

**VALIDASI METODE ANALISIS KADAR METHEMOGLOBIN
DALAM DARAH MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-
VISIBEL**

SKRIPSI

**NADHILA
A 191 029**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2023**

**VALIDASI METODE ANALISIS KADAR METHEMOGLOBIN
DALAM DARAH MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-
VISIBEL**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

NADHILA

A 191 029



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2023**

**VALIDASI METODE ANALISIS KADAR METHEMOGLOBIN DALAM
DARAH MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL**

**NADHILA
A 191 029**

Agustus 2023

Disetujui Oleh :

Pembimbing



Sri Gustini Husein, S.Si., M.Farm

Pembimbing



Dr. apt. Mulyana, M.Kes.

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

Skripsi ini dipersembahkan sepenuhnya untuk diri sendiri, Ayah, Ibu dan juga keluarga yang turut serta memberikan dukungan penuh semangat dan doa sehingga bisa sampai pada tahap ini.

ABSTRAK

Pengukuran kadar methemoglobin (metHb) dalam darah menjadi penting untuk penapisan dan penegakan diagnosis kondisi metemoglobinemia. Pengukuran kadar methemoglobin dengan menggunakan NaCN merupakan alternatif karena pertimbangan ketersediaan dan optimalisasi biaya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kinerja metode analisis kadar methemoglobin dalam darah menggunakan spektrofotometri UV-Visibel dengan reagen NaCN. Metode ini dievaluasi berdasarkan parameter linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ). Hasil validasi menunjukkan bahwa metode spektrofotometri UV-Visibel dengan reagen NaCN memiliki rentang linearitas antara 1,1% hingga 11,4% metHb dengan nilai $r = 0,9862$; uji akurasi dengan rata-rata perolehan kembali berada pada rentang 100 - 101,884%; dan presisi *inter-day* dievaluasi dengan koefisien variasi 7,01%. LOD dan LOQ masing-masing dihitung sebesar 1,84% dan 5,92% metHb. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa spektrofotometri uv-vis pada analisis kadar methemoglobin menggunakan reagen NaCN tervalidasi atau valid karena terpenuhinya kriteria dari parameter validasi.

Kata kunci : validasi metode, methemoglobin, NaCN

ABSTRACT

Measurement of methemoglobin (metHb) levels in the blood is important for the diagnosis and monitoring of methemoglobinemia conditions. The analytical method using UV-Visible spectrophotometry with NaCN is an alternative because NaCN has economic value and is easy to obtain. The aim of this study was to validate the UV-Visible spectrophotometric analysis method with NaCN reagent for measuring metHb levels in blood samples. This method is evaluated based on the parameters of linearity, accuracy, precision, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ). The validation results showed that the UV-Visible spectrophotometry method with NaCN reagent has a linearity range between 1.1% to 11.4% metHb with a value of $r = 0.9862$; accuracy test with average recovery in the range of 100 - 101.884%; and the inter-day precision was evaluated with a coefficient of variation of 7.01%. LOD and LOQ were calculated at 1.84% and 5.92% metHb, respectively. Based on the results of the study it can be concluded that the uv-vis spectrophotometry in the analysis of methemoglobin levels using the NaCN reagent is validated because the criteria for the validation parameters are completed.

Keywords : *validation methode, methemoglobin, NaCN*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Validasi Metode Analisis Kadar Methemoglobin Dalam Darah Menggunakan Spektrofotometri UV-Visibel”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan Terima kasih banyak kepada dosen pembimbing Sri Gustini Husein, S.Si., M.Farm., dan Dr. apt. Mulyana. M.Kes atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan 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. Diki Prayugo, M.Si selaku Wakil Ketua 1 Bidang Akademik Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
4. Dr. apt. Sani Nurlaela, 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. Kedua orang tua, Ayah Suardi Tanjung dan Ibu Irma Linda yang telah menjadi alasan terhebat saya untuk terus berjuang dalam meyelesaikan jenjang S1, serta adik tersayang Lucy dan Hasna yang telah memberikan segala bentuk dukungan, motivasi dan senantiasa mendoakan penulis.
7. Sahabat-sahabat terdekat saya selama perkuliahan yaitu Mba, Milefa, Ufut, Nisa, dan Mvin yang selalu memberi semangat dan membantu kepada penulis selama menempuh perkuliahan,

Dengan kerendahan hati, penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, Agustus 2023
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
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 Gas H ₂ S	3
2.2 Darah	3
2.3 Komponen Darah	4
2.4 Hemoglobin	6
2.4.1 Derivat Hemoglobin	7
2.5 Methemoglobinemia	8
2.5.1 Pemeriksaan Kadar Methemoglobin	9
2.6 Spektrofotometri UV-Vis	9
2.6.1 Prinsip Kerja Spektrofotometer UV-Vis	10
2.6.2 Syarat Pengukuran Spektrofotometri UV-Visibel	11
2.6.3 Tipe Spektrofotometer UV-Vis	11

2.7 Validasi Metode Bioanalisis	12
2.7.1 Kecermatan (<i>accuracy</i>)	12
2.7.2 Keseksamaan (<i>precision</i>)	13
2.7.3 Selektivitas (Spesifisitas)	13
2.7.4 Linearitas	13
2.7.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	13
2.8 Natrium Sianida	14
BAB III TATA KERJA	15
3.1 Alat	15
3.2 Bahan	15
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Pembuatan Larutan	15
3.3.2 Preparasi Sampel	16
3.3.3 Pengujian Sampel	16
3.3.4 Validasi Metode Analisis	16
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	18
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA	23
5.1 Simpulan	23
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	26

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Gejala klinis yang muncul sesuai dengan konsentrasi methemoglobin.....	9
4.1 Data Uji Presisi.....	20
4.2 Data Uji Akurasi.....	21
4.3 Perbandingan Kadar metHb.....	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Spektrum derivat hemoglobin.....	8
4.1 Prosedur Evelyn-Malloy.....	19
4.2 Panjang Gelombang Maksimum metHb.....	19
4.3 Kurva Linieritas.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kadar metHb.....	26
2. Perhitungan Akurasi.....	29
3. Perhitungan Presisi.....	30
4. Perhitungan LOD dan LOQ.....	31
5. Dokumentasi Penelitian.....	32
6. Certificate of Analysis Natrium Sianida.....	33
7. Certificate of Analysis Triton X-100.....	34
8. Certificate of Analysis Natrium Nitrit.....	35

DAFTAR PUSTAKA

- Aliviameita, A, & Puspitasari, P. (2021). 'Buku Ajar Mata Kuliah Hematologi'. *Umsida Press*.
- Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. (2004). 'Guidelines for the validation of analytical methods for active constituent, agricultural and veterinary chemical products'.
- Chalik, R. (2016). 'Anatomi Fisiologi Manusia, Jakarta'. *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Chan C C, Lam H, Lee Y C, and Zhang X M,. (2004). 'Analytical Method validation and instrument Performance Verification'. John Wiley and Soon. *Inc.Hoboken, New Jersey. ISSN 0-471-259535-5; 105*.
- Dacie and Lewis. (2017). 'Practical Haematology'. *Twelfth Edition. Elsevier*.
- Dayanna I & Rianna M. (2019). 'Alat Penguji Material'. Bogor. *Guepedia Publisher*.
- Defayanti Suci, Nasution E, Aritonang EY. (2016). 'Analisis kandungan nitrit pada sosis bermerek dan tidak bermerek di Kota Medan 2016'. *Jurnal.usu.ac.id*. 2017;1(1):5.
- European Medicines Agency (Ema). (2011). 'Guideline On Bioanalytical Method Validation'. *Committee For Medicinal Product For Human (Chmp)*, 30 Churchill Place, Canari Wharf, London.
- Fatan et al., (2022). 'Metode Validasi Analisis Senyawa Kimia Obat dalam Sampel Biologis (Plasma Darah)'. *Jurnal Health Sains*
- Francoise Arnaud, et al (2017) 'Determination of methemoglobin and hemoglobin levels in small volume samples'. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45:1, 58-62, DOI: 10.3109/21691401.2016.1138490.
- Guidotti, T. L. (2015) 'Hydrogen sulfide intoxication'. 1st edn, *Handbook of Clinical Neurology*. 1st edn. Elsevier B.V. doi: 10.1016/B978-0-444-62627-1.00008-1.
- Hadi, A. 2010.'Penentuan Batas Deteksi Metode dan Batas Kuantitasi Pengujian Sulfida dalam Air dan Air Limbah dengan Biru Metilen Secara Spektrofotometer'
- Handayani, C., Mushlih, M., & Lestari, J. (2018). Validasi Metode Analisa Kadar Logam Fe Pada Rambut Masyarakat di Sekitar Kawasan Industri Semen. *Jurnal Katalisator*,
- Harmita. (2004). 'Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya'. *Majalah Ilmu Kefarmasian*.
- Huber L. (2017). 'Validation of Analytical Methods'. New York, USA: *Agilent Technologies*.
- Kementrian Energi dan Sumber Daya Mineral. *Insiden Paparan H2S di PLTP Sorik Marapi*. Tersedia di <https://www.esdm.go.id/id/berita-unit/direktorat-jenderal-ebtke/hasil-investigasi-lapangan-terkait-kejadian-diduga-paparan-gas-h2s-pada-pltp-sorik-marapi#>.

- Iolacson, Achille *et al.* (2021). 'Recommendations for diagnosis and treatment of Methemoglobinemia'. *American Journal Hematology*. DOI:10.1002/ajh.26340
- Khopkar SM. (2003). 'Kimia Analitis'. Jakarta : *UI Press*.
- Kiswari, R., (2014). 'Hematologi dan Transfusi'. Jakarta: *Penerbit Erlangga*.
- Kurnianingsih, U. (2011). 'Perbedaan Hasil Pemeriksaan Glukosa Darah Menggunakan Antikoagulan NaF dan NaEDTA'. *Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang*.
- Maebashi, K. *et al.* (2011) 'Toxicological analysis of 17 autopsy cases of hydrogen sulfide poisoning resulting from the inhalation of intentionally generated hydrogen sulfide gas', *Forensic Science International*. Elsevier Ireland Ltd, 207(1–3), pp. 91–95. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.09.008.
- Nancy E. Camp, R. M. (2007). 'Methemoglobinemia'. *J Emerg Nurs*. 172-174
- Nugraha, Gilang (2015) 'Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar'. Jakarta: *CV Trans Info Medika*.
- Rosita, Linda dkk. (2019). 'Hematologi Dasar'. *Universitas Islam Indonesia*.
- Sams, R. N. *et al.* (2013) 'Suicide with hydrogen sulfide', *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 34(2), pp. 81–82. doi: 10.1097/PAF.0b013e3182886d35.
- Scanlon, Valerie C. (2006). 'Buku Ajar Anatomi dan Fisiologi'. Jakarta; *EGC*.
- Shihana, Fathima. (2011). 'Method of Stabilizing Blood for the Determination of Methemoglobin'. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 25 : 366–368.
- Suhartati, T. (2017). 'Dasar-Dasar Spektrofotometer UV-VIS dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik'. Lampung: *Aura*.
- Wahyuningsih, Heni dan Yuni Kusmiyati. (2017). *Anatomi Fisiologi*. Jakarta: *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.