

**VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA ETIL
p-METOKSISINAMAT DALAM PLASMA DARAH
TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

NATALIA SURYANATA

A171088



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2021**

**VALIDASI METODE ANALISIS SENYAWA ETIL
p-METOKSISINAMAT DALAM PLASMA DARAH
TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

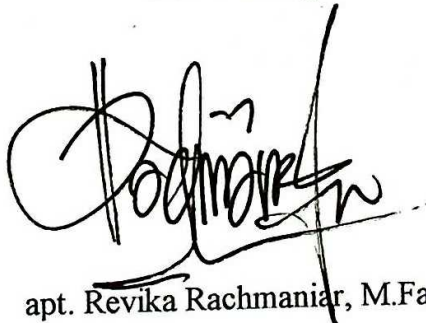
NATALIA SURYANATA

A171088

Agustus 2021

Disetujui oleh:

Pembimbing



apt. Revika Rachmaniar, M.Farm

Pembimbing



apt. Nela, M.Farm

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Skripsi ini penulis persembahkan kepada Tuhan Yesus Kristus sebagai rasa syukur atas berkat dan kasih karunia-Nya serta Bapak Suryanata, Ibu Yenny Antonius, Carolina Suryanata, Gisyella Suryanata, keluarga besar, dan sahabat-sahabat yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, dan mendoakan setiap saat.

ABSTRAK

Etil p-metoksisinamat (EPMS) larut pada sebagian pelarut polar dan nonpolar sehingga memiliki kelarutan dan disolusi yang rendah. Penelitian EPMS masih terbatas pada peningkatan kelarutan dan disolusi EPMS sehingga data penelitian secara *in vivo* menggunakan plasma darah hewan uji masih terbatas. Penelitian metode analisis EPMS pada plasma darah hewan uji menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) belum tervalidasi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode analisis EPMS dalam plasma darah menggunakan KCKT. Plasma darah yang digunakan merupakan plasma darah tikus putih jantan galur Wistar. EPMS ditambahkan ke dalam plasma darah dan dianalisis menggunakan KCKT. Parameter validasi yang digunakan adalah uji kesesuaian sistem, linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ. Hasil penelitian menunjukkan fase gerak yang optimum untuk menganalisis EPMS di dalam plasma adalah metanol:asam fosfat dengan perbandingan 70:30. Berdasarkan hasil validasi didapatkan hasil regresi linier 0,779. Pada uji akurasi didapatkan rentang nilai rata-rata persen perolehan kembali sebesar 71,55% - 168,04%. Pada uji presisi didapatkan rentang nilai rata-rata persen RSD sebesar 1,02% - 3,14%. Nilai LOD sebesar 5,8383 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai LOQ sebesar 19,4611 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa analisis EPMS dalam plasma darah menggunakan KCKT dapat dianalisis menggunakan fase gerak metanol:asam fosfat dengan perbandingan 70:30.

Kata kunci: Validasi metode, Etil p-Metoksisinamat, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

ABSTRACT

Ethyl p-methoxycinnamate (EPMC) is soluble in most polar and non-polar solvents so that it has low solubility and dissolution. Research on EPMC is still limited to increasing the solubility and dissolution of EPMC. In vivo research data using the blood plasma of test animals is still limited. Research on the EPMC analysis method on blood plasma of test animals using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) has not been validated. This study aims to validate the EPMC analysis method in blood plasma using HPLC. The blood plasma used was the blood plasma of male white rats of the Wistar strain. EPMC was added to blood plasma and analyzed using HPLC. The validation parameters used are system suitability test, linearity, accuracy, precision, LOD, and LOQ. The results showed that the optimum mobile phase for analyzing EPMC in plasma was methanol:phosphoric acid in a ratio of 70:30. Based on the validation results obtained linear regression results of 0.779. In the accuracy test, the average value range of % recovery is 71.55% - 168.04%. In the precision test, the average value range of % RSD is 1.02% - 3.14%. The LOD value is 5.8383 g/mL and the LOQ value is 19.4611 g/mL. Based on this research, it can be concluded that the analysis of EPMC in blood plasma using HPLC can be analyzed with the mobile phase methanol:phosphoric acid ratio of 70:30.

Keywords: *Method Validation, Ethyl p-Methoxycinnamate, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yesus Kristus atas segala berkah dan kasih karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Validasi Metode Analisis Senyawa Etil p- Metoksisinamat Dalam Plasma Tikus Putih Jantan Galur Wistar Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi”. Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing apt. Revika Rachmaniar, M.Farm dan apt. Nela, M.Farm atas bimbingan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M. Si, selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Dewi Astriany, M.Si, selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik,
3. apt. Revika Rachmaniar, M.Farm, selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. apt. Melvia Sundalian, M. Si, selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Serta saudara dan sahabat-sahabat yang telah memberikan inspirasi serta kegembiraan selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Agustus 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Kegunaan Penelitian.....	2
1.5 Waktu Dan Tempat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Etil p-Metoksisinamat (EPMS)	3
2.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	4
2.3 Validasi Metode	6
BAB III TATA KERJA	9
3.1 Alat.....	9
3.2 Bahan.....	9
3.3 Hewan Percobaan	9
3.4 Metode Penelitian.....	9
3.4.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimal EPMS	9
3.4.2 Penetapan Waktu Retensi EPMS.....	10
3.4.3 Preparasi Plasma Tikus.....	10
3.4.4 Validasi Metode EPMS Standar	10
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	12
4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum EPMS	12
4.2 Penetapan Waktu Retensi EPMS	12
4.3 Preparasi Plasma Tikus	14

4.4 Validasi Metode	15
4.4.1 Uji Kesesuaian Sistem.....	15
4.4.2 Uji Linearitas	17
4.4.3 Akurasi.....	18
4.4.4 Presisi.....	18
4.4.5 LOD dan LOQ	19
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	20
5.1 Simpulan.....	20
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya.....	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN.....	23

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Standar Uji Kesesuaian Sistem	15
4.2 Uji Kesesuaian Sistem Fase Gerak Metanol:Asam Fosfat 80:20.....	16
4.3 Uji Kesesuaian Sistem Fase Gerak Metanol:Asam Fosfat 70:30.....	17
4.4 Uji Akurasi	18
4.5 Uji Presisi	19

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur EPMS	3
4.1 Spektrum UV EPMS	12
4.2 Kromatogram EPMS fase gerak metanol:asam fosfat 70:30	13
4.3 Kromatogram EPMS fase gerak metanol:asam fosfat 80:20	13
4.4 Linearitas Plasma dan EPMS Standar	17

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Determinasi Hewan Uji	23
2. Sertifikat Analisis EPMS	24
3. Validasi Metode	25
4. Kode Etik Hewan Uji	26

DAFTAR PUSTAKA

- European Medicines Agency. 2011. *Guideline on bioanalytical method validation*. United Kingdom:European Medicine Agency. P.13-15.
- Fernando, E. 2020. "Perbandingan Parameter Bioavailabilitas Etil p-Metoksisinamat (EPMS) Standar Dengan EPMS Isolat Pada Tikus Wistar Jantan." *Skripsi*. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Hal. 11-12.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Utama. Hal : 37-43.
- Harahap, Y., Mansur, U., dan Sinandang, T. 2006. "Analisis Glimepirida Dalam Plasma Tikus." *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Jakarta: Farmasi FMIPA UI. Hal: 22-37.
- Harmita. 2004. "Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya." *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Jakarta: Farmasi FMIPA UI. Hal: 117-135.
- Isadiartuti, D., Prihantini, I. K., & Agustina, A. P. 2018. "Development and Validation of an HPLC Method for the Determination of p -methoxycinnamic Acid in Rabbit Plasma." *International Conference on Applied Pharmaceutical Sciences*. Surabaya: Universitas Airlangga. Hal. 29-34.
- Kurniawati, A. 2016. "Validasi Metode Analisis Etil p -Metoksisinamat dalam Plasma secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)." *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Jakarta: UIN Syarif Hidayattullah. Hal. 4; 26-27.
- Mukherjee, A., and Bera, A. 2012. A detailed study of validation parameters and system suitability test in HPLC. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Kolkata: Central Drugs Laboratory. P. 426-447.
- Rachmaniar, R., Warya, S., Ferdiansyah, R., Riasari, H., and Kenti. 2020. "Pharmaceutical Cocystal of Ethyl p-Methoxycinnamate: Formulation and Characterization." *BTH-HSIC, 2019*. Tasikmalaya: STIKes Bakti Tunas Husada. P. 100.
- Setyawan, E., Putratama, P., Ajeng, A.D., dan Rengga, W.D.P. 2012. "Optimasi Yield Etil p- Metoksisinamat Pada Ekstraksi Oleoresin Kencur (*Kaempferia galanga*) Menggunakan Pelarut Etanol." *Jurnal Bahan Alam Terbarukan* (1): 32.

- Shargel, L., and Andrew, B.C. 2012. *Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics* (7th ed.). The McGraw-Hill Companies. P. 469-470.
- Susanti, M., dan Dachriyanus. 2014. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: Universitas Andalas. Hal. 55-67.
- Zhang, K., Wenxia, X., and Shuge, T. 2020. "Comparative Study On The Determination of Ethyl p-Methoxycinnamate In Kaempferia Galanga Rhizome by HPTLCS and HPLC." *Journal of Planar Chromatography*. Hungary: Akademiai Kiado. P. 1; 4.