

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ISONIAZID DAN
PYRIDOXIN HCl MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN SIRUP**

SKRIPSI



Oleh :

Nimas Yuniarsih Herdiyanti

135010969

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2018**

SKRIPSI

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ISONIAZID DAN PYRIDOXIN
HCI MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI SERTA
APLIKASINYA DALAM SEDIAAN SIRUP**

**diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang**

Oleh :

Nimas Yuniarsih Herdiyanti

135010969

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul
VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ISONIAZID DAN
PYRIDOXIN HCI MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN SIRUP

Oleh :
Nimas Yuniarsih Herdiyanti
135010969

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
Pada tanggal : 17 Juli 2018

Pembimbing,

(Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt)

Mengetahui :
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan

(Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt)

Penguji :

1. Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt

(.....)

2. Anita Dwi Puspita Sari, S.Si., M.Pd

(.....)

3. Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt

(.....)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Nimas Yuniarsih Herdiyanti

NIM : 135010969

Judul Skripsi : Validasi Metode Penetapan Kadar Isoniazid dan Pyridoxin HCl
Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi serta
Aplikasinya dalam Sediaan Sirup.

Menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah dan disebutkan dalam pustaka.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 17 Juli 2018



Nimas Yuniarsih H.

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Jangan pernah berhenti untuk belajar, karena setiap ilmu yang kau dapatkan tidak akan pernah sia-sia.

“Where there is a hope, there is a life”

Skripsi ini kupersembahkan untuk :

Ibu, Bapak, Suami, Anak-anakku tercinta
beserta seluruh keluarga dan Universitas Wahid Hasyim Semarang

KATA PENGANTAR

Dengan Menyebut Nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang Segala puji dan rasa syukur semoga senantiasa tercurah kepada Allah SWT karena atas Ridho dan Rahman RahimNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Validasi Metode Penetapan Kadar Isoniazid dan Pyridoxin HCl Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi serta Aplikasinya dalam Sediaan Sirup”**. Keselamatan dan salam senantiasa bersanding kepada Habiballah Muhammad SAW yang atas cinta kasihnya, nafas Islam sampai kepada kami umatnya (amin). Skripsi ini disusun guna memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan memperoleh gelar sarjana Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini terdapat banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
2. Ibu Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt pula selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt dan Ibu Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd., selaku penguji skripsi atas saran, masukan dan koreksi terhadap skripsi ini.
4. Dosen-dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.

5. Pimpinan dan staf Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
6. PT. Phapros yang telah memberikan bantuan bahan untuk penelitian ini.
7. Ibu, Bapak, Saudara dan Suamiku atas limpahan doa, kasih sayang serta kehangatannya.
8. Teman-teman seperjuangan dalam mengemban skripsi ini Syafa'atun Ni'mah dan Risna Angela PP.
9. Sahabat-sahabat Hana Yunita Listanti, Anis Fauzia, Neng Faurtimar Dewi, Ani Maryam atas segala cerita, bahagia dan rasa.
10. Semua pihak yang telah membantu penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat, bagi perkembangan ilmu kefarmasian pada khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya.

Segala Puji Bagi Allah, Tuhan Semesta Alam.

Semarang, 17 Juli 2018



Nimas Yuniarsih H.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Isoniazid.....	4
2. Pyridoxin HCl.....	6
3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	7
4. Validasi.....	9

a. Presisi.....	10
b. Akurasi.....	11
c. Selektivitas	12
d. Linieritas	13
e. Sensitivitas (kepekaan).....	13
5.Sirup.....	14
F. Landasan Teori	15
G. Hipotesis	16
BAB II. METODE PENELITIAN.....	17
A. Alat Dan Bahan Penelitian.....	17
1. Bahan	17
2. Alat.....	17
B. Jalannya Penelitian	17
1. Pembuatan Larutan Stok Isoniazid	17
2. Pembuatan Larutan Stok Pyridoxin HCl.....	18
3. Pembuatan Dapar Fosfat pH 6,0.....	18
4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	18
5. Optimasi Komposisi Fase Gerak	18
6. Pembuatan Kurva Baku	19
7. Validasi	19
a.Uji Presisi (Ketelitian)	19
b.Uji Akurasi (Ketepatan)	20
c.Uji Selektivitas	20

d. Uji Linearitas.....	21
e. Uji Sensitivitas	21
8. Penetapan Kadar Isoniazid dan Pyridoxin HCl dalam sirup.....	22
C. Skema Jalannya Penelitian	24
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. Penentuan Panjang Gelombang untuk Analisis.....	25
B. Optimasi Komposisi Fase Gerak	26
C. Pembuatan Kurva Baku	27
D. Validasi Metode Analisis.....	29
1. Presisi (ketelitian)	29
2. Akurasi (ketepatan).....	30
3. Selektivitas.....	33
4. Linieritas	34
5. Sensitivitas	36
E. Penetapan kadar Isoniazid dan Pyridoxin HCl.....	36
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
A. Kesimpulan.....	38
B. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Parameter Validasi untuk Masing-Masing Tipe Metode Analit.....	10
Tabel II.	Nilai Perolehan Kembali Berdasarkan Besarnya Konsentrasi Analit.....	12
Tabel III.	Hasil Optimasi Komposisi Fase Gerak Campuran Dapar Fosfat:Asetonitril dengan Laju Alir 1,2 mL/menit.....	27
Tabel IV.	Pembuatan Kurva Baku dari Larutan Stok Baku Isoniazid dan Pyridoxin HCl.....	27
Tabel V.	Nilai SD dan RSD Uji Presisi Pyridoxine HCl.....	29
Tabel VI.	Nilai SD dan RSD Uji Presisi Isoniazid.....	30
Tabel VII.	Hasil Uji Akurasi Pyridoxin HCl dan Isoniazid Sirup A dengan Metode Penambahan Baku.....	31
Tabel VIII.	Hasil Uji Akurasi Pyridoxin HCl dan Isoniazid Sirup B dengan Metode Penambahan Baku.....	32
Tabel IX.	Hasil Uji Linieritas Pyridoxin HCl secara KCKT.....	35
Tabel X.	Hasil Uji Linieritas Isoniazid secara KCKT.....	35
Tabel XI.	Hasil Uji Penetapan Kadar Pyridoxin HCl dan Isoniazid dalam Sediaan Sirup.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur Kimia Isoniazid.....	5
Gambar 2.	Struktur Kimia Pyridoxin HCl.....	6
Gambar 3.	Skema Komponen KCKT.....	9
Gambar 4.	Skema Jalannya Penelitian.....	24
Gambar 5.	Hasil <i>Scanning</i> Optimasi Panjang Gelombang (λ).....	25
Gambar 6.	Kromatogram Hasil Optimasi Komposisi Fase Gerak.....	26
Gambar 7.	Grafik Kurva Baku Pyridoxin HCl.....	28
Gambar 8.	Grafik Kurva Baku Isoniazid.....	29
Gambar 9.	Contoh Kromatogram Selektivitas.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kromatogram Larutan Baku Pyridoxin HCl dan Isoniazid.....	43
Lampiran 2. Contoh Kromatogram Sampel Sirup A dan Sirup B.....	44
Lampiran 3. Contoh Perhitungan Perolehan Kembali Pyridoxin HCl dengan Metode <i>Standard Addition Method</i> Sirup A.....	45
Lampiran 4. Perhitungan LOD dan LOQ Isoniazid.....	47
Lampiran 5. Contoh Perhitungan Kadar Isoniazid.....	50
Lampiran 6. Perhitungan Selektivitas.....	51
Lampiran 7. Surat Permohonan Bahan Baku.....	52
Lampiran 8. <i>Certificate of Analysis</i> Isoniazid.....	53
Lampiran 9. <i>Certificate of Analysis</i> Pyridoxin HCl.....	54
Lampiran 10. Surat Keterangan Laboratorium.....	55
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian.....	56

INTISARI

Isoniazid dikenal luas sebagai obat lini pertama dalam pengobatan tuberculosis(TB). Tujuan penelitian ini adalah melakukan validasi metode penetapan kadar isoniazid dan vit B6 menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi serta aplikasinya dalam sediaan sirup.

Penetapan kadar Isoniazid dan pyridoxin HCl menggunakan KCKT Jasco dengan detektor UV-Vis. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak campuran dapar fosfat dan asetonitril (75 : 25) dengan waktu alir 1,2 mL/menit pada panjang gelombang 280 nm. Selanjutnya dilakukan uji validasi meliputi akurasi, presisi, selektivitas, linieritas dan sensitivitas. Metode analisis diaplikasikan terhadap 2 sediaan sirup pabrik yang berbeda.

Hasil penelitian menunjukkan hubungan yang linear antara luas area dengan konsentrasi (nilai $r = 0,99$ untuk isoniazid dan $r = 0,99$ untuk pyridoxin HCl). Nilai LoD dan LoQ isoniazid 2,65 dan 8,85 ppm serta pyridoxin HCl 0,33 dan 1,11 ppm. Uji presisi memiliki %RSD 0,48 untuk isoniazid dan 0,64 untuk pyridoxin HCl. Uji akurasi 80, 100, 120% didapatkan % perolehan kembali isoniazid dan pyridoxin HCl antara 98-102%. Uji selektifitas menghasilkan nilai resolusi 4,8. Kadar rata-rata Pyridoxin HCl dan Isoniazid masing-masing dalam sirup adalah 100,26% -100,27% dan 100,00-100,85%. Hasil validasi menunjukkan bahwa metode analisis ini valid dan dapat diaplikasikan pada KCKT tersebut.

Kata kunci : Isoniazid, Pyridoxin HCl, Sirup, Validasi, KCKT.

ABSTRACT

Isoniazid is widely used as the first-line antituberculosis drug . This study aims to validated an analytical methodology to determine isoniazid and pyridoxin HCl and its application in syrup by using HPLC.

Determination of isoniazid and pyridoxin HCl were performed using HPLC with UV-Vis detector set at 280 nm. As the stationary and mobile phase, respectively, C18 column and a mixture of phosphate buffer : acetonitrile (75:25v/v) were used with flowrate of 1,2 mL/minute. The validation parameters were ; accuracy, precision, selectivity, linearity, and sensitivity. This analysis method was applied to 2 groups of different syrup product.

Accuracy test obtained recovery between 98 - 102 %. Precision test had % RSD 0.48 for isoniazid and 0.64 for pyridoxine HCl. Selectivity test resulted 4,8 resolution value. Linearity test showed a linear relationship between area and concentration of isoniazid and pyridoxine HCl ($r = 0.99$). The value of isoniazid's LOD and LOQ was 2.65 and 8.85 ppm respectively, and pyridoxine HCl was 0.33 and 1.11 ppm. The selectivity test generating resolution value of isoniazid and pyridoxine HCl. Average levels of isoniazid and pyridoxine HCl were 100.26 - 100.27 and 100-100.85. The data above show that the analytical methodology is valid and can be apply to syrup product.

Keywords: Validation, Pyridoxine HCl, Isoniazid, Syrup, HPLC.

