

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
DAFTAR SINGKATAN .....	xviii
INTISARI .....	xxi
<i>ABSTRACT</i> .....	xxii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	5
C. Keaslian Penelitian .....	5
D. Urgensi Penelitian .....	6
E. Tujuan Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
A. Tinjauan Pustaka .....	7
1. Tinjauan tentang Furosemid .....	7
a. Farmakologi furosemid .....	8

b. Farmakokinetik furosemid .....	8
c. Analisis furosemid .....	9
2. Tinjauan tentang Propranolol HCl .....	9
3. Validasi Metode Analisis .....	10
a. Definisi validasi metode analisis .....	10
b. Parameter validasi metode analisis .....	14
4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) .....	21
B. Landasan Teori .....	22
C. Hipotesis .....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
A. Bahan dan Alat Penelitian .....	26
1. Bahan Penelitian .....	26
2. Alat Penelitian.....	26
B. Jalannya Penelitian .....	27
1. Pembuatan Larutan Bufer, Pelarut, Larutan Stok, dan Seri	
Larutan Standar .....	27
a. Pembuatan bufer fosfat 20 mM pH 3,0 .....	27
b. Pembuatan pelarut .....	28
c. Pembuatan larutan stok standar furosemid 1 mg/mL .....	28
d. Pembuatan larutan stok standar propranolol 1 mg/mL .....	28
e. Pembuatan larutan standar propranolol 10 µg/mL .....	28
f. Pembuatan seri larutan standar furosemid .....	28

2. Penyiapan Seri Konsentrasi Furosemid dalam Sampel Plasma	
untuk Kurva Kalibrasi dan Sampel Akurasi-Presisi .....	29
3. Penyiapan Konsentrasi Furosemid dalam Plasma untuk LOD ....	30
4. Penyiapan Blanko Sampel Plasma .....	30
5. Pengembangan Metode Analisis .....	30
6. Penentuan Panjang Gelombang Analisis .....	31
7. Uji Kesesuaian Sistem .....	32
8. Validasi Metode Analisis .....	33
a. Selektivitas .....	33
b. Kurva kalibrasi .....	33
c. Akurasi .....	34
d. Presisi .....	34
e. Stabilitas .....	34
f. LOD .....	35
g. <i>Robustness</i> (Ketahanan) .....	35
C. Variabel .....	36
1. Variabel Bebas .....	36
2. Variabel Terkendali .....	36
3. Variabel Tergantung .....	37
D. Definisi Operasional Variabel .....	37
E. Analisis Data .....	38
1. Kurva Kalibrasi .....	38
2. Akurasi .....	39

3. Presisi .....	39
4. Stabilitas .....	39
5. <i>Robustness</i> .....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	62
A. Kesimpulan .....	62
B. Saran .....	63
DAFTAR PUSTAKA .....	64
LAMPIRAN .....	69

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Metode Analisis Furosemid yang Telah Dikembangkan oleh Beberapa Peneliti .....	11
Tabel 2. Parameter Puncak Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Optimasi I) .....	44
Tabel 3. Parameter Puncak Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Optimasi II dan III) .....	47
Tabel 4. Parameter Puncak Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Kondisi Optimum) .....	48
Tabel 5. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Furosemid dan Propranolol dalam Preparat Plasma .....	51
Tabel 6. Hasil Perhitungan % <i>Error</i> pada Kurva Kalibrasi ( <i>Batch I</i> ) .....	53
Tabel 7. Hasil Studi Akurasi Metode Analisis .....	54
Tabel 8. Hasil Studi Presisi Metode Analisis .....	54
Tabel 9. Hasil Studi Stabilitas Furosemid dalam Preparat Plasma .....	56
Tabel 10. Hasil Studi Stabilitas Larutan Baku Kerja Furosemid dan Propranolol dalam Pelarut .....	56
Tabel 11. Hasil Injeksi Berulang pada Konsentrasi 100 ng/mL Furosemid dalam Preparat Plasma .....	57
Tabel 12. Parameter-Parameter KCKT pada Studi <i>Robustness</i> untuk Furosemid 1000 ng/mL .....	58

Tabel 13. Parameter-Parameter KCKT pada Studi <i>Robustness</i> untuk	
Propranolol 1000 ng/mL .....	59
Tabel 14. Pengaruh Variasi Perubahan Kondisi KCKT terhadap Hasil	
Analisis .....	60
Tabel 15. Waktu Retensi Furosemid dan Propranolol pada Berbagai	
Perbandingan Fase Gerak dan Kecepatan Alir .....	78
Tabel 16. Data Rekapitulasi Uji Kesesuaian Sistem Furosemid 1000 ng/mL	
dalam Preparat Plasma .....	79
Tabel 17. Data Rekapitulasi Uji Kesesuaian Sistem Propranolol 1000 ng/mL	
dalam Preparat Plasma .....	79
Tabel 18. Hasil Perhitungan % <i>Error</i> pada Kurva Kalibrasi ( <i>Batch</i> II) .....	83
Tabel 19. Hasil Perhitungan % <i>Error</i> pada Kurva Kalibrasi ( <i>Batch</i> III) .....	84
Tabel 20. Perhitungan Akurasi dan Presisi Metode Analisis Hari I	
( <i>within-run</i> ) .....	85
Tabel 21. Perhitungan Akurasi dan Presisi Metode Analisis Hari II	
( <i>within-run</i> ) .....	86
Tabel 22. Perhitungan Akurasi dan Presisi Metode Analisis Hari III	
( <i>within-run</i> ) .....	87
Tabel 23. Perhitungan Akurasi dan Presisi Metode Analisis <i>Between-run</i> .....	88
Tabel 24. Perhitungan % Perolehan Kembali pada Kadar 400 ng/mL	
Furosemid dalam Preparat Plasma .....	89
Tabel 25. Perhitungan Stabilitas Furosemid dalam Preparat Plasma yang	
Dipreparasi 4 Jam Setelah <i>Spiking</i> ( $25 \pm 2$ °C) .....	90

Tabel 26. Perhitungan Stabilitas Furosemid dalam Preparat Plasma Setelah	
Didiamkan 24 Jam di dalam <i>Autosampler</i> ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) .....	90
Tabel 27. Perhitungan Stabilitas Furosemid dalam Preparat Plasma Setelah	
Mengalami 3 Siklus Pembekuan ( $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dan Pencairan	
( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ( <i>Freeze and Thaw/FT</i> ) .....	91
Tabel 28. Perhitungan Stabilitas Larutan Baku Kerja Furosemid dan	
Propranolol dalam Penyimpanan di Lemari Pendingin ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )	
Selama 24 Jam .....	91
Tabel 29. Perhitungan Estimasi Nilai LOD .....	92
Tabel 30. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Panjang	
Gelombang Detektor ( $\lambda + 2 \text{ nm}$ ) .....	93
Tabel 31. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Panjang	
Gelombang Detektor ( $\lambda - 2 \text{ nm}$ ) .....	93
Tabel 32. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Kecepatan Alir	
(FR + 0,1 mL/menit) .....	94
Tabel 33. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Kecepatan Alir	
(FR - 0,1 mL/menit) .....	94
Tabel 34. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Komposisi Fase	
Gerak (FG Organik + 2%) .....	95
Tabel 35. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Komposisi Fase	
Gerak (FG Organik - 2%) .....	95
Tabel 36. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi pH Bufer	
(pH + 0,1 Unit) .....	96

Tabel 37. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi pH Bufer	
(pH – 0,1 Unit) .....	96
Tabel 38. Respon Analit pada Kondisi Optimum .....	97
Tabel 39. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi Panjang	
Gelombang Detektor ( $\lambda + 2$ nm) .....	97
Tabel 40. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi Panjang	
Gelombang Detektor ( $\lambda - 2$ nm) .....	98
Tabel 41. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi Kecepatan	
Alir (FR + 0,1 mL/menit) .....	98
Tabel 42. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi Kecepatan	
Alir (FR – 0,1 mL/menit) .....	98
Tabel 43. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi Komposisi	
Fase Gerak (FG Organik + 2%) .....	99
Tabel 44. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi Komposisi	
Fase Gerak (FG Organik – 2%) .....	99
Tabel 45. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi pH Bufer	
(pH + 0,1 Unit) .....	99
Tabel 46. Respon Analit pada Studi <i>Robustness</i> dengan Variasi pH Bufer	
(pH – 0,1 Unit) .....	100
Tabel 47. Uji Normalitas .....	101
Tabel 48. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
Panjang Gelombang Detektor ( $\lambda + 2$ nm) .....	102



Tabel 49. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
Panjang Gelombang Detektor ( $\lambda - 2 \text{ nm}$ ) .....	102
Tabel 50. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
Kecepatan Alir (FR + 0,1 mL/menit) .....	103
Tabel 51. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
Kecepatan Alir (FR – 0,1 mL/menit) .....	103
Tabel 52. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
Komposisi Fase Gerak (FG Organik + 2%) .....	104
Tabel 53. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
Komposisi Fase Gerak (FG Organik – 2%) .....	104
Tabel 54. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
pH Bufer (pH + 0,1 Unit) .....	105
Tabel 55. Hasil Uji Varian dan Uji t antara Kondisi Optimal dengan Variasi	
pH Bufer (pH – 0,1 Unit) .....	105
Tabel 56. Rekapitulasi Hasil Uji Homogenitas dan Uji t pada Studi	
<i>Robustness</i> .....	106

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Struktur Kimia Furosemid .....	7
Gambar 2. Struktur Kimia Propranolol .....	10
Gambar 3. Profil Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Optimasi I) .....	43
Gambar 4. Profil Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Optimasi II) .....	45
Gambar 5. Profil Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Optimasi III) .....	46
Gambar 6. Profil Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Kondisi KCKT (Kondisi Optimum) .....	48
Gambar 7. Hasil <i>Scanning</i> $\lambda$ Furosemid dan Propranolol pada Daerah UV ..	50
Gambar 8. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Furosemid dalam Preparat Plasma dengan Rasio AUC ( <i>Batch</i> I) .....	53
Gambar 9. Kromatogram Furosemid dan Propranolol pada Uji Kesesuaian Sistem .....	82
Gambar 10. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Furosemid dalam Preparat Plasma dengan Rasio AUC ( <i>Batch</i> II) .....	83
Gambar 11. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Furosemid dalam Preparat Plasma dengan Rasio AUC ( <i>Batch</i> III) .....	84

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. CoA Furosemid .....	69
Lampiran 2. CoA Propranolol .....	70
Lampiran 3. Perhitungan Penimbangan $\text{KH}_2\text{PO}_4$ dalam Pembuatan Bufer Fosfat 20 mM pH 3,0 .....	76
Lampiran 4. Perubahan Waktu Retensi Furosemid dan Propranolol pada Berbagai Perbandingan Fase Gerak dan Kecepatan Alir .....	78
Lampiran 5. Data Parameter dan Gambar Kromatogram pada Uji Kesesuaian Sistem .....	79
Lampiran 6. Kurva Kalibrasi untuk <i>Batch</i> II dan III .....	83
Lampiran 7. Perhitungan Akurasi dan Presisi .....	85
Lampiran 8. Perhitungan % Perolehan Kembali pada Kadar LLOQ .....	89
Lampiran 9. Studi Stabilitas .....	90
Lampiran 10. Perhitungan Estimasi LOD .....	92
Lampiran 11. Studi <i>Robustness</i> Ditinjau dari Parameter KCKT pada Furosemid 1000 ng/mL dan Propranolol 1000 ng/mL .....	93
Lampiran 12. Analisis Statistik untuk Studi <i>Robustness</i> pada Furosemid 1000 ng/mL dan Propranolol 1000 ng/mL .....	97

## DAFTAR SINGKATAN

ACE	<i>Angiotensine Converting Enzyme</i>
ACN	<i>Acetonitrile/Asetonitril</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
BA/BE	Bioavailabilitas dan Bioekivalensi
$\beta$	Beta
BP	<i>British Pharmacopoeia</i>
BPOM	Badan Pengawas Obat dan Makanan
Cl <sup>-</sup>	<i>Chlorida</i>
CoA	<i>Certificate of Analysis</i>
CV	<i>Coefficient Variation</i>
DEPKES	Departemen Kesehatan
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FG	Fase Gerak
FR	<i>Flow Rate/Kecepatan Alir</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infra Red</i>
FUR	Furosemid
GC	<i>Gas Chromatography</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
k	Kapasitas kolom

K <sup>+</sup>	<i>Kalium</i>
KCKT	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kalium Dihidrogen Fosfat
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i>
LLOQ	<i>Lower Limit of Quantification</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
MS/MS	<i>Tandem Mass Spectrometry</i>
mAU	Mili Absorban Unit
mV	Mili Volt
N	Nitrogen
N	<i>Number of Theoretical Plate</i>
Na <sup>+</sup>	<i>Natrium</i>
NaCl	<i>Natrium Chlorida</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
O	Oksigen
ODS	<i>Octadecyl silane</i>
PMI	Palang Merah Indonesia
PROP	Propranolol
RP-HPLC	<i>Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
RPLC	<i>Reversed Phase Liquid Chromatography</i>
RPM	Radial Per Menit

Rs	Resolusi
RSD	<i>Relative Standart Deviation</i>
S	Sulfur
SD	Standar Deviasi
SDS	Sodium Dodecyl Sulfat
S/N	<i>Signal/Noise</i>
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
TEA	Trietilamin
TF	<i>Tailing Factor</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
$t_R$ /TR	<i>Retention time</i> /Waktu Retensi
UKS	Uji Kesesuaian Sistem
ULOQ	<i>Upper Limit of Quantification</i>
UNODC	<i>United Nations Office on Drugs and Crime</i>
USP	<i>United State Pharmacopoeia</i>
UV	Ultraviolet
Vis	Visibel