

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
BAB III METODE PENELITIAN	26
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 II</i>)	83
Tabel 19. Hasil Perhitungan % <i>Error</i> pada Kurva Kalibrasi (<i>Batch III</i>)	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 ± 2 °C)	90

Tabel 26. Perhitungan Stabilitas Furosemid dalam Preparat Plasma Setelah Didiamkan 24 Jam di dalam <i>Autosampler</i> (25 ± 2 °C)	90
Tabel 27. Perhitungan Stabilitas Furosemid dalam Preparat Plasma Setelah Mengalami 3 Siklus Pembekuan (-20 ± 2 °C) dan Pencairan (25 ± 2 °C) (<i>Freeze and Thaw/FT</i>)	91
Tabel 28. Perhitungan Stabilitas Larutan Baku Kerja Furosemid dan Propranolol dalam Penyimpanan di Lemari Pendingin (4 ± 2 °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 ($\lambda + 2$ nm)	93
Tabel 31. Data Rekapitulasi Uji <i>Robustness</i> dengan Variasi Panjang Gelombang Detektor ($\lambda - 2$ 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 ($\lambda - 2$ 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

	Halaman
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> λ 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

	Halaman
Lampiran 1. CoA Furosemid	69
Lampiran 2. CoA Propranolol	70
Lampiran 3. Perhitungan Penimbangan KH_2PO_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
β	Beta
BP	<i>British Pharmacopoeia</i>
BPOM	Badan Pengawas Obat dan Makanan
Cl ⁻	<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 ⁺	<i>Kalium</i>
KCKT	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KH ₂ PO ₄	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 ⁺	<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/Waktu Retensi</i>
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