyesuaian khususnya pada pembuatan larutan standar dan cara perhitungan kadar.

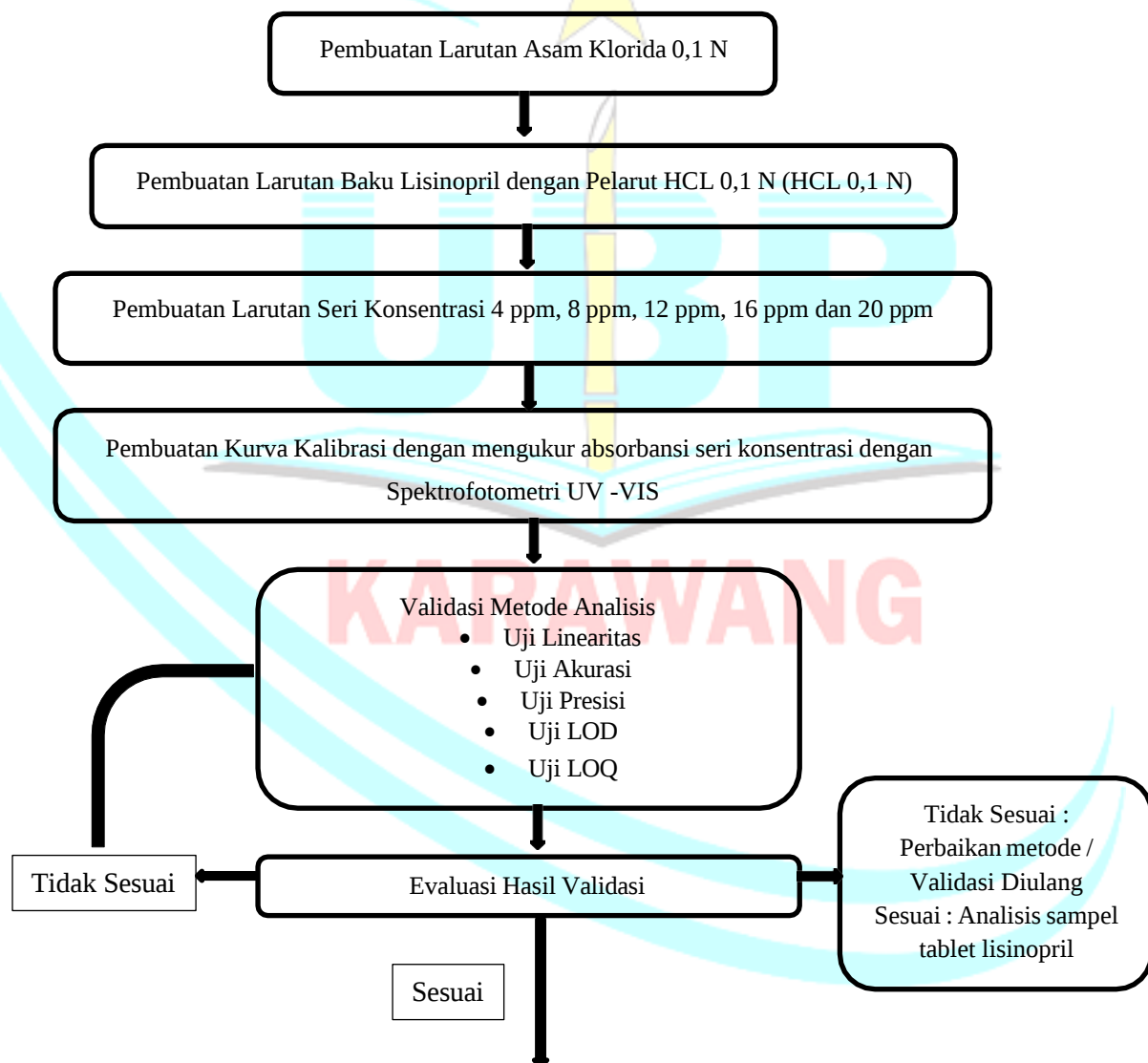
Timbang terlebih dahulu satu tablet brand lisinopril, lalu dihancurkan sampai menjadi serbuk yang halus. Diambil serbuk tersebut sebanyak setara dengan 10 mg lisinopril, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Serbuk tersebut dilarutkan dengan larutan HCl 0,1 N, sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen. Hasilnya adalah larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL.

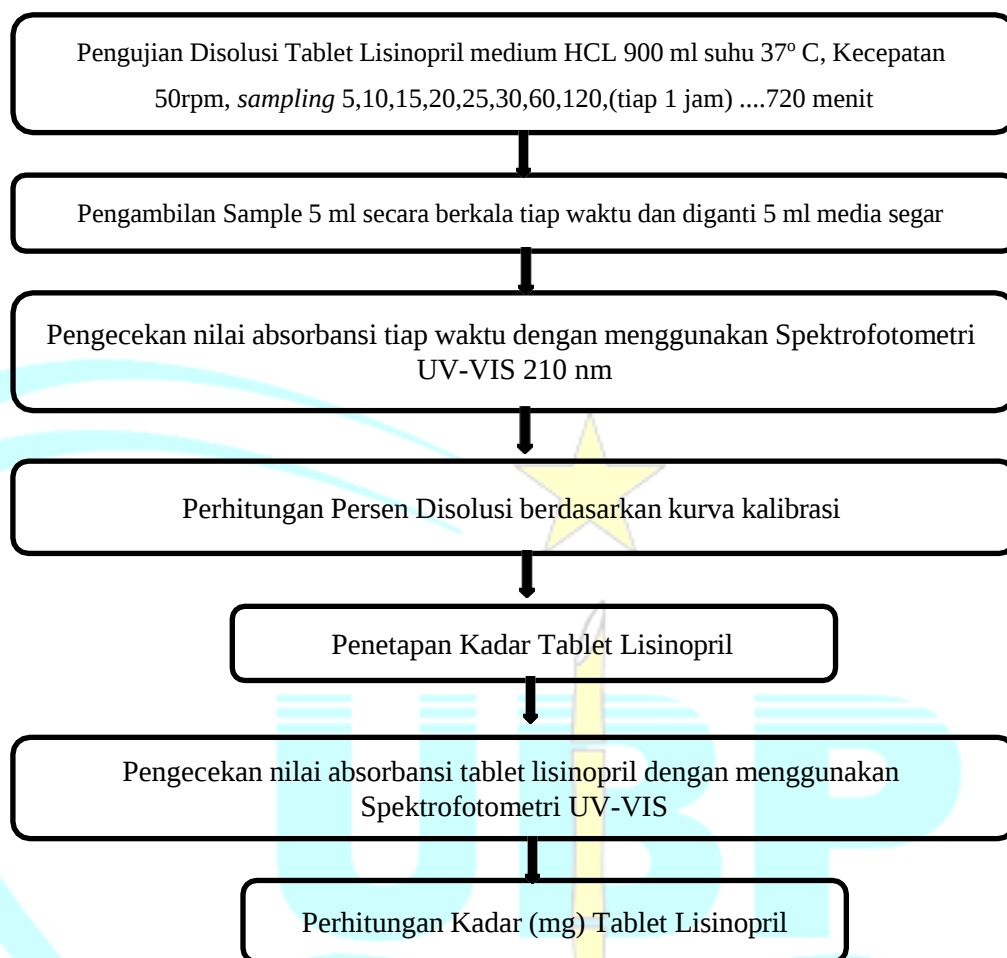
Setelah itu, diambil 1 mL larutan tersebut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. tambahkan pelarut hingga tanda batas, lalu dikocok hingga homogen untuk mendapatkan konsentrasi 100 µg/mL. Larutan ini kemudian diencerkan dengan cara yang sama: ambil 1 mL, masukkan ke

dalam labu ukur 10 mL, tambahkan pelarut hingga tanda batas, dan kocok hingga merata. Hasil akhir dari larutan ini adalah konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ (10 ppm).

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum lisinopril yaitu 210 nm. Hasil pengukuran dibandingkan dengan larutan standar, lalu konsentrasi lisinopril dalam tablet dihitung berdasarkan persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

3.5.7 Diagram Alir Penelitian





Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.6 Analisis Data

Data hasil pengujian kadar obat tablet Lisinopril menggunakan metode Spektrofotometri UV VIS dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS 31.0 dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) serta berbagai metode statistik lainnya. Analisis ini bertujuan untuk mengevaluasi akurasi dan presisi metode yang digunakan serta memastikan validitas hasil yang diperoleh.