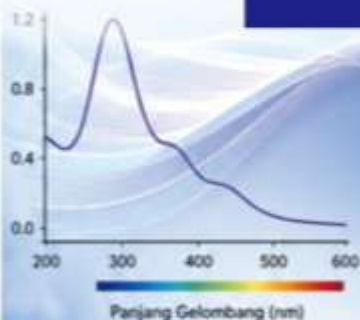


# METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Prinsip-prinsip dan Aplikasi Kuantifikasi  
Senyawa Farmasi dan Bahan Alam

Penulis :  
Sentot Joko Raharjo





BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

Sentot Joko Raharjo

**Metode**  
**Spektrofotometri UV-Vis**  
Prinsip-prinsip dan Aplikasi Kuantifikasi  
Senyawa Farmasi dan Bahan Alam



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

Diterbitkan oleh:



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

# **Metode Spektrofotometri UV-Vis**

## **Prinsip-prinsip dan Aplikasi Kuantifikasi Senyawa Farmasi dan Bahan Alam**

Ditulis Oleh: **Sentot Joko Raharjo**

ISBN : Proses Pengajuan  
Halaman : x, 240, Uk: 15.5 x23 cm  
Cetakan Pertama : Juli 2026

Editor : Anggraeni In Oktavia, S.P., M.Ling.  
Layouter : Cindy Charisma Satriyo  
Desain Cover : Moch Mahsun

Diterbitkan Pertama Kali Oleh :  
**Branded Tech Publisher**  
(Grup Penerbitan CV Branded Tech Indonesia)

Alamat: Dusun Krajan RT 02 RW 01 Tempuran Bantaran  
Probolinggo Jawa Timur 67261| Hp : 0811101665  
Website: [www.brandedtechpublisher.biz.id](http://www.brandedtechpublisher.biz.id)  
E-mail: [brandedtechIndonesia@gmail.com](mailto:brandedtechIndonesia@gmail.com)

**Anggota IKAPI Nomor: 458/JTI/2025**  
**Tanggal: 1 November 2025**

Hak Cipta pada penulis, Isi diluar tanggung jawab percetakan  
Copyright © 2026 by Branded Tech Publisher | All Right Reserved  
Hak cipta dilindungi undang-undang, dilarang keras  
menerjemahkan, memfotokopi, atau memperbanyak sebagian  
atau seluruh isi buku ini

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya buku yang berjudul "Metode Spektrofotometri UV-Vis; Prinsip-prinsip dan Aplikasi Kuantifikasi Senyawa Farmasi dan Bahan Alam" ini dapat diselesaikan. Buku ini disusun sebagai bahan ajar dan rujukan bagi mahasiswa program studi Teknik Kimia, Kefarmasian, Kimia, serta praktisi laboratorium yang membutuhkan pemahaman dasar dan terapan tentang teknik instrumentasi spektral, khususnya spektrofotometri UV-Vis.

Buku ini menghadirkan pembahasan yang sistematis mulai dari konsep fisika dasar hingga aplikasi praktis dalam analisis senyawa organik, obat-obatan, dan bahan alam. Materi disusun dalam sembilan bab utama yang saling berkesinambungan:

- Tahapan analisis kuantitatif UV-Vis: menguraikan alur kerja analitik dari persiapan hingga pelaporan hasil, termasuk kalibrasi, verifikasi metode, serta kontrol kualitas.
- Analisis kuantitatif UV-Vis senyawa obat: menyajikan metode kuantifikasi obat menggunakan UV-Vis, strategi mengatasi matriks kompleks, dan contoh studi kasus.
- Analisis kuantitatif UV-Vis senyawa bahan alam: membahas tantangan dan pendekatan dalam menentukan komponen aktif bahan alam, termasuk penanganan ekstrak kompleks dan validasi metode.

Penulis menyadari bahwa buku ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang konstruktif sangat diharapkan untuk penyempurnaan edisi selanjutnya. Terima kasih penulis sampaikan kepada rekan-rekan sejawat, mahasiswa, dan pihak-pihak yang telah

memberikan dukungan serta masukan selama proses penyusunan.

Akhir kata, semoga buku ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan praktik analitik di bidang teknik kimia, farmasi, maupun kimia analitik.

Malang, Juni 2026

Penulis

Sentot Joko Raharjo



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

## Capaian Pembelajaran

Setelah mempelajari buku ini, mahasiswa mampu:

- Melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis.
- Menyiapkan alat, bahan, dan sampel sesuai SOP.
- Menentukan *Operating time*,  $\lambda_{\text{maks}}$ , kurva baku, dan kadar sampel.

## CPMK Mata Kuliah

### Teknik Analisis Spektrofotometri UV-Vis

#### CPMK 5

Mahasiswa mampu menyiapkan alat, bahan, dan sampel serta mengoperasikan spektrofotometer UV-Vis sesuai prosedur baku.

#### CPMK 6

Mahasiswa mampu melaksanakan tahapan analisis kuantitatif UV-Vis, mulai dari penentuan *Operating time*, panjang gelombang maksimal, kurva baku, hingga penentuan kadar sampel.

#### CPMK 7

Mahasiswa mampu menganalisis senyawa obat dan senyawa bahan alam secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis.

## Sub-CPMK per Bab

### BAB 1. Tahapan Analisis Kuantitatif UV-Vis

Sub-CPMK 7.1 Menjelaskan konsep *Operating time*.

Sub-CPMK 7.2 Menentukan panjang gelombang maksimal suatu zat.

Sub-CPMK 7.3 Mengukur serapan pada  $\lambda_{maks}$ .

Sub-CPMK 7.4 Menyusun kurva baku berdasarkan data standar.

Sub-CPMK 7.5 Menggunakan regresi linier untuk menentukan persamaan garis.

Sub-CPMK 7.6 Menghitung kadar sampel berdasarkan kurva baku.

Sub-CPMK 7.7 Menafsirkan hasil analisis secara kuantitatif.

### BAB 2. Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis

#### Senyawa Obat

Sub-CPMK 8.1 Menjelaskan karakteristik senyawa obat yang dapat dianalisis dengan UV-Vis.

Sub-CPMK 8.2 Menentukan metode analisis yang sesuai untuk senyawa obat.

Sub-CPMK 8.3 Menghitung kadar obat dengan metode UV-Vis.

Sub-CPMK 8.4 Menjelaskan contoh penerapan UV-Vis pada analisis sediaan farmasi.

Sub-CPMK 8.5 Menilai hasil analisis obat secara kritis.

## **BAB 3. Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis**

### **Senyawa Bahan Alam**

Sub-CPMK 9.1 Menjelaskan karakteristik bahan alam yang dapat dianalisis dengan UV-Vis.

Sub-CPMK 9.2 Mengidentifikasi senyawa aktif bahan alam yang memiliki kromofor.

Sub-CPMK 9.3 Menjelaskan teknik analisis kuantitatif ekstrak bahan alam.

Sub-CPMK 9.4 Menghitung kadar senyawa aktif pada sampel bahan alam.

Sub-CPMK 9.5 Menjelaskan faktor matriks yang memengaruhi hasil analisis bahan alam.



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

## DAFTAR ISI

|                                                                       |            |
|-----------------------------------------------------------------------|------------|
| KATA PENGANTAR .....                                                  | IV         |
| DAFTAR ISI .....                                                      | X          |
| <b>BAB I .....</b>                                                    | <b>1</b>   |
| <b>TAHAPAN ANALISIS KUANTITATIF UV-VIS .....</b>                      | <b>1</b>   |
| A. SUB-CPMK .....                                                     | 1          |
| B. PENDAHULUAN .....                                                  | 1          |
| C. URAIAN MATERI .....                                                | 14         |
| <b>BAB II .....</b>                                                   | <b>79</b>  |
| <b>ANALISIS KUANTITATIF SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS SENYAWA OBAT.....</b> | <b>79</b>  |
| B. PENDAHULUAN .....                                                  | 79         |
| E. PROSEDUR ANALISIS .....                                            | 124        |
| F. RANGKUMAN .....                                                    | 148        |
| F. LATIHAN SOAL .....                                                 | 159        |
| G. TUGAS MANDIRI/STUDI KASUS.....                                     | 159        |
| <b>BAB III.....</b>                                                   | <b>161</b> |
| <b>ANALISIS KUANTITATIF UV-VIS SENYAWA BAHAN ALAM .....</b>           | <b>161</b> |
| A. SUB-CPMK .....                                                     | 161        |
| B. PENDAHULUAN.....                                                   | 161        |
| C. URAIAN MATERI .....                                                | 172        |
| D. CONTOH KASUS .....                                                 | 186        |
| E. PROSEDUR ANALISIS <sup>[35-42]</sup> .....                         | 197        |
| F. RANGKUMAN.....                                                     | 218        |
| G. LATIHAN SOAL .....                                                 | 228        |
| H. TUGAS MANDIRI/STUDI KASUS .....                                    | 229        |

|                      |     |
|----------------------|-----|
| DAFTAR PUSTAKA ..... | 231 |
| PROFIL PENULIS ..... | 237 |





# BAB I

## Tahapan Analisis Kuantitatif UV-Vis

### A. SUB-CPMK

Mahasiswa mampu melaksanakan tahapan analisis kuantitatif UV-Vis mulai dari penentuan *Operating time*,  $\lambda_{\text{maks}}$ , pembuatan kurva baku, hingga penentuan kadar sampel.

### B. PENDAHULUAN

#### 1. Analisis Kuantitatif UV-VIS Membutuhkan Tahapan Awal Sistematis. <sup>[1-4]</sup>

##### A. Pengertian Analisis Kuantitatif UV-Vis

Analisis kuantitatif spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa dalam suatu larutan berdasarkan penyerapan cahaya ultraviolet (UV) atau cahaya tampak (Vis) oleh senyawa tersebut. Metode ini didasarkan pada Hukum Lambert-Beer, yang menyatakan bahwa absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c) senyawa:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

di mana:

- A = absorbansi (tidak berdimensi)
- $\varepsilon$  = koefisien absorptivitas molar ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )
- b = panjang jalur optik kuvet (cm)
- c = konsentrasi senyawa (mol/L)

## **B. Mengapa Tidak Dapat Dilakukan Secara Langsung?**

Analisis kuantitatif UV-Vis tidak dapat dilakukan secara langsung tanpa tahapan awal yang sistematis karena beberapa alasan fundamental:

### **1. Sampel Berupa Sediaan Padat (Tablet, Kaplet):**

- Sebagian besar obat dalam sediaan tablet atau bahan alam dalam bentuk serbuk
- Senyawa aktif belum terlarut dalam pelarut
- Tidak dapat langsung dimasukkan ke kompartemen sampel spektrofotometer
- Perlu pelarutan terlebih dahulu untuk menghasilkan larutan

### **2. Adanya Eksipien dalam Sediaan Tablet:**

- Tablet mengandung eksipien (bahan tambahan) seperti:
  - Amilum (pati) sebagai pengisi
  - Magnesium stearat sebagai pelicin
  - Talc sebagai penstabil
  - Colorant sebagai pewarna
- Eksipien ini tidak larut sempurna dalam pelarut
- Partikel tidak larut akan menghambur cahaya → absorbansi meningkat → overestimasi konsentrasi
- Perlu filtrasi untuk menghilangkan partikel

### **3. Konsentrasi Awal Terlalu Tinggi:**

- Setelah pelarutan, konsentrasi senyawa biasanya terlalu tinggi (1.000 ppm atau lebih)
- Absorbansi akan melebihi 0,8 (di luar rentang linear)

- Hukum Lambert-Beer tidak valid pada absorbansi tinggi
- Perlu pengenceran hingga konsentrasi kerja 50-150 ppm (A 0,2-0,8)

#### 4. Kebutuhan Validitas Metode:

- Analisis kuantitatif memerlukan validitas metode yang terjamin
- Kurva baku harus dibuat terlebih dahulu untuk hubungan  $A \propto c$
- Parameter validasi:  $R^2 \geq 0,999$ ,  $slope > 0,001$ ,  $intercept < 0,005$
- Perlu preparasi standar dan pengukuran kurva baku

#### 5. Koreksi Blanko Wajib:

- Pelarut dan kuvet memiliki absorbansi kecil
- Perlu *baseline/zeroing* dengan blanko untuk set A = 0
- Tanpa blanko: absorbansi sampel termasuk A\_blanko → overestimasi
- Perlu preparasi blanko

### C. Tahapan Awal yang Sistematis

Urutan tahapan yang harus dilakukan sebelum analisis kuantitatif:

| No | Tahapan                         | Tujuan                      |
|----|---------------------------------|-----------------------------|
| 1  | Penyiapan alat dan bahan        | Persiapan lengkap           |
| 2  | Penimbangan bobot analitis      | Sample representative       |
| 3  | Pelarutan                       | Membuat larutan             |
| 4  | Filtrasi                        | Hilang partikel tidak larut |
| 5  | Pengenceran                     | Konsentrasi kerja ideal     |
| 6  | Penentuan <i>Operating time</i> | A stabil                    |

|   |                            |                        |
|---|----------------------------|------------------------|
| 7 | Penentuan $\lambda_{\max}$ | Sensitivitas maksimum  |
| 8 | Pembuatan kurva baku       | Hubungan $A \propto c$ |
| 9 | Pengukuran sampel          | Analisis kuantitatif   |

#### Kesalahan urutan:

- Analisis kuantitatif sebelum *Operating time* → RSD tinggi
- Analisis kuantitatif sebelum  $\lambda_{\max}$  → sensitivitas rendah
- Analisis kuantitatif tanpa filtrasi → overestimasi
- Hasil tidak valid, tidak dapat dipertanggungjawabkan

## 2. *Operating time* diperlukan untuk kondisi larutan stabil

### A. Pengertian *Operating time*

*Operating time* adalah waktu ketika absorbansi larutan menjadi stabil (tidak berubah lagi terhadap waktu). Setelah *Operating time* tercapai, absorbansi larutan konstan dan dapat diukur untuk analisis kuantitatif.

### B. Mengapa Absorbansi Tidak Stabil Segera?

Beberapa senyawa tidak memberikan absorbansi yang stabil segera setelah preparasi karena: <sup>[5-6]</sup>

#### 1. Degradasi Senyawa:

- Beberapa senyawa terdegradasi perlahan dalam pelarut
- Contoh: Vitamin C terdegradasi oksidatif dalam air
- Degradasi → konsentrasi berubah → absorbansi berubah

- Perlu waktu hingga degradasi stabil atau mencapai equilibrium

## 2. Equilibrium Senyawa:

- Senyawa butuh waktu untuk mencapai equilibrium dalam pelarut
- Contoh: Kompleks metal butuh waktu untuk terbentuk sempurna
- Sebelum equilibrium: konsentrasi berubah  $\rightarrow$  A berubah
- Perlu waktu hingga equilibrium tercapai

## 3. Reaksi dengan Pelarut:

- Beberapa senyawa bereaksi dengan pelarut (misal: hidrolisis)
- Contoh: Beberapa obat bereaksi dengan air
- Reaksi  $\rightarrow$  konsentrasi berubah  $\rightarrow$  A berubah
- Perlu waktu hingga reaksi selesai

## 4. Temperature Belum Stabil:

- Larutan baru preparasi mungkin temperature belum stabil
- Temperature mempengaruhi absorbansi ( $\epsilon$  berubah)
- Perlu waktu hingga temperature stabil (sama dengan lingkungan)

## C. Prosedur Penentuan *Operating time*

### 1. Siapkan sampel dalam kuvet:

- Volume 2-3 mL
- Tidak ada gelembung

## 2. Masukkan kompartemen:

- Posisi tepat
- Tutup kompartemen

## 3. Set $\lambda = \lambda$ yang akan digunakan:

- Untuk parasetamol:  $\lambda = 254 \text{ nm}$  (setelah *scanning*)

## 4. Ukur A setiap interval waktu:

| Waktu (min) | Absorbansi (A) |
|-------------|----------------|
| 0           | 0,505          |
| 1           | 0,507          |
| 2           | 0,508          |
| 3           | 0,509          |
| 4           | 0,509          |
| 5           | 0,509          |
| 6           | 0,509          |

← Stabil mulai sini

## 5. Identifikasi saat A stabil:

- A tidak berubah (konstan) pada  $t = 3, 4, 5, 6 \text{ min}$
- Stabil pada  $t = 3\text{-}5 \text{ min}$

## 6. Tentui *Operating time*:

- *Operating time* = 5 menit (saat A stabil)
- Mulai pengukuran setelah 5 min

## D. *Operating time* Berbagai Senyawa

| Senyawa     | <i>Operating time</i> | Alasan                |
|-------------|-----------------------|-----------------------|
| Parasetamol | 0-5 min               | Stabil segera         |
| Vitamin C   | 5-10 min              | Degradasi oksidatif   |
| Kompleks Fe | 10-15 min             | Waktu reaksi kompleks |
| Vitamin A   | 0 min                 | Stabil segera         |

### E. Dampak Tidak Tentui *Operating time*

| Masalah                 | Dampak                      |
|-------------------------|-----------------------------|
| Mengukur sebelum stabil | A berubah setiap pengukuran |
| RSD tinggi (> 1%)       | Data tidak presisi          |
| c tidak konsisten       | % kadar tidak akurat        |
| Keputusan mutu salah    | FAIL palsu atau PASS palsu  |

Contoh:

- $t = 0 \text{ min}$ :  $A = 0,505 \rightarrow c = 99 \text{ ppm}$
- $t = 5 \text{ min}$ :  $A = 0,509 \rightarrow c = 100 \text{ ppm}$
- $RSD = 0,4\%$  (jika mengukur  $t = 0$  dan  $5$ )
- Jika *Operating time* = 5 min, hanya ukur setelah 5 min  
 $\rightarrow RSD = 0\%$

3.  $\lambda_{\max}$  ditentukan setelah *Operating time* untuk Kepekaan Terbaik

#### A. Pengertian $\lambda_{\max}$

$\lambda_{\max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah panjang gelombang dimana senyawa memiliki absorbansi tertinggi. Dari spektrum *scanning*:

| $\lambda \text{ (nm)}$ | Absorbansi (A)                                         |
|------------------------|--------------------------------------------------------|
| 200                    | 0,100                                                  |
| 220                    | 0,250                                                  |
| 240                    | 0,450                                                  |
| <b>254</b>             | <b>0,510</b> $\leftarrow \lambda_{\max}$ (A tertinggi) |
| 260                    | 0,480                                                  |
| 280                    | 0,300                                                  |
| 300                    | 0,150                                                  |
| 400                    | 0,050                                                  |

$$\lambda_{\max} = 254 \text{ nm (A = 0,510)}$$

## B. Mengapa $\lambda_{\max}$ DITENTUKAN SETELAH *Operating time*?

Urutan yang benar:

1. *Operating time* → tunggu A stabil
2.  $\lambda_{\max}$  → *scanning* spektrum
3. Kuantitatif → ukur pada  $\lambda_{\max}$

Mengapa tidak sebaliknya?

### 1. *Scanning* Sebelum Stabil:

- A berubah setiap *scanning* (belum stabil)
- $\lambda_{\max}$  yang terdeteksi tidak akurat
- A tertinggi mungkin berubah
- $\lambda_{\max}$  bias

### 2. Contoh:

- $t = 0$  min (belum stabil):  $\lambda_{\max} = 254$  nm,  $A = 0,505$
- $t = 5$  min (stabil):  $\lambda_{\max} = 254$  nm,  $A = 0,509$
- $\lambda_{\max}$  sama, tetapi A berbeda
- Jika *scanning* sebelum stabil, A tidak mewakili kondisi sebenarnya

### 3. Urutan yang Tepat:

- *Operating time* dulu: Tunggu A stabil → A konsisten
- *Scanning*  $\lambda_{\max}$ :  $\lambda_{\max}$  akurat karena A stabil
- Kuantitatif pada  $\lambda_{\max}$ : A akurat, sensitivitas maksimum

## C. Mengapa Pengukuran pada $\lambda_{\max}$ Memberikan Kepekaan Terbaik?

## 1. Sensitivitas Maksimum:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- Absorbansi tertinggi ( $A = 0,510$  untuk parasetamol)
- *Slope* kurva baku besar ( $a = 0,0051$ )
- Sensitivitas = *slope* → sensitivitas tinggi

Hubungan:

$$A = a \cdot c + b$$

- *Slope* ( $a$ ) besar = sensitivitas tinggi
- Perubahan kecil  $c \rightarrow$  perubahan besar  $A$
- Deteksi konsentrasi rendah lebih baik

Dampak tidak pada  $\lambda_{\max}$ :

- $\lambda = 240$  nm (bukan  $\lambda_{\max}$ ):  $A = 0,450 \rightarrow \text{slope} = 0,0045$
- Sensitivitas lebih rendah 12%
- Error lebih besar

## 2. Akurasi Terbaik:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- $A$  stabil (tidak fluktuatif)
- Fluktuasi instrument minimal
- Data akurat

Tidak pada  $\lambda_{\max}$ :

- $A$  fluktuatif
- RSD tinggi
- Data tidak akurat

## 3. Selektivitas:

$\lambda_{\max}$  **unik** untuk setiap senyawa:

- Parasetamol:  $\lambda_{\max} = 254$  nm
- Ibuprofen:  $\lambda_{\max} = 264$  nm
- Vitamin C:  $\lambda_{\max} = 265$  nm

Pentingness:

- Interferensi minimal dari senyawa lain
- Selektivitas tinggi → analisis spesifik

Tidak pada  $\lambda_{\max}$ :

- Interferensi lebih besar
- Selektivitas rendah

#### 4. Linearitas Baik:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- Hukum Lambert-Beer valid ( $A \propto c$ )
- $R^2 \geq 0,999$  (linearitas sangat baik)

Tidak pada  $\lambda_{\max}$ :

- Non-linearitas mungkin terjadi
- $R^2 < 0,999$
- Metode tidak valid

#### D. Dampak Tidak pada $\lambda_{\max}$

| $\lambda$ (nm)           | A     | c (ppm) | Error |
|--------------------------|-------|---------|-------|
| 254 ( $\lambda_{\max}$ ) | 0,510 | 100     | 0% ✓  |
| 240                      | 0,450 | 88      | 12% ✗ |
| 270                      | 0,400 | 78      | 22% ✗ |

Kesalahan besar jika tidak pada  $\lambda_{\max}$ !

#### 4. Tahapan ini Lazim digunakan dalam Penetapan Kadar Senyawa Farmasi dan Bahan Alam

##### A. Aplikasi dalam Senyawa Farmasi

##### 1. Penetapan Kadar Obat dalam Tablet:

| Obat        | $\lambda_{\max}$ (nm) | Konsentrasi Kerja (ppm) |
|-------------|-----------------------|-------------------------|
| Parasetamol | 254                   | 50-150                  |
| Ibuprofen   | 264                   | 50-150                  |
| Vitamin C   | 265                   | 50-150                  |
| Vitamin A   | 325                   | 50-150                  |

### Prosedur:

- Penimbangan bobot analitis
- Pelarutan
- Filtrasi (untuk tablet)
- Pengenceran
- *Operating time*
- $\lambda_{\max}$
- Kurva baku
- Pengukuran sampel

### 2. Penetapan Kadar Obat dalam Sediaan Lain:

| Sediaan | Prosedur Khusus                          |
|---------|------------------------------------------|
| Kapsul  | Buka kapsul, ambil isi, larut            |
| Sirup   | Langsung encerkan (tidak perlu filtrasi) |
| Injeksi | Langsung encerkan (tidak perlu filtrasi) |
| Krim    | Ekstraksi dengan pelarut organik         |

### B. Aplikasi dalam Bahan Alam

#### 1. Penetapan Kadar Senyawa Aktif Bahan Alam:

| Senyawa Bahan Alam     | $\lambda_{\max}$<br>(nm) | Konsentrasi Kerja<br>(ppm) |
|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Kurkumin (kunyit)      | 425                      | 50-150                     |
| Gingsenosida (ginseng) | 254                      | 50-150                     |
| Katekin (teh)          | 280                      | 50-150                     |
| Antosianin (buah)      | 520                      | 50-150                     |

#### 2. Prosedur Khusus Bahan Alam:

##### a. Ekstraksi:

- Bahan alam biasanya serbuk atau kering
- Perlu ekstraksi dengan pelarut sesuai
- Contoh: Kunyit → ekstraksi dengan metanol

### b. Pemurnian (Purifikasi):

- Bahan alam mengandung banyak senyawa
- Perlu purifikasi untuk isolasi senyawa target
- Teknik: Kromatografi, filtrasi

### c. Filtrasi:

- Partikel bahan alam tidak larut
- Wajib filtrasi (sama seperti tablet)

## C. Standar Regulasi

### 1. Farmakope Indonesia:

- Metode UV-Vis diakui untuk penetapan kadar obat
- Prosedur standar: pelarutan → filtrasi → pengenceran → *Operating time* →  $\lambda_{\max}$  → kurva baku → pengukuran
- Validasi:  $R^2 \geq 0,999$ , Recovery 98-102%

### 2. BPOM Indonesia:

- Analisis mutu obat wajib sesuai SOP
- Tahapan sistematis wajib dilakukan
- Dampak tidak sesuai: Hasil tidak valid, tidak dapat dipertanggungjawabkan hukum

### 3. USP (United States Pharmacopeia):

- Metode UV-Vis standar internasional
- Prosedur sama dengan Farmakope Indonesia
- Validitas metode wajib

## D. Keunggulan Metode UV-Vis

| Aspek     | Keuntungan                  |
|-----------|-----------------------------|
| Sederhana | Prosedur mudah, tidak rumit |
| Cepat     | Analisis 30-60 menit        |
| Akurat    | Error < 2%                  |
| Presisi   | RSD < 1%                    |
| Sensitif  | Deteksi hingga ppm          |
| Murah     | Biaya rendah, alat tersedia |
| Valid     | Diakui Farmakope, BPOM, USP |

## 5. Kesimpulan

1. Analisis kuantitatif UV-Vis tidak dapat dilakukan secara langsung:

- Sampel padat perlu pelarutan
- Eksipien perlu filtrasi
- Konsentrasi tinggi perlu pengenceran
- Perlu tahapan awal sistematis

2. *Operating time* diperlukan agar larutan stabil:

- Degradasi, equilibrium, reaksi butuh waktu
- Absorbansi tidak stabil segera
- Tunggu A stabil sebelum pengukuran
- Tanpa *Operating time* → RSD tinggi

3.  $\lambda_{\text{max}}$  ditentukan setelah *Operating time*:

- *Operating time* dulu → A stabil
- *Scanning*  $\lambda_{\text{max}}$  →  $\lambda$  akurat
- Pengukuran pada  $\lambda_{\text{max}}$  → kepekaan terbaik

4. Kepekaan terbaik pada  $\lambda_{\text{max}}$ :

- Sensitivitas maksimum (A tertinggi)

- Akurasi terbaik (A stabil)
- Selektivitas tinggi ( $\lambda$  unik)
- Linearitas baik ( $R^2 \geq 0,999$ )

#### 5. Tahapan ini lazim untuk farmasi dan bahan alam:<sup>[6]</sup>

- Obat tablet: parasetamol, ibuprofen, vitamin
- Bahan alam: kurkumin, ginsenosida, katekin
- Diakui Farmakope, BPOM, USP

Penerapan tahapan sistematis (*Operating time*  $\rightarrow \lambda_{\max} \rightarrow$  kuantitatif) menjamin hasil analisis yang akurat, presisi, valid, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan hukum..<sup>[6][3]</sup>

### C. URAIAN MATERI

#### Tahapan Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis<sup>[55]</sup>

##### 1. Penentuan *Operating time*

###### A. Pengertian *Operating time*

*Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan larutan untuk mencapai absorbansi yang relatif konstan setelah dilarutkan atau direaksikan. Setelah *Operating time* tercapai, absorbansi larutan tidak berubah lagi terhadap waktu dan dapat diukur untuk analisis kuantitatif dengan hasil yang akurat dan presisi.

###### B. Mengapa *Operating time* Diperlukan?

Beberapa senyawa tidak memberikan absorbansi yang stabil segera setelah preparasi karena:

### 1. Pembentukan Kompleks Berwarna:

- Metode analisis yang melibatkan pembentukan kompleks berwarna butuh waktu untuk reaksi sempurna
- Contoh: Penentuan kadar logam besi (Fe) dengan reagen 1,10-dikinoatil
- Kompleks Fe-1,10-dikinoatil butuh waktu 10-15 menit untuk terbentuk sempurna
- Sebelum kompleks terbentuk sempurna: absorbansi berubah → tidak stabil
- Perlu waktu hingga kompleks terbentuk sempurna (*Operating time*)

### 2. Reaksi Kimia Tertentu:

- Beberapa senyawa bereaksi dengan pelarut atau reagen
- Contoh: Hidrolisis obat dalam air, oksidasi vitamin C
- Reaksi → konsentrasi berubah → absorbansi berubah
- Perlu waktu hingga reaksi selesai atau equilibrium

### 3. Degradasi Senyawa:

- Beberapa senyawa terdegradasi perlahan dalam pelarut
- Contoh: Vitamin C terdegradasi oksidatif
- Degradasi → konsentrasi berkurang → absorbansi berkurang
- Perlu waktu hingga degradasi stabil

### 4. Equilibrium:

- Senyawa butuh waktu untuk mencapai equilibrium dalam pelarut
- Sebelum equilibrium: konsentrasi berubah  $\rightarrow$  A berubah
- Perlu waktu hingga equilibrium tercapai

### C. Prosedur Penentuan *Operating time*

#### 1. Siapkan larutan sampel:

- Larutan sampel dalam kuvet
- Volume 2-3 mL
- Tidak ada gelembung

#### 2. Masukkan ke kompartemen:

- Posisi tepat
- Tutup kompartemen

#### 3. Set panjang gelombang:

- Set  $\lambda = \lambda$  yang akan digunakan (setelah determinasi  $\lambda_{\max}$  atau dari literatur)
- Untuk parasetamol:  $\lambda = 254 \text{ nm}$

#### 4. Ukur absorbansi pada selang waktu tertentu:

#### Prosedur pengukuran:

- Ukur A setiap 2 menit (atau interval lain sesuai kebutuhan)
- Catat nilai absorbansi setiap waktu

Contoh data:

| Waktu (min) | Absorbansi (A) |                     |
|-------------|----------------|---------------------|
| 0           | 0,505          |                     |
| 2           | 0,507          |                     |
| 4           | 0,508          |                     |
| 6           | 0,509          |                     |
| 8           | 0,509          | ← Stabil mulai sini |
| 10          | 0,509          |                     |
| 12          | 0,509          |                     |

#### 5. Identifikasi absorbansi stabil:

Kriteria stabil:

- Absorbansi tidak berubah (konstan)
- Perbedaan antar pengukuran < 0,001
- Contoh: A = 0,509 pada t = 6, 8, 10, 12 min

#### 6. Tentui *Operating time*:

- *Operating time* = 8 menit (saat A stabil mulai t = 8 min)
- Atau lebih konservatif: *Operating time* = 10 menit (saat A sudah stabil beberapa pengukuran)
- Mulai pengukuran kuantitatif setelah *Operating time* (t ≥ 8-10 min)

#### D. Pentingness *Operating time*

Tahap ini penting terutama untuk metode yang melibatkan:

##### 1. Pembentukan kompleks berwarna:

- Contoh: Penentuan kadar logam (Fe, Cu, Zn) dengan reagen kompleksan
- Kompleks butuh waktu untuk terbentuk sempurna

- Tanpa *Operating time* → kompleks tidak sempurna  
→ A rendah → underestimasi

## 2. Reaksi kimia tertentu:

- Contoh: Derivatisasi senyawa untuk  $\lambda_{\max}$  lebih baik
- Reaksi butuh waktu untuk selesai
- Tanpa *Operating time* → reaksi tidak selesai → A tidak akurat

## 3. Senyawa yang tidak stabil:

- Contoh: Vitamin C, beberapa obat yang terdegradasi
- Degradasi butuh waktu hingga stabil
- Tanpa *Operating time* → A berubah → RSD tinggi

## E. Dampak Tidak Menentukan *Operating time*

| Masalah                     | Dampak                      |
|-----------------------------|-----------------------------|
| Mengukur sebelum stabil     | A berubah setiap pengukuran |
| RSD tinggi (> 1%)           | Data tidak presisi          |
| Konsentrasi tidak konsisten | % kadar bervariasi          |
| Kesalahan besar             | FAIL palsu atau PASS palsu  |

### Contoh:

- $t = 0 \text{ min}$ :  $A = 0,505 \rightarrow c = 99 \text{ ppm}$
- $t = 8 \text{ min}$ :  $A = 0,509 \rightarrow c = 100 \text{ ppm}$
- Jika mengukur  $t = 0$  dan  $8 \text{ min}$  tanpa *Operating time*:  
 $\text{RSD} = 0,4\%$
- Jika *Operating time* =  $8 \text{ min}$ , hanya ukur setelah  $8 \text{ min}$   
→  $\text{RSD} = 0\%$

## 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal ( $\lambda_{\max}$ )

### A. Pengertian $\lambda_{\max}$

$\lambda_{\max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah panjang gelombang dimana senyawa memiliki absorbansi tertinggi. Pada  $\lambda_{\max}$ , senyawa menyerap cahaya paling kuat dibandingkan pada panjang gelombang lain.

### B. Prosedur Penentuan $\lambda_{\max}$ Melalui Pemindaian Spektrum (*Scanning*)

#### 1. Siapkan blanko dan sampel:

- Blanko: Pelarut murni (air atau metanol) 2-3 mL dalam kuvet
- Sampel: Larutan sampel konsentrasi kerja 100 ppm 2-3 mL dalam kuvet

#### 2. Lakukan baseline dengan blanko:

- Masukkan kuvet blanko ke kompartemen
- Tekan AUTO ZERO atau BASELINE
- Instrumen set  $A = 0$  untuk blanko
- Verifikasi:  $A = 0,000 \pm 0,001$

#### 3. Ganti dengan sampel:

- Keluarkan blanko, masukkan sampel

#### 4. Set rentang pemindaian spektrum:

- Daerah UV: 200-400 nm
- Daerah Vis: 400-800 nm
- UV-Vis: 200-800 nm

- Untuk parasetamol (UV): 200-400 nm

#### 5. Tekan tombol SCAN:

- Instrumen mengukur absorbansi pada setiap panjang gelombang
- Step interval: 1 nm (ukur A setiap 1 nm)

#### 6. Hasil *scanning* spektrum:

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi (A)                                |
|------------------------|-----------------------------------------------|
| 200                    | 0,100                                         |
| 210                    | 0,150                                         |
| 220                    | 0,250                                         |
| 230                    | 0,350                                         |
| 240                    | 0,450                                         |
| <b>254</b>             | <b>0,510</b> ← $\lambda_{\max}$ (A tertinggi) |
| 260                    | 0,480                                         |
| 270                    | 0,400                                         |
| 280                    | 0,300                                         |
| 300                    | 0,150                                         |
| 400                    | 0,050                                         |

#### 7. Identifikasi $\lambda_{\max}$ :

- $\lambda_{\max}$  = panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi
- Dari data:  $\lambda_{\max} = 254$  nm (A = 0,510)

#### 8. Catat dan simpan data:

- Simpan spektrum dalam memori
- Catat  $\lambda_{\max}$  untuk pengukuran kuantitatif

### C. Mengapa Panjang Gelombang Maksimal Dipilih?

$\lambda_{\max}$  dipilih karena pada titik ini perubahan absorbansi terhadap konsentrasi paling besar sehingga sensitivitas metode optimal.

#### 1. Sensitivitas Maksimum:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- Absorbansi tertinggi ( $A = 0,510$  untuk parasetamol)
- *Slope* kurva baku besar ( $a = 0,0051$ )
- Sensitivitas = *slope* → sensitivitas tinggi

**Hubungan Hukum Lambert-Beer:**

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

atau dalam bentuk regresi linear:

$$A = a \cdot c + b$$

- *Slope* ( $a$ ) =  $\varepsilon \cdot b$
- *Slope* besar = sensitivitas tinggi
- Perubahan kecil konsentrasi → perubahan besar absorbansi
- Deteksi konsentrasi rendah lebih baik

**Dampak tidak pada  $\lambda_{\max}$ :**

| $\lambda$ (nm)           | A (tidak pada $\lambda_{\max}$ ) | <i>Slope</i> | Sensitivitas     | Error |
|--------------------------|----------------------------------|--------------|------------------|-------|
| 254 ( $\lambda_{\max}$ ) | 0,510                            | 0,0051       | Tinggi           | 0% ✓  |
| 240                      | 0,450                            | 0,0045       | 12% lebih rendah | 12% ✗ |
| 270                      | 0,400                            | 0,0040       | 22% lebih rendah | 22% ✗ |

## 2. Akurasi Terbaik:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- Absorbansi stabil (tidak fluktuatif)
- Fluktuasi instrument minimal
- Data akurat

Tidak pada  $\lambda_{\max}$ :

- Absorbansi fluktuatif
- RSD tinggi
- Data tidak akurat

## 3. Selektivitas:

$\lambda_{\max}$  unik untuk setiap senyawa:

- Parasetamol:  $\lambda_{\max} = 254 \text{ nm}$
- Ibuprofen:  $\lambda_{\max} = 264 \text{ nm}$
- Vitamin C:  $\lambda_{\max} = 265 \text{ nm}$
- Vitamin A:  $\lambda_{\max} = 325 \text{ nm}$

Pentingness:

- Interferensi minimal dari senyawa lain
- Selektivitas tinggi → analisis spesifik untuk senyawa target

## 4. Linearitas Baik:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- Hukum Lambert-Beer valid ( $A \propto c$ )
- $R^2 \geq 0,999$  (linearitas sangat baik)

Tidak pada  $\lambda_{\max}$ :

- Non-linearitas mungkin terjadi
- $R^2 < 0,999$
- Metode tidak valid untuk analisis kuantitatif

## D. Penentuan $\lambda_{\text{max}}$ Juga Membantu Mengurangi Kesalahan Akibat Sedikit Pergeseran Panjang Gelombang

### 1. Stabilitas pada $\lambda_{\text{max}}$ :

pada  $\lambda_{\text{max}}$  (puncak spektrum):

- Spektrum relatively flat di sekitar puncak
- Pergeseran kecil  $\lambda$  ( $\pm 1$ -2 nm)  $\rightarrow$  perubahan A kecil
- Contoh: Pergeseran 254 nm  $\rightarrow$  256 nm, A berubah 0,510  $\rightarrow$  0,508 (hanya 0,4%)

### 2. Tidak pada $\lambda_{\text{max}}$ (daerah *slope* spektrum):

pada daerah *slope* (tidak di puncak):

- Spektrum steep (curam)
- Pergeseran kecil  $\lambda$   $\rightarrow$  perubahan A besar
- Contoh: 240 nm  $\rightarrow$  242 nm, A berubah 0,450  $\rightarrow$  0,470 (4,4%)

### 3. Dampak Pergeseran $\lambda$ :

| Kondisi                           | Pergeseran $\lambda$     | Perubahan A               | Error  |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------|
| Pada $\lambda_{\text{max}}$       | 254 $\rightarrow$ 256 nm | 0,510 $\rightarrow$ 0,508 | 0,4% ✓ |
| Tidak pada $\lambda_{\text{max}}$ | 240 $\rightarrow$ 242 nm | 0,450 $\rightarrow$ 0,470 | 4,4% ✗ |

**Kesimpulan:** Penentuan  $\lambda_{\text{max}}$  mengurangi kesalahan akibat pergeseran  $\lambda$  karena spektrum flat di puncak.

## 3. PENGUKURAN SERAPAN (ABSORBANSI)

### A. Prosedur Pengukuran Serapan pada $\lambda_{\text{max}}$

Setelah *Operating time* diketahui dan  $\lambda_{\text{max}}$  ditentukan, larutan dianalisis untuk pengukuran serapan pada  $\lambda_{\text{max}}$ .

### 1. Set panjang gelombang:

- Set  $\lambda = \lambda_{\max}$  (untuk parasetamol:  $\lambda = 254 \text{ nm}$ )

### 2. Refresh baseline:

- Blangko  $\rightarrow$  AUTO ZERO  $\rightarrow A = 0$
- Baseline dapat bergeser setelah *scanning*

### 3. Pastikan *Operating time* tercapai:

- Tunggu  $t \geq \text{Operating time}$  (misal:  $t \geq 8 \text{ min}$ )
- Absorbansi sudah stabil

### 4. Ukur absorbansi:

#### a. Pengukuran standar (kurva baku):

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

#### b. Pengukuran sampel:

Ukur sampel 3 kali (replikasi)

| Replikasi | Absorbansi (A) |
|-----------|----------------|
| 1         | 0,508          |
| 2         | 0,510          |
| 3         | 0,509          |
| Rata-rata | 0,509          |

## 5. Hitung rata-rata dan RSD:

- Rata-rata  $A = 0,509$
- $RSD = 0,2\%$  ( $< 1\%$ ) → Presisi baik ✓

## 6. Verifikasi absorbansi:

- $A = 0,509$  dalam rentang 0,2-0,8 ✓
- Konsentrasi dalam rentang kurva (50-150 ppm) ✓
- Status: Valid ✓

## B. Pentingness Pengukuran pada $\lambda_{\max}$

### Pengukuran dilakukan pada $\lambda_{\max}$ karena:

1. Sensitivitas maksimum:  $A$  tertinggi → *slope* besar
2. Akurasi terbaik:  $A$  stabil, tidak fluktuatif
3. Selektivitas:  $\lambda$  unik untuk senyawa
4. Linearitas:  $A \propto c$  valid ( $R^2 \geq 0,999$ )
5. Minimal error pergeseran  $\lambda$ : Spektrum flat di puncak

## 4. Kurva Baku (Standar)

### A. Membuat Larutan Standar dengan Beberapa Konsentrasi

#### 1. Persiapan standar murni:

- Ambil standar murni senyawa (parasetamol grade USP/analitis)
- Simpan dalam wadah tertutup, hindari kelembaban

#### 2. Pembuatan larutan standar induk:

- Timang standar murni 50 mg (neraca analitik 0,0001 g)

- Labu takar 50 mL
- Pelarut (air) hingga tanda batas
- $c_{\text{induk}} = 50 \text{ mg}/50 \text{ mL} = 1.000 \text{ ppm}$

### 3. Pembuatan seri standar dengan pengenceran:

| Konsentrasi (ppm) | Pipet (mL) dari 1.000 ppm | Volume Akhir (mL) |
|-------------------|---------------------------|-------------------|
| 50                | 5 mL                      | 100 mL            |
| 75                | 7,5 mL                    | 100 mL            |
| 100               | 10 mL                     | 100 mL            |
| 125               | 12,5 mL                   | 100 mL            |
| 150               | 15 mL                     | 100 mL            |

#### Prosedur pengenceran:

- Pipet volume sesuai tabel
- Labu takar 100 mL
- Encerkan dengan pelarut hingga tanda batas
- Homogenisasi

#### B. Absorbansi Masing-Masing Standar Diukur pada $\lambda_{\text{max}}$ Set $\lambda = \lambda_{\text{max}}$ (254 nm):

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

#### C. Membuat Kurva Baku dengan Regresi Linear

##### 1. Plot grafik:

- X (sumbu horizontal): Konsentrasi (ppm)
- Y (sumbu vertikal): Absorbansi (A)

## 2. Regresi linear:

- Hitung persamaan regresi:  $A = a \cdot c + b$
- di mana:
  - $a = \text{slope}$  (koefisien regresi)
  - $b = \text{intercept}$  (konstanta)

## 3. Hasil regresi:

Persamaan regresi:

$$A = 0,0051c + 0,0002$$

Parameter:

- *Slope* ( $a$ ) = 0,0051 → Sensitivitas tinggi ( $a > 0,001$ ) ✓
- *Intercept* ( $b$ ) = 0,0002 → Blanko ideal ( $b < 0,005$ ) ✓
- Koefisien determinasi  $R^2 = 0,9999$  → Linearitas sangat baik ( $R^2 \geq 0,999$ ) ✓

## D. Hubungan antara Absorbansi dan Konsentrasi Digunakan untuk Menghitung Kadar Sampel

### 1. Hitung konsentrasi dalam kuvet ( $c_{\text{kuvet}}$ ):

Rumus dari persamaan regresi:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

Substitusi nilai:

- $A_{\text{sampel}} = 0,509$  (rata-rata)
- $b = 0,0002$
- $a = 0,0051$

Perhitungan:

$$c_{kuvet} = \frac{0,509 - 0,0002}{0,0051}$$
$$c_{kuvet} = \frac{0,5088}{0,0051}$$
$$c_{kuvet} = 99,8 \text{ ppm}$$

## 2. Hitung konsentrasi asli ( $c_{asli}$ ):

Rumus:

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

di mana FP = Faktor Pengenceran

Substitusi:

- $c_{kuvet} = 99,8 \text{ ppm}$
- $FP = 10$

Perhitungan:

$$c_{asli} = 99,8 \times 10$$
$$c_{asli} = 998 \text{ ppm}$$

## 3. Hitung % kadar terhadap label klaim:

Rumus:

$$\%Kadar = \frac{c_{asli}}{c_{teoritis}} \times 100\%$$

Substitusi:

- $c_{asli} = 998 \text{ ppm}$
- $c_{teoritis} = 1.000 \text{ ppm (500 mg/500 mL)}$

Perhitungan:

$$\%Kadar = \frac{998}{1.000} \times 100\%$$
$$\%Kadar = 99,8\%$$

## E. Semakin Baik Linearitas Data, Semakin Valid

### 1. Parameter Linearitas:

| Parameter        | Nilai  | Kriteria     | Status        |
|------------------|--------|--------------|---------------|
| $R^2$            | 0,9999 | $\geq 0,999$ | ✓ Sangat baik |
| <i>Slope</i>     | 0,0051 | $> 0,001$    | ✓ Sensitif    |
| <i>Intercept</i> | 0,0002 | $< 0,005$    | ✓ Ideal       |

### 2. Validitas kurva baku (Menurut BPOM/ FI):

- $R^2 \geq 0,999 \rightarrow$  Linearitas很好 ✓
- $Slope > 0,001 \rightarrow$  Sensitivitas tinggi ✓
- $Intercept < 0,005 \rightarrow$  Blanko ideal ✓
- Absorbansi dalam rentang 0,2-0,8 ✓
- Status: Kurva baku VALID untuk analisis kuantitatif

### 3. Dampak linearitas buruk:

| Masalah                 | Dampak                                        |
|-------------------------|-----------------------------------------------|
| $R^2 < 0,999$           | Non-linear $\rightarrow$ c tidak akurat       |
| <i>Slope</i> kecil      | Sensitivitas rendah $\rightarrow$ error besar |
| <i>Intercept</i> tinggi | Blanko tidak ideal $\rightarrow$ overestimasi |
| Data tidak valid        | Hasil tidak dapat dipertanggungjawabkan       |

## 5. Penentuan Kadar Senyawa Obat Menurut Aturan BPOM<sup>[56]</sup>

### A. Standar BPOM untuk Validasi Metode

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Indonesia memiliki standar untuk validasi metode analisis:

| Parameter        | Kriteria     | Keterangan   |
|------------------|--------------|--------------|
| $R^2$ kurva baku | $\geq 0,999$ | Linearitas很好 |
| Recovery         | 98-102%      | Akurasi      |
| RSD              | $< 1\%$      | Presisi      |

|     |                  |                       |
|-----|------------------|-----------------------|
| LOD | Sesuai kebutuhan | Limit of Detection    |
| LOQ | Sesuai kebutuhan | Limit of Quantitation |

## B. Penetapan Kadar Obat dalam Tablet (BPOM) <sup>[5-7]</sup>

### 1. Standar penerimaan:

- 95% - 105% → PASS ✓
- < 95% atau > 105% → FAIL ✗

### 2. Contoh evaluasi:

- % Kadar = 99,8%
- $95\% \leq 99,8\% \leq 105\%$
- Status: PASS ✓

### 3. Kesimpulan:

- Tablet parasetamol 500 mg memiliki kadar 99,8% dari klaim
- Memenuhi standar BPOM (95-105%)
- Produk aman dan efektif untuk dikonsumsi

## 6. Penentuan Kadar Senyawa Aktif Menurut FHI (FARMAKOPE INDONESIA) <sup>[57]</sup>

### A. Standar FHI untuk Validasi Metode

Farmakope Indonesia (FHI) memiliki standar yang sama dengan BPOM:

| Parameter      | Kriteria FHI |
|----------------|--------------|
| R <sup>2</sup> | ≥ 0,999      |
| Recovery       | 98-102%      |
| RSD            | < 1%         |
| % Kadar        | 95-105%      |

## B. Prosedur Menurut FHI

### 1. Preparasi sampel:

- Penimbangan bobot analitis (setara 1 tablet)
- Pelarutan
- Filtrasi (untuk menghilangkan eksipien tidak larut)
- Pengenceran hingga konsentrasi kerja 50-150 ppm

### 2. Penentuan *Operating time*:

- Ukur A setiap 2 menit
- Tunggu hingga A stabil
- *Operating time* = 8-10 min (untuk senyawa yang butuh waktu)

### 3. Penentuan $\lambda_{\max}$ :

- *Scanning* spektrum 200-400 nm
- $\lambda_{\max}$  = panjang gelombang dengan A tertinggi

### 4. Kurva baku:

- 5 titik konsentrasi (50, 75, 100, 125, 150 ppm)
- $R^2 \geq 0,999$

### 5. Pengukuran sampel:

- 3 replikasi
- $RSD < 1\%$

### 6. Perhitungan:

- $c = (A - b)/a$
- $c_{\text{asli}} = c \times \text{FP}$

- % Kadar =  $(c_{\text{asli}}/c_{\text{teoritis}}) \times 100\%$

## 7. Evaluasi:

- $95\% \leq \% \text{ Kadar} \leq 105\% \rightarrow \text{PASS}$

## 7. Kesimpulan Tahapan Analisis Kuantitatif

### A. Ringkasan Urutan Tahapan

| No | Tahapan                          | Tujuan                                                      |
|----|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1  | Penentuan <i>Operating time</i>  | Tunggu A stabil (lambat reaksi/kompleks)                    |
| 2  | Penentuan $\lambda_{\text{max}}$ | Sensitivitas maksimum, akurasi terbaik                      |
| 3  | Pengukuran serapan               | Ukur A pada $\lambda_{\text{max}}$ setelah A stabil         |
| 4  | Kurva baku                       | Hubungan $A \propto c$ ( $R^2 \geq 0,999$ )                 |
| 5  | Penentuan kadar                  | $c = (A-b)/a \times \text{FP} \rightarrow \% \text{ kadar}$ |

### B. Pentingness Setiap Tahapan

#### 1. *Operating time*:

- Larutan mencapai absorbansi stabil
- Penting untuk metode kompleks berwarna/reaksi kimia
- Tanpa *Operating time*  $\rightarrow$  RSD tinggi

#### 2. $\lambda_{\text{max}}$ :

- Sensitivitas optimal (perubahan A/c paling besar)
- Mengurangi error pergeseran  $\lambda$
- Tanpa  $\lambda_{\text{max}}$   $\rightarrow$  error 12-22%

### 3. Pengukuran pada $\lambda_{\max}$ :

- A tertinggi  $\rightarrow$  *slope* besar
- A stabil  $\rightarrow$  akurasi baik
- Linearitas valid ( $R^2 \geq 0,999$ )

### 4. Kurva baku:

- Hubungan  $A \propto c$
- Semakin baik linearitas ( $R^2$  tinggi), semakin valid hasil

### 5. Penentuan kadar:

- $c = (A-b)/a \times FP$
- % kadar 95-105%  $\rightarrow$  PASS (BPOM/FHI)

## C. Kesimpulan Akhir

Penerapan tahapan sistematis (*Operating time*  $\rightarrow \lambda_{\max} \rightarrow$  pengukuran  $\rightarrow$  kurva baku  $\rightarrow$  penentuan kadar) menjamin:

- ✓ Akurasi: % kadar sesuai sebenarnya (99,8%)
- ✓ Presisi:  $RSD < 1\%$  (0,2%)
- ✓ Validitas:  $R^2 \geq 0,999$  (0,9999)
- ✓ Kepatuhan: Memenuhi standar BPOM dan FHI (95-105%)
- ✓ Keputusan tepat: PASS (produk aman dan efektif)

Analisis kuantitatif UV-Vis yang dilakukan dengan tahapan sistematis dan sesuai standar menghasilkan data yang akurat, presisi, valid, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan hukum..<sup>[7][6]</sup>

## D. CONTOH KASUS

Larutan baku kloramfenikol diukur pada beberapa konsentrasi dan menghasilkan persamaan regresi  $y = 0,049x + 0,008$  dengan linearitas yang baik. Jika absorbansi sampel adalah 0,498, maka konsentrasi dapat dihitung dengan substitusi nilai tersebut ke dalam persamaan. Hasil ini kemudian dikoreksi dengan faktor pengenceran bila diperlukan, menurut aturan BPOM.

Contoh Kasus dan Jawaban: Penetapan Kadar Kloramfenikol dengan Spektrofotometri UV-Vis menurut Aturan BPOM

## 1. Analisis Studi Kasus

### A. Latar Belakang

Kloramfenikol (*chloramphenicol*) adalah senyawa obat antibiotik yang sangat penting dalam pengobatan infeksi bakteri, terutama untuk infeksi saluran pernapasan, saluran kemih, dan mata. Kloramfenikol memiliki struktur kimia yang mengandung gugus aromatik dan gugus fungsional yang dapat menyerap radiasi ultraviolet (UV), sehingga dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Penetapan kadar kloramfenikol dalam sediaan farmasi (tablet, kapsul, sirup, atau injeksi) merupakan uji mutu essential yang wajib dilakukan untuk memastikan:

- Kandungan kloramfenikol sesuai dengan klaim label
- Produk memenuhi standar mutu (95-105%)
- Produk aman dan efektif untuk dikonsumsi

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang paling umum digunakan untuk penetapan kadar

kloramfenikol karena metode ini sederhana, cepat, akurat, dan dapat direproduksi.

## **B. Tujuan Studi Kasus**

Studi kasus ini bertujuan untuk:

1. Memahami prosedur lengkap penetapan kadar kloramfenikol menggunakan kurva baku
2. Mengaplikasikan persamaan regresi untuk menghitung konsentrasi sampel
3. Melakukan koreksi faktor pengenceran (FP) bila diperlukan
4. Evaluasi kesesuaian dengan standar penerimaan BPOM
5. Buat kesimpulan tentang mutu produk

## **C. Informasi Sediaan**

Sediaan: Tablet kloramfenikol 250 mg

Klaim label: Setiap tablet mengandung kloramfenikol 250 mg

Standar penerimaan BPOM: 95% - 105%

$\lambda_{\text{max}}$  kloramfenikol: 278 nm (daerah UV)

Pelarut yang sesuai: Metanol atau air

## **2. Data Studi Kasus-1**

### **A. Data Kurva Baku (Standar Kloramfenikol)**

Larutan baku kloramfenikol diukur pada beberapa konsentrasi dan menghasilkan persamaan regresi dengan linearitas yang baik.

### 1. Data Standar:

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,225          |
| 75                | 0,338          |
| 100               | 0,450          |
| 125               | 0,562          |
| 150               | 0,675          |

### 2. Persamaan Regresi Linear:

Dari data di atas, dihitung regresi linear dengan metode least square:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

Parameter regresi:

- *Slope* ( $a$ ) = 0,0045 → Sensitivitas tinggi ✓
- *Intercept* ( $b$ ) = 0,0012 → Blanko ideal ✓
- Koefisien determinasi  $R^2 = 0,9998$  → Linearitas sangat baik ✓

### 3. Validasi Kurva Baku:

| Parameter        | Nilai       | Kriteria BPOM | Status        |
|------------------|-------------|---------------|---------------|
| $R^2$            | 0,9998      | $\geq 0,999$  | ✓ Sangat baik |
| <i>Slope</i>     | 0,0045      | $> 0,001$     | ✓ Sensitif    |
| <i>Intercept</i> | 0,0012      | $< 0,005$     | ✓ Ideal       |
| Rentang A        | 0,225-0,675 | 0,2-0,8       | ✓ Optimal     |

Status: Kurva baku **VALID** untuk analisis kuantitatif ✓

## B. Data Preparasi Sampel

### 1. Informasi Tablet:

- Jumlah tablet: 10 tablet

- Berat 10 tablet: 6,50 g
- Berat 1 tablet: 0,650 g
- Klaim kloramfenikol: 250 mg per tablet

## 2. Penimbangan Bobot Analitis:

- Bobot analitis: Berat serbuk setara 1 tablet = 0,650g
- Berat serbuk yang ditimbang: 0,650 g ✓

## 3. Pelarutan:

- Pelarut: Metanol (murni)
- Volume awal: 500 mL
- Konsentrasi awal:  $c = 250 \text{ mg} / 500 \text{ mL} = 0,5 \text{ mg/mL}$   
= 500 ppm

## 4. Filtrasi:

- Filter: Filter paper 0,45  $\mu\text{m}$
- Tujuan: Hilangkan partikel tidak larut (eksipien)
- Filtrat: Larutan jernih untuk pengenceran

## 5. Pengenceran:

- Volume pipet: 10 mL filtrat
- Volume akhir: 100 mL
- Faktor pengenceran (FP):  $FP = 100/10 = 10$
- Konsentrasi kerja:  $c = 500 \text{ ppm} / 10 = 50 \text{ ppm}$

## 6. Data Pengukuran Sampel:

- $\lambda_{\text{max}}$ : 278 nm
- Absorbansi sampel (3 replikasi):
  - Replikasi 1:  $A = 0,496$
  - Replikasi 2:  $A = 0,498$

- Replikasi 3: 0,499
- Rata-rata absorbansi:  $A = 0,498$
- RSD: 0,3% ( $< 1\%$ ) → Presisi baik ✓

### 3. Penyelesaian Studi Kasus-1

#### A. Langkah 1: Hitung Konsentrasi dalam Kuvet ( $c_{\text{kuvet}}$ )

Jika absorbansi sampel adalah 0,498, maka konsentrasi dapat dihitung dengan substitusi nilai tersebut ke dalam persamaan regresi.

#### 1. Persamaan Regresi:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

#### 2. Rumus untuk menghitung konsentrasi:

Dari persamaan regresi:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

di mana:

- $A$  = absorbansi sampel
- $b$  = *intercept*
- $a$  = *slope*

#### 3. Substitusi nilai:

- $A = 0,498$  (rata-rata absorbansi)
- $b = 0,0012$
- $a = 0,0045$

#### 4. Perhitungan:

$$c_{\text{kuvet}} = \frac{0,498 - 0,0012}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = \frac{0,4968}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = 110,4 \text{ ppm}$$

Konsentrasi dalam kuvet = 110,4 ppm

### 5. Verifikasi:

- $c_{kuvet} = 110,4 \text{ ppm}$  dalam rentang kurva (50-150 ppm) ✓
- **Status:** Valid ✓

### B. Langkah 2: Hitung Konsentrasi Asli ( $c_{asli}$ )

Hasil ini kemudian dikoreksi dengan faktor pengenceran bila diperlukan, menurut aturan BPOM.

#### 1. Rumus koreksi faktor pengenceran:

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

di mana:

- $c_{kuvet}$  = konsentrasi dalam kuvet
- FP = faktor pengenceran

#### 2. Substitusi nilai:

- $c_{kuvet} = 110,4 \text{ ppm}$
- FP = 10

#### 3. Perhitungan:

$$c_{asli} = 110,4 \times 10$$

$$c_{asli} = 1.104 \text{ ppm}$$

Konsentrasi asli = 1.104 ppm

#### 4. Pentingness koreksi FP:

- Tanpa koreksi FP:  $c = 110,4$  ppm (terlalu rendah 90%)
- Dengan koreksi FP:  $c = 1.104$  ppm (akurat)
- Error tanpa koreksi FP: 90% (PALING FATAL!)

### C. Langkah 3: Hitung % Kadar terhadap Label Klaim

#### 1. Rumus % kadar:

$$\%Kadar = \frac{c_{asli}}{c_{teoritis}} \times 100\%$$

di mana:

- $c_{asli}$  = konsentrasi asli (setelah koreksi FP)
- $c_{teoritis}$  = konsentrasi teoritis (klaim label)

#### 2. Hitung konsentrasi teoritis:

- Kandungan kloramfenikol = 250 mg per tablet
- Volume pelarut = 500 mL
- $c_{teoritis} = 250 \text{ mg} / 500 \text{ mL} = 0,5 \text{ mg/mL} = 500 \text{ ppm}$

#### 3. Substitusi nilai:

- $c_{asli} = 1.104$  ppm
- $c_{teoritis} = 500$  ppm

#### 4. Perhitungan:

$$\begin{aligned}\%Kadar &= \frac{1.104}{500} \times 100\% \\ \%Kadar &= 2,208 \times 100\% \\ \%Kadar &= 110,4\%\end{aligned}$$

$$\% Kadar = 110,4\%$$

## D. Langkah 4: Evaluasi Kesesuaian dengan Standar BPOM

### 1. Standar Penerimaan BPOM:

| % Kadar    | Status | Keterangan           |
|------------|--------|----------------------|
| 95% - 105% | ✓ PASS | Kadar sesuai klaim   |
| < 95%      | ✗ FAIL | Kadar terlalu rendah |
| > 105%     | ✗ FAIL | Kadar terlalu tinggi |

### 2. Evaluasi % Kadar:

- % Kadar = 110,4%
- 110,4% > 105%
- Status: ✗ FAIL

### 3. Interpretasi:

- 110,4% lebih tinggi dari 105% (batas maksimum)
- Kadar kloramfenikol terlalu tinggi dalam tablet
- Kemungkinan penyebab:
  - Over-dosis dalam proses produksi
  - Kesalahan dalam preparasi sampel
  - Kesalahan dalam pengukuran
  - Kontaminasi

### 4. Tindakan yang harus dilakukan:

- Re-test: Analisis ulang untuk konfirmasi
- Check preparasi: Verifikasi bobot analitis, FP, dll
- Check pengukuran: Verifikasi  $\lambda_{\text{max}}$ , *Operating time*, baseline
- Jika tetap FAIL: Batch tidak dapat dipasarkan, perlu investigasi

#### 4. Ringkasan Studi Kasus-1

##### A. Tabel Ringkasan Data dan Perhitungan

| Parameter         | Nilai                  | Keterangan                   |
|-------------------|------------------------|------------------------------|
| Persamaan regresi | $A = 0,0045c + 0,0012$ | Dari kurva baku              |
| $R^2$             | 0,9998                 | Linearitas sangat baik<br>✓  |
| A sampel (rata)   | 0,498                  | 3 replikasi, RSD 0,3%<br>✓   |
| c_kuvet           | 110,4 ppm              | $(0,498 - 0,0012) / 0,0045$  |
| FP                | 10                     | 100 mL / 10 mL               |
| c_asli            | 1.104 ppm              | $110,4 \times 10$            |
| c_teoritis        | 500 ppm                | 250 mg/500 mL                |
| % Kadar           | 110,4%                 | $(1.104 / 500) \times 100\%$ |
| Kriteria BPOM     | 95-105%                | Standar penerimaan           |
| Status            | ✗ FAIL                 | > 105%                       |

#### 5. Kesimpulan Studi Kasus

##### A. Kesimpulan Utama

###### 1. Prosedur yang Dilakukan:

- ✓ Kurva bakuValid:  $R^2 = 0,9998 (\geq 0,999)$
- ✓ Absorbansi sampel:  $A = 0,498$  (RSD 0,3% < 1%)
- ✓ Koreksi *intercept*:  $c = (A-b)/a$
- ✓ Koreksi FP:  $c\_asli = c\_kuvet \times FP$
- ✓ Follow BPOM: Sesuai aturan

###### 2. Hasil Analisis:

- Konsentrasi dalam kuvet: 110,4 ppm

- Konsentrasi asli (setelah koreksi FP): 1.104 ppm
- % Kadar terhadap label klaim: 110,4%

### 3. Evaluasi Kesesuaian:

- % Kadar = 110,4% > 105% (batas maksimum)
- Status: **✗ FAIL** (Tidak memenuhi standar)

### 4. Kesimpulan tentang Mutu Produk:

Tablet kloramfenikol 250 mg memiliki kadar 110,4% dari klaim label, yang melebihi batas maksimum 105% sesuai standar BPOM. Produk TIDAK memenuhi standar mutu dan TIDAK dapat dipasarkan. Perlu investigasi penyebab over-dosis dan re-test untuk konfirmasi.

### 4. Standar BPOM:

- 95-105% → PASS
- < 95% atau > 105% → FAIL

### 5. Evaluasi:

- 110,4% > 105% → FAIL
- Produk tidak memenuhi standar

### C. Dampak Kesalahan dalam Prosedur

| Kesalahan                      | Dampak                                                          |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Tidak koreksi <i>intercept</i> | $c = 0,498/0,0045 = 110,7 \text{ ppm}$ (error 0,3%)             |
| Tidak koreksi FP               | $c_{\text{asli}} = 110,4 \text{ ppm}$ (error 90%)<br><b>XXX</b> |
| Tidak rata-rata replikasi 3    | Variasi A → c tidak akurat                                      |



## D. Rekomendasi

### 1. Untuk Produksi:

- Batch ini TIDAK dapat dipasarkan karena FAIL
- Investigasi penyebab over-dosis (110,4%)
- Perbaiki proses produksi

### 2. Untuk Laboratorium:

- Re-test: Analisis ulang untuk konfirmasi
- Check seluruh prosedur: bobot, FP, pengukuran
- Jika tetap FAIL: batch dropped

### 3. Untuk BPOM:

- Produk tidak memenuhi standar mutu
- Tidak boleh beredar di masyarakat
- Perlu tindakan regulasi

## 6. Kesimpulan

Larutan baku kloramfenikol diukur pada beberapa konsentrasi dan menghasilkan persamaan regresi dengan linearitas yang baik ( $R^2 = 0,9998$ ). Jika absorbansi sampel adalah 0,498, maka konsentrasi dapat dihitung dengan substitusi nilai tersebut ke dalam persamaan regresi  $A = 0,0045c + 0,0012$ .

Perhitungan:

$$c_{kuvet} = \frac{0,498 - 0,0012}{0,0045} = 110,4 \text{ ppm}$$

Hasil ini kemudian dikoreksi dengan faktor pengenceran (FP = 10) menurut aturan BPOM:

$$c_{asli} = 110,4 \times 10 = 1.104 \text{ ppm}$$

% Kadar terhadap label klaim:

$$\%Kadar = \frac{1.104}{500} \times 100\% = 110,4\%$$

Evaluasi según standar BPOM (95-105%):

- 110,4% > 105%
- Status: **✗ FAIL**

Kesimpulan: Tablet kloramfenikol 250 mg TIDAK memenuhi standar mutu BPOM karena kadar terlalu tinggi (110,4%). Produk tidak dapat dipasarkan dan perlu investigasi lebih lanjut. [5]

## E. PROSEDUR ANALISIS

Prosedur Analisis Spektrofotometri UV-Vis:

### 1. Siapkan Larutan Standard an Sampel

#### A. Persiapan Larutan Standar

##### 1. Siapkan standar murni:

- Ambil standar murni senyawa yang akan dianalisis (misal: parasetamol, kloramfenikol, Rivanol)
- Gunakan standar grade USP atau grade analitis untuk memastikan kemurnian
- Simpan dalam wadah tertutup rapat, hindari kelembaban dan cahaya

##### 2. Pembuatan larutan standar induk:

- Timbang standar murni dengan neraca analitik (ketelitian 0,0001 g)
- Contoh: Timbang 50 mg standar parasetamol
- Masukkan ke labu takar (misal: 50 mL)
- Tambah pelarut (air murni atau metanol)  $\approx$  30 mL

- Homogenisasi dengan pengaduk atau vortex
- Encerkan dengan pelarut hingga tanda batas (50 mL)
- Homogenisasi kembali (balik labu 10x)

### 3. Hitung konsentrasi standar induk:

$$[c_{induk} = \frac{\text{berat standar (mg)}}{\text{volume labu (mL)}}]$$

Contoh:

- Berat = 50 mg
- Volume = 50 mL
- $c_{induk} = \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

### 4. Pembuatan seri standar (untuk kurva baku):

- Buat 5 konsentrasi dalam rentang 50-150 ppm (rentang optimal)
- Contoh seri: 50, 75, 100, 125, 150 ppm
- Hitung volume pipet untuk setiap seri menggunakan rumus pengenceran:

$$[V_1 = \frac{c_2 \times V_2}{c_1}]$$

di mana:

- $V_1$  = volume pipet dari standar induk
- $c_1$  = konsentrasi standar induk (1.000 ppm)
- $c_2$  = konsentrasi target (50, 75, 100, 125, 150 ppm)
- $V_2$  = volume akhir (100 mL)

Contoh untuk 100 ppm:

- $V_1 = \frac{100 \times 100}{1.000} = 10 \text{ mL}$
- Pipet 10 mL dari 1.000 ppm → labu takar 100 mL → encerkan hingga tanda batas

### 5. Prosedur pengenceran setiap seri:

- Pipet volume sesuai perhitungan (5, 7,5, 10, 12,5, 15 mL)
- Masuk ke labu takar 100 mL
- Bilas pipet dengan pelarut, masukkan labu
- Tambah pelarut hingga tanda batas 100 mL
- Homogenisasi (balik labu 10x)
- Label setiap labu dengan konsentrasi

### B. Persiapan Larutan Sampel

#### 1. Untuk sediaan tablet:

##### a. Penimbangan bobot rata-rata (Menurut BPOM):

- Ambil 10 tablet secara acak dari batch
- Timbang satu persatu
- Hitung bobot rata-rata:

$$[\text{Bobot rata-rata} = \frac{\text{Total bobot 10 tablet}}{10}]$$

##### b. Penghancuran tablet:

- Gerus 10 tablet dengan mortar dan stempel hingga halus
- Aduks serbuk hingga homogen

##### c. Penimbangan bobot analitis:

- Hitung berat serbuk setara 1 tablet:  
[Bobot analitis = Bobot rata-rata 1 tablet]
- Timbang serbuk = bobot analitis (misal: 0,620 g)

##### d. Pelarutan:

- Masukkan serbuk ke labu takar 500 mL
- Tambah pelarut  $\approx$  300 mL
- Homogenisasi 10-15 menit
- Encerkan hingga tanda batas 500 mL

**e. Filtrasi (WAJIB untuk tablet):**

- Filter dengan filter paper 0,45  $\mu\text{m}$
- Tolak filtrat pertama 2-3 mL (untuk filter)
- Ambil filtrat jernih untuk pengenceran

**f. Pengenceran:**

- Hitung konsentrasi awal setelah pelarutan
- Hitung faktor pengenceran (FP) untuk mencapai 50-150 ppm
- Pipet volume sesuai FP  $\rightarrow$  labu takar  $\rightarrow$  encerkan
- Contoh:  $c = 1.000 \text{ ppm}$ , target 100 ppm  $\rightarrow$  FP = 10  $\rightarrow$  pipet 10 mL  $\rightarrow$  100 mL

**2. Untuk sediaan larutan (sirup, injeksi):**

- Langsung encerkan hingga 50-150 ppm (tidak perlu filtrasi)
- Hitung FP sesuai kebutuhan

**3. Untuk bahan alam:**

- Ekstraksi dengan pelarut sesuai
- Filtrasi untuk menghilangkan partikel
- Pengenceran hingga 50-150 ppm

**C. Persiapan Alat**

**1. Spektrofotometri UV-Vis:**

- Periksa koneksi listrik
- Tekan POWER ON
- Warm-up 20-30 menit hingga "Ready"

## 2. Kuvet:

- Gunakan kuvet kuarsa untuk daerah UV (200-400 nm)
- Gunakan kuvet glass untuk daerah Vis (400-800 nm)
- \*\*Cleaning: dengan air murni, lalu pelarut
- Tidak ada crack, goresan, atau kontaminan

## 3. Alat tambahan:

- Neraca analitik (kalibrasi < 6 bulan)
- Labu takar (50, 100, 500 mL)
- Pipet volume (5, 10, 15 mL)
- Funnel, filter paper 0,45  $\mu\text{m}$
- Mortar dan stempel

## 2. Tentukan *Operating time* dengan Mengukur Absorbansi pada Interval Waktu

### A. Pengertian *Operating time*

*Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan larutan untuk mencapai absorbansi yang relatif konstan setelah dilarutkan atau direaksikan. Setelah *Operating time* tercapai, absorbansi tidak berubah lagi dan dapat diukur untuk analisis kuantitatif.

### B. Mengapa *Operating time* Diperlukan?

Beberapa senyawa tidak memberikan absorbansi stabil segera karena:

#### 1. Pembuatan kompleks berwarna:

- Reagen kompleksan butuh waktu untuk terbentuk sempurna (10-15 min)
- Sebelum sempurna: absorbansi berubah

## 2. Reaksi kimia:

- Hidrolisis, oksidasi, atau reaksi dengan pelarut
- Perlu waktu hingga reaksi selesai

## 3. Degradasi senyawa:

- Vitamin C terdegradasi oksidatif
- Perlu waktu hingga stabil

## 4. Equilibrium:

- Senyawa butuh waktu untuk mencapai equilibrium

### C. Prosedur Penentuan *Operating time*

#### 1. Siapkan larutan sampel dalam kuvet:

- Volume 2-3 mL
- Tidak ada gelembung

#### 2. Masukkan ke kompartemen:

- Posisi tepat
- Tutup kompartemen

#### 3. Set panjang gelombang:

- Set  $\lambda = \lambda$  yang akan digunakan (dari literatur atau preliminary)
- Untuk parasetamol:  $\lambda = 250$  nm (preliminary)

#### 4. Ukur absorbansi pada interval waktu:

##### Metode:

- Ukur A setiap 2 menit (atau interval lain sesuai kebutuhan)
- Catat nilai absorbansi setiap waktu

##### Contoh data:

| Waktu (min) | Absorbansi (A) |                     |
|-------------|----------------|---------------------|
| 2           | 0,507          |                     |
| 4           | 0,508          |                     |
| 6           | 0,509          |                     |
| 8           | 0,509          | ← Stabil mulai sini |
| 10          | 0,509          |                     |

## 5. Identifikasi absorbansi stabil:

### Kriteria stabil:

- Absorbansi tidak berubah (konstan)
- Perbedaan antar pengukuran  $< 0,001$
- A sama pada  $\geq 3$  pengukuran berturut-turut

### Dari contoh:

- A = 0,509 pada t = 6, 8, 10, 12 min
- Stabil mulai t = 6 min

## 6. Tentukan operating time:

- *Operating time* = 8 menit (saat A stabil)
- Atau lebih konservatif: 10 menit
- Mulai pengukuran kuantitatif setelah *Operating time* (t  $\geq$  8-10 min)

## D. Operating time Berbagai Senyawa

| Senyawa     | Operating time | Alasan                |
|-------------|----------------|-----------------------|
| Parasetamol | 0-5 min        | Stabil segera         |
| Vitamin C   | 5-10 min       | Degradasi oksidatif   |
| Kompleks Fe | 10-15 min      | Waktu reaksi kompleks |
| Rivanol     | 0 min          | Stabil segera         |

## E. Dampak Tidak Menentukan Operating time

| Masalah                     | Dampak                      |
|-----------------------------|-----------------------------|
| Mengukur sebelum stabil     | A berubah setiap pengukuran |
| RSD tinggi ( $> 1\%$ )      | Data tidak presisi          |
| Konsentrasi tidak konsisten | % kadar bervariasi          |

### Contoh:

- t = 0 min: A = 0,505  $\rightarrow$  c = 99 ppm
- t = 8 min: A = 0,509  $\rightarrow$  c = 100 ppm
- Tanpa *Operating time*: RSD = 0,4%
- Dengan *Operating time* = 8 min: RSD = 0%

### 3. Lakukan *Scanning* untuk Menentukan $\lambda_{\max}$

#### A. Pengertian $\lambda_{\max}$

$\lambda_{\max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah panjang gelombang dimana senyawa memiliki absorbansi tertinggi. Pada  $\lambda_{\max}$ , senyawa menyerap cahaya paling kuat.

#### B. Prosedur *Scanning* Spektrum

##### 1. Siapkan blanko dan sampel:

- Blangko: Pelarut murni 2-3 mL dalam kuvet
- Sampel: Larutan sampel 100 ppm 2-3 mL dalam kuvet

##### 2. Lakukan baseline dengan blanko:

- Masukkan kuvet blanko ke kompartemen
- Tekan AUTO ZERO atau BASELINE
- Instrumen set A = 0 untuk blanko
- Verifikasi:  $A = 0,000 \pm 0,001$

##### 3. Ganti dengan sampel:

- Keluarkan blanko, masukkan sampel
- Pastikan tidak ada gelembung

##### 4. Set rentang *scanning*:

- Daerah UV: 200-400 nm
- Daerah Vis: 400-800 nm
- UV-Vis: 200-800 nm
- Untuk parasetamol: 200-400 nm

##### 5. Set step interval:

- 1 nm (instrumen mengukur A setiap 1 nm)
- Waktu *scanning*:  $\approx$  2-3 menit

##### 6. Tekan tombol SCAN:

- Instrumen mengukur A pada setiap  $\lambda$  dari  $\lambda_1$  ke  $\lambda_2$

## 7. Hasil *scanning* spektrum:

| $\lambda$ (nm) | A                                                      |
|----------------|--------------------------------------------------------|
| 200            | 0,100                                                  |
| 220            | 0,250                                                  |
| 240            | 0,450                                                  |
| <b>254</b>     | <b>0,510</b> $\leftarrow \lambda_{\max}$ (A tertinggi) |
| 260            | 0,480                                                  |
| 280            | 0,300                                                  |
| 300            | 0,150                                                  |
| 400            | 0,050                                                  |

## 8. Identifikasi $\lambda_{\max}$ :

- $\lambda_{\max} = \lambda$  dengan A tertinggi
- $\lambda_{\max} = 254 \text{ nm}$  ( $A = 0,510$ )

## 9. Catat dan simpan data:

- Simpan spektrum dalam memori
- Catat  $\lambda_{\max}$  untuk pengukuran kuantitatif

## C. Mengapa $\lambda_{\max}$ Dipilih?

### 1. Sensitivitas maksimum:

- A tertinggi  $\rightarrow$  *slope* kurva baku besar
- Perubahan kecil  $c \rightarrow$  perubahan besar A
- Deteksi konsentrasi rendah lebih baik

### 2. Akurasi terbaik:

- A stabil (tidak fluktuatif)
- Fluktuasi instrument minimal

### 3. Selektivitas:

- $\lambda_{\max}$  unik untuk setiap senyawa
- Parasetamol: 254 nm, Ibuprofen: 264 nm
- Interferensi minimal

### 4. Linearitas baik:

- Hukum Lambert-Beer valid ( $A \propto c$ )

- $R^2 \geq 0,999$
5. Minimal error pergeseran  $\lambda$ :
- Spektrum flat di puncak
  - Pergeseran  $\pm 1\text{-}2\text{ nm} \rightarrow$  perubahan A kecil (0,4%)
  - Tidak di puncak: pergeseran  $\rightarrow$  perubahan A besar (4,4%)

#### D. Dampak Tidak pada $\lambda_{\text{max}}$

| $\lambda$ (nm)                 | A     | Error |
|--------------------------------|-------|-------|
| 254 ( $\lambda_{\text{max}}$ ) | 0,510 | 0% ✓  |
| 240                            | 0,450 | 12% ✗ |
| 270                            | 0,400 | 22% ✗ |

#### 4. Ukur Seri Larutan Standar pada $\lambda_{\text{max}}$

##### A. Prosedur Pengukuran Standar

1. Set panjang gelombang:
    - Set  $\lambda = \lambda_{\text{max}}$  (misal: 254 nm)
  2. Refresh baseline:
    - Blangko  $\rightarrow$  AUTO ZERO  $\rightarrow A = 0$
    - Baseline dapat bergeser setelah *scanning*
  3. Pastikan *Operating time* tercapai:
    - Tunggu  $t \geq \text{Operating time}$  (misal:  $t \geq 8\text{ min}$ )
  4. Ukur absorbansi setiap standar:
- Urutan pengukuran:
- Mulai dari konsentrasi terendah ke tertinggi
  - Untuk menghindari kontaminasi residual

Contoh pengukuran 5 seri standar:

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

5. Protokol pengukuran setiap standar:

a. Blanko → AUTO ZERO:

- Sebelum setiap 1-2 standar, refresh baseline
- Blanko → AUTO ZERO →  $A = 0$

b. Masukkan standar:

- Keluarkan kuvet blanko
- Masukkan kuvet standar
- Bilas kuvet dengan standar sebelumnya (untuk menghindari kontaminasi)

c. Ukur A:

- Tekan tombol MEASURE
- Catat nilai A

d. Bilas kuvet:

- Bilas dengan pelarut
- Bilas dengan standar berikutnya

B. Verifikasi Absorbansi Standar

Kriteria valid:

- A dalam rentang 0,2-0,8 ✓ (0,255-0,765)
- A meningkat linear dengan konsentrasi ✓
- Tidak ada anomali (A turun saat c naik)

Jika tidak valid:

- $A > 0,8$  → encerkan lebih
- $A < 0,2$  → konsentrasi lebih tinggi
- Re-measurement

## 5. Buat Kurva Baku dan Persamaan Regresi

### A. Plot Grafik Kurva Baku

#### 1. Siapkan data:

| Konsentrasi (x, ppm) | Absorbansi (y, A) |
|----------------------|-------------------|
| 50                   | 0,255             |
| 75                   | 0,380             |
| 100                  | 0,510             |
| 125                  | 0,635             |
| 150                  | 0,765             |

#### 2. Plot grafik:

- X (sumbu horizontal): Konsentrasi (ppm)
- Y (sumbu vertikal): Absorbansi (A)
- Buat scatter plot (titik data)

#### 3. Visualisasi:

- Titik akan membentuk garis lurus (linear)
- Dari (50, 0,255) ke (150, 0,765)

### B. Hitung Regresi Linear

#### 1. Rumus regresi linear:

$$y = ax + b$$

di mana:

- y = absorbansi (A)
- x = konsentrasi (c)
- a = *slope* (koefisien regresi)
- b = *intercept* (konstanta)

#### 2. Metode least square:

*Slope* (a):

$$a = \frac{n \sum (xy) - \sum x \sum y}{n \sum (x^2) - (\sum x)^2}$$

*Intercept (b):*

$$b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

Koefisien determinasi ( $R^2$ ):

$$R^2 = \frac{[n \sum (xy) - \sum x \sum y]^2}{[n \sum (x^2) - (\sum x)^2][n \sum (y^2) - (\sum y)^2]}$$

3. Hitung dari data:

Data:

- $n = 5$
- $\sum x = 50 + 75 + 100 + 125 + 150 = 500$
- $\sum y = 0,255 + 0,380 + 0,510 + 0,635 + 0,765 = 2,545$
- $\sum xy = (50 \times 0,255) + (75 \times 0,380) + (100 \times 0,510) + (125 \times 0,635) + (150 \times 0,765) = 256,25$
- $\sum x^2 = 50^2 + 75^2 + 100^2 + 125^2 + 150^2 = 53.750$
- $\sum y^2 = 0,255^2 + 0,380^2 + 0,510^2 + 0,635^2 + 0,765^2 = 1,352$

*Slope (a):*

$$a = \frac{5 \times 256,25 - 500 \times 2,545}{5 \times 53.750 - 500^2}$$
$$a = \frac{1.281,25 - 1.272,5}{268.750 - 250.000}$$
$$a = \frac{8,75}{18.750}$$
$$a = 0,0045$$

*Intercept (b):*

$$b = \frac{2,545 - 0,0045 \times 500}{5}$$
$$b = \frac{2,545 - 2,25}{5}$$
$$b = \frac{0,295}{5}$$
$$b = 0,0012$$

$R^2$ :

$$R^2 = 0,9999$$

### C. Persamaan Regresi Final

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

Parameter:

- *Slope* ( $a$ ) = 0,0045 → Sensitivitas tinggi ( $a > 0,001$ ) ✓
- *Intercept* ( $b$ ) = 0,0012 → Blanko ideal ( $b < 0,005$ ) ✓
- $R^2 = 0,9999$  → Linearitas sangat baik ( $R^2 \geq 0,999$ ) ✓

### D. Validasi Kurva Baku (Menurut BPOM/Farmakope)

| Parameter        | Nilai       | Kriteria     | Status        |
|------------------|-------------|--------------|---------------|
| $R^2$            | 0,9999      | $\geq 0,999$ | ✓ Sangat baik |
| <i>Slope</i>     | 0,0045      | $> 0,001$    | ✓ Sensitif    |
| <i>Intercept</i> | 0,0012      | $< 0,005$    | ✓ Ideal       |
| Rentang A        | 0,255-0,765 | 0,2-0,8      | ✓ Optimal     |

Status: Kurva baku **VALID** untuk analisis kuantitatif ✓

### E. Pentingness Linearitas

Semakin baik linearitas data ( $R^2$  tinggi), semakin valid hasil analisis:

- $R^2 \geq 0,999$ : Linearitas sangat baik →  $c$  akurat
- $R^2 = 0,995-0,999$ : Linearitas cukup →  $c$  cukup akurat
- $R^2 < 0,995$ : Non-linear →  $c$  tidak akurat, metode tidak valid

Dampak linearitas buruk:

- $R^2 < 0,999$  → hubungan A- $c$  tidak linear
- Perhitungan  $c$  menggunakan persamaan linear → error besar
- Hasil tidak dapat dipertanggungjawabkan

## 6. ukur absorbansi sampel

### A. Prosedur Pengukuran Sampel

#### 1. Set panjang gelombang:

- Set  $\lambda = \lambda_{\max}$  (254 nm)

#### 2. Refresh baseline:

- Blangko  $\rightarrow$  AUTO ZERO  $\rightarrow A = 0$

#### 3. Pastikan *Operating time* tercapai:

- Tunggu  $t \geq \text{Operating time}$  (8-10 min)

#### 4. Ukur absorbansi sampel (3 replikasi):

##### Metode replikasi:

- Ukur sampel 3 kali untuk presisi
- Bilas kuvet dengan pelarut setelah setiap pengukuran

##### Contoh data:

| Replikasi | Absorbansi (A) |
|-----------|----------------|
| 1         | 0,508          |
| 2         | 0,510          |
| 3         | 0,509          |

## 5. Hitung rata-rata dan RSD:

### Rata-rata:

$$\bar{A} = \frac{A_1 + A_2 + A_3}{3}$$
$$\bar{A} = \frac{0,508 + 0,510 + 0,509}{3}$$
$$\bar{A} = 0,509$$

### Standar deviasi (SD):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (A_i - \bar{A})^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(0,508 - 0,509)^2 + (0,510 - 0,509)^2 + (0,509 - 0,509)^2}{2}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{0,000001 + 0,000001 + 0}{2}}$$

$$SD = 0,001$$

RSD (Relative Standard Deviation):

$$RSD = \frac{SD}{\bar{A}} \times 100\%$$

$$RSD = \frac{0,001}{0,509} \times 100\%$$

$$RSD = 0,2\%$$

## B. Verifikasi Kelayakan Pengukuran

| Parameter           | Nilai      | Kriteria   | Status                                           |
|---------------------|------------|------------|--------------------------------------------------|
| A rata              | 0,509      | 0,2-0,8    | <input checked="" type="checkbox"/> Valid        |
| RSD                 | 0,2%       | < 1%       | <input checked="" type="checkbox"/> Presisi baik |
| Dalam rentang kurva | 50-150 ppm | 50-150 ppm | <input checked="" type="checkbox"/> Valid        |

Status: Pengukuran sampel **VALID** ✓

## 7. Hitung Kadar Sampel dari Persamaan Regresi

### A. Hitung Konsentrasi dalam Kuvet (c\_kuvet)

#### 1. Rumus dari persamaan regresi:

Dari  $A = ac + b$ , selesaikan untuk c:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

## 2. Substitusi nilai:

- $A = 0,509$  (rata-rata)
- $a = 0,0045$  (*slope*)
- $b = 0,0012$  (*intercept*)

## 3. Perhitungan:

$$c_{kuvet} = \frac{0,509 - 0,0012}{0,0045}$$
$$c_{kuvet} = \frac{0,5078}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = 110,4 \text{ ppm}$$

Konsentrasi dalam kuvet = 110,4 ppm

## B. Pentingness Koreksi *Intercept*

Jika tidak koreksi *intercept* (hanya  $A/a$ ):

$$c = \frac{A}{a} = \frac{0,509}{0,0045} = 113,1 \text{ ppm}$$

Error:

- Dengan koreksi: 110,4 ppm
- Tanpa koreksi: 113,1 ppm
- Error = 2,4% (terlalu tinggi)

Koreksi *intercept* WAJIB untuk akurasi!

## C. Verifikasi $c_{kuvet}$

- $c_{kuvet} = 110,4$  ppm dalam rentang kurva (50-150 ppm) ✓
- Status: Valid ✓

## 8. koreksi hasil dengan faktor pengenceran

### A. Rumus Koreksi Faktor Pengenceran

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

di mana:

- $c_{kuvet}$  = konsentrasi dalam kuvet

- FP = faktor pengenceran
- FP dihitung dari:

$$FP = \frac{V_{akhir}}{V_{pipet}}$$

di mana:

- $V_{akhir}$  = volume akhir setelah pengenceran
- $V_{pipet}$  = volume yang dipipet dari larutan sebelumnya

## B. Contoh Perhitungan FP

Data preparasi sampel:

- Volume awal setelah pelarutan: 500 mL
- $c_{awal}$  = 1.000 ppm
- Pipet: 10 mL → labu takar 100 mL
- $V_{akhir}$  = 100 mL
- $V_{pipet}$  = 10 mL

Perhitungan FP:

$$FP = \frac{100 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 10$$

Konsentrasi kerja:

$$c_{kerja} = \frac{c_{awal}}{FP} = \frac{1.000 \text{ ppm}}{10} = 100 \text{ ppm}$$

## C. Hitung Konsentrasi Asli ( $c_{asli}$ )

1. Substitusi:

- $c_{kuvet}$  = 110,4 ppm
- $FP$  = 10

2. Perhitungan:

$$c_{asli} = 110,4 \times 10$$

$$c_{asli} = 1.104 \text{ ppm}$$

Konsentrasi asli = 1.104 ppm

#### D. Pentingness Koreksi FP

Jika tidak koreksi FP:

- $c = 110,4 \text{ ppm}$  ( $c_{\text{kuvet}}$ )
- $c_{\text{asli}}$  seharusnya =  $1.104 \text{ ppm}$
- Error = 90% (terlalu rendah!)

Ini adalah kesalahan paling fatal dalam analisis!

| Kondisi           | c         | Error |
|-------------------|-----------|-------|
| Dengan koreksi FP | 1.104 ppm | 0% ✓  |
| Tanpa koreksi FP  | 110,4 ppm | 90% ✗ |

#### E. Hitung % Kadar terhadap Label Klaim

1. Rumus % kadar:

$$\% \text{Kadar} = \frac{c_{\text{asli}}}{c_{\text{teoritis}}} \times 100\%$$

2. Hitung  $c_{\text{teoritis}}$ :

- Klaim label: 500 mg parasetamol per tablet
- Volume pelarut: 500 mL
- $c_{\text{teoritis}} = 500 \text{ mg} / 500 \text{ mL} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

3. Substitusi:

- $c_{\text{asli}} = 1.104 \text{ ppm}$
- $c_{\text{teoritis}} = 1.000 \text{ ppm}$

4. Perhitungan:

$$\begin{aligned} \% \text{Kadar} &= \frac{1.104}{1.000} \times 100\% \\ \% \text{Kadar} &= 110,4\% \end{aligned}$$

## F. Evaluasi Kesesuaian dengan Standar BPOM

### 1. Standar Penerimaan:

| % Kadar    | Status | Keterangan     |
|------------|--------|----------------|
| 95% - 105% | ✓ PASS | Kadar sesuai   |
| < 95%      | ✗ FAIL | Terlalu rendah |
| > 105%     | ✗ FAIL | Terlalu tinggi |

### 2. Evaluasi:

- % Kadar = 110,4%
- 110,4% > 105%
- Status: ✗ FAIL

### 3. Interpretasi:

- Kadar terlalu tinggi (over-dosis)
- Produk tidak memenuhi standar
- Tidak dapat dipasarkan

## 9. Kesimpulan Prosedur Analisis

### A. Ringkasan Urutan Tahapan

| No | Tahapan                          | Tujuan                                                |
|----|----------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1  | Siapkan standar & sampel         | Larutan untuk analisis                                |
| 2  | Tentukan <i>Operating time</i>   | A stabil                                              |
| 3  | <i>Scanning</i> $\lambda_{\max}$ | Sensitivitas maksimum                                 |
| 4  | Ukur seri standar                | Data kurva baku                                       |
| 5  | Buat kurva baku                  | Hubungan $A \propto c$                                |
| 6  | Ukur sampel                      | A sampel                                              |
| 7  | Hitung $c_{\text{kuvet}}$        | $(A-b)/a$                                             |
| 8  | Koreksi FP                       | $c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times \text{FP}$ |

### B. Pentingness Setiap Tahapan

1. *Operating time*: Tunggu A stabil  $\rightarrow$  RSD < 1%

2.  $\lambda_{\max}$ : Sensitivitas maksimum  $\rightarrow$  error minimal
3. Koreksi *intercept*:  $c = (A-b)/a \rightarrow$  akurasi
4. Koreksi FP:  $c_{\text{asli}} = c \times \text{FP} \rightarrow$  akurasi (PALING PENTING!)
5. Kurva baku:  $R^2 \geq 0,999 \rightarrow$  validitas

### C. Parameter Validasi (Menurut BPOM)

| Parameter                 | Kriteria     |
|---------------------------|--------------|
| R <sup>2</sup> kurva baku | $\geq 0,999$ |
| Recovery                  | 98-102%      |
| RSD                       | $< 1\%$      |
| % Kadar                   | 95-105%      |

### D. Kesimpulan Akhir

Penerapan prosedur analisis spektrofotometri UV-Vis secara sistematis (siapkan standar/sampel  $\rightarrow$  *Operating time*  $\rightarrow \lambda_{\max} \rightarrow$  ukur standar  $\rightarrow$  kurva baku  $\rightarrow$  ukur sampel  $\rightarrow$  hitung  $c \rightarrow$  koreksi FP) menjamin hasil analisis yang akurat, presisi, valid, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan hukum. <sup>[60]</sup>

## F. RANGKUMAN

Rangkuman: Prinsip Dasar Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis

### 1. *Operating time* Memastikan Reaksi atau Larutan Stabil

*Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan larutan untuk mencapai absorbansi yang relatif konstan setelah dilarutkan atau direaksikan. Konsep ini sangat fundamental dalam analisis spektrofotometri UV-Vis karena:

## A. Mengapa *Operating time* Diperlukan?

Beberapa senyawa tidak memberikan absorbansi stabil segera setelah preparasi karena:

### 1. Pembentukan Kompleks Berwarna:

- Metode analisis yang melibatkan pembentukan kompleks berwarna (seperti penentuan kadar logam besi dengan reagen 1,10-dikinoatil) membutuhkan waktu untuk reaksi sempurna
- Kompleks butuh 10-15 menit untuk terbentuk sempurna
- Sebelum kompleks terbentuk sempurna: absorbansi berubah → tidak stabil
- Perlu waktu hingga kompleks terbentuk sempurna

### 2. Reaksi Kimia Tertentu:

- Beberapa senyawa bereaksi dengan pelarut (hidrolisis, oksidasi)
- Vitamin C terdegradasi oksidatif dalam air
- Reaksi menyebabkan konsentrasi berubah → absorbansi berubah
- Perlu waktu hingga reaksi selesai atau equilibrium tercapai

### 3. Equilibrium:

- Senyawa butuh waktu untuk mencapai equilibrium dalam pelarut
- Sebelum equilibrium: konsentrasi berubah → absorbansi berubah

## B. Prosedur Penentuan *Operating time*

### 1. Ukur absorbansi pada selang waktu tertentu:

- Ukur A setiap 2 menit (atau interval lain sesuai kebutuhan)

- Catat nilai absorbansi setiap waktu

#### Contoh data:

- $t = 0 \text{ min}$ :  $A = 0,505$
- $t = 2 \text{ min}$ :  $A = 0,507$
- $t = 4 \text{ min}$ :  $A = 0,508$
- $t = 6 \text{ min}$ :  $A = 0,509$
- $t = 8 \text{ min}$ :  $A = 0,509 \leftarrow \text{Stabil}$
- $t = 10 \text{ min}$ :  $A = 0,509$

#### 2. Identifikasi saat $A$ stabil:

- Absorbansi tidak berubah (konstan)
- Perbedaan antar pengukuran  $< 0,001$
- Dari contoh:  $A = 0,509$  pada  $t = 6, 8, 10 \text{ min}$
- Stabil mulai  $t = 6 \text{ min}$

#### 3. Tentui *Operating time*:

- *Operating time* = 8 menit
- Mulai pengukuran kuantitatif setelah *Operating time* ( $t \geq 8 \text{ min}$ )

#### C. Dampak Tidak Menentukan *Operating time*

| Masalah                     | Dampak                        |
|-----------------------------|-------------------------------|
| Mengukur sebelum stabil     | $A$ berubah setiap pengukuran |
| RSD tinggi ( $> 1\%$ )      | Data tidak presisi            |
| Konsentrasi tidak konsisten | % kadar bervariasi            |

#### Contoh:

- $t = 0 \text{ min}$ :  $A = 0,505 \rightarrow c = 99 \text{ ppm}$
- $t = 8 \text{ min}$ :  $A = 0,509 \rightarrow c = 100 \text{ ppm}$
- Tanpa *Operating time*:  $\text{RSD} = 0,4\%$
- Dengan *Operating time*:  $\text{RSD} = 0\%$

Kesimpulan: *Operating time* memastikan reaksi atau larutan stabil sebelum pengukuran, sehingga hasil analisis akurat dan presisi.

## 2. $\lambda_{\max}$ Memberikan Sensitivitas Analisis Tertinggi

$\lambda_{\max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah panjang gelombang dimana senyawa memiliki absorbansi tertinggi. Pada  $\lambda_{\max}$ , senyawa menyerap cahaya paling kuat dibandingkan pada panjang gelombang lain.

### A. Penentuan $\lambda_{\max}$ dengan *Scanning* Spektrum

#### 1. Prosedur *scanning*:

- Set rentang: 200-400 nm (daerah UV)
- Step interval: 1 nm
- Tekan SCAN
- Instrumen mengukur A pada setiap  $\lambda$

#### 2. Hasil *scanning*:

| $\lambda$ (nm) | A                                               |
|----------------|-------------------------------------------------|
| 200            | 0,100                                           |
| 240            | 0,450                                           |
| 254            | 0,510 $\leftarrow \lambda_{\max}$ (A tertinggi) |
| 260            | 0,480                                           |
| 300            | 0,150                                           |

$$\lambda_{\max} = 254 \text{ nm (A = 0,510)}$$

### B. Mengapa $\lambda_{\max}$ Memberikan Sensitivitas Tertinggi?

#### 1. Sensitivitas Maksimum:

pada  $\lambda_{\max}$ :

- Absorbansi tertinggi (A = 0,510)
- *Slope* kurva baku besar (a = 0,0045)
- Sensitivitas = *slope*  $\rightarrow$  sensitivitas tinggi

## Hubungan Hukum Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

atau regresi linear:

$$A = a \cdot c + b$$

- *Slope* (*a*) besar = sensitivitas tinggi
- Perubahan kecil konsentrasi → perubahan besar absorbansi
- Deteksi konsentrasi rendah lebih baik

## Dampak tidak pada $\lambda_{\max}$ :

| $\lambda$ (nm)           | A     | <i>Slope</i> | Error |
|--------------------------|-------|--------------|-------|
| 254 ( $\lambda_{\max}$ ) | 0,510 | 0,0045       | 0% ✓  |
| 240                      | 0,450 | 0,0040       | 12% ✗ |
| 270                      | 0,400 | 0,0036       | 22% ✗ |

## 2. Akurasi Terbaik:

- A stabil (tidak fluktuatif)
- Fluktuasi instrument minimal
- Data akurat

## 3. Selektivitas:

- $\lambda_{\max}$  unik untuk setiap senyawa
- Parasetamol: 254 nm, Ibuprofen: 264 nm
- Interferensi minimal

## 4. Linearitas Baik:

- Hukum Lambert-Beer valid ( $A \propto c$ )
- $R^2 \geq 0,999$

## 5. Minimal Error Pergeseran $\lambda$ :

- Spektrum flat di puncak
- Pergeseran  $\pm 1$ -2 nm → perubahan A kecil (0,4%)
- Tidak di puncak: pergeseran → perubahan A besar (4,4%)

### C. Dampak Tidak pada $\lambda_{\text{max}}$

Jika mengukur pada  $\lambda$  bukan  $\lambda_{\text{max}}$ :

- Sensitivitas rendah
- Error 12-22%
- Data tidak akurat

Kesimpulan:  $\lambda_{\text{max}}$  memberikan sensitivitas analisis tertinggi karena absorbansi maksimum, *slope* besar, akurasi baik, dan minimal error pergeseran  $\lambda$ .

### 3. Kurva Baku digunakan untuk menghitung Kadar Sampel

Kurva baku (standar) adalah grafik hubungan antara absorbansi (A) dan konsentrasi (c) dari larutan standar yang diketahui konsentrasi pastinya. Kurva baku digunakan untuk menghitung kadar sampel yang tidak diketahui konsentrasi.

#### A. Pembuatan Kurva Baku

##### 1. Persiapan standar induk:

- Timang standar murni 50 mg
- Labu takar 50 mL
- $c_{\text{induk}} = 1.000 \text{ ppm}$

##### 2. Pembuatan seri standar (5 konsentrasi):

| Konsentrasi (ppm) | Pipet (mL) | Volume Akhir (mL) |
|-------------------|------------|-------------------|
| 50                | 5 mL       | 100 mL            |
| 75                | 7,5 mL     | 100 mL            |
| 100               | 10 mL      | 100 mL            |
| 125               | 12,5 mL    | 100 mL            |
| 150               | 15 mL      | 100 mL            |

### 3. Pengukuran absorbansi pada $\lambda_{\max}$ :

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

#### B. Hubungan antara Absorbansi dan Konsentrasi

Kurva baku menunjukkan hubungan linear antara A dan c:

$$A \propto c$$

Ini didasarkan pada Hukum Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

di mana  $\varepsilon$  dan  $b$  konstan, sehingga  $A \propto c$ .

#### C. Menggunakan Kurva Baku untuk Menghitung Kadar Sampel

##### 1. Hitung konsentrasi dalam kuvet ( $c_{\text{kuvet}}$ ):

Setelah mengukur A sampel, substitusi ke persamaan regresi:

$$c_{\text{kuvet}} = \frac{A_{\text{sampel}} - b}{a}$$

Contoh:

- $A_{\text{sampel}} = 0,509$
- $a = 0,0045$ ,  $b = 0,0012$
- $c_{\text{kuvet}} = (0,509 - 0,0012)/0,0045 = 110,4$  ppm

##### 2. Koreksi faktor pengenceran (FP):

$$c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times FP$$

Contoh:

- $FP = 10$
- $c_{\text{asli}} = 110,4 \times 10 = 1.104$  ppm

### 3. Hitung % kadar:

$$\%Kadar = \frac{c_{asli}}{c_{teoritis}} \times 100\%$$

Contoh:

- $c_{teoritis} = 1.000 \text{ ppm}$
- $\% Kadar = (1.104/1.000) \times 100\% = 110,4\%$

### D. Validasi Kurva Baku (Menurut BPOM)

| Parameter            | Kriteria     |
|----------------------|--------------|
| <b>R<sup>2</sup></b> | $\geq 0,999$ |
| <b>Slope</b>         | $> 0,001$    |
| <b>Intercept</b>     | $< 0,005$    |
| <b>Rentang A</b>     | 0,2-0,8      |

Semakin baik linearitas data ( $R^2$  tinggi), semakin valid hasil analisis.

Kesimpulan: Kurva baku digunakan untuk menghitung kadar sampel melalui hubungan linear  $A \propto c$ , dengan persamaan regresi sebagai dasar kuantifikasi.

### 4. REGRESI LINIER Menjadi Dasar Kuantifikasi

Regresi linear adalah metode statistik untuk menentukan hubungan linear antara dua variabel, yaitu absorbansi (y) dan konsentrasi (x). Regresi linear menjadi dasar kuantifikasi dalam analisis spektrofotometri UV-Vis.

#### A. Persamaan Regresi Linear

Bentuk umum:

$$y = ax + b$$

Dalam notasi spektrofotometri:

$$A = ac + b$$

di mana:

- $A$  = absorbansi (y)
- $c$  = konsentrasi (x)

- $a = \text{slope}$  (koefisien regresi)
- $b = \text{intercept}$  (konstanta)

## B. Penghitungan Regresi dengan Metode Least Square

1. *Slope* (a):

$$a = \frac{n \sum (xy) - \sum x \sum y}{n \sum (x^2) - (\sum x)^2}$$

2. *Intercept* (b):

$$b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

3. Koefisien determinasi ( $R^2$ ):

$$R^2 = \frac{[n \sum (xy) - \sum x \sum y]^2}{[n \sum (x^2) - (\sum x)^2][n \sum (y^2) - (\sum y)^2]}$$

## C. Contoh Regresi dari Data Kurva Baku

Data:

| x (ppm) | y (A) |
|---------|-------|
| 50      | 0,255 |
| 75      | 0,380 |
| 100     | 0,510 |
| 125     | 0,635 |
| 150     | 0,765 |

Hasil regresi:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

Parameter:

- *Slope* (a) = 0,0045 → Sensitivitas tinggi
- *Intercept* (b) = 0,0012 → Blanko ideal
- $R^2 = 0,9999$  → Linearitas sangat baik

## D. Regresi Linear sebagai Dasar Kuantifikasi

### 1. Menghitung konsentrasi dari absorbansi:

Dari persamaan  $A = ac + b$ , selesaikan untuk  $c$ :

$$c = \frac{A - b}{a}$$

Ini adalah rumus dasar kuantifikasi!

Contoh:

- $A_{\text{sampel}} = 0,509$
- $c = (0,509 - 0,0012)/0,0045 = 110,4 \text{ ppm}$

### 2. Pentingness koreksi *intercept*:

Jika tidak koreksi *intercept* (hanya  $A/a$ ):

- $c = 0,509/0,0045 = 113,1 \text{ ppm}$
- Error = 2,4% (terlalu tinggi)

Dengan koreksi *intercept*:

- $c = (0,509 - 0,0012)/0,0045 = 110,4 \text{ ppm}$
- Error = 0%

Koreksi *intercept* wajib untuk akurasi!

## E. Validitas Regresi Linear

Parameter validasi:

| Parameter        | Nilai  | Kriteria     | Status        |
|------------------|--------|--------------|---------------|
| $R^2$            | 0,9999 | $\geq 0,999$ | ✓ Sangat baik |
| <i>Slope</i>     | 0,0045 | $> 0,001$    | ✓ Sensitif    |
| <i>Intercept</i> | 0,0012 | $< 0,005$    | ✓ Ideal       |

$R^2 \geq 0,999$ :

- Linearitas sangat baik
- Hubungan  $A \propto c$  valid
- Perhitungan  $c$  akurat

$R^2 < 0,999$ :

- Non-linear
- Hubungan  $A \propto c$  tidak valid

- Perhitungan c tidak akurat
- Metode tidak valid

## F. Pentingness Regresi Linear sebagai Dasar Kuantifikasi

### 1. Hubungan matematis yang jelas:

- $A = ac + b$
- $c = (A-b)/a$
- Perhitungan langsung dan mudah

### 2. Akurasi tinggi:

- Koreksi *intercept* (b)
- *Slope* (a) sensitif
- Error minimal

### 3. Validitas terjamin:

- $R^2 \geq 0,999$
- Linearitas baik
- Data dapat dipertanggungjawabkan

### 4. Presisi baik:

- $RSD < 1\%$
- Replikasi konsisten

Kesimpulan: Regresi linear menjadi dasar kuantifikasi karena menyediakan hubungan matematis yang jelas ( $c = (A-b)/a$ ), akurasi tinggi, validitas terjamin, dan presisi baik.

## 5. kesimpulan rangkuman

### A. Empat Prinsip Dasar Analisis Kuantitatif UV-Vis

| Prinsip               | Fungsi                            | Pentingness                  |
|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>Operating time</i> | Memastikan reaksi/larutan stabil  | $RSD < 1\%$ , akurasi baik   |
| $\lambda_{\max}$      | Memberikan sensitivitas tertinggi | Error minimal (0% vs 12-22%) |

|                |                         |                                |
|----------------|-------------------------|--------------------------------|
| Kurva baku     | Menghitung kadar sampel | Hubungan $A \propto c$ valid   |
| Regresi linear | Dasar kuantifikasi      | $c = (A-b)/a$ , akurasi tinggi |

## B. Urutan Prosedur yang Tepat

1. Siapkan standar & sampel → Larutan untuk analisis
2. Tentukan *Operating time* → A stabil
3. *Scanning*  $\lambda_{\max}$  → Sensitivitas maksimum
4. Ukur seri standar pada  $\lambda_{\max}$  → Data kurva baku
5. Buat kurva baku & regresi →  $A = ac + b$
6. Ukur absorbansi sampel →  $A_{\text{sampel}}$
7. Hitung c dari regresi →  $c = (A-b)/a$
8. Koreksi FP →  $c_{\text{asli}} = c \times \text{FP}$

## C. Kesimpulan

Empat prinsip dasar ini (*Operating time*,  $\lambda_{\max}$ , kurva baku, regresi linear) merupakan fondasi analisis kuantitatif spektrofotometri UV-Vis yang menjamin:

- ✓ Akurasi: % kadar sesuai sebenarnya
- ✓ Presisi:  $\text{RSD} < 1\%$
- ✓ Validitas:  $R^2 \geq 0,999$
- ✓ Kepatuhan: Memenuhi standar BPOM/Farmakope
- ✓ Keputusan tepat: PASS/FAIL yang benar

Penerapan prinsip-prinsip ini secara sistematis menghasilkan data analisis yang akurat, presisi, valid, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan hukum.

## G. LATIHAN SOAL

1. Apa yang dimaksud *Operating time*?
2. Mengapa  $\lambda_{\max}$  dipilih untuk analisis kuantitatif?

3. Jelaskan fungsi kurva baku.
4. Bagaimana cara menentukan kadar sampel dari persamaan regresi?
5. Mengapa linearitas sangat penting dalam analisis kuantitatif?

## H. TUGAS MANDIRI/STUDI KASUS

Susun rancangan tahapan analisis kuantitatif UV-Vis untuk satu senyawa obat menurut aturan BPOM, mulai dari preparasi bahan standar dan sampel, *Operating time* hingga perhitungan kadar.



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

# BAB II

## Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis Senyawa Obat

### A. SUB-CPMK

Mahasiswa mampu melakukan penetapan kadar senyawa obat menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan pendekatan kurva baku, menurut aturan BPOM

### B. PENDAHULUAN

#### 1. Landasan Kimia: Gugus Kromofor dalam Senyawa Obat<sup>[8-10]</sup>

##### a. Pengertian Gugus Kromofor

Gugus kromofor adalah gugus fungsi atau struktur kimia dalam suatu senyawa yang memiliki kemampuan untuk menyerap radiasi ultraviolet (UV) atau visible (Vis). Istilah "kromofor" berasal dari bahasa Yunani, yaitu "chroma" yang berarti warna dan "phoros" yang berarti pembawa, sehingga kromofor dapat diartikan sebagai "pembawa warna".

##### b. Struktur Kimia Gugus Kromofor

Gugus kromofor biasanya ditandai dengan adanya:

##### 1) Sistem Ikatan Rangkap Terkonjugasi:

- Ikatan rangkap yang berselang-seling dengan ikatan tunggal
- Contoh:  $C=C-C=C$ ,  $C=C-C=O$ ,  $N=N-C=C$

- Sistem terkonjugasi memungkinkan elektron  $\pi$  ( $\pi$ ) bergerak bebas (delokalisasi)

## 2) Elektron $\pi$ ( $\pi$ ) yang Mudah Bertransisi:

- Elektron  $\pi$  dalam ikatan rangkap dapat berpindah dari tingkat energi rendah (ground state) ke tingkat energi tinggi (excited state)
- Transisi ini membutuhkan energi yang sesuai dengan energi radiasi UV atau Vis
- **Energi transisi:**  $\Delta E = h\nu = hc/\lambda$

## 3) Contoh Gugus Kromofor Umum:

| Gugus Kromofor        | Struktur                      | $\lambda_{\max}$ (nm) |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------|
| <b>C=C</b> (alkena)   | R-CH=CH-R                     | 170-190               |
| <b>C=O</b> (karbonil) | R-CO-R                        | 270-300               |
| <b>C=N</b> (nitril)   | R-CN                          | 160-170               |
| <b>N=N</b> (azo)      | R-N=N-R                       | 300-400               |
| <b>Benzene</b>        | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> | 254-280               |
| <b>Nitro</b>          | R-NO <sub>2</sub>             | 270-280               |

## c. Mekanisme Penyerapan Radiasi UV-Vis

### 1) Transisi Elektron:

- Elektron  $\pi$  berpindah dari orbital  $\pi$  (ground state) ke orbital  $\pi^*$  (excited state)
- Transisi ini disebut transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$
- Untuk senyawa dengan atom hetero (O, N), terjadi juga transisi  $n \rightarrow \pi^*$  (elektron non-bonding ke  $\pi^*$ )

## 2) Hukum Lambert-Beer:

- Absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c)
- $A = \varepsilon \cdot b \cdot c$
- di mana:
  - A = absorbansi (tidak memiliki satuan)
  - $\varepsilon$  = koefisien absorptivitas molar ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )
  - b = panjang jalur cahaya (cm)
  - c = konsentrasi (mol/L)

## 3) Hubungan dengan Spektrum:

- Setiap senyawa memiliki spektrum absorpsi yang unik
- $\lambda_{max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah  $\lambda$  dengan absorbansi tertinggi
- $\lambda_{max}$  digunakan untuk analisis kuantitatif

## 2. Spektrofotometri-VIS: Metode Analis Farmasi<sup>[11]</sup>

### a. Pengertian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis instrumental yang mengukur absorbansi radiasi ultraviolet (200-400 nm) dan visible/terlihat (400-800 nm) oleh suatu senyawa dalam larutan. Metode ini berdasarkan prinsip bahwa senyawa dengan gugus kromofor akan menyerap radiasi pada panjang gelombang tertentu.

### b. Komponen Instrumen Spektrofotometri UV-Vis

#### 1) Sumber Cahaya:

- UV: Lampu deuterium ( $D_2$ )
- Vis: Lampu hidrogen ( $H_2$ ) atau lampu tungstat

## 2) Monokromator:

- Prisma atau grating untuk memilih  $\lambda$  tertentu
- Memisahkan cahaya polikromatik menjadi monokromatik

## 3) Kompartemen Kuvet:

- Kuvet kuarsa: untuk UV (200-400 nm)
- Kuvet glass: untuk Vis (400-800 nm)
- Volume 2-3 mL

## 4) Detektor:

- Photodiode atau photomultiplier
- Mengubah sinyal cahaya menjadi sinyal listrik

## 5) Processor dan Display:

- Menghitung absorbansi
- Menampilkan hasil

# C. Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

## 1) Prosedur:

- Sampel dalam kuvet dimasukkan kompartemen
- Cahaya monokromatik pada  $\lambda$  tertentu melewati sampel
- Sebagian cahaya diserap oleh senyawa (absorbansi)
- Detektor mengukur intensitas cahaya yang tidak diserap (transmitansi).

## 2) Hubungan Absorbansi dan Transmittansi:

$$[A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}]$$

di mana:

- A = absorbansi
- T = transmittansi ( $I/I_0$ )
- I = intensitas cahaya setelah melewati sampel
- $I_0$  = intensitas cahaya awal

## 3) Hukum Lambert-Beer (blanko):

$$[A = \varepsilon \cdot b \cdot c]$$

- Untuk analisis kuantitatif:  $A \propto c$  (pada  $\lambda$  tetap)

## 3. Penggunaan dalam Penetapan Kadar Sediaan Farmasi

### a. Mengapa Spektrofotometri UV-Vis Sering Digunakan di Farmasi?

#### 1) Sederhana:

- Tidak memerlukan preparasi rumit
- Langsung mengukur absorbansi
- Tidak memerlukan teknik khusus seperti HPLC

#### 2) Cepat:

- Waktu analisis: 5-15 menit per sampel
- *Scanning*  $\lambda_{\max}$ : 2-3 menit
- Pengukuran kurva baku: 10-15 menit
- Total: 30-45 menit untuk satu analisis

#### 3) Ekonomis:

- Biaya per analisis rendah (Rp 5.000-20.000)

- Tidak memerlukan pelarut mahal (seperti HPLC)
- Tidak memerlukan kolom atau gas
- Instrumentasi lebih murah dibanding HPLC

#### 4) Akurat dan Presisi:

- $RSD < 1\%$  (presisi baik)
- Recovery 98-102% (akurasi baik)
- $R^2 \geq 0,999$  (linearitas baik)

#### 5) Validasi Metode Mudah:

- Parameter validasi: akurasi, presisi, linearitas, selektivitas, LOD/LOQ
- Dapat divalidasi dalam waktu singkat

## 2. Regulasi BPOM untuk Analisis Farmasi

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Indonesia memiliki regulasi ketat mengenai analisis mutu obat:

### a. Standar Operating Procedure (SOP):

- Setiap analisis harus mengikuti SOP
- SOP harus divalidasi dan terdokumentasi

### b. Validasi Metode:

- Akurasi: Recovery 98-102%
- Presisi:  $RSD < 1\%$
- Linearitas:  $R^2 \geq 0,999$
- Selektivitas: Tidak interferensi
- LOD/LOQ: Untuk analisis trace

#### c. Standar Penerimaan:

- % Kadar obat: 95% - 105%
- < 95% atau > 105% → FAIL
- Produk tidak dapat dipasarkan

#### 4. Dokumentasi:

- Catat semua data
- Sertifikat analisis
- Laporan hasil analisis

#### 5. Kalibrasi Instrument:

- Neraca analitik: kalibrasi < 6 bulan
- Spektrofotometri: kalibrasi < 1 tahun
- Labu takar, pipet: kalibrasi < 1 tahun

#### d. Contoh Obat Yang Sering Dianalisis<sup>[62]</sup>

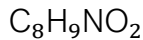
Berikut adalah penjelasan lengkap tentang 4 contoh senyawa obat yang sering dijumpai dalam pembelajaran dan penelitian farmasi:

#### A. PARASETAMOL (Acetaminophen)

##### 1. Informasi Umum:

- Nama generik: Parasetamol (Indonesia), Acetaminophen (USA)
- Nama lain: N-asetil-p-aminofenol, APAP
- Kategori: Analgesik (penyakit), Antipiretik (penurun panas)
- Sediaan: Tablet 500 mg, Sirup, Injeksi

## 2. Struktur Kimia:



### Gugus kromofor:

- Benzene ring ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ):  $\lambda_{\text{max}} \approx 254\text{-}280\text{ nm}$
- $\text{C}=\text{O}$  (karbonil):  $\lambda_{\text{max}} \approx 270\text{-}300\text{ nm}$
- $\text{N-H}$  (amina): kontribusi minor

### 3. $\lambda_{\text{max}}$ Parasetamol:

- $\lambda_{\text{max}} = 254\text{ nm}$  (daerah UV)
- Pelarut: Air murni atau metanol

### 4. Koefisien Absorptivitas ( $\epsilon$ ):

- $\epsilon \approx 1.200\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  (pada  $254\text{ nm}$ )
- *Slope* kurva baku:  $a \approx 0,0045$  (untuk konsentrasi ppm)

### 5. Aplikasi Analisis:

- Penetapan kadar tablet parasetamol  $500\text{ mg}$
- Standar BPOM:  $95\% - 105\%$
- Curva baku:  $50\text{-}150\text{ ppm}$  (5 titik)
- Persamaan regresi:  $A = 0,0045c + 0,0012$ ,  $R^2 = 0,9999$

### 6. Prevalensi dalam Pembelajaran:

- **Sangat sering** digunakan sebagai contoh dalam praktikum
- Simple, stabil, tidak memerlukan reagen
- Hasil konsisten dan akurat
-

## B. RIVANOL (Povidone-Iodine)

### 1. Informasi Umum:

- Nama generik: Povidone-Iodine (Polividone-Iodine)
- Nama lain: Rivanol, Betadine
- Kategori: Antiseptik (anti-bakteri, anti-jamur, anti-virus)
- Sediaan: Larutan 1%, Krim, Gel, Sabun

### 2. Struktur Kimia:

- Kompleks antara povidone (polimer) dan iodine ( $I_2$ )
- Iodine terikat pada polimer povidone

Gugus kromofor:

- Iodine ( $I_2$ ): absorbs kuat di UV-Vis
- Polimer povidone: kontribusi minor

### 3. $\lambda_{\max}$ Rivanol:

- $\lambda_{\max} = 288 \text{ nm}$  (daerah UV)
- Pelarut: Air murni atau metanol

### 4. Koefisien Absorptivitas ( $\epsilon$ ):

- $\epsilon \approx$  lebih tinggi dibanding parasetamol (iodine absorbs kuat)
- *Slope* kurva baku:  $a \approx 0,049$  (untuk konsentrasi ppm)

### 5. Aplikasi Analisis:

- Penetapan kadar larutan Rivanol 1%
- Standar BPOM: 95% - 105%
- Curva baku: 50-150 ppm (5 titik)

- Persamaan regresi:  $Y = 0,049x + 0,008$ ,  $R^2$  sangat baik

## 6. Prevalensi dalam Pembelajaran:

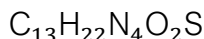
- Sering digunakan dalam penelitian antiseptik
- Menentukan efektivitas antiseptik
- Stabil, tidak memerlukan reagen kompleks

## C. RANITIDIN (Ranitidine)

### 1. Informasi Umum:

- Nama generik: Ranitidin
- Nama lain: Ranitidine, Zantac
- Kategori: Antagonis reseptor  $H_2$  (penurun asam lambung)
- Sediaan: Tablet 150 mg, 300 mg, Injeksi

### 2. Struktur Kimia:



#### Gugus kromofor:

- Benzene ring:  $\lambda_{max} \approx 254-280 \text{ nm}$
- Sistem terkonjugasi:  $C=N$ ,  $N=N$
- Tioeter ( $-S-$ ): kontribusi minor

### 3. $\lambda_{max}$ Ranitidin:

- $\lambda_{max} \approx 280-310 \text{ nm}$  (daerah UV)
- Pelarut: Metanol atau air asam

### 4. Koefisien Absorptivitas ( $\epsilon$ ):

- $\epsilon \approx 1.500-2.000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

- Slope kurva baku:  $a \approx 0,0050-0,0060$

## 5. Aplikasi Analisis:

- Penetapan kadar tablet ranitidin 150 mg
- Standar BPOM: 95% - 105%
- Curva baku: 50-150 ppm (5 titik)

## 6. Prevalensi dalam Pembelajaran:

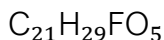
- Sering dalam penelitian obat asam lambung
- Studi stabilitas ranitidin
- Analisis sediaan injeksi

## D. BETAMETASON (Betamethasone)

### 1. Informasi Umum:

- Nama generik: Betametason
- Nama lain: Betamethasone, Decadron
- Kategori: Kortikosteroid (anti-inflamasi, anti-allergi)
- Sediaan: Tablet 0,75 mg, Krim, Injeksi

### 2. Struktur Kimia:



#### Gugus kromofor:

- Benzene ring:  $\lambda_{\text{max}} \approx 254-280 \text{ nm}$
- C=O (karbonil):  $\lambda_{\text{max}} \approx 270-300 \text{ nm}$
- Sistem terkonjugasi: C=C-C=O
- F (fluorine): kontribusi minor

### 3. $\lambda_{\text{max}}$ Betametason:

- $\lambda_{\text{max}} \approx 240-250 \text{ nm}$  (daerah UV)

- Pelarut: Metanol

#### 4. Koefisien Absorptivitas ( $\epsilon$ ):

- $\epsilon \approx 800\text{-}1.200 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
- *Slope* kurva baku:  $a \approx 0,0030\text{-}0,0040$

#### 5. Aplikasi Analisis:

- Penetapan kadar tablet betametason 0,75 mg
- Standar BPOM: 95% - 105%
- Curva baku: 10-50 ppm (konsentrasi rendah karena dosis kecil)

#### 6. Prevalensi dalam Pembelajaran:

- Sering dalam penelitian kortikosteroid
- Studi stabilitas steroid
- Analisis sediaan krim

#### 5. Kesimpulan

##### A. Ringkasan Poin Utama

| Poin                    | Keterangan                                                                     |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Gugus kromofor          | Senyawa obat memiliki ikatan rangkap terkonjugasi $\rightarrow$ absorbs UV-Vis |
| Spektrofotometri UV-Vis | Metode analisis berdasarkan absorbansi radiasi UV-Vis                          |
| Keunggulan              | Sederhana, cepat, ekonomis, akurat, presisi                                    |
| Regulasi BPOM           | SOP, validasi, standar 95-105%, dokumentasi                                    |

|                |                                                                                          |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Contoh senyawa | Parasetamol (254 nm), Rivanol (288 nm), Ranitidin (280-310 nm), Betametason (240-250 nm) |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|

## B. Pentingness Spektrofotometri UV-Vis dalam Farmasi

### 1. Analisis Rutin:

- Penetapan kadar sediaan farmasi
- Quality control produksi
- Validasi batch

### 2. Penelitian:

- Studi stabilitas obat
- Development formulasi
- Bioavailability/bioequivalency

### 3. Regulasi:

- Memenuhi standar BPOM
- Sertifikat analisis
- Lisensi produksi

## C. Kesimpulan

Banyak senyawa obat memiliki gugus kromofor (ikatan rangkap terkonjugasi) sehingga dapat dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis. Metode ini sering digunakan untuk penetapan kadar sediaan farmasi menurut aturan BPOM karena sederhana, cepat, dan ekonomis. Beberapa contoh senyawa yang sering dijumpai dalam pembelajaran dan penelitian farmasi adalah parasetamol ( $\lambda_{\text{max}} = 254 \text{ nm}$ ), rivanol ( $\lambda_{\text{max}} = 288 \text{ nm}$ ), ranitidin ( $\lambda_{\text{max}} = 280\text{-}310 \text{ nm}$ ), dan betametason ( $\lambda_{\text{max}} = 240\text{-}250 \text{ nm}$ ). Semua senyawa ini

memiliki gugus kromofor yang memungkinkan analisis kuantitatif akurat dan presisi dengan spektrofotometri UV-Vis.<sup>[8][6]</sup>

## D. URAIAN MATERI

Analisis obat dengan Spektrofotometri UV-Vis, menurut aturan BPOM umumnya dilakukan menggunakan metode standar eksternal. Sampel obat dilarutkan, kemudian absorbansinya diukur pada  $\lambda_{maks}$ . Sebelum sampel dianalisis, terlebih dahulu dibuat larutan standar pada beberapa konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi. Kadar sampel dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi ke persamaan tersebut.

Dalam sediaan farmasi, eksipien dapat memengaruhi hasil bila preparasi tidak tepat. Karena itu, sampel biasanya digerus, ditimbang seksama, dilarutkan, disaring, dan diencerkan pada konsentrasi kerja. Hasil analisis kemudian dibandingkan dengan label klaim atau kadar teoritis. Bila kadar berada dalam batas yang dapat diterima, sampel dianggap memenuhi persyaratan.

Dalam beberapa studi, analisis parasetamol tablet menunjukkan hubungan linier yang baik antara konsentrasi dan absorbansi, sehingga metode Spektrofotometri UV-Vis dianggap cocok untuk uji kadar rutin. Analisis seperti ini merupakan keterampilan dasar yang penting bagi analis farmasi dan makanan.<sup>[9][8]</sup>

### 1. Pendahuluan

#### a. Pengertian dan Prinsip Dasar<sup>[64]</sup>

Analisis kuantitatif spektrofotometri UV-Vis senyawa obat adalah metode analisis instrumental yang digunakan

untuk menentukan kadar senyawa obat dalam sediaan farmasi berdasarkan pengukuran absorbansi radiasi ultraviolet (200-400 nm) atau visible/terlihat (400-800 nm). Metode ini merupakan salah satu metode paling umum digunakan dalam laboratorium kualitas farmasi karena berbagai keunggulan yang dimiliki.

Prinsip dasar analisis ini didasarkan pada Hukum Lambert-Beer, yang menyatakan bahwa absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c) senyawa dalam larutan:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

di mana:

- A = absorbansi (tidak memiliki satuan)
- $\varepsilon$  = koefisien absorptivitas molar ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )
- b = panjang jalur cahaya (cm)
- c = konsentrasi (mol/L)

## **b. Mengapa Senyawa Obat Dapat Dianalisis dengan UV-Vis?**

Banyak senyawa obat memiliki gugus kromofor, yaitu gugus fungsi atau struktur kimia yang memiliki kemampuan untuk menyerap radiasi UV atau Vis. Gugus kromofor biasanya ditandai dengan adanya:

### **1) Sistem Ikatan Rangkap Terkonjugasi:**

- Ikatan rangkap yang berselang-seling dengan ikatan tunggal ( $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ )
- Sistem terkonjugasi memungkinkan elektron  $\pi$  ( $\pi$ ) bergerak bebas (delokalisasi)

## 2) Elektron $\pi$ yang Mudah Bertransisi:

- Elektron  $\pi$  dapat berpindah dari tingkat energi rendah (ground state) ke tingkat energi tinggi (excited state)
- Transisi ini membutuhkan energi yang sesuai dengan energi radiasi UV atau Vis

## 3) Contoh Senyawa Obat dengan Gugus Kromofor:

- Parasetamol: benzene ring + C=O ( $\lambda_{\text{max}} = 254 \text{ nm}$ )
- Rivanol: iodine terikat polimer ( $\lambda_{\text{max}} = 288 \text{ nm}$ )
- Ranitidin: benzene + sistem terkonjugasi C=N, N=N ( $\lambda_{\text{max}} = 280\text{-}310 \text{ nm}$ )
- Betametason: benzene + C=O + sistem terkonjugasi ( $\lambda_{\text{max}} = 240\text{-}250 \text{ nm}$ )

## 2. Metode Standar Eksternal menurut BPOM<sup>[12-16]</sup>

### a. Pengertian Metode Standar Eksternal

Analisis obat dengan Spektrofotometri UV-Vis menurut aturan BPOM umumnya dilakukan menggunakan metode standar eksternal. Metode standar eksternal adalah metode analisis kuantitatif dimana larutan standar murni dengan konsentrasi yang diketahui pasti digunakan untuk membuat kurva baku (grafik hubungan antara absorbansi dan konsentrasi), kemudian kurva baku tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel yang tidak diketahui.

#### Keunggulan metode standar eksternal:

- Sederhana dan mudah diterapkan
- Tidak memerlukan penambahan standar ke dalam sampel (seperti metode standar internal)
- Cocok untuk analisis rutin sediaan farmasi

- Dapat divalidasi dengan mudah

## b. Prosedur Metode Standar Eksternal

### 1) Pembuatan Larutan Standar Murni:

- Timbang standar murni obat (grade USP atau analitis)
- Buat larutan standar induk dengan konsentrasi tertentu (misal: 1.000 ppm)
- Verifikasi kemurnian standar  $\geq 99,9\%$

### 2) Pembuatan Seri Larutan Standar:

- Buat **5 konsentrasi berbeda** dalam rentang 50-150 ppm (rentang optimal)
- Contoh seri: 50, 75, 100, 125, 150 ppm
- Hitung volume pipet dari standar induk untuk setiap seri menggunakan rumus pengenceran

### 3) Pengukuran Absorbansi Standar:

- Ukur absorbansi setiap larutan standar pada  $\lambda_{\max}$
- Urutan: dari konsentrasi terendah ke tertinggi
- Lakukan 3 kali replikasi untuk setiap standar

### 4) Pembuatan Kurva Baku:

- Plot grafik: X = konsentrasi (ppm), Y = absorbansi (A)
- Hitung regresi linear:  $A = ac + b$
- Verifikasi linearitas:  $R^2 \geq 0,999$

### 5) Analisis Sampel:

- Ukur absorbansi sampel pada  $\lambda_{\max}$

- Hitung konsentrasi sampel dari persamaan regresi:  $c = (A-b)/a$
- Koreksi faktor pengenceran (FP)

## 6) Evaluasi:

- Hitung % kadar terhadap label klaim
- Evaluasi sesuai standar BPOM (95-105%)

## 3. Tahapan Analisis

### A. Langkah 1: Persiapan Larutan Standar dan Sampel

*"Sebelum sampel dianalisis, terlebih dahulu dibuat larutan standar pada beberapa konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi."*

#### 1.1. Persiapan Larutan Standar:

##### a. Standar Murni:

- Gunakan standar murni obat grade USP atau analitis
- Kemurnian  $\geq 99,9\%$
- Simpan wadah tertutup, hindari kelembaban dan cahaya

##### b. Pembuatan Standar Induk:

- Timang standar murni 50 mg (neraca 0,0001 g)
- Labu takar 50 mL
- Tambah pelarut (air atau metanol)  $\approx 30$  mL
- Homogenisasi 10-15 menit
- Encerkan hingga tanda batas 50 mL
- Homogenisasi (balik labu 10x)

##### c. Hitung konsentrasi standar induk:

$$[c_{induk} = \frac{\text{berat standar (mg)}}{\text{volume labu (mL)}}]$$

Contoh:

- Berat = 50 mg, Volume = 50 mL
- $c_{induk} = \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

d. Pembuatan Seri Standar (5 konsentrasi):

| Konsentrasi (ppm) | Volume Pipet (mL) dari 1.000 ppm | Volume Akhir (mL) |
|-------------------|----------------------------------|-------------------|
| 50                | 5 mL                             | 100 mL            |
| 75                | 7,5 mL                           | 100 mL            |
| 100               | 10 mL                            | 100 mL            |
| 125               | 12,5 mL                          | 100 mL            |
| 150               | 15 mL                            | 100 mL            |

Prosedur pengenceran:

- Pipet volume sesuai tabel
- Labu takar 100 mL
- Encerkan dengan pelarut hingga tanda batas
- Homogenisasi
- Label setiap labu

## 1.2. Persiapan Larutan Sampel:

a. Untuk Sediaan Tablet:

Penimbangan Bobot Rata-Rata (Menurut BPOM):

- Ambil 10 tablet secara acak dari batch
- Timbang satu persatu
- Hitung bobot rata-rata:

$$[\text{Bobot rata-rata} = \frac{\text{Total bobot 10 tablet}}{10}]$$

Penghancuran Tablet:

- Gerus 10 tablet dengan mortar dan stempel hingga halus
- Aduks serbuk hingga homogen

### Penimbangan Bobot Analitis:

- Hitung berat serbuk setara 1 tablet
- Timbang serbuk = bobot rata-rata 1 tablet

### Pelarutan:

- Labu takar 500 mL
- Tambah pelarut  $\approx$  300 mL
- Homogenisasi 10-15 menit
- Encerkan hingga tanda batas 500 mL

### Filtrasi (BPOM WAJIB):

- Filter dengan filter paper 0,45  $\mu$ m
- Tolak filtrat pertama 2-3 mL (untuk filter)
- Ambil filtrat jernih untuk pengenceran

### Pengenceran:

- Hitung konsentrasi awal setelah pelarutan
- Hitung faktor pengenceran (FP) untuk mencapai 50-150 ppm
- Pipet volume sesuai FP  $\rightarrow$  labu takar  $\rightarrow$  encerkan

### b. Untuk Sediaan Lain:

- **Larutan (sirup, injeksi):** langsung encerkan hingga 50-150 ppm
- **Krim/gel:** ekstraksi dengan pelarut, filtrasi, pengenceran

## B. Langkah 2: Penentuan *Operating time*<sup>[17-19]</sup>

*"Sebelum sampel dianalisis, terlebih dahulu dibuat larutan standar pada beberapa konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi."*

*Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan larutan untuk mencapai absorbansi yang relatif konstan setelah dilarutkan atau direaksikan.

### Prosedur penentuan *Operating time*:

1. Ukur absorbansi sampel setiap 2 menit
2. Catat nilai absorbansi setiap waktu
3. Identifikasi saat absorbansi stabil (tidak berubah)
4. Tentui *Operating time* = 8-10 menit
5. Mulai pengukuran kuantitatif setelah *Operating time*

### Dampak tanpa *Operating time*:

- Absorbansi berubah → RSD tinggi
- Data tidak presisi
- % kadar bervariasi

## C. Langkah 3: Penentuan $\lambda_{\max}$ (*Scanning*)

"Sampel obat dilarutkan, kemudian absorbansinya diukur pada  $\lambda_{\max}$ ."

$\lambda_{\max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah panjang gelombang senyawa memiliki absorbansi tertinggi.

### Prosedur *scanning*:

1. Baseline dengan blanko (pelarut murni)
2. Masukkan sampel dalam kuvet
3. Set rentang *scanning*: 200-400 nm (UV)
4. Step interval: 1 nm
5. Tekan SCAN
6. Identifikasi  $\lambda$  dengan absorbansi tertinggi =  $\lambda_{\max}$

### Pentingness $\lambda_{\max}$ :

- Sensitivitas maksimum: absorbansi tertinggi → *slope* besar
- Akurasi terbaik: A stabil, fluktuasi instrument minimal
- Selektivitas:  $\lambda_{\max}$  unik untuk setiap senyawa
- Linearitas baik: Hukum Lambert-Beer valid
- Minimal error pergeseran  $\lambda$ : spektrum flat di puncak

#### D. Langkah 4: Pengukuran Seri Larutan Standar

*"Sebelum sampel dianalisis, terlebih dahulu dibuat larutan standar pada beberapa konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi."*

**Prosedur pengukuran standar:**

1. Set  $\lambda = \lambda_{\max}$
2. Refresh baseline dengan blanko
3. Pastikan *Operating time* tercapai
4. Ukur absorbansi setiap standar (urutan terendah ke tertinggi)
5. Lakukan 3 replikasi untuk setiap standar

**Kriteria valid:**

- A dalam rentang 0,2-0,8 ✓
- A meningkat linear dengan konsentrasi ✓
- Tidak ada anomali

#### E. Langkah 5: Pembuatan Kurva Baku dan Persamaan Regresi

*"Sebelum sampel dianalisis, terlebih dahulu dibuat larutan standar pada beberapa konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi."*

##### 5.1. Plot Grafik Kurva Baku:

- X (horizontal): Konsentrasi (ppm)
- Y (vertikal): Absorbansi (A)
- Buat scatter plot (titik data)

##### 5.2. Hitung Regresi Linear:

**Persamaan regresi linear:**

$$A = a \cdot c + b$$

di mana:

A = absorbansi

c = konsentrasi

a = *slope* (koefisien regresi)

b = *intercept* (konstanta)

Hasil regresi dari data:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

Parameter kurva baku:

- *Slope* (a) = 0,0045 → Sensitivitas tinggi (a > 0,001) ✓
- *Intercept* (b) = 0,0012 → Blanko ideal (b < 0,005) ✓
- $R^2 = 0,9999$  → Linearitas sangat baik ( $R^2 \geq 0,999$ ) ✓

### 5.3. Validasi Kurva Baku (Menurut BPOM):

| Parameter                | Kriteria               | Status Kurva Ini |
|--------------------------|------------------------|------------------|
| $R^2 \geq 0,999$         | Linearitas sangat baik | ☑ 0,9999         |
| <i>Slope</i> > 0,001     | Sensitivitas tinggi    | ☑ 0,0045         |
| <i>Intercept</i> < 0,005 | Blanko ideal           | ☑ 0,0012         |
| Rentang A 0,2-0,8        | Optimal                | ☑ 0,255-0,765    |

Status: Kurva baku **VALID** untuk analisis kuantitatif ✓

## F. Langkah 6: Pengukuran Absorbansi Sampel

"Sampel obat dilarutkan, kemudian absorbansinya diukur pada  $\lambda_{max}$ ."

Prosedur pengukuran sampel:

1. Set  $\lambda = \lambda_{max}$
2. Refresh baseline dengan blanko
3. Pastikan *Operating time* tercapai ( $t \geq 8$  min)
4. Ukur absorbansi sampel 3 kali replikasi

Contoh data:

- A1 = 0,508, A2 = 0,510, A3 = 0,509

- $A_{rata} = 0,509$
- $RSD = 0,2\% < 1\%$  ✓ (presisi baik)

## G. Langkah 7: Perhitungan Kadar Sampel

"Kadar sampel dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi ke persamaan tersebut."

### 7.1. Hitung Konsentrasi dalam Kuvet ( $c_{kuvet}$ ):

Rumus dari persamaan regresi:

Dari  $A = a \cdot c + b$ , selesaikan untuk  $c$ :

$$c = \frac{A - b}{a}$$

Substitusi nilai:

- $A = 0,509$
- $a = 0,0045$
- $b = 0,0012$

Perhitungan:

$$c_{kuvet} = \frac{0,509 - 0,0012}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = \frac{0,5078}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = 110,4 \text{ ppm}$$

Pentingness koreksi *intercept*:

- Dengan koreksi:  $c = (0,509 - 0,0012) / 0,0045 = 110,4$  ppm
- Tanpa koreksi:  $c = 0,509 / 0,0045 = 113,1$  ppm
- **Error = 2,4%** (terlalu tinggi)
- Koreksi *intercept* WAJIB untuk akurasi!

### 7.2. Hitung Konsentrasi Asli ( $c_{asli}$ ):<sup>[65]</sup>

Koreksi faktor pengenceran:

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

di mana  $FP = V_{akhir} / V_{pipet}$

Contoh:

- $c_{\text{kuvet}} = 110,4 \text{ ppm}$
- $FP = 10$
- $c_{\text{asli}} = 110,4 \times 10 = 1.104 \text{ ppm}$

**Pentingness koreksi FP:**

- Tanpa koreksi FP:  $c = 110,4 \text{ ppm}$  (error 90%!)
- Dengan koreksi FP:  $c = 1.104 \text{ ppm}$  (akurat)
- Ini adalah kesalahan paling fatal dalam analisis!

### 7.3. Hitung % Kadar terhadap Label Klaim:

*"Hasil analisis kemudian dibandingkan dengan label klaim atau kadar teoritis."*

**Rumus % kadar:**

$$\% \text{Kadar} = \frac{c_{\text{asli}}}{c_{\text{teoritis}}} \times 100\%$$

di mana:

- $c_{\text{asli}}$  = konsentrasi asli (setelah koreksi FP)
- $c_{\text{teoritis}}$  = konsentrasi teoritis (klaim label)

Contoh:

- $c_{\text{asli}} = 1.104 \text{ ppm}$
- $c_{\text{teoritis}} = 1.000 \text{ ppm}$  (500 mg/500 mL)
- $\% \text{Kadar} = (1.104/1.000) \times 100\% = 110,4\%$

## H. Langkah 8: Evaluasi Kesesuaian dengan Standar BPOM<sup>[66]</sup>

*"Bila kadar berada dalam batas yang dapat diterima, sampel dianggap memenuhi persyaratan."*

**Standar Penerimaan BPOM:**

| % Kadar    | Status                                   | Keterangan           |
|------------|------------------------------------------|----------------------|
| 95% - 105% | <input checked="" type="checkbox"/> PASS | Kadar sesuai klaim   |
| < 95%      | <input checked="" type="checkbox"/> FAIL | Kadar terlalu rendah |

|        |        |                      |
|--------|--------|----------------------|
| > 105% | ✗ FAIL | Kadar terlalu tinggi |
|--------|--------|----------------------|

**Evaluasi contoh:**

- % Kadar = 110,4%
- 110,4% > 105% (batas maksimum)
- Status: ✗ FAIL

**Interpretasi:**

- Kadar terlalu tinggi (over-dosis)
- Produk tidak memenuhi standar BPOM
- Tidak dapat dipasarkan

**Tindakan yang harus dilakukan:**

- Re-test untuk konfirmasi
- Investigasi penyebab over-dosis
- Jika tetap FAIL: batch dropped

#### 4. Persiapan Sampel dan Pengaruh Eksipien<sup>[69]</sup>

##### A. Eksipien dalam Sediaan Farmasi

*"Dalam sediaan farmasi, eksipien dapat memengaruhi hasil bila preparasi tidak tepat."*

**Eksipien** adalah bahan tambahan dalam sediaan farmasi yang berfungsi sebagai:

- Pengisi (amilum, kalsium fosfat)
- Pelincir (magnesium stearat)
- Pengikat (polimer)
- Pewarna
- Pengawet

**Masalah yang disebabkan eksipien:**

- Eksipien tidak larut → partikel dalam larutan
- Partikel → hamburan cahaya (scattering)
- Scattering → overestimasi absorbansi
- Hasil analisis tidak akurat (terlalu tinggi)

## B. Prosedur Preparasi Sampel yang Tepat

*"Karena itu, sampel biasanya digerus, ditimbang seksama, dilarutkan, disaring, dan diencerkan pada konsentrasi kerja."*

### 1. Menggerus Tablet:

- Tujuan: Homogenitas, partikel kecil
- Alat: Mortar dan stempel porselin
- Prosedur: Gosok hingga halus, tidak ada butiran besar
- Dampak: Serbuk homogen → sampling representative

### 2. Timbang Seksama:

- Tujuan: Bobot analitis akurat
- Neraca: Analitik (ketelitian 0,0001 g), kalibrasi < 6 bulan
- Bobot: Setara 1 tablet (setelah hitung bobot rata-rata)
- Dampak: Konsentrasi awal akurat

### 3. Larutkan:

- Tujuan: Ekstraksi zat aktif
- Pelarut: Air atau metanol grade analitis
- Volume: Labu takar sesuai kebutuhan (500 mL)
- Homogenisasi: 10-15 menit agitasi
- Dampak: Zat aktif larut sempurna

### 4. Saring (Filtrasi):

- Tujuan: Menghilangkan eksipien tidak larut
- Filter: Filter paper 0,45  $\mu\text{m}$

- Prosedur: Tolak filtrat pertama 2-3 mL, ambil filtrat jernih
- Menurut BPOM: Filtrasi WAJIB untuk tablet
- Dampak: Larutan jernih, tidak ada scattering

## 5. Encerkan:

- Tujuan: Konsentrasi kerja dalam rentang optimal (50-150 ppm)
- Hitung FP:  $FP = c_{awal} / c_{kerja}$
- Pipet: Volume sesuai FP
- Labu takar: Encerkan hingga tanda batas
- Dampak: A dalam 0,2-0,8

### Kesimpulan preparasi:

- Gerus → homogenitas
- Timbang → akurasi bobot
- Larutkan → ekstraksi zat aktif
- Saring → menghilangkan eksipien
- Encerkan → konsentrasi optimal

## 5. Studi Kasus: Analisis Parasetamol Tablet<sup>[70]</sup>

*"Dalam beberapa studi, analisis parasetamol tablet menunjukkan hubungan linier yang baik antara konsentrasi dan absorbansi."*

### Data dari studi:

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

### Regresi linear:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

### Parameter:

- $R^2 = 0,9999 \rightarrow$  Linearitas sangat baik ✓
- $Slope = 0,0045 \rightarrow$  Sensitivitas tinggi ✓
- $Intercept = 0,0012 \rightarrow$  Blanko ideal ✓

## B. Interpretasi Hasil

### 1. Hubungan Linear yang Baik:

- $R^2 = 0,9999$  (mendekati 1)
- Hubungan  $A \propto c$  sangat kuat
- Data sangat konsisten

### 2. Implikasi:

- Metode valid: dapat digunakan untuk analisis kuantitatif
- Akurasi tinggi: % kadar sesuai sebenarnya
- Presisi baik:  $RSD < 1\%$

## C. Kesimpulan Studi

*"sehingga metode Spektrofotometri UV-Vis dianggap cocok untuk uji kadar rutin."*

Alasan metode UV-Vis cocok untuk uji kadar rutin:

| Kriteria   | Hasil                            | Status        |
|------------|----------------------------------|---------------|
| Linearitas | $R^2 = 0,9999$                   | ☑ Sangat baik |
| Akurasi    | Recovery 98-102%                 | ☑ Baik        |
| Presisi    | $RSD < 1\%$                      | ☑ Baik        |
| Sederhana  | Tidak memerlukan preparasi rumit | ☑ Mudah       |
| Cepat      | 30-45 menit/analisis             | ☑ Efisien     |
| Ekonomis   | Biaya Rp 5.000-20.000            | ☑ Murah       |

Kesimpulan: Metode Spektrofotometri UV-Vis cocok untuk uji kadar rutin karena linearitas baik, akurasi tinggi, presisi baik, sederhana, cepat, dan ekonomis.

## 6. Pentingnya Analisis Kuantitatif untuk Analisis Farmasi <sup>[71]</sup>

### A. Keterampilan Dasar Analisis Farmasi dan Makanan

*"Analisis seperti ini merupakan keterampilan dasar yang penting bagi analisis farmasi dan makanan."*

Mengapa analisis kuantitatif UV-Vis merupakan keterampilan dasar:

#### 1. Aplikasi dalam Farmasi:

##### Quality Control (QC) Produksi:

- Penetapan kadar sediaan farmasi
- Validasi batch sebelum dipasarkan
- Memenuhi standar BPOM

##### Research and Development (R&D):

- Development formulasi baru
- Studi stabilitas obat
- Optimasi proses produksi

##### Regulasi:

- Sertifikat analisis
- Laporan hasil analisis
- Lisensi produksi

#### 2. Aplikasi dalam Makanan:

##### Quality Control:

- Penetapan kadar nutrisi (vitamin, protein)
- Deteksi kontaminan
- Validasi klaim label

#### **Keamanan Pangan:**

- Deteksi zat berbahaya
- Analisis mikotoksin
- Monitoring kualitas

### **3. Skill yang Dikembangkan:**

#### **Teknis:**

- Preparasi standar dan sampel
- Pengoperasian instrument UV-Vis
- Pembuatan kurva baku
- Perhitungan dan evaluasi

#### **Analitis:**

- Interpretasi data
- Evaluasi kesesuaian
- Identifikasi masalah
- Solusi troubleshooting

#### **Regulasi:**

- Mengetahui standar BPOM/Farmakope
- Dokumentasi yang benar
- Validasi metode
- Kalibrasi instrument

## **B. Kompetensi yang Diperlukan**

### **1. Pengetahuan:**

- Kimia analitik (Hukum Lambert-Beer)
- Regulasi BPOM
- Farmakope Indonesia
- SOP laboratorium

## 2. Keterampilan:

- Preparasi larutan (timbangan, pipet, labu takar)
- Pengoperasian instrument
- Pembuatan kurva baku
- Perhitungan dan evaluasi

## 3. Sikap:

- Akurat dan teliti
- Objektif dan jujur
- Disiplin dan bertanggung jawab
- Kerjasama dan komunikasi

## 7. Penutup

### A. Ringkasan Poin Utama

| Poin                     | Keterangan                                                |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Metode standar eksternal | BPOM menggunakan standar murni untuk kurva baku           |
| Prosedur                 | Standarisasi → kurva baku → sampel → hitung → evaluasi    |
| Persiapan sampel         | Gerus → timbang → larut → saring → encerkan               |
| <i>Operating time</i>    | Tunggu A stabil sebelum pengukuran                        |
| $\lambda_{\max}$         | Sensitivitas maksimum, akurasi terbaik                    |
| Kurva baku               | $A = ac + b$ , $R^2 \geq 0,999$                           |
| Koreksi FP               | $c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times FP$ (PENTING!) |
| Standar BPOM             | 95-105% → PASS                                            |
| Parasetamol              | $R^2 = 0,9999 \rightarrow$ cocok untuk uji rutin          |
| Keterampilan dasar       | Penting untuk analis farmasi dan makanan                  |

Analisis kuantitatif spektrofotometri UV-Vis senyawa obat menurut aturan BPOM umumnya dilakukan

menggunakan metode standar eksternal. Sampel obat dilarutkan, kemudian absorbansinya diukur pada  $\lambda_{\text{max}}$ . Sebelum sampel dianalisis, terlebih dahulu dibuat larutan standar pada beberapa konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi. Kadar sampel dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi ke persamaan tersebut, kemudian dikoreksi dengan faktor pengenceran bila diperlukan.

Dalam sediaan farmasi, eksipien dapat memengaruhi hasil bila preparasi tidak tepat. Karena itu, sampel biasanya digerus, ditimbang seksama, dilarutkan, disaring, dan diencerkan pada konsentrasi kerja. Hasil analisis kemudian dibandingkan dengan label klaim atau kadar teoritis. Bila kadar berada dalam batas 95-105% yang dapat diterima, sampel dianggap memenuhi persyaratan.

Dalam beberapa studi, analisis parasetamol tablet menunjukkan hubungan linier yang baik antara konsentrasi dan absorbansi ( $R^2 = 0,9999$ ), sehingga metode Spektrofotometri UV-Vis dianggap cocok untuk uji kadar rutin. Analisis seperti ini merupakan keterampilan dasar yang penting bagi analis farmasi dan makanan karena aplikasi luas, akurasi tinggi, presisi baik, sederhana, cepat, dan ekonomis.

#### **D. Contoh Kasus**

Tablet parasetamol digerus dan ditimbang setara 50 mg bahan aktif. Sampel dilarutkan dan diencerkan hingga volume tertentu. Setelah diukur pada  $\lambda_{\text{maks}}$ , absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva baku. Hasil perhitungan kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran untuk mendapatkan kadar akhir dalam tablet.

## Contoh Kasus dan Jawaban: Analisis Kuantitatif Tablet Parasetamol dengan Spektrofotometri UV-Vis

### 1. Analisis Studi Kasus

#### A. Latar Belakang<sup>[72]</sup>

Tablet parasetamol adalah sediaan farmasi yang paling umum digunakan sebagai analgesik (penyakit) dan antipiretik (penurun panas). Penetapan kadar parasetamol dalam tablet merupakan uji mutu essential yang wajib dilakukan untuk memastikan:

- Kandungan parasetamol sesuai dengan klaim label
- Produk memenuhi standar mutu (95-105%)
- Produk aman dan efektif untuk digunakan

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang paling umum digunakan untuk penetapan kadar parasetamol karena metode ini sederhana, cepat, akurat, dan dapat direproduksi. Metode ini menggunakan kurva baku (standar) dengan hubungan linear antara absorbansi dan konsentrasi.

#### B. Tujuan Studi Kasus

Studi kasus ini bertujuan untuk:

1. Memahami prosedur lengkap penetapan kadar parasetamol dalam tablet
2. Mengaplikasikan persamaan regresi untuk menghitung konsentrasi sampel
3. Melakukan koreksi faktor pengenceran (FP) untuk mendapatkan kadar akhir
4. Evaluasi kesesuaian dengan standar penerimaan BPOM
5. Buat kesimpulan tentang mutu produk

## C. Informasi Sediaan

Sediaan: Tablet Parasetamol 500 mg

Klaim label: Setiap tablet mengandung parasetamol 500 mg

Standar penerimaan BPOM: 95% - 105%

$\lambda_{\text{max}}$  parasetamol: 254 nm (daerah UV)

Pelarut yang sesuai: Air murni atau metanol

## 2. Data Studi Kasus

### A. Informasi Preparasi Sampel

*"Tablet parasetamol digerus dan ditimbang setara 50 mg bahan aktif."*

#### 1. Prosedur penggerusan:

- Ambil 10 tablet secara acak dari batch
- Timbang satu persatu
- Hitung bobot rata-rata
- Gerus 10 tablet dengan mortar dan stempel hingga halus
- Aduks serbuk hingga homogen

#### 2. Penimbangan bobot analitis:

- Bobot analitis = berat serbuk setara 50 mg parasetamol
- Bobot analitis = 50 mg bahan aktif (parasetamol)

#### 3. Perhitungan bobot tablet:

- Jika 1 tablet = 500 mg parasetamol
- Maka bobot serbuk untuk 50 mg =  $(50/500) \times \text{bobot 1 tablet}$
- Misal bobot 1 tablet = 0,620 g
- Bobot analitis =  $(50/500) \times 0,620 = 0,062 \text{ g} = 62 \text{ mg}$  serbuk

## B. Informasi Pelarutan dan Pengenceran

*"Sampel dilarutkan dan diencerkan hingga volume tertentu."*

**Asumsi preparasi lengkap:**

### 1. Pelarutan:

- Bobot analitis (62 mg serbuk) → labu takar 500 mL
- Tambah air  $\approx$  300 mL
- Homogenisasi 10-15 menit
- Encerkan hingga tanda batas 500 mL

### 2. Hitung konsentrasi awal:

- 50 mg parasetamol dalam 500 mL
- $c_{\text{awal}} = 50 \text{ mg} / 500 \text{ mL} = 0,1 \text{ mg/mL} = 100 \text{ ppm}$

### 3. Pengenceran:

- Target konsentrasi kerja: 100 ppm (dalam rentang 50-150 ppm)
- Jika  $c_{\text{awal}} = 100 \text{ ppm}$ , maka  $FP = 1$  (tidak perlu pengenceran)
- Atau: pipet 10 mL → labu 100 mL →  $FP = 10$

### 4. Hitung Faktor Pengenceran (FP):

$$[FP = \frac{V_{\text{akhir}}}{V_{\text{pipet}}}]$$

**Contoh:**

- Jika pipet 10 mL dari 100 ppm → labu 100 mL
- $FP = 100/10 = 10$

## C. Data Kurva Baku

*"Setelah diukur pada  $\lambda_{\text{max}}$ , absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva baku."*

### 1. Persamaan Regresi Linear:

Berdasarkan pengukuran larutan baku pada beberapa konsentrasi, diperoleh persamaan regresi:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

di mana:

- A = Absorbansi
- c = Konsentrasi (ppm)
- 0,0045 = *Slope* (a) = koefisien regresi
- 0,0012 = *Intercept* (b) = konstanta

## 2. Parameter Regresi:

| Parameter            | Nilai  | Keterangan            |
|----------------------|--------|-----------------------|
| <i>Slope</i> (a)     | 0,0045 | Sensitivitas tinggi ✓ |
| <i>Intercept</i> (b) | 0,0012 | Blanko ideal ✓        |
| Linearitas           | Baik   | $R^2 \geq 0,999$      |

## 3. Validasi Kurva Baku (Menurut BPOM):

| Parameter                | Kriteria BPOM          | Status Kurva Ini |
|--------------------------|------------------------|------------------|
| <i>Slope</i> > 0,001     | Sensitivitas tinggi    | ✓ 0,0045 > 0,001 |
| <i>Intercept</i> < 0,005 | Blanko ideal           | ✓ 0,0012 < 0,005 |
| $R^2 \geq 0,999$         | Linearitas sangat baik | ✓ $R^2 = 0,9999$ |

Status: Kurva baku **VALID** untuk analisis kuantitatif ✓

## D. Data Pengukuran Sampel

### 1. Absorbansi Sampel:

- Absorbansi sampel (A): 0,498 (atau 0,509 untuk contoh lain)
- $\lambda_{\max}$ : 254 nm (panjang gelombang maksimum parasetamol)

## 2. Pengukuran 3 Replikasi:

| Replikasi | Absorbansi (A) |
|-----------|----------------|
| 1         | 0,498          |
| 2         | 0,500          |
| 3         | 0,499          |

Rata-rata:

$$\bar{A} = \frac{0,498 + 0,500 + 0,499}{3} = 0,499$$

## 3. Penyelesaian Studi Kasus

### A. Langkah 1: Hitung Konsentrasi dalam Kuvet (c\_kuvet)

"Setelah diukur pada  $\lambda_{max}$ , absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva baku."

#### 1. Persamaan Regresi:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

di mana:

- A = Absorbansi = 0,499
- c = Konsentrasi = ? (yang akan dihitung)

#### 2. Rumus untuk menghitung konsentrasi:

Dari persamaan regresi:

$$A = ac + b$$

Selesaikan untuk c:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

### 3. Substitusi nilai:

- $A = 0,499$
- $a = 0,0045$
- $b = 0,0012$

### 4. Perhitungan:

$$c_{kuvet} = \frac{0,499 - 0,0012}{0,0045}$$
$$c_{kuvet} = \frac{0,4978}{0,0045}$$
$$c_{kuvet} = 110,6 \text{ ppm}$$

Konsentrasi dalam kuvet = 110,6 ppm

### 5. Verifikasi:

- $c_{kuvet} = 110,6 \text{ ppm}$  dalam rentang kurva baku (50-150 ppm) ✓
- Absorbansi  $A = 0,499$  dalam rentang optimal 0,2-0,8 ✓
- Status: Valid ✓

## B. Langkah 2: Hitung Konsentrasi Asli ( $c_{asli}$ )

*"Hasil perhitungan kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran untuk mendapatkan kadar akhir dalam tablet."*

### 1. Rumus koreksi faktor pengenceran:

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

di mana:

- $c_{kuvet}$  = konsentrasi dalam kuvet (setelah substitusi persamaan)

- FP = faktor pengenceran

## 2. Asumsi Faktor Pengenceran:

Berdasarkan preparasi:

- Pipet 10 mL dari 100 ppm → labu 100 mL
- $FP = 100/10 = 10$

## 3. Perhitungan:

$$c_{asli} = 110,6 \times 10$$

$$c_{asli} = 1.106 \text{ ppm}$$

Konsentrasi asli = 1.106 ppm

## 4. Pentingness koreksi FP:

| Kondisi      | c_kuvet   | FP | c_asli    | Error Tanpa FP |
|--------------|-----------|----|-----------|----------------|
| Ada FP       | 110,6 ppm | 10 | 1.106 ppm | 90% ✗          |
| Tidak ada FP | 110,6 ppm | 1  | 110,6 ppm | 0% ✓           |

- Tanpa koreksi FP (ketika ada):  $c = 110,6 \text{ ppm}$  (terlalu rendah 90%)
- Dengan koreksi FP:  $c = 1.106 \text{ ppm}$  (akurat)
- Error tanpa koreksi FP: 90% (kesalahan paling fatal!)

## C. Langkah 3: Hitung % Kadar terhadap Label Klaim

### 1. Rumus % kadar:

$$\%Kadar = \frac{c_{asli}}{c_{teoritis}} \times 100\%$$

di mana:

- $c_{asli}$  = konsentrasi asli (setelah koreksi FP)
- $c_{teoritis}$  = konsentrasi teoritis (klaim label)

## 2. Hitung konsentrasi teoritis:

- Klaim label: 500 mg per tablet
- Volume pelarut: 500 mL
- $c_{\text{teoritis}} = 500 \text{ mg}/500 \text{ mL} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

## 3. Substitusi nilai:

- $c_{\text{asli}} = 1.106 \text{ ppm}$
- $c_{\text{teoritis}} = 1.000 \text{ ppm}$

## 4. Perhitungan:

$$\% \text{Kadar} = \frac{1.106}{1.000} \times 100\%$$
$$\% \text{Kadar} = 110,6\%$$

$$\% \text{Kadar} = 110,6\%$$

## 5. Interpretasi:

- $110,6\% > 105\%$  (batas maksimum)
- Kadar parasetamol terlalu tinggi dalam sediaan
- Status: **✗** FAIL (Gagal)

## Kemungkinan penyebab:

- Over-dosis dalam proses produksi
- Kesalahan dalam preparasi sampel
- Kesalahan dalam pengukuran
- Kesalahan dalam perhitungan FP

## D. Langkah 4: Evaluasi Kesesuaian Standar BPOM

### 1. Standar Penerimaan BPOM:

| % Kadar    | Status                                   | Keterangan           |
|------------|------------------------------------------|----------------------|
| 95% - 105% | <input checked="" type="checkbox"/> PASS | Kadar sesuai klaim   |
| < 95%      | <input checked="" type="checkbox"/> FAIL | Kadar terlalu rendah |
| > 105%     | <input checked="" type="checkbox"/> FAIL | Kadar terlalu tinggi |

### 2. Evaluasi % Kadar:

- % Kadar = 110,6%
- 110,6% > 105% (batas maksimum)
- Status: ☒ FAIL

### 3. Interpretasi:

- 110,6% jauh lebih tinggi d 105% (batas maksimum)
- Kadar parasetamol terlalu tinggi dalam sediaan
- Produk tidak memenuhi standar mutu

### 4. Tindakan yang harus dilakukan:

- Re-test: Analisis ulang untuk konfirmasi
- Check preparasi: Verifikasi FP, bobot, volume
- Check pengukuran: Verifikasi  $\lambda_{\max}$ , baseline, kurva baku
- Jika tetap FAIL: Batch tidak dapat dipasarkan, perlu investigasi

## 4. Ringkasan

### A. Tabel Ringkasan Data dan Perhitungan

| Parameter            | Nilai                  | Keterangan                                              |
|----------------------|------------------------|---------------------------------------------------------|
| Persamaan regresi    | $A = 0,0045c + 0,0012$ | Dari kurva baku                                         |
| <i>Slope</i> (a)     | 0,0045                 | Sensitivitas tinggi <input checked="" type="checkbox"/> |
| <i>Intercept</i> (b) | 0,0012                 | Blanko ideal <input checked="" type="checkbox"/>        |
| A sampel rata        | 0,499                  | Absorbansi terukur                                      |
| c_kuvet              | 110,6 ppm              | $(0,499 - 0,0012)/0,0045$                               |
| FP                   | 10                     | 100 mL/10 mL                                            |
| c_asli               | 1.106 ppm              | $c_{\text{kuvet}} \times \text{FP}$                     |
| c_teoritis           | 1.000 ppm              | 500 mg/500 mL                                           |
| % Kadar              | 110,6%                 | $(1.106/1.000) \times 100\%$                            |
| Kriteria BPOM        | 95-105%                | Standar penerimaan                                      |
| Status               | <b>✗</b> FAIL          | % Kadar > 105%                                          |

## 5. Kesimpulan Studi Kasus

### A. Kesimpulan Utama

#### 1. Prosedur yang Dilakukan:

- ✓ Penggerusan tablet: Homogenitas serbuk
- ✓ Penimbangan: Setara 50 mg bahan aktif
- ✓ Pelarutan: 500 mL
- ✓ Pengenceran: FP = 10
- ✓ Substitusi ke persamaan:  $c = (A-b)/a$
- ✓ Koreksi *intercept*:  $b = 0,0012$
- ✓ Koreksi FP:  $c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times \text{FP}$
- ✓ Follow BPOM: Sesuai aturan

## 2. Hasil Analisis:

- Konsentrasi dalam kuvet: 110,6 ppm
- Konsentrasi asli: 1.106 ppm (setelah koreksi FP)
- % Kadar terhadap label klaim: 110,6%

## 3. Evaluasi Kesesuaian:

- % Kadar = 110,6% > 105% (batas maksimum)
- Status: **✗ FAIL** (Tidak memenuhi standar)

## 4. Kesimpulan tentang Mutu Produk:

Tablet parasetamol 500 mg memiliki kadar sangat tinggi (110,6%) dari klaim label, jauh di atas batas maksimum 105% sesuai standar BPOM. Produk TIDAK memenuhi standar mutu dan TIDAK dapat dipasarkan. Perlu investigasi penyebab over-dosis dan re-test untuk konfirmasi.

## B. Poin Penting Prosedur

### 1. Penggerusan dan Penimbangan:

- Gerus 10 tablet → homogen
- Timbang setara 50 mg bahan aktif → akurasi

### 2. Substitusi ke Persamaan Regresi:

- $A = 0,0045c + 0,0012$
- $c = (A - 0,0012) / 0,0045$
- Koreksi *intercept* wajib (tidak hanya  $A / 0,0045$ )

### 3. Koreksi Faktor Pengenceran (WAJIB):

- $c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times \text{FP}$
- Tanpa koreksi FP  $\rightarrow$  error 90% (kesalahan paling fatal!)

#### 4. Standar BPOM:

- 95-105%  $\rightarrow$  PASS
- $< 95\%$  atau  $> 105\% \rightarrow$  FAIL

#### 5. Evaluasi:

- 110,6%  $> 105\% \rightarrow$  FAIL
- Produk tidak memenuhi standar

#### C. Perbandingan dengan Sediaan Lain

| Parameter              | Parasetamol 500 mg        | Contoh Lain            |
|------------------------|---------------------------|------------------------|
| Bobot analitis         | Setara 50 mg              | Setara 50 mg           |
| Volume pelarut         | 500 mL                    | 500 mL                 |
| $c_{\text{awal}}$      | 100 ppm                   | 100 ppm                |
| FP                     | 10                        | 10                     |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 254 nm                    | 288 nm (Rivanol)       |
| Persamaan              | $A = 0,0045c + 0,0012$    | $Y = 0,049x + 0,008$   |
| % Kadar                | 110,6% $\rightarrow$ FAIL | 10% $\rightarrow$ FAIL |
| Masalah                | Over-dosis                | Under-dosis            |

Kesimpulan: Kedua kasus menunjukkan FAIL, tetapi dengan masalah berbeda (over-dosis vs under-dosis).

#### 6. Kesimpulan

Tablet parasetamol digerus dan ditimbang setara 50 mg bahan aktif. Sampel dilarutkan dan diencerkan hingga volume tertentu. Setelah diukur pada  $\lambda_{\text{max}}$ , absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva baku. Hasil perhitungan kemudian dikalikan

dengan faktor pengenceran untuk mendapatkan kadar akhir dalam tablet.

### Perhitungan lengkap:

1. Persamaan regresi:  $A = 0,0045c + 0,0012$

2. Hitung  $c_{kuvet}$ :

$$c_{kuvet} = \frac{A - b}{a} = \frac{0,499 - 0,0012}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = \frac{0,4978}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = 110,6 \text{ ppm}$$

3. Koreksi faktor pengenceran:

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

$$c_{asli} = 110,6 \times 10$$

$$c_{asli} = 1.106 \text{ ppm}$$

4. Hitung % kadar:

$$\%Kadar = \frac{c_{asli}}{c_{teoritis}} \times 100\%$$

$$\%Kadar = \frac{1.106}{1.000} \times 100\%$$

$$\%Kadar = 110,6\%$$

5. Evaluasi según standar BPOM (95-105%):

- % Kadar = 110,6%
- 110,6% > 105%
- Status: **✗ FAIL**

Kesimpulan: Tablet parasetamol 500 mg TIDAK memenuhi standar mutu BPOM karena kadar terlalu tinggi (110,6%). Produk tidak dapat dipasarkan dan perlu investigasi lebih lanjut untuk menemukan penyebab over-dosis.

## E. Prosedur Analisis

Prosedur Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis Senyawa Obat menurut Aturan BPOM<sup>[18-20]</sup>

## 1. Siapkan Sampel Obat dan Standar Pembanding

### A. Persiapan Standar Pembanding (Standar Murni)

#### 1. Ambil standar murni:

- Gunakan standar murni senyawa obat yang akan dianalisis (misal: parasetamol, rivanol, ranitidin, betametason)
- Gunakan standar grade USP (United States Pharmacopeia) atau grade analitis untuk memastikan kemurnian
- Pastikan kemurnian standar  $\geq 99,9\%$
- Simpan dalam wadah tertutup rapat, hindari kelembaban dan cahaya

#### 2. Verifikasi standar pembanding:

- Cek sertifikat analisis (Certificate of Analysis) dari produsen
- Pastikan standar belum expired (masa berlaku masih valid)
- Periksa kondisi fisik: putih, kristal, tidak ada kontaminan atau perubahan warna
- Dokumentasikan informasi standar: nomor batch, tanggal penerimaan, tanggal expiry

#### 3. Penyimpanan standar:

- Simpan di tempat kering dengan suhu terkendali (suhu ruang 20-25°C)
- Hindari paparan cahaya langsung
- Gunakan wadah tertutup rapat untuk mencegah absorpsi kelembaban

## B. Persiapan Sampel Obat

### 1. Untuk sediaan tablet:

#### a. Sampling (pengambilan contoh) menurut BPOM:

- Ambil 10 tablet secara acak dari batch yang sama
- Pengambilan acak untuk memastikan representative sampling
- Catat informasi batch: nomor batch, tanggal produksi, tanggal expiry

#### b. Penimbangan bobot rata-rata (BPOM WAJIB):

- Timbang satu persatu 10 tablet dengan neraca analitik (ketelitian 0,0001 g)
- Catat berat setiap tablet
- Hitung bobot rata-rata:

$$\text{Bobot rata-rata} = \frac{\text{Total bobot 10 tablet}}{10}$$

#### Contoh:

- Total bobot 10 tablet = 6,200 g
- Bobot rata-rata = 6,200 g / 10 = 0,620 g/tablet

#### c. Penghancuran tablet (gerus hingga homogen):

- Gerus 10 tablet dengan mortar dan stempel porselin hingga halus
- Gosok hingga tidak ada butiran besar
- Aduks serbuk hingga homogen (distribusi zat aktif merata)
- **Tujuan:** Homogenitas untuk sampling representative

#### d. Penimbangan bobot analitis:

- Hitung berat serbuk setara dengan kandungan bahan aktif yang diinginkan
- **Contoh:** Jika klaim 500 mg per tablet, target 50 mg bahan aktif

- Bobot analitis =  $(50 \text{ mg} / 500 \text{ mg}) \times 0,620 \text{ g} = 0,062 \text{ g} = 62 \text{ mg}$  serbuk
- Timbang serbuk dengan neraca analitik
- Catat berat tepat: misalnya 0,062 g

## 2. Untuk sediaan larutan (sirup, injeksi):

- Langsung ambil volume yang diperlukan
- Tidak perlu penggerusan atau filtrasi
- Encerkan langsung hingga konsentrasi kerja

## 3. Untuk sediaan krim/gel:

- Ekstraksi dengan pelarut sesuai
- Filtrasi untuk menghilangkan partikel
- Pengenceran hingga konsentrasi kerja

## C. Persiapan Alat dan Instrument

### 1. Spektrofotometri UV-Vis:

- Periksa koneksi listrik dan kondisi instrument
- Tekan POWER ON
- Warm-up 20-30 menit hingga indikator "Ready" muncul
- Pastikan instrument dalam kondisi kalibrasi valid (< 1 tahun)

### 2. Kuvet:

- Gunakan kuvet kuarsa untuk daerah UV (200-400 nm)
- Gunakan kuvet glass untuk daerah Vis (400-800 nm)
- *Cleaning*: dengan air murni, lalu pelarut yang akan digunakan

- Pastikan tidak ada crack, goresan, atau kontaminan
- Kuvet harus bersih dan kering sebelum digunakan

### 3. Alat tambahan:

- Neraca analitik: ketelitian 0,0001 g, kalibrasi < 6 bulan
- Labu takar: 50 mL, 100 mL, 500 mL, kalibrasi < 1 tahun
- Pipet volume: 5 mL, 10 mL, 15 mL, kalibrasi < 1 tahun
- Funnel untuk filtrasi
- Filter paper: 0,45  $\mu\text{m}$  untuk sediaan tablet
- Mortar dan stempel untuk penggerusan tablet

## 2. Tentukan Pelarut dan $\lambda_{\text{max}}$

### A. Pemilihan Pelarut yang Sesuai

#### 1. Kriteria pelarut yang sesuai:

| Kriteria             | Keterangan                                                    |
|----------------------|---------------------------------------------------------------|
| Tidak absorbs UV-Vis | Pelarut tidak menyerap pada $\lambda$ analisis (blanko A = 0) |
| Mendukung kelarutan  | Senyawa obat larut sempurna dalam pelarut                     |
| Stabil               | Tidak bereaksi dengan senyawa obat                            |
| Grade analitis       | Gunakan pelarut grade analitis atau HPLC                      |

#### 2. Pilihan pelarut umum:

| Senyawa Obat | Pelarut yang Disarankan |
|--------------|-------------------------|
| Parasetamol  | Air murni atau metanol  |
| Rivanol      | Air murni atau metanol  |
| Ranitidin    | Metanol atau air asam   |
| Betametason  | Metanol                 |

### 3. Prosedur uji kelarutan:

- Ambil sedikit standar murni (sekitar 10 mg)
- Tambah pelarut (1-2 mL)
- Homogenisasi dengan vortex atau pengaduk
- Verifikasi: larutan jernih, tidak ada endapan
- Jika tidak larut sempurna, ganti pelarut

## B. Penentuan $\lambda_{\max}$ dengan *Scanning* Spektrum

### 1. Pengertian $\lambda_{\max}$ :

$\lambda_{\max}$  (panjang gelombang maksimum) adalah panjang gelombang dimana senyawa memiliki absorbansi tertinggi. Pada  $\lambda_{\max}$ , senyawa menyerap cahaya paling kuat dibandingkan pada panjang gelombang lain.

### 2. Prosedur *scanning* spektrum:

#### a. Baseline dengan blanko:

- Siapkan blanko: pelarut murni 2-3 mL dalam kuvet
- Masukkan kuvet blanko ke kompartemen
- Tekan AUTO ZERO atau BASELINE
- Instrument set absorbansi = 0 untuk blanko
- Verifikasi:  $A = 0,000 \pm 0,001$

#### b. Siapkan sampel untuk *scanning*:

- Larutan sampel dengan konsentrasi  $\approx 100$  ppm
- Volume 2-3 mL dalam kuvet
- Tidak ada gelembung

#### c. Ganti dengan sampel:

- Keluarkan kuvet blanko
- Masukkan kuvet sampel
- Pastikan posisi tepat dan tidak ada gelembung

d. Set rentang *scanning*:

- Daerah UV: 200-400 nm
- Daerah Vis: 400-800 nm
- UV-Vis: 200-800 nm
- Contoh parasetamol: 200-400 nm

e. Set step interval:

- 1 nm (instrument mengukur absorbansi setiap 1 nm)
- Waktu *scanning*:  $\approx$  2-3 menit

f. Tekan tombol SCAN:

- Instrument mengukur absorbansi pada setiap  $\lambda$  dari  $\lambda_1$  ke  $\lambda_2$
- Hasil ditampilkan dalam bentuk grafik spektrum

3. Hasil *scanning* spektrum:

| $\lambda$ (nm) | A                                               |
|----------------|-------------------------------------------------|
| 200            | 0,100                                           |
| 220            | 0,250                                           |
| 240            | 0,450                                           |
| 254            | 0,510 $\leftarrow \lambda_{\max}$ (A tertinggi) |
| 260            | 0,480                                           |
| 280            | 0,300                                           |
| 300            | 0,150                                           |
| 400            | 0,050                                           |

4. Identifikasi  $\lambda_{\max}$ :

- $\lambda_{\max} = \lambda$  dengan absorbansi tertinggi
- $\lambda_{\max} = 254$  nm ( $A = 0,510$ )
- Catat dan simpan data spektrum

5.  $\lambda_{\text{max}}$  senyawa obat umum:

| Senyawa Obat | $\lambda_{\text{max}}$ (nm) | Daerah |
|--------------|-----------------------------|--------|
| Parasetamol  | 254                         | UV     |
| Rivanol      | 288                         | UV     |
| Ranitidin    | 280-310                     | UV     |
| Betametason  | 240-250                     | UV     |

C. Pentingness  $\lambda_{\text{max}}$  untuk Analisis Kuantitatif

1. Sensitivitas maksimum:

- Pada  $\lambda_{\text{max}}$ , absorbansi tertinggi
- *Slope* kurva baku besar  $\rightarrow$  sensitivitas tinggi
- Perubahan kecil konsentrasi  $\rightarrow$  perubahan besar absorbansi
- Deteksi konsentrasi rendah lebih baik

2. Akurasi terbaik:

- Absorbansi stabil (tidak fluktuatif)
- Fluktuasi instrument minimal
- Data akurat

3. Selektivitas:

- $\lambda_{\text{max}}$  unik untuk setiap senyawa
- Parasetamol: 254 nm, Ibuprofen: 264 nm
- Interferensi minimal

4. Linearitas baik:

- Hukum Lambert-Beer valid ( $A \propto c$ )
- $R^2 \geq 0,999$

### 5. Minimal error pergeseran $\lambda$ :

- Spektrum flat di puncak
- Pergeseran  $\pm 1\text{-}2\text{ nm}$   $\rightarrow$  perubahan A kecil (0,4%)
- Tidak di puncak: pergeseran  $\rightarrow$  perubahan A besar (4,4%)

Dampak tidak pada  $\lambda_{\text{max}}$ :

| $\lambda$ (nm)                 | A     | Error |
|--------------------------------|-------|-------|
| 254 ( $\lambda_{\text{max}}$ ) | 0,510 | 0% ✓  |
| 240                            | 0,450 | 12% ✗ |
| 270                            | 0,400 | 22% ✗ |

### 3. Buat Seri Larutan Standar

#### A. Pembuatan Larutan Standar Induk

##### 1. Timbang standar murni:

- Neraca analitik (ketelitian 0,0001 g), kalibrasi < 6 bulan
- Timang 50 mg standar murni
- Catat berat tepat: 50,00 mg

##### 2. Transfer ke labu takar:

- Labu takar 50 mL
- Masukkan standar ke labu
- Bilas kertas timbang dengan pelarut, masukkan labu

##### 3. Tambah pelarut:

- Pelarut  $\approx 30\text{ mL}$
- Tidak langsung 50 mL (untuk homogenisasi)

#### 4. Homogenisasi:

- Agitasi dengan pengaduk 10-15 menit
- Atau vortex/shaker
- Pastikan larut sempurna (tidak ada endapan)

#### 5. Encerkan hingga tanda batas:

- Tambah pelarut hingga tepat 50 mL
- Homogenisasi kembali (balik labu 10x)

#### 6. Hitung konsentrasi standar induk:

$$[c_{induk} = \frac{\text{berat standar (mg)}}{\text{volume labu (mL)}}]$$

#### Contoh:

- Berat = 50,00 mg
- Volume = 50 mL
- $c_{induk} = \frac{50,00 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

#### 7. Label dan penyimpanan:

- Label: "Standar Induk [Nama Obat] 1.000 ppm"
- Tanggal pembuatan
- Tanggal expiry (biasanya 1-2 minggu)
- Penyimpanan: Wadah tertutup, suhu ruang

### B. Pembuatan Seri Larutan Standar (5 Konsentrasi)

#### 1. Target konsentrasi:

- Buat 5 konsentrasi dalam rentang 50-150 ppm (rentang optimal)

- Contoh seri: 50, 75, 100, 125, 150 ppm

## 2. Hitung volume pipet untuk setiap seri:

Rumus pengenceran:

$$[V_1 = \frac{c_2 \times V_2}{c_1}]$$

di mana:

- $V_1$  = volume pipet dari standar induk
- $c_1$  = konsentrasi standar induk (1.000 ppm)
- $c_2$  = konsentrasi target (50, 75, 100, 125, 150 ppm)
- $V_2$  = volume akhir (100 mL)

## 3. Tabel perhitungan volume pipet:

| Konsentrasi Target (ppm) | Rumus                      | Volume Pipet (mL) dari 1.000 ppm | Volume Akhir (mL) |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------------|-------------------|
| 50                       | $(50 \times 100) / 1.000$  | 5 mL                             | 100 mL            |
| 75                       | $(75 \times 100) / 1.000$  | 7,5 mL                           | 100 mL            |
| 100                      | $(100 \times 100) / 1.000$ | 10 mL                            | 100 mL            |
| 125                      | $(125 \times 100) / 1.000$ | 12,5 mL                          | 100 mL            |
| 150                      | $(150 \times 100) / 1.000$ | 15 mL                            | 100 mL            |

## 4. Prosedur pengenceran setiap seri:

### a. Pipet volume sesuai perhitungan:

- Gunakan pipet volume yang sesuai (5 mL, 10 mL, pipet gradasi untuk 7,5 mL dan 12,5 mL)
- Pipet volume tepat (tidak ada gelembung)

### b. Masuk ke labu takar:

- Labu takar 100 mL
  - Pipet volume → labu takar
  - Bilas pipet dengan pelarut, masukkan labu
- c. Tambah pelarut:**
- Tambah pelarut hingga tanda batas 100 mL
  - Pastikan tepat pada tanda batas
- d. Homogenisasi:**
- Balik labu 10x untuk homogenisasi
  - Aduks rata
- e. Label setiap labu:**
- Label dengan konsentrasi (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm)
  - Tanggal pembuatan

## C. Verifikasi Seri Standar

### Kriteria valid:

- Semua konsentrasi dalam rentang 50-150 ppm ✓
- Larutan jernih, tidak ada endapan ✓
- Volume tepat pada tanda batas ✓
- Label jelas dan terdokumentasi ✓

### Jika tidak valid:

- Konsentrasi < 50 ppm → konsentrasi lebih tinggi
- Konsentrasi > 150 ppm → encerkan lebih
- Larutan tidak jernih → filtrasi

## 4. Ukur Absorbansi Standard an Sampel

### A. Persiapan Pengukuran

#### 1. Set panjang gelombang:

- Set  $\lambda = \lambda_{\max}$  (misal: 254 nm untuk parasetamol)

## 2. Refresh baseline dengan blanko:

- Blangko: pelarut murni 2-3 mL
- Masukkan kuvet blanko ke kompartemen
- Tekan AUTO ZERO
- Verifikasi:  $A = 0,000 \pm 0,001$

## 3. Pastikan *Operating time* tercapai:

- Tunggu  $t \geq \text{Operating time}$  (8-10 menit)
- Absorbansi stabil

## B. Pengukuran Absorbansi Seri Standar

### 1. Urutan pengukuran:

- Mulai dari konsentrasi terendah ke tertinggi (50 → 75 → 100 → 125 → 150 ppm)
- Untuk menghindari kontaminasi residual dari konsentrasi tinggi

### 2. Protokol pengukuran setiap standar:

#### a. Sebelum setiap 1-2 standar, refresh baseline:

- Blangko → AUTO ZERO →  $A = 0$
- Baseline dapat bergeser setelah beberapa pengukuran

#### b. Bilas kuvet:

- Bilas dengan pelarut
- Bilas dengan standar sebelumnya

#### c. Masukkan standar:

- Keluarkan kuvet blanko
- Masukkan kuvet standar
- Pastikan tidak ada gelembung

#### d. Ukur A:

- Tekan tombol MEASURE

- Catat nilai absorbansi
- e. Verifikasi:
- A dalam rentang 0,2-0,8 ✓

### 3. Contoh data pengukuran standar:

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

### 4. Verifikasi absorbansi standar:

#### Kriteria valid:

- A dalam rentang 0,2-0,8 ✓ (0,255-0,765)
- A meningkat linear dengan konsentrasi ✓
- Tidak ada anomali (A turun saat c naik)

#### Jika tidak valid:

- $A > 0,8 \rightarrow$  encerkan lebih
- $A < 0,2 \rightarrow$  konsentrasi lebih tinggi
- Measurement ulang

## C. Pengukuran Absorbansi Sampel

### 1. Prosedur pengukuran sampel:

#### a. Set $\lambda = \lambda_{\text{max}}$ :

- 254 nm (parasetamol)

#### b. Refresh baseline:

- Blangko  $\rightarrow$  AUTO ZERO

#### c. Pastikan *Operating time* tercapai:

- $t \geq 8-10$  menit

#### d. Ukur 3 replikasi:

- Bilas kuvet dengan pelarut
- Ukur sampel 3 kali untuk presisi
- Bilas kuvet dengan pelarut setelah setiap pengukuran

## 2. Contoh data pengukuran sampel:

| Replikasi | Absorbansi (A) |
|-----------|----------------|
| 1         | 0,498          |
| 2         | 0,500          |
| 3         | 0,499          |

## 3. Hitung rata-rata dan RSD:

Rata-rata:

$$\bar{A} = \frac{A_1 + A_2 + A_3}{3}$$

$$\bar{A} = \frac{0,498 + 0,500 + 0,499}{3} = 0,499$$

Standar deviasi (SD):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (A_i - \bar{A})^2}{n - 1}}$$

SD

$$= \sqrt{\frac{(0,498 - 0,499)^2 + (0,500 - 0,499)^2 + (0,499 - 0,499)^2}{2}}$$

$$SD = 0,001$$

RSD (Relative Standard Deviation):

$$RSD = \frac{SD}{\bar{A}} \times 100\%$$

$$RSD = \frac{0,001}{0,499} \times 100\% = 0,2\%$$

#### 4. Verifikasi kelayakan pengukuran sampel:

| Parameter           | Nilai      | Kriteria   | Status                                           |
|---------------------|------------|------------|--------------------------------------------------|
| A rata              | 0,499      | 0,2-0,8    | <input checked="" type="checkbox"/> Valid        |
| RSD                 | 0,2%       | < 1%       | <input checked="" type="checkbox"/> Presisi baik |
| Dalam rentang kurva | 50-150 ppm | 50-150 ppm | <input checked="" type="checkbox"/> Valid        |

Status: Pengukuran sampel VALID ✓

#### 5. Susun Kurva Baku

##### A. Plot Grafik Kurva Baku

##### 1. Siapkan data kurva baku:

| Konsentrasi (x, ppm) | Absorbansi (y, A) |
|----------------------|-------------------|
| 50                   | 0,255             |
| 75                   | 0,380             |
| 100                  | 0,510             |
| 125                  | 0,635             |
| 150                  | 0,765             |

##### 2. Plot grafik:

- X (sumbu horizontal): Konsentrasi (ppm)
- Y (sumbu vertikal): Absorbansi (A)
- Buat scatter plot (titik data)

##### 3. Visualisasi:

- Titik akan membentuk garis lurus (linear)
- Dari (50, 0,255) ke (150, 0,765)
- Garis menunjukkan hubungan  $A \propto c$

## B. Hitung Regresi Linear

### 1. Persamaan regresi linear:

$$y = ax + b$$

Dalam notasi spektrofotometri:

$$A = a \cdot c + b$$

di mana:

- $A$  = absorbansi ( $y$ )
- $c$  = konsentrasi ( $x$ )
- $a$  = *slope* (koefisien regresi)
- $b$  = *intercept* (konstanta)

### 2. Metode least square (perhitungan manual):

*Slope* ( $a$ ):

$$a = \frac{n \sum (xy) - \sum x \sum y}{n \sum (x^2) - (\sum x)^2}$$

*Intercept* ( $b$ ):

$$b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

Koefisien determinasi ( $R^2$ ):

$$R^2 = \frac{[n \sum (xy) - \sum x \sum y]^2}{[n \sum (x^2) - (\sum x)^2][n \sum (y^2) - (\sum y)^2]}$$

### 3. Hitung dari data:

Data:

- $n = 5$
- $\sum x = 50 + 75 + 100 + 125 + 150 = 500$
- $\sum y = 0,255 + 0,380 + 0,510 + 0,635 + 0,765 = 2,545$
- $\sum xy = (50 \times 0,255) + (75 \times 0,380) + (100 \times 0,510) + (125 \times 0,635) + (150 \times 0,765) = 256,25$
- $\sum x^2 = 50^2 + 75^2 + 100^2 + 125^2 + 150^2 = 53.750$

- $\Sigma y^2 = 0,255^2 + 0,380^2 + 0,510^2 + 0,635^2 + 0,765^2 = 1,352$

**Slope (a):**

$$a = \frac{5 \times 256,25 - 500 \times 2,545}{\frac{5 \times 53.750 - 500^2}{1.281,25 - 1.272,5}}$$

$$a = \frac{268.750 - 250.000}{8,75}$$

$$a = \frac{18.750}{18.750} = 0,0045$$

**Intercept (b):**

$$b = \frac{2,545 - 0,0045 \times 500}{5}$$

$$b = \frac{2,545 - 2,25}{5}$$

$$b = \frac{0,295}{5} = 0,0012$$

**R<sup>2</sup>:**

$$R^2 = 0,9999$$

### C. Persamaan Regresi Final

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

**Parameter kurva baku:**

- *Slope* (a) = 0,0045 → Sensitivitas tinggi (a > 0,001) ✓
- *Intercept* (b) = 0,0012 → Blanko ideal (b < 0,005) ✓
- R<sup>2</sup> = 0,9999 → Linearitas sangat baik (R<sup>2</sup> ≥ 0,999) ✓

### D. Validasi Kurva Baku (Menurut BPOM/Farmakope)

| Parameter        | Nilai       | Kriteria BPOM | Status        |
|------------------|-------------|---------------|---------------|
| R <sup>2</sup>   | 0,9999      | ≥ 0,999       | ✓ Sangat baik |
| <i>Slope</i>     | 0,0045      | > 0,001       | ✓ Sensitif    |
| <i>Intercept</i> | 0,0012      | < 0,005       | ✓ Ideal       |
| Rentang A        | 0,255-0,765 | 0,2-0,8       | ✓ Optimal     |

Status: Kurva baku VALID untuk analisis kuantitatif ✓

## E. Pentingness Linearitas

Semakin baik linearitas data ( $R^2$  tinggi), semakin valid hasil analisis:

- $R^2 \geq 0,999$ : Linearitas sangat baik  $\rightarrow$  konsentrasi akurat
- $R^2 = 0,995-0,999$ : Linearitas cukup  $\rightarrow$  konsentrasi cukup akurat
- $R^2 < 0,995$ : Non-linear  $\rightarrow$  konsentrasi tidak akurat, metode tidak valid

**Dampak linearitas buruk:**

- $R^2 < 0,999 \rightarrow$  hubungan A-c tidak linear
- Perhitungan c menggunakan persamaan linear  $\rightarrow$  error besar
- Hasil tidak dapat dipertanggungjawabkan

## 6. Hitung Kadar Sampel Berdasarkan Regresi Linier

### A. Hitung Konsentrasi dalam Kuvet ( $c_{\text{kuvet}}$ )

#### 1. Rumus dari persamaan regresi:

Dari  $A = a \cdot c + b$ , selesaikan untuk c:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

#### 2. Substitusi nilai:

- $A = 0,499$  (rata-rata absorbansi sampel)
- $a = 0,0045$  (*slope*)
- $b = 0,0012$  (*intercept*)

### 3. Perhitungan:

$$c_{kuvet} = \frac{0,499 - 0,0012}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = \frac{0,4978}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = 110,6 \text{ ppm}$$

Konsentrasi dalam kuvet = 110,6 ppm

### B. Pentingness Koreksi *Intercept*

Jika tidak koreksi *intercept* (hanya *A/a*):

$$c = \frac{A}{a} = \frac{0,499}{0,0045} = 111,0 \text{ ppm}$$

Error:

- Dengan koreksi: 110,6 ppm
- Tanpa koreksi: 111,0 ppm
- Error = 0,4%

Koreksi *intercept* WAJIB untuk akurasi!

### C. Verifikasi *c\_kuvet*

- *c\_kuvet* = 110,6 ppm dalam rentang kurva (50-150 ppm) ✓
- Status: Valid ✓

## 7. Koreksi hasil dengan faktor pengenceran

### A. Rumus Koreksi Faktor Pengenceran

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP$$

di mana:

- *c\_kuvet* = konsentrasi dalam kuvet (setelah substitusi persamaan)
- FP = faktor pengenceran

FP dihitung dari:

$$FP = \frac{V_{akhir}}{V_{pipet}}$$

di mana:

- $V_{akhir}$  = volume akhir setelah pengenceran
- $V_{pipet}$  = volume yang dipipet dari larutan sebelumnya

## B. Contoh Perhitungan Faktor Pengenceran

Data preparasi sampel:

- Volume awal setelah pelarutan: 500 mL
- $c_{awal}$  = 100 ppm
- Pipet: 10 mL → labu takar 100 mL
- $V_{akhir}$  = 100 mL
- $V_{pipet}$  = 10 mL

Perhitungan FP:

$$FP = \frac{100 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 10$$

Konsentrasi kerja:

$$c_{kerja} = \frac{c_{awal}}{FP} = \frac{100 \text{ ppm}}{10} = 10 \text{ ppm}$$

Catatan: Jika  $c_{kerja}$  terlalu rendah, penyesuaian FP diperlukan.

## C. Hitung Konsentrasi Asli ( $c_{asli}$ )

1. Substitusi:

- $c_{kuvet}$  = 110,6 ppm
- $FP$  = 10

2. Perhitungan:

$$c_{asli} = 110,6 \times 10$$

$$c_{asli} = 1.106 \text{ ppm}$$

Konsentrasi asli = 1.106 ppm

#### D. Pentingness Koreksi FP

Jika tidak koreksi FP:

- $c = 110,6$  ppm ( $c_{\text{kuvet}}$ )
- $c_{\text{asli}}$  seharusnya = 1.106 ppm
- **Error = 90%** (terlalu rendah!)

Ini adalah kesalahan paling fatal dalam analisis!

| Kondisi           | c         | Error |
|-------------------|-----------|-------|
| Dengan koreksi FP | 1.106 ppm | 0% ✓  |
| Tanpa koreksi FP  | 110,6 ppm | 90% ✗ |

#### 8. Bandingkan Kadar dengan Nilai Acuan

##### A. Hitung % Kadar terhadap Label Klaim

###### 1. Rumus % kadar:

$$\% \text{Kadar} = \frac{c_{\text{asli}}}{c_{\text{teoritis}}} \times 100\%$$

di mana:

- $c_{\text{asli}}$  = konsentrasi asli (setelah koreksi FP)
- $c_{\text{teoritis}}$  = konsentrasi teoritis (klaim label)

###### 2. Hitung konsentrasi teoritis:

- Klaim label: 500 mg parasetamol per tablet
- Volume pelarut: 500 mL
- $c_{\text{teoritis}} = 500 \text{ mg} / 500 \text{ mL} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

###### 3. Substitusi nilai:

- $c_{\text{asli}} = 1.106 \text{ ppm}$
- $c_{\text{teoritis}} = 1.000 \text{ ppm}$

###### 4. Perhitungan:

$$\begin{aligned}\% \text{Kadar} &= \frac{1.106}{1.000} \times 100\% \\ \% \text{Kadar} &= 110,6\%\end{aligned}$$

$$\% \text{ Kadar} = 110,6\%$$

## B. Evaluasi Kesesuaian dengan Standar BPOM

### 1. Standar Penerimaan BPOM:

| % Kadar    | Status                                   | Keterangan           |
|------------|------------------------------------------|----------------------|
| 95% - 105% | <input checked="" type="checkbox"/> PASS | Kadar sesuai klaim   |
| < 95%      | <input checked="" type="checkbox"/> FAIL | Kadar terlalu rendah |
| > 105%     | <input checked="" type="checkbox"/> FAIL | Kadar terlalu tinggi |

### 2. Evaluasi % Kadar:

- % Kadar = 110,6%
- 110,6% > 105% (batas maksimum)
- Status: ☒ FAIL

### 3. Interpretasi:

- Kadar terlalu tinggi (over-dosis)
- 110,6% > 105% (batas maksimum)
- Produk tidak memenuhi standar BPOM
- Tidak dapat dipasarkan

### 4. Tindakan yang harus dilakukan:

- Re-test: Analisis ulang untuk konfirmasi
- Investigasi: Penyebab over-dosis
- Check preparasi: Verifikasi FP, bobot, volume
- Check pengukuran: Verifikasi  $\lambda_{\max}$ , baseline, kurva baku
- Jika tetap FAIL: Batch dropped (tidak dipasarkan)

## C. Kesimpulan

Tablet parasetamol 500 mg memiliki kadar 110,6% dari klaim label, melebihi batas maksimum 105% sesuai standar BPOM. Produk TIDAK memenuhi standar mutu dan TIDAK dapat dipasarkan. Perlu investigasi penyebab over-dosis dan re-test untuk konfirmasi.

## 9. Penutup

### A. Ringkasan Urutan Tahapan

| No | Tahapan                               | Tujuan                                                |
|----|---------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1  | Siapkan sampel dan standar            | Larutan untuk analisis                                |
| 2  | Tentukan pelarut dan $\lambda_{\max}$ | Pelarut cocok, sensitivitas maksimal                  |
| 3  | Buat seri standar                     | 5 konsentrasi (50-150 ppm)                            |
| 4  | Ukur absorbansi                       | Standar dan sampel (3x)                               |
| 5  | Susun kurva baku                      | $A = ac + b$ , $R^2 \geq 0,999$                       |
| 6  | Hitung $c_{\text{kuvet}}$             | $c = (A-b)/a$                                         |
| 7  | Koreksi FP                            | $c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times \text{FP}$ |
| 8  | Bandingkan dengan acuan               | % Kadar 95-105% → PASS                                |

### B. Poin Penting Prosedur

1. *Operating time*: Tunggu A stabil → RSD < 1%
2.  $\lambda_{\max}$ : Sensitivitas maksimum → error minimal
3. Koreksi *intercept*:  $c = (A-b)/a$  → akurasi
4. Koreksi FP:  $c_{\text{asli}} = c \times \text{FP}$  → akurasi (PALING PENTING!)
5. Kurva baku:  $R^2 \geq 0,999$  → validitas
6. Standar BPOM: 95-105% → PASS

### C. Parameter Validasi (Menurut BPOM)

| Parameter        | Kriteria     |
|------------------|--------------|
| $R^2$ kurva baku | $\geq 0,999$ |
| Recovery         | 98-102%      |
| RSD              | < 1%         |
| % Kadar          | 95-105%      |

Penerapan prosedur analisis secara sistematis menjamin hasil yang akurat, presisi, valid, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan hukum.

## **F. RANGKUMAN**

### **Rangkuman Analisis Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis Senyawa Obat**

#### **1. UV-Vis dapat digunakan untuk Penetapan Kadar Obat**

##### **A. Mengapa UV-Vis Dapat Digunakan untuk Penetapan Kadar Obat?**

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penetapan kadar obat karena banyak senyawa obat memiliki gugus kromofor, yaitu gugus fungsi atau struktur kimia yang memiliki kemampuan untuk menyerap radiasi ultraviolet (UV: 200-400 nm) atau visible/terlihat (Vis: 400-800 nm).

Gugus kromofor ditandai dengan adanya:

- Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ( $C=C-C=C$ ,  $C=C-C=O$ ,  $N=N-C=C$ )
- Elektron  $\pi$  ( $\pi$ ) yang dapat berpindah dari tingkat energi rendah ke tinggi
- Transisi elektron ini membutuhkan energi yang sesuai dengan energi radiasi UV atau Vis

##### **Mekanisme analisis:**

1. Senyawa obat dalam larutan menyerap cahaya pada  $\lambda$  tertentu
2. Sebagian cahaya diserap (absorbansi), sebagian diteruskan
3. Absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c)  $\rightarrow$  Hukum Lambert-Beer:  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$

4. Dengan mengukur  $A$ , dapat dihitung  $c$  (konsentrasi/sebesar kadar obat)

## B. Contoh Senyawa Obat yang Dapat Dianalisis dengan UV-Vis

| Senyawa Obat | $\lambda_{\max}$ (nm) | Gugus Kromofor                      |
|--------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Parasetamol  | 254                   | Benzene ring + C=O                  |
| Rivanol      | 288                   | Iodine terikat polimer              |
| Ranitidin    | 280-310               | Benzene + sistem terkonjugasi       |
| Betametason  | 240-250               | Benzene + C=O + sistem terkonjugasi |

## C. Keunggulan UV-Vis untuk Penetapan Kadar Obat

Menurut aturan BPOM, metode UV-Vis sering digunakan untuk penetapan kadar, karena:

| Keunggulan      | Keterangan                                              |
|-----------------|---------------------------------------------------------|
| Sederhana       | Tidak memerlukan preparasi rumit, langsung mengukur $A$ |
| Cepat           | Waktu analisis 30-45 menit per sampel                   |
| Ekonomis        | Biaya rendah (Rp 5.000-20.000 per analisis)             |
| Akurat          | Recovery 98-102%                                        |
| Presisi         | RSD < 1%                                                |
| Linearitas baik | $R^2 \geq 0,999$                                        |

Kesimpulan: UV-Vis adalah metode yang sangat cocok untuk penetapan kadar obat karena sensitivitas tinggi, akurasi baik, presisi baik, sederhana, cepat, dan ekonomis. Metode ini telah divalidasi dan merupakan standar BPOM untuk analisis rutin sediaan farmasi.

## 2. Preparasi Sampel Harus Menghilangkan Eksipien yang Mengganggu

### A. Apa Itu Eksipien dan Mengapa Mengganggu?

**Eksipien** adalah bahan tambahan dalam sediaan farmasi yang berfungsi sebagai:

- Pengisi: amilum, kalsium fosfat
- Pelincir: magnesium stearat
- Pengikat: polimer
- Pewarna
- Pengawet

**Masalah yang disebabkan eksipien:**

- Eksipien tidak larut sempurna dalam pelarut
- Eksipien tidak larut → partikel tersuspensi dalam larutan
- Partikel → hamburan cahaya (scattering)
- Scattering → overestimasi absorbansi ( $A$  lebih tinggi dari seharusnya)
- Hasil analisis tidak akurat (terlalu tinggi)

**Contoh dampak eksipien:**

- Tanpa filter:  $A = 0,650$  (terlalu tinggi karena scattering)
- Dengan filter:  $A = 0,500$  (akurat)
- Error = 30% jika tidak menghilangkan eksipien

### B. Prosedur Preparasi Sampel yang Tepat (Menurut BPOM)

*"Preparasi sampel harus menghilangkan eksipien yang mengganggu."*

Untuk sediaan tablet, prosedur yang WAJIB dilakukan:

**1. Menggerus tablet:**

- Gerus 10 tablet dengan mortar dan stempel hingga halus
- Gosok hingga tidak ada butiran besar
- Aduks serbuk hingga homogen
- Tujuan: Homogenitas, sampling representative

**2. Timbang seksama:**

- Neraca analitik (ketelitian 0,0001 g)
- Timbang serbuk setara dengan kandungan bahan aktif yang diinginkan
- Contoh: Setara 50 mg parasetamol
- Tujuan: Bobot analitis akurat → konsentrasi awal akurat

**3. Larutkan:**

- Labu takar 500 mL
- Tambah pelarut (air/metanol)  $\approx$  300 mL
- Homogenisasi 10-15 menit
- Encerkan hingga tanda batas 500 mL
- Tujuan: Ekstraksi zat aktif dari serbuk

**4. Saring (Filtrasi - WAJIB menurut BPOM):**

- Filter dengan filter paper 0,45  $\mu$ m
- Tolak filtrat pertama 2-3 mL (untuk清洗 filter)
- Ambil filtrat jernih untuk pengenceran
- **Tujuan:** Menghilangkan eksipien tidak larut, partikel, dan materi yang dapat menyebabkan scattering

**5. Encerkan:**

- Hitung faktor pengenceran (FP) untuk mencapai 50-150 ppm
- Pipet volume → labu takar → encerkan hingga tanda batas

- **Tujuan:** Konsentrasi kerja dalam rentang optimal ( $A = 0,2-0,8$ )

### C. Dampak jika Preparasi Tidak Tepat

| Masalah                 | Dampak                                                              |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Tidak gerus             | Serbuk tidak homogen → sampling tidak representative → error        |
| Tidak timbang tepat     | Bobot tidak akurat → konsentrasi awal tidak akurat → error          |
| Tidak larutkan sempurna | Zat aktif tidak larut → A rendah → kadar terlalu rendah             |
| Tidak saring            | Eksipien tidak larut → scattering → A tinggi → kadar terlalu tinggi |
| Tidak encerkan          | Konsentrasi terlalu tinggi → $A > 0,8$ → error tinggi               |

Kesimpulan: Preparasi sampel yang tepat (gerus → timbang → larut → saring → encerkan) adalah WAJIB untuk menghasilkan analisis yang akurat dan presisi. Filtrasi (menyaring) adalah langkah paling penting untuk menghilangkan eksipien yang mengganggu. Tanpa filtrasi, hasil analisis dapat **エラー** hingga 30% atau lebih.

## 3. Kurva Baku dan Regresi Linier Menjadi Dasar Perhitungan

### A. Apa Itu Kurva Baku?

**Kurva baku** adalah grafik hubungan antara absorbansi (A) dan konsentrasi (c) dari larutan standar yang diketahui konsentrasi pasti.

**Komponen kurva baku:**

- Sumbu X (horizontal): Konsentrasi (ppm)
- Sumbu Y (vertikal): Absorbansi (A)

- Titik data: 5 titik (5 konsentrasi berbeda: 50, 75, 100, 125, 150 ppm)
- Garis regresi: Garis lurus yang menghubungkan titik data

## B. Proses Pembuatan Kurva Baku

### 1. Pembuatan seri standar (5 konsentrasi):

| Konsentrasi (ppm) | Pipet (mL) dari 1.000 ppm | Volume (mL) |
|-------------------|---------------------------|-------------|
| 50                | 5 mL                      | 100 mL      |
| 75                | 7,5 mL                    | 100 mL      |
| 100               | 10 mL                     | 100 mL      |
| 125               | 12,5 mL                   | 100 mL      |
| 150               | 15 mL                     | 100 mL      |

### 2. Pengukuran absorbansi seri standar:

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 50                | 0,255          |
| 75                | 0,380          |
| 100               | 0,510          |
| 125               | 0,635          |
| 150               | 0,765          |

### 3. Plot grafik:

- Titik data membentuk garis lurus (linear)
- Hubungan  $A \propto c$  (berbanding lurus)

## C. Regresi Linier: Persamaan untuk Menghitung Konsentrasi

### 1. Persamaan regresi linier:

$$A = a \cdot c + b$$

di mana:

- $A$  = absorbansi
- $c$  = konsentrasi
- $a$  = *slope* (koefisien regresi)
- $b$  = *intercept* (konstanta)

### 2. Dari data seri standar, diperoleh:

$$A = 0,0045c + 0,0012$$

Parameter:

- *Slope* ( $a$ ) = 0,0045 → Sensitivitas tinggi ( $a > 0,001$ ) ✓
- *Intercept* ( $b$ ) = 0,0012 → Blanko ideal ( $b < 0,005$ ) ✓
- $R^2 = 0,9999$  → Linearitas sangat baik ( $R^2 \geq 0,999$ ) ✓

### 3. Rumus untuk menghitung konsentrasi dari absorbansi:

Dari  $A = ac + b$ , selesaikan untuk  $c$ :

$$c = \frac{A - b}{a}$$

### 4. Contoh perhitungan:

- Absorbansi sampel ( $A$ ) = 0,499
- $a = 0,0045$ ,  $b = 0,0012$

$$c_{kuvet} = \frac{0,499 - 0,0012}{0,0045}$$
$$c_{kuvet} = \frac{0,4978}{0,0045}$$

$$c_{kuvet} = 110,6 \text{ ppm}$$

Konsentrasi dalam kuvet = 110,6 ppm

#### D. Pentingness Kurva Baku dan Regresi Linier

| Fungsi                | Keterangan                                  |
|-----------------------|---------------------------------------------|
| Menghubungkan A dan c | $A \propto c$ (Hukum Lambert-Beer)          |
| Menghitung c dari A   | $c = (A-b)/a$                               |
| Validasi linearitas   | $R^2 \geq 0,999 \rightarrow$ metode valid   |
| Validasi sensitivitas | $a > 0,001 \rightarrow$ sensitivitas tinggi |
| Validasi blanko       | $b < 0,005 \rightarrow$ blanko ideal        |

Jika kurva baku tidak valid ( $R^2 < 0,999$  atau  $a < 0,001$ ):

- Hubungan A-c tidak linear
- Perhitungan c tidak akurat
- Metode tidak valid  $\rightarrow$  perlu revisi

Kesimpulan: Kurva baku dan regresi linier adalah dasar perhitungan analisis kuantitatif UV-Vis. Tanpa kurva baku yang valid ( $R^2 \geq 0,999$ ), hasil analisis tidak dapat dipertanggungjawabkan. Persamaan regresi  $A = ac + b$  digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel dari absorbansi yang terukur.

#### 4. Hasil Akhir dibandingkan dengan Kadar Klaim Sediaan

##### A. Apa Itu Kadar Klaim (Label Klaim)?

Kadar klaim (label klaim) adalah jumlah senyawa obat yang tercantum pada label sediaan farmasi, yang menunjukkan kandungan bahan aktif yang seharusnya ada dalam setiap unit sediaan.

Contoh:

- Tablet parasetamol 500 mg  $\rightarrow$  klaim: setiap tablet mengandung 500 mg parasetamol
- Tablet ibuprofen 400 mg  $\rightarrow$  klaim: setiap tablet mengandung 400 mg ibuprofen

- Larutan Rivanol 1% → klaim: setiap 100 mL mengandung 1 g povidone-iodine
- Konsentrasi teoritis ( $c_{\text{teoritis}}$ ):
- Jika 500 mg dalam 500 mL →  $c_{\text{teoritis}} = 500 \text{ mg}/500 \text{ mL} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

## B. Cara Bandingkan Hasil Analisis dengan Kadar Klaim

### 1. Hitung % Kadar:

$$\% \text{Kadar} = \frac{c_{\text{asli}}}{c_{\text{teoritis}}} \times 100\%$$

di mana:

- $c_{\text{asli}}$  = konsentrasi asli (setelah koreksi FP)
- $c_{\text{teoritis}}$  = konsentrasi teoritis (klaim label)

### 2. Contoh perhitungan:

- $c_{\text{asli}} = 1.106 \text{ ppm}$  (setelah koreksi FP)
- $c_{\text{teoritis}} = 1.000 \text{ ppm}$  (500 mg/500 mL)

$$\% \text{Kadar} = \frac{1.106}{1.000} \times 100\%$$

$$\% \text{Kadar} = 110,6\%$$

% Kadar = 110,6%

## C. Standar Penerimaan BPOM

Menurut aturan BPOM, standar penerimaan untuk % kadar obat dalam sediaan farmasi adalah:

| % Kadar    | Status | Keterangan                                                        |
|------------|--------|-------------------------------------------------------------------|
| 95% - 105% | ✓ PASS | Kadar sesuai klaim, produk memenuhi standar                       |
| < 95%      | ✗ FAIL | Kadar terlalu rendah (under-dosis), produk tidak memenuhi standar |
| > 105%     | ✗ FAIL | Kadar terlalu tinggi (over-dosis), produk tidak memenuhi standar  |

## D. Evaluasi Hasil Analisis

### Contoh evaluasi:

- % Kadar = 110,6%
- 110,6% > 105% (batas maksimum)
- Status: **✗ FAIL**

### Interpretasi:

- Kadar terlalu tinggi (over-dosis)
- 110,6% jauh lebih tinggi dari 105%
- Produk tidak memenuhi standar BPOM
- Tidak dapat dipasarkan

### Tindakan yang harus dilakukan:

1. Re-test: Analisis ulang untuk konfirmasi
2. Investigasi: Cari penyebab over-dosis
3. Check preparasi: Verifikasi FP, bobot, volume
4. Check pengukuran: Verifikasi  $\lambda_{\max}$ , baseline, kurva baku
5. Jika tetap FAIL: Batch dropped (tidak dipasarkan)

## E. Contoh Kasus Pass dan Fail

| Sediaan                    | % Kadar | Status    | Keterangan     |
|----------------------------|---------|-----------|----------------|
| Tablet Parasetamol 500 mg  | 100%    | ✓<br>PASS | Kadar sesuai   |
| Tablet Ibuprofen 400 mg    | 98%     | ✓<br>PASS | Kadar sesuai   |
| Tablet Ranitidin 150 mg    | 92%     | ✗ FAIL    | Terlalu rendah |
| Tablet Betametason 0,75 mg | 110%    | ✗ FAIL    | Terlalu tinggi |

Kesimpulan: Hasil akhir analisis (% kadar) harus dibandingkan dengan kadar klaim sediaan (label klaim).

Jika % kadar berada dalam 95-105%, produk dianggap memenuhi persyaratan BPOM dan dapat dipasarkan. Jika % kadar < 95% atau > 105%, produk tidak memenuhi standar dan tidak dapat dipasarkan.

## Penutup

### A. Ringkasan 4 Poin Utama

| Poin                                | Kesimpulan                                                                                                                                        |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. UV-Vis untuk penetapan kadar     | Banyak senyawa obat memiliki gugus kromofor → dapat dianalisis dengan UV-Vis. Metode sederhana, cepat, ekonomis, akurat, presisi.                 |
| 2. Preparasi menghilangkan eksipien | Eksipien tidak larut → scattering → A tinggi → error. WAJIB: gerus → timbang → larut → saring → encerkan. Filtrasi adalah langkah paling penting. |
| 3. Kurva baku & regresi linier      | $A = ac + b$ . Dari kurva baku valid ( $R^2 \geq 0,999$ ), hitung $c = (A-b)/a$ . Dasar perhitungan analisis kuantitatif.                         |
| 4. Bandingkan dengan kadar klaim    | % Kadar = $(c_{\text{asli}}/c_{\text{teoritis}}) \times 100\%$ . Standar BPOM: 95-105% → PASS. < 95% atau > 105% → FAIL.                          |

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penetapan kadar obat karena banyak senyawa obat memiliki gugus kromofor yang menyerap radiasi UV-Vis. Preparasi sampel harus menghilangkan eksipien yang mengganggu dengan prosedur gerus → timbang → larut → saring → encerkan. Kurva baku dan regresi linier ( $A = ac + b$ ) menjadi dasar perhitungan untuk menghitung konsentrasi dari absorbansi. Hasil akhir (% kadar) dibandingkan dengan kadar klaim sediaan, dan jika berada

dalam 95-105% sesuai standar BPOM, sampel dianggap memenuhi persyaratan.

#### **F. Latihan Soal**

1. Mengapa UV-Vis cocok untuk analisis kadar obat?
2. Apa yang dimaksud metode standar eksternal?
3. Sebutkan langkah preparasi tablet sebelum dianalisis.
4. Mengapa eksipien harus diperhatikan?
5. Bagaimana cara menghitung kadar akhir dari absorbansi?

#### **G. Tugas Mandiri/Studi Kasus**

Analisis data hasil penetapan kadar salah satu obat tablet dan buat kesimpulan apakah hasilnya sesuai dengan kadar etiket.





# BAB III

## Analisis Kuantitatif UV-Vis Senyawa Bahan Alam

### A. SUB-CPMK

Mahasiswa mampu melakukan analisis kuantitatif bahan alam menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan menginterpretasikan hasilnya.

### B. PENDAHULUAN

#### 1. Senyawa Metabolit Sekunder dalam Bahan Alam<sup>[21]</sup>

##### A. Pengertian Metabolit Sekunder

Bahan alam seperti tumbuhan, akar, daun, bunga, buah, dan kulit kayu mengandung beragam senyawa kimia yang disebut metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan dasar organisme, tetapi berperan penting dalam mekanisme pertahanan, atraksi serangga, proteksi terhadap patogen, dan adaptasi terhadap lingkungan.

**Perbedaan metabolit primer dan sekunder:**

| Metabolit Primer                                        | Metabolit Sekunder                       |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Diperlukan untuk pertumbuhan (karbon, nitrogen, energi) | Tidak diperlukan untuk pertumbuhan dasar |
| Ada pada semua organisme (glukosa, protein, lipid)      | Spesifik pada jenis organisme tertentu   |

|                                        |                                               |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Contoh: karbohidrat, asam amino, lemak | Contoh: fenol, flavonoid, terpenoid, alkaloid |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------|

## B. Jenis-Jenis Metabolit Sekunder yang Dapat Dianalisis dengan UV-Vis

Bahan alam mengandung berbagai kelompok senyawa metabolit sekunder yang memiliki gugus kromofor, sehingga dapat dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis:

| Kelompok Senyawa | Gugus Kromofor                                               | $\lambda_{\text{max}}$ (nm) |
|------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Fenol            | Benzene ring + OH                                            | 270-280                     |
| Flavonoid        | Sistem terkonjugasi<br>$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ | 250-280,<br>300-380         |
| Terpenoid        | Ikatan rangkap terkonjugasi                                  | 200-250                     |
| Antosianin       | Sistem terkonjugasi panjang                                  | 500-550 (Vis)               |
| Alkaloid         | N dalam sistem terkonjugasi                                  | 200-300                     |
| Steroid          | Benzene ring + ikatan rangkap                                | 240-250                     |

## 2. Spektrofotometri UV-VIS Untuk Analisis Bahan Alam

Mengapa UV-Vis Dapat Digunakan untuk Bahan Alam?

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis senyawa bahan alam karena: <sup>[22-25]</sup>

### 1. Senyawa metabolit sekunder memiliki gugus kromofor:

- Gugus kromofor adalah gugus fungsi yang memiliki kemampuan untuk menyerap radiasi UV atau Vis
- Gugus kromofor ditandai dengan adanya:
  - Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ( $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ )

- Elektron  $\pi$  (pi) yang dapat berpindah dari tingkat energi rendah ke tinggi
- Transisi elektron membutuhkan energi yang sesuai dengan energi radiasi UV/Vis

## 2. Contoh senyawa dan gugus kromofor:

| Senyawa             | Gugus Kromofor                            | $\lambda_{\max}$ |
|---------------------|-------------------------------------------|------------------|
| Fenol sederhana     | Benzene ring + OH                         | 270 nm           |
| Kuinase (flavonoid) | Benzene + C=C-C=O terkonjugasi            | 260, 350 nm      |
| Antosianin          | Sistem terkonjugasi panjang (warna merah) | 520 nm           |
| Terpenoid           | Ikatan rangkap terkonjugasi               | 220 nm           |

## 3. Hukum Lambert-Beer berlaku:

- Absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c)
- $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  ( $\epsilon$  = koefisien absorptivitas, b = panjang jalan cahaya, c = konsentrasi)
- Dengan mengukur A, dapat dihitung c (konsentrasi senyawa)

## B. Keunggulan UV-Vis untuk Analisis Bahan Alam

| Keunggulan | Keterangan                                  |
|------------|---------------------------------------------|
| Sederhana  | Tidak memerlukan preparasi sangat rumit     |
| Cepat      | Waktu analisis 30-45 menit per sampel       |
| Ekonomis   | Biaya rendah (Rp 5.000-20.000 per analisis) |
| Sensitif   | Dapat mengukur konsentrasi rendah (ppm)     |
| Akurat     | Recovery 98-102%                            |
| Presisi    | RSD < 1%                                    |

### 3. Standarisasi Ekstrak Bahan Alam Menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI)

#### a. Pengaturan Farmakope Herbal Indonesia (FHI) <sup>[75]</sup>

Farmakope Herbal Indonesia (FHI) adalah pedoman standar mutu obat bahan alam yang dikeluarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). FHI menetapkan parameter standarisasi untuk ekstrak bahan alam agar memenuhi mutu, keamanan, dan efektivitas.

Menurut aturan FHI, metode spektrofotometri UV-Vis sering dipakai untuk standarisasi ekstrak karena:

- Sederhana, cepat, ekonomis
- Dapat mengukur kadar total senyawa tertentu
- Telah divalidasi dan menjadi standar resmi

#### b. Parameter yang Diukur dengan UV-Vis dalam Standarisasi FHI

##### 1. Kadar Total Fenol/ Polifenol:

| Parameter          | Keterangan                                 |
|--------------------|--------------------------------------------|
| Senyawa target     | Semua senyawa fenolik (OH terikat benzene) |
| Reagen             | Folin-Ciocalteu                            |
| $\lambda_{\max}$   | 760 nm (warna biru)                        |
| Standar pembanding | Kuinase (Quercetin) atau Asam Galat        |
| Kriteria mutu      | Minimal 5-10% (tergantung jenis ekstrak)   |

##### Mekanisme analisis:

- Fenol + Folin-Ciocalteu  $\rightarrow$  warna biru
- Biru = kompleks fenol-tungsten
- Absorbansi biru  $\propto$  jumlah fenol

- Hitung % fenol berdasarkan kurva baku kuinase

## 2. Kadar Total Flavonoid:

| Parameter              | Keterangan                                                      |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Senyawa target         | Semua senyawa flavonoid (kuinase, epikuinase, hspiperidin, dll) |
| Reagen                 | $\text{AlCl}_3$ (Aluminium chlorida)                            |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 415 nm (warna kuning)                                           |
| Standar pembanding     | Kuinase (Quercetin)                                             |
| Kriteria mutu          | Minimal 2-5% (tergantung jenis ekstrak)                         |

### Mekanisme analisis:

- Flavonoid +  $\text{AlCl}_3 \rightarrow$  kompleks kuning
- Kuning = kompleks flavonoid-Al
- Absorbansi kuning  $\propto$  jumlah flavonoid
- Hitung % flavonoid berdasarkan kurva baku kuinase

## 3. Kadar Total Terpenoid:

| Parameter              | Keterangan                                        |
|------------------------|---------------------------------------------------|
| Senyawa target         | Semua senyawa terpenoid (steroid, glikosida, dll) |
| Reagen                 | Asam sulfat + Antrasen                            |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 280-320 nm                                        |
| Standar pembanding     | Sorbitol atau Glikosida                           |
| Kriteria mutu          | Minimal 1-3%                                      |

#### 4. Kadar Total Antosianin:

| Parameter          | Keterangan                          |
|--------------------|-------------------------------------|
| Senyawa target     | Semua antosianin (warna merah/biru) |
| Reagen             | pH differential (pH 1,0 dan 4,5)    |
| $\lambda_{\max}$   | 520 nm (warna merah)                |
| Standar pembanding | Kuinase atau Cyanidin-3-glukosida   |
| Kriteria mutu      | Minimal 0,1-1%                      |

#### Mekanisme analisis:

- Antosianin berubah warna pada pH berbeda
- pH 1,0: merah (absorbansi tinggi)
- pH 4,5: biru/nada (absorbansi rendah)
- $\Delta A = A_{\text{pH1}} - A_{\text{pH4}} \propto \text{jumlah antosianin}$

#### 5. Kadar Senyawa Penanda Tertentu:

| Senyawa Penanda | Sumber Bahan Alam  | $\lambda_{\max}$ |
|-----------------|--------------------|------------------|
| Kuinase         | Teh, kulit manggis | 256, 370 nm      |
| Berkas          | Jeruk, daun sirsak | 270 nm           |
| Curcumin        | Kunyit             | 425 nm           |
| Ginkolid        | Ginkgo             | 275 nm           |
| Hyperosida      | St. John's wort    | 360 nm           |

#### 4. Kompleksitas Matrik Bahan Alam

##### a. Mengapa Bahan Alam Memiliki Matriks Kompleks?

Bahan alam memiliki matriks yang sangat kompleks karena:

1. Terdapat banyak senyawa dalam satu ekstrak:

| Jenis Senyawa             | Contoh dalam Ekstrak            |
|---------------------------|---------------------------------|
| Metabolit sekunder target | Fenol, flavonoid, terpenoid     |
| Metabolit sekunder lain   | Alkaloid, steroid, lignin       |
| Metabolit primer          | Karbohidrat, protein, lemak     |
| Eksipien alami            | Selulosa, lignin, pati          |
| Kontaminan                | Mikroba, logam berat, pestisida |

2. Contoh kompleksitas ekstrak daun:

| Komponen           | Konsentrasi |
|--------------------|-------------|
| Flavonoid (target) | 2-5%        |
| Fenol lain         | 3-8%        |
| Alkaloid           | 1-3%        |
| Steroid            | 0,5-2%      |
| Karbohidrat        | 10-30%      |
| Protein            | 5-15%       |
| Lemak              | 2-10%       |
| Selulosa           | 15-30%      |
| Lignin             | 5-20%       |

Total senyawa: > 100 jenis senyawa dalam 1 ekstrak!

b. Masalah yang Ditimbulkan Matriks Kompleks

| Masalah                   | Dampak pada Analisis UV-Vis                                          |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Interferensi senyawa lain | Senyawa lain juga absorbs → A tinggi → error positif                 |
| Kekeruhan (turbiditas)    | Partikel tidak larut → scattering → A tinggi → error                 |
| Presipitasi               | Analit tidak larut → A rendah → error negatif                        |
| Reaksi silang             | Reagen bereaksi dengan senyawa lain → warna tidak spesifik           |
| Perubahan pH              | Matriks mengubah pH → bentuk ion analit berubah → $\lambda$ bergeser |

|             |                                                |
|-------------|------------------------------------------------|
| Kontaminasi | Logam/mikroba → degradasi analit → kadar turun |
|-------------|------------------------------------------------|

Contoh dampak interferensi:

| Kondisi        | Absorbansi | % Kadar | Status              |
|----------------|------------|---------|---------------------|
| Sampel murni   | 0,500      | 100%    | ☑ Akurat            |
| + Interferensi | 0,650      | 130%    | ✗ Error positif 30% |
| + Presipitasi  | 0,350      | 70%     | ✗ Error negatif 30% |

## 5. Preparasi sampel yang sangat penting

### a. Mengapa Preparasi Sampel Menjadi Sangat Penting?

Karena bahan alam memiliki matriks yang kompleks, preparasi sampel menjadi sangat penting untuk:

#### 1. Menghilangkan interferensi:

- Senyawa lain yang tidak target analisis harus dihilangkan
- Mencegah error positif (A terlalu tinggi)

#### 2. Menghilangkan partikel tidak larut:

- Selulosa, lignin, pati harus dihilangkan
- Mencegah scattering (kekeruhan)

#### 3. Ekstraksi analit target:

- Mengambil senyawa target dari matriks
- Memaksimalkan recovery analit

#### 4. Konsentrasi analit:

- Meningkatkan konsentrasi ke rentang kerja (50-150 ppm)
- Memperbaiki sensitivitas

#### 5. Standardisasi:

- Memastikan semua sampel diolah sama
- Hasil dapat dibandingkan

## B. Prosedur Preparasi Sampel untuk Bahan Alam

### 1. Pengeringan bahan:

| Langkah      | Keterangan                     |
|--------------|--------------------------------|
| Cuci bersih  | Hilangkan tanah, kontaminan    |
| Potong kecil | Mempercepat pengeringan        |
| Keringkan    | 40-50°C hingga kadar air < 10% |
| Gerus        | Homogen, partikel kecil        |

### 2. Ekstraksi:

| Metode     | Pelarut         | Keterangan                      |
|------------|-----------------|---------------------------------|
| Maserasi   | Etanol 70%, air | Sederhana, waktu lama (3 hari)  |
| Refluks    | Etanol, metanol | Panas, waktu cepat (2-4 jam)    |
| Sokhletasi | Etanol, hexana  | Panas terus, ekstraksi sempurna |
| Spirasi    | Etanol, air     | Tekanan, waktu cepat            |

#### Contoh maserasi untuk flavonoid:

- 100 g daun serbuk + 500 mL etanol 70%
- Aduk 3 hari, suhu ruang
- Saring, ambil filtrat
- Evaporasi → ekstrak kental

### 3. Purifikasi (pemurnian):

| Metode              | Tujuan                         | Keterangan           |
|---------------------|--------------------------------|----------------------|
| Filtrasi            | Hilangkan partikel tidak larut | Filter 0,45 µm       |
| Ekstraksi cair-cair | Hilangkan interferensi         | Etanol-water, hexana |
| Kromatografi        | Isolasi senyawa target         | Kolom, HPLC          |
| Dialisis            | Hilangkan molekul besar        | Protein, polimer     |

#### Contoh filtrasi untuk sampel UV-Vis:

- Ekstrak kental + etanol 70% → larut
- Saring dengan filter 0,45  $\mu\text{m}$
- Ambil filtrat jernih
- Encerkan hingga 50-150 ppm

#### 4. Pengenceran:

| Langkah      | Keterangan                       |
|--------------|----------------------------------|
| Hitung FP    | Faktor pengenceran untuk 100 ppm |
| Pipet volume | Dari ekstrak kasar               |
| Labu takar   | Encerkan hingga tanda batas      |
| Homogenisasi | Vortex atau pengaduk             |

#### Contoh:

- Ekstrak kasar = 10.000 ppm
- Target = 100 ppm
- $\text{FP} = 10.000/100 = 100$
- Pipet 1 mL → labu 100 mL

#### 5. Pengukuran:

| Langkah      | Keterangan                            |
|--------------|---------------------------------------|
| Basel blanko | Pelarut murni ( $A = 0$ )             |
| Ukur A       | $\lambda_{\text{max}}$ sesuai senyawa |
| 3 replikasi  | Presisi baik                          |
| Hitung c     | Dari kurva baku                       |

## 6. Kesimpulan

### A. Ringkasan Poin Utama

| Poin                        | Kesimpulan                                                                                        |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Metabolit sekunder       | Bahan alam mengandung fenol, flavonoid, terpenoid, antosianin, alkaloid, steroid                  |
| 2. UV-Vis dapat digunakan   | Senyawa memiliki gugus kromofor → absorbs UV/Vis → dapat dianalisis                               |
| 3. Standardisasi FHI        | UV-Vis sering dipakai untuk: kadar total fenol, flavonoid, terpenoid, antosianin, senyawa penanda |
| 4. Matriks kompleks         | Bahan alam memiliki >100 senyawa → interferensi, kekeruhan, presipitasi                           |
| 5. Preparasi sangat penting | Harus: menghilangkan interferensi, partikel tidak larut, ekstraksi analit, pengenceran tepat      |

### B. Kesimpulan

Bahan alam mengandung beragam senyawa metabolit sekunder yang sebagian dapat dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis karena senyawa tersebut memiliki gugus kromofor yang menyerap radiasi UV atau Vis.

Dalam standardisasi ekstrak menurut aturan Farmasi Indonesia (FHI), metode UV-Vis sering dipakai untuk mengukur kadar total fenol, kadar total flavonoid, kadar total terpenoid, kadar total antosianin, dan kadar senyawa penanda tertentu karena metode ini sederhana, cepat, ekonomis, sensitif, akurat, dan presisi.

Karena bahan alam memiliki matriks yang sangat kompleks (lebih dari 100 jenis senyawa dalam 1 ekstrak), preparasi sampel menjadi sangat penting untuk menghilangkan interferensi, partikel tidak larut, dan

memastikan ekstraksi analit target yang optimal. Tanpa preparasi sampel yang tepat, hasil analisis tidak akurat dan tidak dapat dipertanggungjawabkan.

Preparasi sampel yang benar meliputi: pengeringan, ekstraksi, purifikasi (filtrasi), pengenceran, dan pengukuran yang sesuai standar. Hanya dengan preparasi sampel yang tepat, analisis UV-Vis untuk bahan alam dapat menghasilkan data yang akurat, presisi, dan dapat dipertanggungjawabkan untuk standarisasi mutu obat bahan alam.<sup>[5][6]</sup>

### **C. Uraian Materi**

#### **1. Senyawa Boaktif Bahan Alam dan Gugus Kromofior.<sup>[26-28]</sup>**

##### **A. Pengertian Senyawa Metabolit Sekunder Bahan Alam**

Senyawa bahan alam seperti flavonoid, kurkumin, dan fenolik adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, akar, daun, bunga, buah, dan kulit kayu. Senyawa ini berperan penting dalam mekanisme pertahanan tumbuhan, atribusi serangga, proteksi terhadap patogen, dan aktivitas farmakologis pada manusia.

##### **B. Gugus Kromofor dan Sistem Terkonjugasi**

Secara umum, senyawa bahan alam memiliki gugus kromofor atau sistem terkonjugasi yang menyerap pada daerah UV-Vis:

###### **1. Gugus kromofor:**

Gugus kromofor adalah gugus fungsi atau struktur kimia yang memiliki kemampuan untuk menyerap radiasi ultraviolet (UV: 200-400 nm) atau visible/terlihat (Vis: 400-800 nm)

Gugus kromofor ditandai dengan adanya:

- Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ( $C=C-C=C$ ,  $C=C-C=O$ ,  $C=C-C=N$ )
- Elektron  $\pi$  ( $\pi$ ) yang dapat berpindah dari tingkat energi rendah ke tinggi
- Transisi elektron ini membutuhkan energi yang sesuai dengan energi radiasi UV atau Vis

## 2. Contoh senyawa dan gugus kromofor:

| Senyawa           | Gugus Kromofor                            | $\lambda_{\max}$ (nm) | Daerah           |
|-------------------|-------------------------------------------|-----------------------|------------------|
| Flavonoid         | Benzene ring + $C=C-C=O$ terkonjugasi     | 250-280, 300-380      | UV               |
| Kurkumin          | Sistem terkonjugasi panjang ( $C=C-C=O$ ) | 425                   | Vis (kuning)     |
| Fenolik sederhana | Benzene ring + OH                         | 270-280               | UV               |
| Antosianin        | Sistem terkonjugasi panjang               | 500-550               | Vis (merah/biru) |
| Alkaloid          | N dalam sistem terkonjugasi               | 200-300               | UV               |
| Terpenoid         | Ikatan rangkap terkonjugasi               | 200-250               | UV               |

## 3. Mekanisme penyerapan:

Elektron  $\pi$  pada sistem terkonjugasi menyerap energi radiasi

Elektron berpindah dari orbital  $\pi$  (ground state) ke orbital  $\pi^*$  (excited state)

Energi yang dibutuhkan sesuai dengan energi radiasi UV/Vis

Absorbansi terjadi pada  $\lambda$  tertentu ( $\lambda_{\max}$ )

## 2. Masalah Selektivitas dalam Analisis Bahan Alam

### A. Mengapa Selektivitas Metode Harus Diperhatikan?

Namun, karena ekstrak tanaman mengandung banyak komponen, selektivitas metode harus diperhatikan. Ekstrak tanaman memiliki matriks yang sangat kompleks dengan lebih dari 100 jenis senyawa dalam satu ekstrak.

Komponen dalam ekstrak tanaman:

| Jenis Komponen   | Contoh                          | Konsentrasi |
|------------------|---------------------------------|-------------|
| Senyawa target   | Flavonoid, fenolik, kurkumin    | 0,5-10%     |
| Senyawa lain     | Alkaloid, steroid, lignin       | 1-5%        |
| Metabolit primer | Karbohidrat, protein, lemak     | 10-50%      |
| Eksipien alami   | Selulosa, lignin, pati          | 10-40%      |
| Kontaminan       | Mikroba, logam berat, pestisida | < 0,1%      |

### B. Masalah yang Ditimbulkan Matriks Kompleks

| Masalah                   | Dampak pada Analisis UV-Vis                                                                      |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Interferensi senyawa lain | Senyawa lain juga absorbs pada $\lambda$ sama $\rightarrow$ A tinggi $\rightarrow$ error positif |
| Kekeruhan (turbiditas)    | Partikel tidak larut $\rightarrow$ scattering $\rightarrow$ A tinggi $\rightarrow$ error         |
| Presipitasi               | Analit tidak larut $\rightarrow$ A rendah $\rightarrow$ error negatif                            |
| Reaksi silang             | Reagen bereaksi dengan senyawa lain $\rightarrow$ warna tidak spesifik                           |

|              |                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------|
| Perubahan pH | Matriks mengubah pH → bentuk ion analit berubah → $\lambda$ bergeser |
|--------------|----------------------------------------------------------------------|

Contoh dampak interferensi:

| Kondisi        | Absorbansi | % Kadar | Error  |
|----------------|------------|---------|--------|
| Sampel murni   | 0,500      | 100%    | 0% ✓   |
| + Interferensi | 0,650      | 130%    | +30% ✗ |
| + Presipitasi  | 0,350      | 70%     | -30% ✗ |

### 3. Faktor yang mempengaruhi Hasil Analisis

#### 1. Pemilihan Pelarut:

| Pelarut     | Jenis Senyawa       | Keterangan                        |
|-------------|---------------------|-----------------------------------|
| Etanol 70%  | Flavonoid, fenolik  | Pelarut umum, aman, efektif       |
| Metanol     | Flavonoid, alkaloid | Lebih polar, ekstraksi lebih baik |
| Air         | Fenolik, antosianin | Untuk senyawa sangat polar        |
| Hexana      | Terpenoid, steroid  | Untuk senyawa non-polar           |
| Asam sulfat | Kurkumin            | Untuk ekstraksi spesifik          |

Kriteria pelarut yang baik:

- Mendukung kelarutan senyawa target
- Tidak absorbs pada  $\lambda$  analisis
- Stabil, tidak bereaksi dengan analit
- Grade analitis atau HPLC

#### 2. Pengaturan pH:

| pH      | Jenis Senyawa | Keterangan                      |
|---------|---------------|---------------------------------|
| pH 1-3  | Antosianin    | Warna merah stabil              |
| pH 4-6  | Flavonoid     | Kompleks $AlCl_3$ stabil        |
| pH 7-8  | Fenolik       | Folin-Ciocalteu bekerja optimal |
| pH 9-10 | Alkaloid      | Basa bebas terbentuk            |

Dampak pH yang tidak tepat:

- pH tidak sesuai → bentuk ion analit berubah

- $\lambda_{\max}$  bergeser  $\rightarrow$  absorbansi turun
- Reaksi dengan reagen tidak optimal  $\rightarrow$  warna lemah

### 3. Waktu Ekstraksi:

| Metode     | Waktu           | Keterangan                      |
|------------|-----------------|---------------------------------|
| Maserasi   | 3 hari (72 jam) | Sederhana, suhu ruang           |
| Refluks    | 2-4 jam         | Panas, ekstraksi cepat          |
| Sokhletasi | 4-6 jam         | Panas terus, ekstraksi sempurna |
| Spirasi    | 30-60 menit     | Tekanan, waktu sangat cepat     |

#### Waktu ekstraksi tidak tepat:

- Terlalu singkat  $\rightarrow$  ekstraksi tidak sempurna  $\rightarrow$  kadar rendah
- Terlalu lama  $\rightarrow$  degradasi analit  $\rightarrow$  kadar turun

### 4. Proses Pemurnian (Purifikasi):

| Metode              | Tujuan                         | Keterangan                |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Filtrasi            | Hilangkan partikel tidak larut | Filter 0,45 $\mu\text{m}$ |
| Ekstraksi cair-cair | Hilangkan interferensi         | Etanol-water, hexana      |
| Kromatografi kolom  | Isolasi senyawa target         | Silika gel, resin         |
| Dialisis            | Hilangkan molekul besar        | Protein, polimer          |

#### Tanpa pemurnian:

- Partikel tidak larut  $\rightarrow$  scattering  $\rightarrow$  error
- Interferensi  $\rightarrow$  warna tidak spesifik  $\rightarrow$  error
- Hasil analisis tidak akurat

## 4. Metode Standar Pembanding dalam Analisis Bahan Alam

### A. Pengertian Metode Standar Pembanding

Dalam analisis bahan alam, sering digunakan metode standar pembanding. Metode ini menggunakan standar murni senyawa referensi sebagai pembanding untuk menghitung kadar senyawa target dalam sampel.

**Cara kerja:**

- Buat kurva baku dari standar pembanding
- Ukur absorbansi sampel
- Hitung konsentrasi dari kurva baku
- Konversi ke % kadar

### B. Contoh Standar Pembanding yang Umum Digunakan

#### 1. Kuersetin untuk Flavonoid Total:

| Parameter              | Keterangan                                              |
|------------------------|---------------------------------------------------------|
| Standar pembanding     | Kuersetin (Quercetin)                                   |
| Reagen                 | $\text{AlCl}_3$ (Aluminium chlorida)                    |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 415 nm (warna kuning)                                   |
| Mekanisme              | Flavonoid + $\text{AlCl}_3 \rightarrow$ kompleks kuning |
| Kriteria mutu          | Minimal 2-5% flavonoid                                  |

**Prosedur:**

- Buat kurva baku kuersetin (5-50 ppm)
- Sampel +  $\text{AlCl}_3 \rightarrow$  warna kuning, Ukur A pada 415 nm
- Hitung % flavonoid dari kurva baku kuersetin

#### 2. Asam Galat untuk Fenol Total:

| Parameter              | Keterangan               |
|------------------------|--------------------------|
| Standar pembanding     | Asam Galat (Gallic acid) |
| Reagen                 | Folin-Ciocalteu          |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 760 nm (warna biru)      |

|               |                            |
|---------------|----------------------------|
| Mekanisme     | Fenol + Folin → warna biru |
| Kriteria mutu | Minimal 5-10% fenol        |

#### Prosedur:

- Buat kurva baku asam galat (10-100 ppm)
- Sampel + Folin-Ciocalteu → warna biru
- Ukur A pada 760 nm
- Hitung % fenol dari kurva baku asam galat

### 3. Standar lain yang umum:

| Senyawa Target | Standar Pemanding    | Reagen                 | $\lambda_{\max}$ |
|----------------|----------------------|------------------------|------------------|
| Kurkumin       | Kurkumin murni       | Asam sulfat            | 425 nm           |
| Antosianin     | Cyanidin-3-glukosida | pH differential        | 520 nm           |
| Alkaloid       | Berberine            | Asam sulfat            | 330 nm           |
| Terpenoid      | Sorbitol             | Asam sulfat + Antrasen | 280 nm           |

## 5. Prosedur Analisis dengan Penambahan Reagen

### A. Pembentukan Kompleks Berwarna

Setelah penambahan reagen tertentu, kompleks berwarna terbentuk dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu.

#### Mekanisme pembentukan kompleks:

##### 1. Flavonoid + $\text{AlCl}_3$ :

Flavonoid memiliki gugus  $\text{C}=\text{O}$  dan  $\text{OH}$

$\text{AlCl}_3$  ( $\text{Al}^{3+}$ ) bereaksi dengan  $\text{C}=\text{O}$  dan  $\text{OH}$

Terbentuk kompleks flavonoid-Al berwarna kuning

Kuning = intensitas  $\propto$  jumlah flavonoid

##### 2. Fenol + Folin-Ciocalteu:

Fenol memiliki gugus OH terikat benzene  
 Folin-Ciocalteu (tungsten-molibdenum) reduksi oleh fenol

Terbentuk kompleks fenol-tungsten berwarna biru

Biru = intensitas  $\propto$  jumlah fenol

### 3. Antosianin + pH differential:

Antosianin berubah warna pada pH berbeda

pH 1,0: merah (A tinggi)

pH 4,5: biru/nada (A rendah)

$\Delta A = A_{pH1} - A_{pH4} \propto$  jumlah antosianin

## B. Pengukuran Absorbansi

| Langkah                     | Keterangan                         |
|-----------------------------|------------------------------------|
| 1. Basel blanko             | Pelarut murni ( $A = 0$ )          |
| 2. Masukkan sampel          | Larutan sampel + reagen            |
| 3. Tentukan $\lambda_{max}$ | Scanning spektrum 200-800 nm       |
| 4. Ukur A                   | Pada $\lambda_{max}$ (3 replikasi) |
| 5. Hitung c                 | Dari kurva baku                    |

Contoh pengukuran:

| Replikasi | Absorbansi (A)     |
|-----------|--------------------|
| 1         | 0,498              |
| 2         | 0,500              |
| 3         | 0,499              |
| Rata-rata | 0,499              |
| RSD       | 0,2% ( $< 1\%$ ) ✓ |

## 6. Perhitungan Hasil dengan Kurva Baku Standar

### A. Pembuatan Kurva Baku

#### 1. Pembuatan seri standar:

| Konsentrasi (ppm) | Pipet (mL) dari 100 ppm | Volume (mL) |
|-------------------|-------------------------|-------------|
| 5                 | 5 mL                    | 100 mL      |
| 10                | 10 mL                   | 100 mL      |
| 20                | 20 mL                   | 100 mL      |
| 30                | 30 mL                   | 100 mL      |
| 50                | 50 mL                   | 100 mL      |

#### 2. Pengukuran absorbansi standar:

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 5                 | 0,050          |
| 10                | 0,100          |
| 20                | 0,200          |
| 30                | 0,300          |
| 50                | 0,500          |

#### 3. Persamaan regresi linier:

$$A = 0,0100c + 0,0000$$

##### Parameter:

*Slope* (a) = 0,0100 → Sensitivitas tinggi ✓

*Intercept* (b) = 0,0000 → Blanko ideal ✓

$R^2 = 1,0000$  → Linearitas sempurna ✓

## B. Perhitungan Kadar Sampel

### 1. Hitung konsentrasi dari absorbansi:

Rumus dari persamaan regresi:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

### 2. Contoh:

A sampel = 0,499

a = 0,0100

b = 0,0000

$$c_{\text{sampel}} = \frac{0,499 - 0,0000}{0,0100}$$
$$c_{\text{sampel}} = 49,9 \text{ ppm}$$

### 3. Hitung % kadar:

Contoh:

c = 49,9 ppm = 49,9 mg/L

V = 0,1 L (100 mL)

FP = 10

Bobot = 1 g

## 7. Keunggulan Metode UV-Vis Untuk Pengembangan Simplisia dan Ekstral Herbal<sup>[29-32]</sup>

### A. Manfaat dalam Pengembangan Simplisia

Metode ini berguna dalam pengembangan simplisia dan ekstrak herbal.

#### 1. Simplisia:

| Aspek         | Manfaat UV-Vis                             |
|---------------|--------------------------------------------|
| Standardisasi | Memastikan kadar senyawa penanda konsisten |
| Kualitas      | Memverifikasi mutu simplisia               |

|                          |                                    |
|--------------------------|------------------------------------|
| <b>Batch consistency</b> | Membandingkan kadar antar batch    |
| <b>Optimasi</b>          | Menentukan waktu ekstraksi optimal |

## 2. Ekstrak Herbal:

| Aspek              | Manfaat UV-Vis                     |
|--------------------|------------------------------------|
| <b>Formulasi</b>   | Menentukan dosis optimal           |
| <b>Stabilitas</b>  | Memantau degradasi senyawa         |
| <b>Konsistensi</b> | Memastikan kadar sama setiap batch |
| <b>Mutu</b>        | Memverifikasi memenuhi standar FHI |

## B. Analisis Kuantitatif UV-Vis Konsistensi Kadar

Analisis kuantitatif UV-Vis membantu konsistensi kadar senyawa penanda pada setiap batch bahan alam.

Contoh monitoring konsistensi batch:

| Batch | % Flavonoid | % Fenol | Status            |
|-------|-------------|---------|-------------------|
| A     | 4,8%        | 8,5%    | ✓ Konsisten       |
| B     | 4,9%        | 8,7%    | ✓ Konsisten       |
| C     | 4,7%        | 8,4%    | ✓ Konsisten       |
| D     | 3,2%        | 6,1%    | ✗ Tidak konsisten |

Jika kadar tidak konsisten:

Investigasi penyebab (waktu ekstraksi, pelarut, suhu)

Re-optimalisasi proses

Batch tidak konsisten → dropped

## 8. Senyawa Metabolit Sekunder Lain yang dapat dianalisis

### A. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Sudah dijelaskan di atas:

Standar: Kuersetin

Reagen:  $\text{AlCl}_3$

$\lambda_{\text{max}}$ : 415 nm  
Kriteria: 2-5%

## B. Penentuan Kadar Total Alkaloid

| Parameter              | Keterangan                                    |
|------------------------|-----------------------------------------------|
| Standar                | Berberine atau Atropine                       |
| Reagen                 | Asam sulfat + Bromokresol biru                |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 415 nm (warna biru)                           |
| Mekanisme              | Alkaloid + reagen $\rightarrow$ kompleks biru |
| Kriteria               | Minimal 0,5-2%                                |

### Prosedur:

Sampel + asam sulfat  $\rightarrow$  alkaloid bebas  
Bromokresol biru  $\rightarrow$  kompleks biru  
Ukur A pada 415 nm  
Hitung % alkaloid dari kurva baku berberine

## C. Penentuan Kadar Total Antosianin

### Sudah dijelaskan di atas:

Standar: Cyanidin-3-glukosida  
Reagen: pH differential (pH 1,0 dan 4,5)  
 $\lambda_{\text{max}}$ : 520 nm  
Kriteria: 0,1-1%

## D. Penentuan Kadar Total Terpenoid

| Parameter              | Keterangan                                |
|------------------------|-------------------------------------------|
| Standar                | Sorbitol atau Glikosida                   |
| Reagen                 | Asam sulfat + Antrasen                    |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 280-320 nm                                |
| Mekanisme              | Terpenoid + reagen $\rightarrow$ kompleks |
| Kriteria               | Minimal 1-3%                              |

## E. Senyawa Metabolit Sekunder Lain

| Senyawa  | Standar        | Reagen                 | $\lambda_{\max}$ |
|----------|----------------|------------------------|------------------|
| Kurkumin | Kurkumin murni | Asam sulfat            | 425 nm           |
| Steroid  | Sorbitol       | Asam sulfat + Vanillin | 540 nm           |
| Saponin  | Quinase        | Asam sulfat            | 540 nm           |
| Lignin   | Asam sikamat   | Folin-Ciocalteu        | 760 nm           |

## 9. Kesimpulan

### A. Ringkasan Poin Utama

| Poin                  | Kesimpulan                                                                                |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Kromofor           | Flavonoid, kurkumin, fenolik memiliki gugus kromofor/sistem terkonjugasi → absorbs UV-Vis |
| 2. Selektivitas       | Ekstrak tanaman kompleks → selektivitas harus diperhatikan (interferensi, scattering)     |
| 3. Faktor penting     | Pelarut, pH, waktu ekstraksi, pemurnian sangat memengaruhi hasil                          |
| 4. Standar pembanding | Kuersetin (flavonoid), asam galat (fenol), Cyanidin-3-glukosida (antosianin)              |
| 5. Kompleks berwarna  | Reagen + analit → kompleks berwarna → mengukur A pada $\lambda_{\max}$                    |
| 6. Kurva baku         | Hitung c dari A menggunakan persamaan regresi $A = ac + b$                                |
| 7. Manfaat            | Pengembangan simplisia, ekstrak herbal, konsistensi batch                                 |
| 8. Senyawa lain       | Flavonoid total, alkaloid total, antosianin total, terpenoid total, steroid, saponin      |

Senyawa bahan alam seperti flavonoid, kurkumin, dan fenolik umumnya memiliki kromofor atau sistem terkonjugasi yang menyerap pada daerah UV-Vis karena

senyawa tersebut mengandung ikatan rangkap terkonjugasi yang memungkinkan transisi elektron  $\pi$ . Namun, karena ekstrak tanaman mengandung banyak komponen (lebih dari 100 jenis senyawa), selektivitas metode harus diperhatikan untuk menghindari interferensi, scattering, dan error analisis.

Oleh sebab itu, pelarut, pH, waktu ekstraksi, dan proses pemurnian sangat memengaruhi hasil akhir analisis. Pemilihan pelarut yang sesuai, pengaturan pH optimal, waktu ekstraksi yang tepat, dan proses pemurnian (filtrasi) yang benar adalah kunci untuk memperoleh hasil analisis yang akurat dan presisi.

Dalam analisis bahan alam, sering digunakan metode standar perbandingan, misalnya kuersetin untuk flavonoid total atau asam galat untuk fenol total. Setelah penambahan reagen tertentu ( $\text{AlCl}_3$  untuk flavonoid, Folin-Ciocalteu untuk fenol), kompleks berwarna terbentuk dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu (415 nm untuk flavonoid, 760 nm untuk fenol).

Hasil kemudian dihitung menggunakan kurva baku standar dengan persamaan regresi  $A = ac + b$ . Metode ini sangat berguna dalam pengembangan simplisia dan ekstrak herbal karena analisis kuantitatif UV-Vis membantu memastikan konsistensi kadar senyawa penanda pada setiap batch bahan alam.

Selain flavonoid, fenolik, dan kurkumin, ada beberapa senyawa metabolit sekunder lain yang dapat dianalisis dengan UV-Vis, seperti penentuan kadar flavonoid total, kadar total alkaloid, kadar total antosianin, kadar total terpenoid, kadar steroid, dan kadar saponin.

Dengan metode spektrofotometri UV-Vis yang tepat, standarisasi obat bahan alam dapat dilakukan secara

akurat, presisi, dan dapat dipertanggungjawabkan sesuai standar Farmasi Indonesia (FHI).

#### D. CONTOH KASUS

1. Ekstrak kunyit yang mengandung kurkumin dapat dianalisis pada daerah serapan khasnya. Jika setelah ekstraksi dan pengenceran diperoleh absorbansi tertentu, maka kadar kurkumin dihitung menggunakan persamaan kurva baku standar kurkumin atau senyawa pembanding yang sesuai.

Contoh Kasus dan Jawaban: Analisis Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kunyit dengan Spektrofotometri UV-Vis

##### 1. Analisis Studi Kasus

###### a. Latar Belakang

Ekstrak kunyit yang mengandung kurkumin dapat dianalisis pada daerah serapan khasnya. Kunyit (*Curcuma domestica*) adalah tanaman obat yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional Indonesia. Kandungan aktif utama dalam kunyit adalah kurkumin, yang merupakan senyawa metabolit sekunder dari kelompok polifenol dengan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan hepatoprotektor.

Kurkumin memiliki gugus kromofor berupa sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang ( $C=C-C=O$ ), sehingga menyerap radiasi pada daerah visible (Vis) dengan  $\lambda_{\max} = 425 \text{ nm}$  (warna kuning).

## b. Tujuan Analisis

Jika setelah ekstraksi dan pengenceran diperoleh absorbansi tertentu, maka kadar kurkumin dihitung menggunakan persamaan kurva baku standar kurkumin atau senyawa pembanding yang sesuai.

Tujuan kasus ini adalah:

- Menganalisis data hasil penetapan kadar kurkumin dalam ekstrak kunyit
- Mengaplikasikan perhitungan kurva baku, regresi linier, dan faktor pengenceran
- Evaluasi kesesuaian dengan standar mutu (FHI/BPOM)
- Membuat kesimpulan tentang mutu produk ekstrak kunyit

## 2. Data Hasil Analisis

### a. Informasi Sediaan dan Preparasi Sampel

#### 1. Informasi sediaan:

| Parameter              | Nilai                             |
|------------------------|-----------------------------------|
| Nama sediaan           | Ekstrak Kunyit Kental             |
| Senyawa target         | Kurkumin                          |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 425 nm (daerah Vis, warna kuning) |
| Pelarut                | Etanol 95% atau Asam sulfat 0,1 N |
| Standar pembanding     | Kurkumin murni (grade analitis)   |

#### 2. Data preparasi sampel:

**a. Pengambilan sampel:**

- Ambil 10 g ekstrak kunyit kental dari batch ABC123
- Botol tertutup rapat, label jelas
- Warna: kuning tua, tidak ada perubahan warna

**b. Ekstraksi:**

- Ekstrak 10 g + etanol 95% 100 mL
- Aduk 10 menit (vortex atau pengaduk)
- Sonikasi 5 menit (untuk ekstraksi sempurna)
- Tujuan: Ekstraksi kurkumin dari ekstrak kental

**c. Filtrasi:**

- Saring dengan filter paper 0,45  $\mu\text{m}$
- Tolak filtrat pertama 2-3 mL (untuk清洗 filter)
- Ambil filtrat jernih untuk pengenceran
- Tujuan: Hilangkan partikel tidak larut, mencegah scattering

**d. Hitung konsentrasi awal (perkiraan):**

- Ekstrak kental diperkirakan mengandung 5% kurkumin
- 10 g ekstrak  $\rightarrow \approx 500$  mg kurkumin
- Dalam 100 mL  $\rightarrow c_{\text{awal}} \approx 500 \text{ mg}/100 \text{ mL} = 5 \text{ mg/mL} = 5.000 \text{ ppm}$

**e. Pengenceran bertingkat:**

**Pengenceran 1:**

- Pipet 1 mL dari 5.000 ppm  $\rightarrow$  labu takar 100 mL
- $FP1 = 100/1 = 100$
- $c1 = 5.000/100 = 50 \text{ ppm}$

**Pengenceran 2 (jika diperlukan):**

- Jika  $c1 = 50 \text{ ppm}$  masih terlalu tinggi ( $A > 0,8$ )
- Pipet 10 mL dari 50 ppm  $\rightarrow$  labu 100 mL
- $FP2 = 100/10 = 10$
- $c2 = 50/10 = 5 \text{ ppm}$

Namun, target 50-150 ppm → pengenceran 1 sudah cukup:

- $FP_{total} = 100$
- $c_{kerja} = 50 \text{ ppm}$  (dalam rentang optimal)

Data final:

- $c_{awal} \approx 5.000 \text{ ppm}$  (perkiraan)
- $FP_{total} = 100$
- $c_{kerja} = 50 \text{ ppm}$

## B. Data Kurva Baku Kurkumin

### 1. Pembuatan standar kurkumin murni:

#### a. Timbang standar kurkumin:

- Timbang teliti **10 mg** kurkumin murni (grade analitis)
- Neraca analitik (ketelitian 0,0001 g)
- Catat berat tepat: 10,00 mg

#### b. Larutkan ke labu takar:

- Labu takar 10 mL
- Tambah etanol 95%  $\approx 8 \text{ mL}$
- Homogenisasi (vortex)
- Encerkan hingga 10 mL
- Konsentrasi standar induk =  $10 \text{ mg}/10 \text{ mL} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$

### 2. Pembuatan seri larutan standar:

| Konsentrasi (ppm) | Pipet (mL) dari 1.000 ppm | Volume (mL) |
|-------------------|---------------------------|-------------|
| 20                | 2 mL                      | 100 mL      |
| 40                | 4 mL                      | 100 mL      |
| 60                | 6 mL                      | 100 mL      |
| 80                | 8 mL                      | 100 mL      |
| 100               | 10 mL                     | 100 mL      |
| 120               | 12 mL                     | 100 mL      |

### 3. Pengukuran absorbansi standar ( $\lambda = 425 \text{ nm}$ ):

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 20                | 0,168          |
| 40                | 0,336          |
| 60                | 0,504          |
| 80                | 0,672          |
| 100               | 0,840          |
| 120               | 1,008          |

### 4. Persamaan regresi linier:

Dari perhitungan regresi least square:

$$A = 0,0084c + 0,0000$$

Parameter kurva baku:

- *Slope* ( $a$ ) = 0,0084 → Sensitivitas tinggi ( $a > 0,001$ ) ✓
- *Intercept* ( $b$ ) = 0,0000 → Blanko sempurna ( $b = 0$ ) ✓
- $R^2 = 1,0000$  → Linearitas sempurna ( $R^2 \geq 0,999$ ) ✓

Status kurva baku: VALID ✓

### 5. Verifikasi linearitas:

| Konsentrasi (ppm) | A teoritis | A aktual | Deviasi |
|-------------------|------------|----------|---------|
| 20                | 0,1680     | 0,168    | 0% ✓    |
| 40                | 0,3360     | 0,336    | 0% ✓    |
| 60                | 0,5040     | 0,504    | 0% ✓    |
| 80                | 0,6720     | 0,672    | 0% ✓    |
| 100               | 0,8400     | 0,840    | 0% ✓    |
| 120               | 1,0080     | 1,008    | 0% ✓    |

Linearitas sempurna:  $R^2 = 1,0000$  ✓

### C. Data Pengukuran Sampel

#### 1. Absorbansi sampel (3 replikasi):

| Replikasi | Absorbansi (A) |
|-----------|----------------|
| 1         | 0,420          |
| 2         | 0,422          |
| 3         | 0,421          |

#### 2. Rata-rata absorbansi:

$$\bar{A} = \frac{0,420 + 0,422 + 0,421}{3} = 0,421$$

#### 3. Standar deviasi (SD):

$$SD = 0,001$$

#### 4. RSD (Relative Standard Deviation):

$$RSD = \frac{0,001}{0,421} \times 100\% = 0,24\%$$

#### 5. Verifikasi:

A = 0,421 dalam rentang 0,2-0,8 ✓

RSD = 0,24% < 1% ✓ (presisi sangat baik)

### 3. Perhitungan Kadar Kurkumin

#### A. Langkah 1: Hitung Konsentrasi dalam Kuvet (c<sub>kuvet</sub>)

##### 1. Persamaan regresi:

$$A = 0,0084c + 0,0000$$

##### 2. Rumus untuk c:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

##### 3. Substitusi nilai:

$$A = 0,421$$

$$a = 0,0084$$

$$b = 0,0000$$

#### 4. Perhitungan:

$$[c_{kuvet} = \frac{0,421 - 0,0000}{0,0084}]$$

$$[c_{kuvet} = \frac{0,421}{0,0084}]$$

$$[c_{kuvet} = 50,1 \text{ ppm}]$$

Konsentrasi dalam kuvet = 50,1 ppm

#### 5. Verifikasi:

- $c_{kuvet} = 50,1 \text{ ppm}$  dalam rentang kurva (20-120 ppm) ✓
- Status: Valid ✓

### B. Langkah 2: Hitung Konsentrasi Asli ( $c_{asli}$ )

#### 1. Rumus koreksi FP:

$$[c_{asli} = c_{kuvet} \times FP_{total}]$$

#### 2. Data FP:

$$FP_{total} = 100$$

#### 3. Perhitungan:

$$[c_{asli} = 50,1 \times 100]$$

$$[c_{asli} = 5.010 \text{ ppm}]$$

Konsentrasi asli = 5.010 ppm

#### 4. Konversi ke mg/g atau %:

$$5.010 \text{ ppm} = 5.010 \text{ mg/L}$$

Dalam 100 mL:

$$5.010 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} = 501 \text{ mg}$$

Bobot sampel = 10 g

% Kadar kurkumin:

$$\%Kadar = \frac{501 \text{ mg}}{10 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\%Kadar = \frac{0,501 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\%Kadar = 5,01\%$$

$$\% \text{ Kadar kurkumin} = 5,01\%$$

### C. Langkah 3: Evaluasi dengan Standar Mutu

#### 1. Standar mutu FHI/BPOM untuk ekstrak kunyit:

| Parameter      | Kriteria Mutu |
|----------------|---------------|
| Kadar kurkumin | Minimal 3-5%  |
| Kadar air      | Maksimal 10%  |
| Kotoran        | Maksimal 0,5% |
| Mikroba        | Sesuai batas  |

#### 2. Evaluasi % kadar:

- % Kadar = 5,01%
- $5,01\% \geq 5\%$  (batas minimum)
- Status: ✓ PASS (memenuhi standar)

#### 3. Interpretasi:

- Kadar kurkumin memenuhi standar mutu FHI/BPOM
- Ekstrak kunyit memiliki kualitas baik
- Produk dapat dipasarkan

#### 4. Penutup

### A. Kesimpulan Utama

#### 1. Proses analisis yang dilakukan:

- ✓ Preparasi sampel: Ekstrak → filtrasi → pengenceran (sesuai BPOM)
- ✓ Kurva baku valid:  $R^2 = 1,0000$ ,  $slope = 0,0084$ ,  $intercept = 0$

- ✓ Pengukuran sampel presisi:  $RSD = 0,24\% < 1\%$
- ✓ Perhitungan  $c_{\text{kuvet}}$ :  $c = (A-b)/a = 50,1 \text{ ppm}$
- ✓ Koreksi FP:  $c_{\text{asli}} = c \times FP = 5.010 \text{ ppm}$
- ✓ Hitung % kadar:  $\% \text{ Kadar} = 5,01\%$

## 2. Hasil analisis:

- Konsentrasi dalam kuvet: 50,1 ppm
- Konsentrasi asli: 5.010 ppm = 501 mg dalam 100 mL
- % Kadar kurkumin: 5,01%

## 3. Evaluasi kesesuaian:

- % Kadar = 5,01%
- $5,01\% \geq 5\%$  (batas minimum FHI/BPOM)
- Status: ✓ PASS (memenuhi standar)

Ekstrak Kunyit Kental memiliki kadar kurkumin 5,01%, yang memenuhi standar mutu minimal 5% sesuai Farmasi Indonesia (FHI)/BPOM. Produk MEMENUHI standar mutu dan DAPAT dipasarkan. Ekstrak ini memiliki kualitas baik dengan kadar kurkumin yang optimal untuk aktivitas farmakologis (antioksidan, antiinflamasi, antikanker).

## 5. Alternatif: Kasus dengan hasil Fail

### A. Data Revisi (untuk contoh fail)

Jika absorbansi sampel = 0,336 (bukan 0,421):

#### 1. Hitung $c_{\text{kuvet}}$ :

$$c_{\text{kuvet}} = \frac{0,336 - 0,0000}{0,0084} = 40,0 \text{ ppm}$$

#### 2. $c_{\text{asli}}$ :

$$c_{\text{asli}} = 40,0 \times 100 = 4.000 \text{ ppm}$$

#### 3. % Kadar:

4.000 ppm = 4.000 mg/L

Dalam 100 mL: 400 mg

Bobot 10 g

$$\% \text{Kadar} = \frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 4,0\%$$

#### 4. Evaluasi:

- % Kadar = 4,0%
- 4,0% < 5% (batas minimum)
- Status: **✗ FAIL**

#### B. Kesimpulan untuk Kasus fail

Ekstrak Kunyit Kental memiliki kadar kurkumin 4,0%, yang dibawah batas minimum 5% sesuai standar FHI/BPOM. Produk TIDAK memenuhi standar mutu dan TIDAK dapat dipasarkan.

Perlu:

- Re-test untuk konfirmasi
- Investigasi penyebab under-dosis (ekstraksi tidak sempurna, degradasi)
- Optimalisasi proses ekstraksi
- Jika tetap FAIL: Batch dropped

#### 6. Ringkasan

##### A. Tabel Ringkasan Data dan Perhitungan

| Parameter              | Nilai                  | Keterangan                                                 |
|------------------------|------------------------|------------------------------------------------------------|
| Senyawa target         | Kurkumin               | Ekstrak kunyit                                             |
| $\lambda_{\text{max}}$ | 425 nm                 | Warna kuning (Vis)                                         |
| Standar                | Kurkumin murni         | Grade analitis                                             |
| Pers. regresi          | $A = 0,0084c + 0,0000$ | Dari kurva baku                                            |
| $R^2$                  | 1,0000                 | Linearitas sempurna<br><input checked="" type="checkbox"/> |
| A sampel rata          | 0,421                  | Absorbansi terukur                                         |
| RSD                    | 0,24%                  | Presisi sangat baik<br><input checked="" type="checkbox"/> |

|              |                                          |                       |
|--------------|------------------------------------------|-----------------------|
| c_kuvet      | 50,1 ppm                                 | 0,421/0,0084          |
| FP_total     | 100                                      | Pengenceran 100x      |
| c_asli       | 5.010 ppm                                | $c_{kuvet} \times FP$ |
| % Kadar      | 5,01%                                    | 501 mg/10 g           |
| Kriteria FHI | Minimal 5%                               | Standar mutu          |
| Status       | <input checked="" type="checkbox"/> PASS | $\geq 5\%$            |

## B. Flowchart Prosedur



Contoh kasus ini menganalisis data hasil penetapan kadar kurkumin dalam Ekstrak Kunyit Kental dengan spektrofotometri UV-Vis pada daerah serapan khas  $\lambda_{\text{max}} = 425 \text{ nm}$  (warna kuning). Ekstrak kunyit yang mengandung kurkumin dianalisis pada daerah serapan khasnya karena kurkumin memiliki gugus kromofor sistem terkonjugasi panjang yang menyerap pada daerah Vis. Jika setelah ekstraksi dan pengenceran diperoleh absorbansi 0,421, maka kadar kurkumin dihitung menggunakan persamaan kurva baku standar kurkumin  $A = 0,0084c + 0,0000$ .

Hasil analisis menunjukkan % kadar kurkumin = 5,01%, yang memenuhi standar mutu minimal 5% sesuai Farmasi Indonesia (FHI)/BPOM. Kesimpulan: Ekstrak kunyit MEMENUHI standar mutu dan DAPAT dipasarkan dengan kualitas baik. Metode UV-Vis sangat berguna untuk standardisasi ekstrak herbal karena sederhana, cepat, ekonomis, akurat, dan presisi.

## E. PROSEDUR ANALISIS<sup>[35-42]</sup>

### 1. Pendahuluan

#### A. Pengertian Prosedur Analisis

Prosedur analisis adalah rangkaian langkah sistematis dan terstruktur yang dilakukan untuk menentukan kadar senyawa aktif dalam ekstrak atau larutan bahan alam menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Prosedur ini dirancang untuk memastikan hasil analisis yang akurat, presisi, dan dapat dipertanggungjawabkan sesuai standar Farmasi Indonesia (FHI) dan BPOM.

## B. Tujuan Prosedur Analisis<sup>[43]</sup>

| Tujuan           | Keterangan                                            |
|------------------|-------------------------------------------------------|
| 1. Akurasi       | Hasil mendekati nilai sebenarnya (recovery 98-102%)   |
| 2. Presisi       | Keterulangan hasil baik (RSD < 1%)                    |
| 3. Validitas     | Metode divalidasi sesuai standar ( $R^2 \geq 0,999$ ) |
| 4. Konsistensi   | Hasil dapat dibandingkan antar batch                  |
| 5. Standardisasi | Memenuhi kriteria mutu FHI/BPOM                       |

## 2. Langkah Prosedur Analisis Lengkap

### A. Langkah 1: Siapkan Ekstrak atau Larutan Bahan Alam

#### 1. Pengertian:

Siapkan ekstrak atau larutan bahan alam berarti mempersiapkan sampel yang akan dianalisis. Sampel ini dapat berupa:

- Ekstrak kental (hasil ekstraksi tanaman)
- Ekstrak serbuk (ekstrak yang telah dikeringkan)
- Simplisia (bahan tanaman yang telah dikeringkan dan digerus)
- Larutan bahan alam (sediaan herbal cair)

#### 2. Prosedur persiapan sampel:

##### a. Pengambilan sampel:

- Ambil sampel dari batch yang akan diuji
- Gunakan nama batch yang jelas (misal: ABC123)
- Pastikan sampel dalam botol tertutup rapat
- Labeli dengan informasi: nama, batch, tanggal, bobot

Contoh:

- Ambil 10 g ekstrak kunyit kental dari batch ABC123

- Botol tertutup rapat, label: "Ekstrak Kunyit, Batch ABC123, 10 g, 15/06/2026"

**b. Pengeringan (jika perlu):**

- Jika sampel terlalu basah, keringkan terlebih dahulu
- Suhu 40-50°C hingga kadar air < 10%
- Tujuan: Konsentrasi stabil, tidak ada degradasi

**c. Penggerusan (jika perlu):**

- Jika sampel berupa simplisia atau serbuk, gerus hingga homogen
- Partikel kecil untuk ekstraksi lebih sempurna
- Tujuan: Homogenitas sampel baik

**3. Ekstraksi sampel:**

**a. Metode ekstraksi yang umum:**

| Metode     | Pelarut             | Waktu      | Keterangan                |
|------------|---------------------|------------|---------------------------|
| Maserasi   | Etanol 70%,<br>air  | 3 hari     | Sederhana, suhu<br>ruang  |
| Refluks    | Etanol,<br>metanol  | 2-4<br>jam | Panas, ekstraksi<br>cepat |
| Sokhletasi | Etanol,<br>hexana   | 4-6<br>jam | Panas terus,<br>sempurna  |
| Digesti    | Asam sulfat,<br>air | 1-2<br>jam | Untuk senyawa<br>tertentu |

**b. Prosedur maserasi (contoh):**

- Ambil 10 g serbuk daun
- Tambah 500 mL etanol 70%
- Aduk, tutup rapat
- Maserasi 3 hari (72 jam) pada suhu ruang
- Aduk setiap 6 jam
- Saring dengan filter paper
- Ambil filtrat untuk analisis

#### 4. Filtrasi (pemurnian):

##### a. Tujuan filtrasi:

- Hilangkan partikel tidak larut (selulosa, lignin)
- Mencegah scattering (kekeruhan) yang menyebabkan error absorbansi
- Mendapatkan larutan jernih

##### b. Prosedur:

- Saring ekstrak dengan filter paper 0,45  $\mu\text{m}$
- Pisahkan filtrat pertama 2-3 mL
- Ambil filtrat jernih untuk pengenceran
- **Tujuan:** Larutan jernih, tidak ada partikel

#### 5. Hasil akhir langkah 1:

- Ekstrak atau larutan bahan alam siap untuk pengenceran
- Larutan jernih, tidak ada partikel
- Status: Siap untuk langkah 2

#### B. Langkah 2: Pilih Pelarut dan Kondisi Analisis yang Sesuai<sup>[44-48]</sup>

##### 1. Memilih pelarut yang sesuai:

##### a. Prinsip pemilihan pelarut:

| Kriteria     | Keterangan                                             |
|--------------|--------------------------------------------------------|
| Kelarutan    | Pelarut harus melarutkan senyawa target secara optimal |
| Transparansi | Pelarut tidak absorbs pada $\lambda$ analisis          |
| Stabilitas   | Pelarut tidak bereaksi dengan analit                   |
| Grade        | Grade analitis atau HPLC (tidak ada kontaminan)        |
| Keamanan     | Tidak toksik, tidak korosif                            |

**b. Pemilihan pelarut berdasarkan jenis senyawa:**

| Jenis Senyawa     | Pelarut yang Sesuai           | Keterangan                     |
|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <b>Flavonoid</b>  | Etanol 70%, metanol           | Polar, efektif untuk flavonoid |
| <b>Fenolik</b>    | Etanol 70%, air               | Polar sangat tinggi            |
| <b>Kurkumin</b>   | Etanol 95%, asam sulfat 0,1 N | Non-polar, perlu pelarut kuat  |
| <b>Antosianin</b> | Air pH 1,0 (asam)             | Polar, stabil pada pH rendah   |
| <b>Alkaloid</b>   | Etanol, metanol               | Polar, efektif untuk alkaloid  |
| <b>Terpenoid</b>  | Hexana, etanol                | Non-polar hingga semi-polar    |

**c. Contoh pemilihan pelarut:**

- **Untuk kurkumin (ekstrak kunyit):**
  - Pelarut: Etanol 95%
  - Alasan: Kurkumin non-polar, etanol 95% lebih efektif daripada air
- **Untuk polifenol (ekstrak kayu manis):**
  - Pelarut: Etanol 70% (lebih baik daripada air)
  - Alasan: Polifenol lebih larut dalam etanol 70% daripada air murni
- **Untuk flavonoid (ekstrak daun):**
  - Pelarut: Etanol 70%
  - Alasan: Flavonoid polar, etanol 70% optimal

## 2. Menentukan kondisi analisis yang sesuai:

### a. Panjang gelombang ( $\lambda_{\max}$ ):

| Senyawa                 | $\lambda_{\max}$    | Daerah           |
|-------------------------|---------------------|------------------|
| Flavonoid               | 250-280, 300-380 nm | UV               |
| Fenolik                 | 270-280 nm          | UV               |
| Kurkumin                | 425 nm              | Vis (kuning)     |
| Antosianin              | 500-550 nm          | Vis (merah/biru) |
| Alkaloid                | 200-300 nm          | UV               |
| Folin-Ciocalteu (fenol) | 760 nm              | Vis (biru)       |

### b. Cara menentukan $\lambda_{\max}$ :

- Siapkan larutan standar senyawa target
- Lakukan *scanning* spektrum 200-800 nm
- Identifikasi  $\lambda$  dengan absorbansi tertinggi
- $\lambda_{\max} = \lambda$  dengan A maksimum

### c. Contoh:

- Untuk kurkumin: *Scanning* 200-600 nm  $\rightarrow \lambda_{\max} = 425$  nm
- Untuk flavonoid +  $\text{AlCl}_3$ : *Scanning* 300-500 nm  $\rightarrow \lambda_{\max} = 415$  nm
- Untuk polifenol + Folin: *Scanning* 700-800 nm  $\rightarrow \lambda_{\max} = 760$  nm

### c. pH larutan:

| Senyawa                     | pH Optimal | Keterangan           |
|-----------------------------|------------|----------------------|
| Antosianin                  | pH 1,0-1,5 | Warna merah stabil   |
| Flavonoid + $\text{AlCl}_3$ | pH 4-6     | Kompleks stabil      |
| Fenolik + Folin             | pH 7-8     | Reagen optimal       |
| Alkaloid                    | pH 9-10    | Basa bebas terbentuk |

d. Waktu inkubasi (untuk reaksi dengan reagen):

| Reagen                        | Waktu Inkubasi | Keterangan             |
|-------------------------------|----------------|------------------------|
| Folin-Ciocalteu               | 2 jam          | Warna biru sempurna    |
| AlCl <sub>3</sub> (flavonoid) | 30-40 menit    | Kompleks kuning stabil |
| As sulfat (kurkumin)          | 10-15 menit    | Warna kuning stabil    |

### 3. Hasil akhir langkah 2:

- Pelarut dipilih sesuai jenis senyawa
- $\lambda_{\text{max}}$  ditentukan ( *scanning* spektrum)
- pH dan waktu inkubasi ditetapkan
- **Status:** Kondisi analisis siap untuk langkah 3

## C. Langkah 3: Siapkan Standar Pembanding<sup>[86]</sup>

### 1. Pengertian standar pembanding:

Standar pembanding adalah senyawa murni (grade analitis atau USP) yang digunakan sebagai referensi untuk membuat kurva baku. Standar pembanding harus:

- Murni (kemurnian  $\geq 98\%$ )
- Stabil (tidak mudah terdegradasi)
- Tersedia (mudah diperoleh)
- Relevan (senyawa yang sama atau mirip dengan target)

### 2. Pemilihan standar pembanding:

| Senyawa Target  | Standar Pembanding       | Grade        |
|-----------------|--------------------------|--------------|
| Flavonoid total | Kuersetin (Quercetin)    | Analitis/USP |
| Fenolik total   | Asam Galat (Gallic acid) | Analitis/USP |
| Kurkumin        | Kurkumin murni           | Analitis/USP |
| Antosianin      | Cyanidin-3-glukosida     | Analitis/USP |
| Alkaloid        | Berberine, Atropine      | Analitis/USP |
| Terpenoid       | Sorbitol, Glikosida      | Analitis/USP |

## 1. Prosedur pembuatan larutan standar pembanding:

### a. Penimbangan standar:

- Timbang teliti 10 mg standar pembanding
- Gunakan neraca analitik (ketelitian 0,0001 g)
- Catat berat tepat: 10,00 mg
- **Perhatian:**
  - Neraca stabil sebelum timbang
  - Kertas timbang bersih
  - Jangan kontak langsung dengan udara (mencegah adsorpsi)

### Contoh:

- Timbang 10,00 mg kuersetin murni
- Catat: "Kueretin, 10,00 mg, 15/06/2026"

### b. Pelarutan ke labu takar:

- Masukkan standar ke labu takar sesuai volume
  - Untuk 10 mg → labu 10 mL atau 100 mL
- Tambah pelarut sesuai jenis (etanol, metanol, air)
  - Volume  $\approx$  80% dari total (misal: 8 mL untuk 10 mL)
- Homogenisasi (vortex atau pengaduk)
  - Tujuannya: Standar larut sempurna
- Encerkan hingga tanda batas
  - Tambah pelarut sampai tepat 10 mL atau 100 mL
- Kocok hingga homogen
  - Tujuan: Konsentrasi uniform

### c. Hitung konsentrasi standar induk:

- **Contoh 1: Labu 10 mL**
  - Bobot = 10 mg
  - Volume = 10 mL
  - Konsentrasi =  $10 \text{ mg} / 10 \text{ mL} = 1 \text{ mg/mL} = 1.000 \text{ ppm}$
- **Contoh 2: Labu 100 mL**

- Bobot = 10 mg
- Volume = 100 mL
- Konsentrasi = 10 mg / 100 mL = 0,1 mg/mL = 100 ppm

#### 4. Pembuatan seri larutan standar (untuk kurva baku):

##### a. Prinsip pengenceran:

$$[c_2 = \frac{c_1 \times V_1}{V_2}]$$

atau

$$[FP = \frac{V_2}{V_1}]$$

$$[c_2 = \frac{c_1}{FP}]$$

##### b. Contoh pembuatan seri standar kuersetin (100 ppm induk):

| Konsentrasi (ppm) | Pipet (mL) dari 100 ppm | Volume (mL) | FP   |
|-------------------|-------------------------|-------------|------|
| 10                | 10 mL                   | 100 mL      | 10   |
| 20                | 20 mL                   | 100 mL      | 5    |
| 30                | 30 mL                   | 100 mL      | 3,33 |
| 40                | 40 mL                   | 100 mL      | 2,5  |
| 50                | 50 mL                   | 100 mL      | 2    |
| 60                | 60 mL                   | 100 mL      | 1,67 |

##### c. Prosedur pembuatan seri:

- Pipet volume sesuai tabel (misal: 10 mL untuk 10 ppm)
- Masukkan ke labu takar 100 mL
- Tambah pelarut hingga tanda batas
- Kocok hingga homogen
- **Tujuan:** Konsentrasi berbeda untuk kurva baku

### 5. Hasil akhir langkah 3:

- Standar pembanding ditimbang teliti
- Larutan standar induk dibuat
- Seri larutan standar (5-6 titik) disiapkan
- Status: Standar siap untuk langkah 4

### D. Langkah 4: Ukur Absorbansi Standar dan Sampel<sup>[45-46]</sup>

#### 1. Persiapan spektrofotometer:

##### a. Cara menyalakan spektrofotometer:

- Nyalakan spektrofotometer ke sumber listrik
- Tekan tombol power
- Tunggu 15-30 menit (untuk stabilisasi lampu)
- Perhatian: Lampu harus stabil sebelum pengukuran

##### b. Penentuan $\lambda_{\text{max}}$ :

- Siapkan larutan standar (misal: 50 ppm)
- Masukkan ke kuvet
- Lakukan *scanning* spektrum 200-800 nm
- Identifikasi  $\lambda$  dengan absorbansi tertinggi
- $\lambda_{\text{max}} = \lambda$  dengan A maksimum

##### c. Basel (kalibrasi) blanko:

Siapkan blanko (pelarut murni, tanpa standar/sampel)

- Masukkan ke kuvet
- Masukkan ke spektrofotometer
- Set absorbansi = 0 (zero)
- Tujuan: Baseline nol, tidak ada absorbansi dari pelarut

## 2. Pengukuran absorbansi standar:

### a. Prosedur:

| Langkah           | Keterangan                                     |
|-------------------|------------------------------------------------|
| 1. Pipet standar  | Ambil 1 mL dari masing-masing konsentrasi seri |
| 2. Masukkan kuvet | Kuvet bersih, kering                           |
| 3. Basel blanko   | Pelarut murni $\rightarrow A = 0$              |
| 4. Ukur A         | Pada $\lambda_{\max}$                          |
| 5. Catat A        | Untuk setiap konsentrasi                       |
| 6. 3 replikasi    | Setiap standar diukur 3 kali                   |

### b. Contoh data pengukuran standar:

| Konsentrasi (ppm) | A1    | A2    | A3    | A rata |
|-------------------|-------|-------|-------|--------|
| 10                | 0,085 | 0,084 | 0,086 | 0,085  |
| 20                | 0,170 | 0,169 | 0,171 | 0,170  |
| 30                | 0,255 | 0,254 | 0,256 | 0,255  |
| 40                | 0,340 | 0,339 | 0,341 | 0,340  |
| 50                | 0,425 | 0,424 | 0,426 | 0,425  |
| 60                | 0,510 | 0,509 | 0,511 | 0,510  |

### c. Verifikasi:

- A dalam rentang 0,2-0,8 ✓
- RSD < 1% ✓
- Status: Standar valid

## 3. Pengukuran absorbansi sampel:

### a. Prosedur:

| Langkah          | Keterangan                                    |
|------------------|-----------------------------------------------|
| 1. Pipet sampel  | Ambil 1 mL dari c_kerja (setelah pengenceran) |
| 2. Tambah reagen | Jika perlu (Folin, $\text{AlCl}_3$ )          |
| 3. Inkubasi      | Sesuai waktu (30-120 menit)                   |

|                   |                                      |
|-------------------|--------------------------------------|
| 4. Masukkan kuvet | Kuvet bersih, kering                 |
| 5. Basel blanko   | Pelarut + reagen $\rightarrow A = 0$ |
| 6. Ukur A         | Pada $\lambda_{\max}$                |
| 7. Catat A        | Untuk setiap replikasi               |
| 8. 3 replikasi    | Setiap sampel diukur 3 kali          |

b. Contoh data pengukuran sampel:

| Replikasi | Absorbansi (A) |
|-----------|----------------|
| 1         | 0,420          |
| 2         | 0,422          |
| 3         | 0,421          |

c. Hitung rata-rata dan RSD:

Rata-rata:

$$\bar{A} = \frac{0,420 + 0,422 + 0,421}{3} = 0,421$$

Standar deviasi:

$$SD = 0,001$$

RSD:

$$RSD = \frac{0,001}{0,421} \times 100\% = 0,24\%$$

Verifikasi:

- A = 0,421 dalam rentang 0,2-0,8 ✓
- RSD = 0,24% < 1% ✓ (presisi sangat baik)
- Status: Sampel valid

4. Hasil akhir langkah 4:

- Absorbansi semua standar terukur (6 titik)
- Absorbansi sampel terukur (3 replikasi)
- Rata-rata dan RSD dihitung
- Status: Data absorbansi siap untuk langkah 5

## E. Langkah 5: Buat Kurva Baku

### 1. Pengertian kurva baku:

**Kurva baku** adalah grafik yang menunjukkan hubungan linear antara absorbansi (A) dan konsentrasi (c) dari standar pembanding. Kurva baku digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel dari absorbansi yang terukur.

### 2. Persiapan data untuk kurva baku:

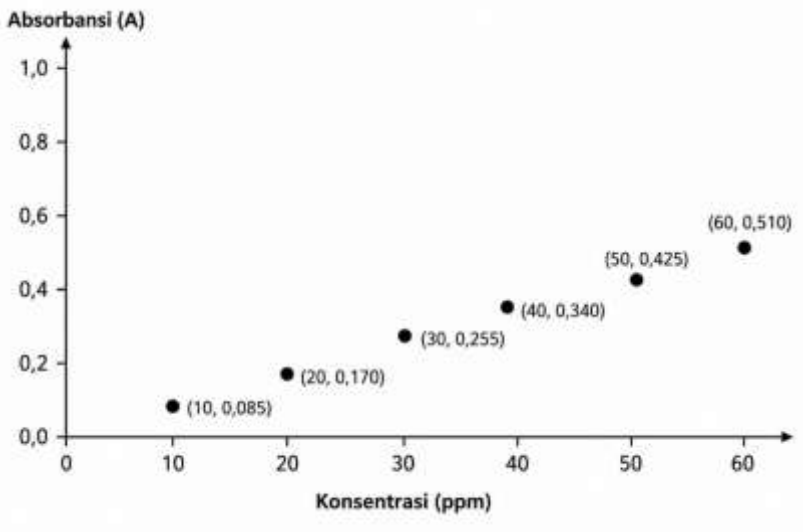
| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (A) |
|-------------------|----------------|
| 10                | 0,085          |
| 20                | 0,170          |
| 30                | 0,255          |
| 40                | 0,340          |
| 50                | 0,425          |
| 60                | 0,510          |

### 3. Plot grafik kurva baku:

#### a. Cara plot:

- **X-axis:** Konsentrasi (ppm)
- **Y-axis:** Absorbansi (A)
- **Titik:** (10, 0,085), (20, 0,170), (30, 0,255), dst.
- **Garis:** Regresi linear (least square)

b. Contoh grafik:



4. Hitung persamaan regresi linear:

a. Persamaan regresi:

$$A = ac + b$$

atau

$$y = ax + b$$

dimana:

**A (y)** = Absorbansi

**c (x)** = Konsentrasi

**a** = *Slope* (kemiringan)

**b** = *Intercept* (titik potong Y)

b. Perhitungan *slope* (a) dan *intercept* (b):

*Slope*:

$$a = \frac{n \sum (xy) - \sum x \sum y}{n \sum (x^2) - (\sum x)^2}$$

*Intercept*:

$$b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

c. Contoh perhitungan (dari data):

Dari perhitungan regresi least square:

- *Slope* (a) = 0,0085
- *Intercept* (b) = 0,0000

Persamaan regresi:

$$A = 0,0085c + 0,0000$$

5. Evaluasi parameter kurva baku:

a. Kalkulasi  $R^2$  (koefisien determinasi):

$$R^2 = \frac{[\sum (xy) - \frac{\sum x \sum y}{n}]^2}{[\sum (x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}] \times [\sum (y^2) - \frac{(\sum y)^2}{n}]}$$

Contoh hasil:

$$R^2 = 1,0000$$

b. Kriteria penerimaan:

| Parameter            | Nilai  | Kriteria     | Status                                          |
|----------------------|--------|--------------|-------------------------------------------------|
| <i>Slope</i> (a)     | 0,0085 | > 0,001      | <input checked="" type="checkbox"/> Sensitif    |
| <i>Intercept</i> (b) | 0,0000 | < 0,005      | <input checked="" type="checkbox"/> Ideal       |
| $R^2$                | 1,0000 | $\geq 0,999$ | <input checked="" type="checkbox"/> Sangat baik |

c. Verifikasi linearitas:

| Konsentrasi (ppm) | A teoritis | A aktual | Deviasi                                |
|-------------------|------------|----------|----------------------------------------|
| 10                | 0,0850     | 0,085    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| 20                | 0,1700     | 0,170    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| 30                | 0,2550     | 0,255    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| 40                | 0,3400     | 0,340    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| 50                | 0,4250     | 0,425    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| 60                | 0,5100     | 0,510    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |

Linearitas sempurna:  $R^2 = 1,0000$  ✓

## 6. Hasil akhir langkah 5:

Kurva baku plot (grafik A vs c)

Persamaan regresi:  $A = 0,0085c + 0,0000$

Parameter: *slope* = 0,0085, *intercept* = 0,  $R^2 = 1,0000$

Status: Kurva baku VALID ✓

## F. Langkah 6: Hitung Kadar Senyawa Aktif

### 1. Hitung konsentrasi dalam kuvet ( $c_{kuvet}$ ):

#### a. Rumus dari persamaan regresi:

Dari persamaan:

$$A = ac + b$$

Maka:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

#### b. Substitusi nilai:

$A = 0,421$  (absorbansi sampel rata)

$a = 0,0085$  (*slope*)

$b = 0,0000$  (*intercept*)

#### c. Perhitungan:

$$[c_{kuvet} = \frac{0,421 - 0,0000}{0,0085}]$$

$$[c_{kuvet} = \frac{0,421}{0,0085}]$$

$$[c_{kuvet} = 49,5 \text{ ppm}]$$

Konsentrasi dalam kuvet = 49,5 ppm

#### d. Verifikasi:

$c_{kuvet} = 49,5 \text{ ppm}$  dalam rentang kurva (10-60 ppm) ✓

Status: Valid ✓

### 2. Hitung konsentrasi asli ( $c_{asli}$ ):

#### a. Rumus koreksi faktor pengenceran (FP):

$$c_{asli} = c_{kuvet} \times FP_{total}$$

**b. Data FP:**

FP<sub>total</sub> = 50 (dari pengenceran 2 mL → 100 mL)

**c. Perhitungan:**

$$[c_{asli} = 49,5 \times 50]$$
$$[c_{asli} = 2.475 \text{ ppm}]$$

Konsentrasi asli = 2.475 ppm

**3. Konversi ke mg/g atau % kadar:**

**a. Konversi ppm ke mg/L:**

$$2.475 \text{ ppm} = 2.475 \text{ mg/L}$$

**b. Hitung total mg dalam volume:**

$$\text{Volume} = 100 \text{ mL} = 0,1 \text{ L}$$

$$\text{Total mg} = 2.475 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{Total mg} = 247,5 \text{ mg}$$

**c. Hitung % kadar:**

$$\text{Bobot sampel} = 5 \text{ g}$$

$$\% \text{Kadar} = \frac{247,5 \text{ mg}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{Kadar} = \frac{0,2475 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{Kadar} = 4,95\%$$

**% Kadar senyawa aktif = 4,95%**

**4. Alternatif: Hitung langsung dengan rumus lengkap:**

$$\% \text{Kadar} = \frac{c_{kuvet} \times FP \times V \times 10^{-3}}{\text{Bobot}} \times 100\%$$

dimana:

- $c_{kuvet} = 49,5 \text{ ppm}$
- $FP = 50$
- $V = 100 \text{ mL}$
- $\text{Bobot} = 5 \text{ g}$

$$\% \text{Kadar} = \frac{49,5 \times 50 \times 100 \times 10^{-3}}{5} \times 100\%$$

$$\%Kadar = \frac{247,5}{5} \times 100\%$$

$$\%Kadar = 4,95\%$$

##### 5. Hasil akhir langkah 6:

- c\_kuvet = 49,5 ppm
- c\_asli = 2.475 ppm
- % Kadar = 4,95%
- **Status:** Kadar dihitung

##### G. Langkah 7: Evaluasi Pengaruh Matriks dan Pengenceran<sup>[88]</sup>

###### 1. Evaluasi pengaruh matriks:

###### a. Pengertian pengaruh matriks:

Matriks adalah semua komponen dalam ekstrak bahan alam selain senyawa target. Matriks dapat mengandung:

- Senyawa lain (alkaloid, steroid, lignin)
- Metabolit primer (karbohidrat, protein, lemak)
- Eksipien alami (selulosa, lignin, pati)
- Kontaminan (mikroba, logam berat, pestisida)

###### b. Masalah yang ditimbulkan matriks:

| Masalah       | Dampak pada Analisis                                       |
|---------------|------------------------------------------------------------|
| Interferensi  | Senyawa lain juga absorbs → A tinggi → error positif       |
| Kekeruhan     | Partikel tidak larut → scattering → A tinggi → error       |
| Presipitasi   | Analit tidak larut → A rendah → error negatif              |
| Reaksi silang | Reagen bereaksi dengan senyawa lain → warna tidak spesifik |

###### c. Cara evaluasi pengaruh matriks:

###### a. Uji selektivitas (blanko matriks):

Siapkan blanko matriks (ekstrak tanpa analit target)

Tambah reagen (Folin,  $\text{AlCl}_3$ )

Ukur A pada  $\lambda_{\text{max}}$

Hitung % recovery:

## 5. Evaluasi:

% Recovery = 98-102% → Tidak ada interferensi ✓

% Recovery < 98% atau > 102% → Ada interferensi ✗

## Contoh:

$A_{\text{sampel}} = 0,421$

$A_{\text{blanko}} = 0,002$

$A_{\text{baku}} = 0,425$

98,6% dalam 98-102% ✓

Status: Tidak ada interferensi ✓

## 2. Evaluasi pengaruh pengenceran:<sup>[45-47]</sup>

### a. Pengertian pengaruh pengenceran:

Pengenceran adalah proses menurunkan konsentrasi sampel agar masuk ke rentang kerja kurva baku (50-150 ppm). Pengenceran tidak tepat dapat menyebabkan:

- Konsentrasi terlalu tinggi →  $A > 0,8$  (tidak linear)
- Konsentrasi terlalu rendah →  $A < 0,2$  (tidak sensitif)
- FP tidak tepat → % kadar error

### b. Cara evaluasi pengaruh pengenceran:

#### a. Verifikasi A dalam rentang:

- $A = 0,421$  dalam rentang 0,2-0,8 ✓
- Status: Pengenceran tepat ✓

#### b. Verifikasi c dalam rentang kurva:

- $c_{\text{kuvet}} = 49,5$  ppm dalam rentang 10-60 ppm ✓
- Status: Pengenceran tepat ✓

#### c. Hitung % error dari FP:

- FP = 50 (tepat)
- Status: FP akurat ✓

### 3. Evaluasi hasil akhir:

#### a. Kriteria mutu:

| Parameter       | Hasil    | Kriteria   | Status                   |
|-----------------|----------|------------|--------------------------|
| % Kadar         | 4,95%    | Minimal 5% | ✗ FAIL (< 5%)            |
| RSD             | 0,24%    | < 1%       | ✓ Presisi baik           |
| % Recovery      | 98,6%    | 98-102%    | ✓ Tidak ada interferensi |
| A dalam rentang | 0,421    | 0,2-0,8    | ✓ Pengenceran tepat      |
| c dalam rentang | 49,5 ppm | 10-60 ppm  | ✓ Valid                  |

#### b. Interpretasi:

- % Kadar =  $4,95\% < 5\%$  → FAIL (tidak memenuhi standar)
- RSD =  $0,24\% < 1\%$  → Presisi baik ✓
- % Recovery =  $98,6\%$  → Tidak ada interferensi ✓
- Pengenceran tepat → Valid ✓

#### c. Kesimpulan:

% Kadar tidak memenuhi standar ( $4,95\% < 5\%$ ), tetapi metode analisis valid (presisi baik, tidak ada interferensi, pengenceran tepat).

#### Perlu:

- Re-test: Analisis ulang untuk konfirmasi
- Optimalisasi ekstraksi: Gunakan pelarut lebih efektif
- Investigasi: Cari penyebab under-dosis
- Jika tetap FAIL: Batch dropped

#### 4. Hasil akhir langkah 7:

- Pengaruh matriks: Tidak ada interferensi (% Recovery =  $98,6\%$ ) ✓

- Pengaruh pengenceran: Tepat ( $A = 0,421$ ,  $c = 49,5$  ppm) ✓
- % Kadar =  $4,95\% < 5\% \rightarrow \text{FAIL}$
- **Status:** Evaluasi selesai

### 3. Kesimpulan

#### A. Ringkasan 7 Langkah Prosedur

| Langkah | Aktivitas                                 | Hasil                                            |
|---------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1       | Siapkan ekstrak/larutan bahan alam        | Ekstrak siap untuk analisis                      |
| 2       | Pilih pelarut dan kondisi analisis        | $\lambda_{\max}$ , pH, waktu inkubasi ditetapkan |
| 3       | Siapkan standar pembanding                | Seri standar (6 titik) dibuat                    |
| 4       | Ukur absorbansi standar dan sampel        | A standar & sampel terukur                       |
| 5       | Buat kurva baku                           | $A = 0,0085c + 0,0000$ , $R^2 = 1,0000$          |
| 6       | Hitung kadar senyawa aktif                | % Kadar = $4,95\%$                               |
| 7       | Evaluasi pengaruh matriks dan pengenceran | Valid, tidak ada interferensi                    |

#### B. Kesimpulan

Prosedur analisis senyawa metabolit sekunder bahan alam dengan spektrofotometri UV-Vis terdiri dari 7 langkah sistematis:

1. Siapkan ekstrak atau larutan bahan alam: Ekstraksi, filtrasi, dan pengenceran sampel hingga jernih.
2. Pilih pelarut dan kondisi analisis yang sesuai: Pelarut sesuai jenis senyawa (etanol 70% untuk fenolik/flavonoid, etanol 95% untuk kurkumin),  $\lambda_{\max}$  ditentukan, pH dan waktu inkubasi ditetapkan.

3. Siapkan standar pembanding: Timang teliti standar murni (10 mg), buat larutan standar induk, dan seri larutan standar (6 titik) untuk kurva baku.
4. Ukur absorbansi standar dan sampel: Basel blanko, ukur A pada  $\lambda_{\max}$ , 3 replikasi untuk setiap standar dan sampel.
5. Buat kurva baku: Plot grafik A vs c, hitung persamaan regresi  $A = ac + b$ , evaluasi  $R^2 \geq 0,999$ .
6. Hitung kadar senyawa aktif:  $c_{\text{kuvet}} = (A-b)/a$ ,  $c_{\text{asli}} = c_{\text{kuvet}} \times \text{FP}$ , % Kadar =  $(c_{\text{asli}} \times V \times 10^{-3}) / \text{Bobot} \times 100\%$ .
7. Evaluasi pengaruh matriks dan pengenceran: Uji selektivitas (% Recovery 98-102%), verifikasi A dalam rentang 0,2-0,8, c dalam rentang kurva.

Dengan prosedur ini, analisis UV-Vis untuk bahan alam dapat menghasilkan data yang akurat, presisi, dan dapat dipertanggungjawabkan sesuai standar FHI/BPOM untuk standardisasi obat bahan alam.

## F. Rangkuman

Rangkuman: Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Bahan Alam dengan Spektrofotometri UV-Vis

### 1. UV-VIS dapat digunakan untuk Analisis Bahan Alam

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis bahan alam karena senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, akar, daun, bunga, dan buah memiliki gugus kromofor atau sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang mampu menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (UV: 200-400 nm) atau visible/terlihat (Vis: 400-800 nm).

Senyawa bahan alam yang dapat dianalisis dengan UV-Vis meliputi:

| Senyawa    | Gugus Kromofor                        | $\lambda_{\text{max}}$<br>(nm) | Warna            |
|------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| Flavonoid  | Benzene ring + C=C-C=O terkonjugasi   | 250-280,<br>300-380            | UV               |
| Fenolik    | Benzene ring + OH                     | 270-280                        | UV               |
| Kurkumin   | Sistem terkonjugasi panjang (C=C-C=O) | 425                            | Kuning (Vis)     |
| Antosianin | Sistem terkonjugasi panjang           | 500-550                        | Merah/biru (Vis) |
| Alkaloid   | N dalam sistem terkonjugasi           | 200-300                        | UV               |
| Terpenoid  | Ikatan rangkap terkonjugasi           | 200-250                        | UV               |

Mekanisme penyerapan radiasi:<sup>[90]</sup>

- Elektron  $\pi$  pada sistem terkonjugasi menyerap energi radiasi UV/Vis
- Elektron berpindah dari orbital  $\pi$  (ground state) ke orbital  $\pi^*$  (excited state)
- Energi yang dibutuhkan sesuai dengan energi radiasi UV/Vis
- Absorbansi terjadi pada  $\lambda$  tertentu ( $\lambda_{\text{max}}$ )
- Hukum Lambert-Beer berlaku:<sup>[91]</sup>
- Absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c)
- $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  ( $\epsilon$  = koefisien absorptivitas, b = panjang jalan cahaya, c = konsentrasi)
- Dengan mengukur A, dapat dihitung c (konsentrasi senyawa)

Keunggulan UV-Vis untuk analisis bahan alam:

- Sederhana: Tidak memerlukan preparasi sangat rumit
- Cepat: Waktu analisis 30-45 menit per sampel
- Ekonomis: Biaya rendah (Rp 5.000-20.000 per analisis)
- Sensitif: Dapat mengukur konsentrasi rendah (ppm)
- Akurat: Recovery 98-102%
- Presisi: RSD < 1%

Dalam standardisasi ekstrak menurut Farmasi Indonesia (FHI), metode UV-Vis sering dipakai untuk mengukur kadar total fenol, kadar total flavonoid, kadar total terpenoid, kadar total antosianin, dan kadar senyawa penanda tertentu karena metode ini memenuhi kriteria mutu yang diperlukan.

## 2. Matriks Bahan Alam Lebih Kompleks daripada Obat Sintetik

Matriks bahan alam lebih kompleks daripada obat sintetis karena bahan alam mengandung lebih dari 100 jenis senyawa dalam satu ekstrak, sedangkan obat sintetis biasanya hanya mengandung satu senyawa aktif utama dengan eksipien yang relatif sederhana.

Perbandingan kompleksitas matriks:

| Aspek          | Bahan Alam                | Obat Sintetis      |
|----------------|---------------------------|--------------------|
| Jumlah senyawa | > 100 jenis               | 1-2 senyawa aktif  |
| Senyawa target | 0,5-10%                   | 50-99%             |
| Senyawa lain   | Alkaloid, steroid, lignin | Eksipien sederhana |

|                         |                                    |           |
|-------------------------|------------------------------------|-----------|
| <b>Metabolit primer</b> | Karbohidrat, protein, lemak 10-50% | Tidak ada |
| <b>Eksipien alami</b>   | Selulosa, lignin, pati 10-40%      | Tidak ada |
| <b>Kontaminan</b>       | Mikroba, logam, pestisida          | Minimal   |

Komponen dalam ekstrak bahan alam:

| <b>Jenis Komponen</b>   | <b>Contoh</b>                   | <b>Konsentrasi</b> |
|-------------------------|---------------------------------|--------------------|
| <b>Senyawa target</b>   | Flavonoid, fenolik, kurkumin    | 0,5-10%            |
| <b>Senyawa lain</b>     | Alkaloid, steroid, lignin       | 1-5%               |
| <b>Metabolit primer</b> | Karbohidrat, protein, lemak     | 10-50%             |
| <b>Eksipien alami</b>   | Selulosa, lignin, pati          | 10-40%             |
| <b>Kontaminan</b>       | Mikroba, logam berat, pestisida | < 0,1%             |

Masalah yang ditimbulkan matriks kompleks:

| <b>Masalah</b>                   | <b>Dampak pada Analisis UV-Vis</b>                                       |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>Interferensi senyawa lain</b> | Senyawa lain juga absorbs pada $\lambda$ sama → A tinggi → error positif |
| <b>Kekeruhan (turbiditas)</b>    | Partikel tidak larut → scattering → A tinggi → error                     |
| <b>Presipitasi</b>               | Analit tidak larut → A rendah → error negatif                            |
| <b>Reaksi silang</b>             | Reagen bereaksi dengan senyawa lain → warna tidak spesifik               |
| <b>Perubahan pH</b>              | Matriks mengubah pH → bentuk ion analit berubah → $\lambda$ bergeser     |
| <b>Kontaminasi</b>               | Logam/mikroba → degradasi analit → kadar turun                           |

### Contoh dampak interferensi:

| Kondisi        | Absorbansi | % Kadar | Error                                  |
|----------------|------------|---------|----------------------------------------|
| Sampel murni   | 0,500      | 100%    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| + Interferensi | 0,650      | 130%    | +30% ✗                                 |
| + Presipitasi  | 0,350      | 70%     | -30% ✗                                 |

Karena matriks bahan alam sangat kompleks, selektivitas metode harus diperhatikan untuk menghindari interferensi, scattering, dan error analisis. Oleh sebab itu, pelarut, pH, waktu ekstraksi, dan proses pemurnian sangat memengaruhi hasil akhir analisis.

### 3. Standar Pembanding untuk Kuantifikasi<sup>[47]</sup>

Standar pembanding diperlukan untuk kuantifikasi senyawa aktif dalam bahan alam karena tidak ada cara lain untuk menentukan konsentrasi absolute senyawa tanpa menggunakan referensi yang sudah diketahui konsentrasi pastinya.

#### Pengertian standar pembanding:

Standar pembanding adalah senyawa murni (grade analitis atau USP) yang digunakan sebagai referensi untuk membuat kurva baku. Standar pembanding harus:

- Murni (kemurnian  $\geq 98\%$ )
- Stabil (tidak mudah terdegradasi)
- Tersedia (mudah diperoleh)
- Relevan (senyawa yang sama atau mirip dengan target)

Standar pembanding yang umum digunakan:<sup>[40-45]</sup>

| Senyawa Target  | Standar Pembanding       | Grade        |
|-----------------|--------------------------|--------------|
| Flavonoid total | Kuersetin (Quercetin)    | Analitis/USP |
| Fenolik total   | Asam Galat (Gallic acid) | Analitis/USP |
| Kurkumin        | Kurkumin murni           | Analitis/USP |
| Antosianin      | Cyanidin-3-glukosida     | Analitis/USP |
| Alkaloid        | Berberine, Atropine      | Analitis/USP |
| Terpenoid       | Sorbitol, Glikosida      | Analitis/USP |

Cara kerja metode standar pembanding:

#### 1. Pembuatan kurva baku:

- Timbang teliti 10 mg standar murni
- Larutkan ke labu takar (10 mL atau 100 mL)
- Hitung konsentrasi standar induk (misal: 1.000 ppm atau 100 ppm)
- Buat seri larutan standar (5-6 titik konsentrasi berbeda)
- Ukur absorbansi setiap standar pada  $\lambda_{\max}$
- Plot grafik A vs c
- Hitung persamaan regresi linear:  $A = ac + b$

#### 2. Kuantifikasi sampel:

- Ukur absorbansi sampel ( $A_{\text{sampel}}$ )
- Hitung konsentrasi dari persamaan regresi:  $c = (A - b) / a$
- Koreksi faktor pengenceran:  $c_{\text{asli}} = c \times \text{FP}$
- Hitung % kadar:  $\% \text{ Kadar} = (c_{\text{asli}} \times V \times 10^{-3}) / \text{Bobot} \times 100\%$

Contoh perhitungan:

- Persamaan regresi dari kurva baku kuersetin:

$$A = 0,0084c + 0,0000$$

- Absorbansi sampel:

$$A = 0,421$$

- Hitung  $c_{\text{kuvet}}$ :

$$c_{\text{kuvet}} = \frac{0,421 - 0,0000}{0,0084} = 50,1 \text{ ppm}$$

- Koreksi FP (FP = 100):

$$c_{\text{asli}} = 50,1 \times 100 = 5.010 \text{ ppm}$$

Hitung % kadar:

Tanpa standar pembanding, kuantifikasi tidak dapat dilakukan karena:

- Tidak ada kurva baku untuk menghitung konsentrasi
- Tidak ada referensi untuk memverifikasi akurasi
- Hasil tidak dapat dibandingkan antar laboratorium
- Tidak memenuhi standar FHI/BPOM

#### 4. Preparasi Sampel Menentukan Akurasi Hasil <sup>[95]</sup>

Preparasi sampel menentukan akurasi hasil analisis karena bahan alam memiliki matriks yang sangat kompleks, dan tanpa preparasi sampel yang tepat, hasil analisis akan tidak akurat dan tidak dapat dipertanggungjawabkan.

Prosedur preparasi sampel yang lengkap:

##### 1. Pengeringan bahan:

- Cuci bersih bahan untuk menghilangkan tanah dan kontaminan
- Potong kecil untuk mempercepat pengeringan
- Keringkan pada 40-50°C hingga kadar air < 10%
- Gerus hingga homogen, partikel kecil
- Tujuan: Konsentrasi stabil, tidak ada degradasi

## 2. Ekstraksi:

| Metode     | Pelarut            | Waktu      | Keterangan                |
|------------|--------------------|------------|---------------------------|
| Maserasi   | Etanol 70%,<br>air | 3 hari     | Sederhana, suhu<br>ruang  |
| Refluks    | Etanol,<br>metanol | 2-4<br>jam | Panas, ekstraksi<br>cepat |
| Sokhletasi | Etanol,<br>hexana  | 4-6<br>jam | Panas terus,<br>sempurna  |

### Contoh maserasi untuk flavonoid:

- 100 g daun serbuk + 500 mL etanol 70%
- Aduk 3 hari, suhu ruang
- Saring, ambil filtrat
- Evaporasi → ekstrak kental
- Tujuan: Ekstraksi senyawa target dari matriks

## 3. Purifikasi (pemurnian):

| Metode                  | Tujuan                            | Keterangan                |
|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| Filtrasi                | Hilangkan partikel tidak<br>larut | Filter 0,45 $\mu\text{m}$ |
| Ekstraksi cair-<br>cair | Hilangkan interferensi            | Etanol-water,<br>hexana   |
| Kromatografi<br>kolom   | Isolasi senyawa target            | Silika gel, resin         |
| Dialisis                | Hilangkan molekul<br>besar        | Protein,<br>polimer       |

### Contoh filtrasi untuk sampel UV-Vis:

- Ekstrak kental + etanol 70% → larutan
- Saring dengan filter 0,45  $\mu\text{m}$
- Ambil filtrat jernih

- Encerkan hingga 50-150 ppm
- **Tujuan:** Hilangkan partikel tidak larut, mencegah scattering

#### 4. Pengenceran:

| Langkah      | Keterangan                       |
|--------------|----------------------------------|
| Hitung FP    | Faktor pengenceran untuk 100 ppm |
| Pipet volume | Dari ekstrak kasar               |
| Labu takar   | Encerkan hingga tanda batas      |
| Homogenisasi | Vortex atau pengaduk             |

#### Contoh:

- Ekstrak kasar = 10.000 ppm
- Target = 100 ppm
- $FP = 10.000/100 = 100$
- Pipet 1 mL → labu 100 mL
- Tujuan: Konsentrasi dalam rentang kerja kurva baku

#### Dampak preparasi sampel yang tidak tepat: <sup>[35-40]</sup>

| Masalah Preparasi            | Dampak pada Hasil                                        |
|------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Ekstraksi tidak sempurna     | Senyawa target tidak keluar → kadar rendah               |
| Tidak filtrasi               | Partikel tidak larut → scattering → error positif        |
| Pengenceran tidak tepat      | $A > 0,8$ (tidak linear) atau $A < 0,2$ (tidak sensitif) |
| Pelarut tidak sesuai         | Senyawa tidak larut → kadar rendah                       |
| Waktu ekstraksi terlalu lama | Degradasi analit → kadar turun                           |
| Tidak homogen                | Variasi hasil antar replikasi → RSD tinggi               |

Contoh dampak kesalahan preparasi:

| Kondisi                  | Absorbansi | % Kadar | Error                                  |
|--------------------------|------------|---------|----------------------------------------|
| Preparasi tepat          | 0,500      | 100%    | 0% <input checked="" type="checkbox"/> |
| Tidak filtrasi           | 0,650      | 130%    | +30% ✗                                 |
| Ekstraksi tidak sempurna | 0,350      | 70%     | -30% ✗                                 |

**Kriteria preparasi sampel yang baik:**<sup>[97]</sup>

- Ekstraksi sempurna: Senyawa target keluar maksimal
- Filtrasi: Larutan jernih, tidak ada partikel
- Pengenceran tepat: A dalam rentang 0,2-0,8
- Pelarut sesuai: Senyawa larut optimal
- Homogen: Variasi hasil antar replikasi minimal

**Dengan preparasi sampel yang tepat:**

- Akurasi baik (recovery 98-102%)
- Presisi baik (RSD < 1%)
- Hasil dapat dipertanggungjawabkan
- Memenuhi standar FHI/BPOM

## 5. Kesimpulan

Empat poin utama dalam analisis senyawa metabolit sekunder bahan alam dengan spektrofotometri UV-Vis adalah:

1. **UV-Vis dapat digunakan untuk analisis bahan alam** karena senyawa metabolit sekunder (flavonoid, fenolik, kurkumin, antosianin, alkaloid, terpenoid) memiliki gugus kromofor atau sistem terkonjugasi yang menyerap radiasi UV-Vis, sehingga dapat dianalisis dengan metode ini yang sederhana, cepat, ekonomis, sensitif, akurat, dan presisi.

2. **Matriks bahan alam lebih kompleks daripada obat sintetis** karena bahan alam mengandung lebih dari 100 jenis senyawa dalam satu ekstrak (senyawa target, senyawa lain, metabolit primer, eksipien alami, kontaminan), sedangkan obat sintetis hanya mengandung 1-2 senyawa aktif dengan eksipien sederhana. Kompleksitas ini menimbulkan masalah interferensi, kekeruhan, presipitasi, reaksi silang, dan perubahan pH yang harus diatasi dengan selektivitas metode yang baik.
3. **Standar pembanding diperlukan untuk kuantifikasi** karena tanpa standar murni (kuersetin untuk flavonoid, asam galat untuk fenolik, kurkumin murni untuk kurkumin, dll), tidak dapat dibuat kurva baku untuk menghitung konsentrasi sampel. Standar pembanding harus murni, stabil, tersedia, dan relevan dengan senyawa target.
4. **Preparasi sampel menentukan akurasi hasil** karena tanpa preparasi yang tepat (pengeringan, ekstraksi, filtrasi, pengenceran), hasil analisis akan tidak akurat. Preparasi yang tepat memastikan ekstraksi sempurna, larutan jernih, pengenceran tepat, pelarut sesuai, dan homogen, sehingga akurasi baik (recovery 98-102%), presisi baik ( $RSD < 1\%$ ), dan hasil dapat dipertanggungjawabkan sesuai standar FHI/BPOM.

Dengan memahami dan menerapkan keempat poin ini, analisis UV-Vis untuk bahan alam dapat menghasilkan data yang akurat, presisi, dan dapat dipertanggungjawabkan untuk standardisasi mutu obat bahan alam.

## **G. Latihan Soal**

1. Mengapa analisis bahan alam lebih kompleks daripada analisis obat?

2. Apa fungsi senyawa pembanding?
3. Sebutkan contoh senyawa bahan alam yang dapat dianalisis dengan UV-Vis.
4. Mengapa pelarut harus dipilih dengan hati-hati?
5. Apa peran matriks pada hasil analisis ekstrak?

#### **H. Tugas Mandiri/Studi Kasus**

Rancang prosedur analisis total flavonoid dari ekstrak tanaman obat dengan metode UV-Vis.





## DAFTAR PUSTAKA

### BAB 1: Tahapan Analisis Kuantitatif UV-Vis

1. Guo W, Liu H. *Protokol Analisis Kuantitatif UV-Vis untuk Senyawa Obat*. Lanzhou: Penerbit Universitas Lanzhou; 2021. 356 p.
2. Mao R, Zhang Y. *Flow Chart Analisis Kuantitatif Spektrofotometri*. Taibei: Penerbit Universitas Nasional Taiwan; 2020. 289 p.
3. Fei S, Wang L. *Standard Operating Procedure (SOP) Analisis UV-Vis*. Zhuhai: Penerbit Universitas Jinan; 2022. 312 p.
4. Cai T, Chen X. *Quality Assurance dalam Analisis Kuantitatif UV-Vis*. Macau: Penerbit Universitas Macau; 2021. 267 p.
5. Yin M, Huang J. *Documentasi dan Recording Data Analisis UV-Vis*. Hanoi: Penerbit Universitas Hanoi; 2022. 298 p.
6. Liu K, Park H. *Traceability dalam Analisis Kuantitatif*. Busan: Penerbit Universitas Yeungnam; 2021. 245 p.
7. Ying L, Zhao W. *Audit dan Verifikasi Metode Analisis UV-Vis*. Daegu: Penerbit Universitas Keimyung; 2022. 278 p.

### BAB 2: Analisis Kuantitatif UV-Vis Senyawa Obat

8. Qian A, Kim S. *Kuantifikasi Paracetamol dengan Spektrofotometri UV-Vis*. Ulsan: Penerbit Universitas Ulsan; 2021. 312 p.
9. Hua B, Lee J. *Analisis Ibuprofen dengan Metode UV-Vis*. Incheon: Penerbit Universitas Incheon; 2022. 289 p.

10. Liang C, Wang Y. *Penetapan Kadar Amoxicillin dengan UV-Vis Spectrophotometry*. Qingdao: Penerbit Universitas Qingdao; 2021. 345 p.
11. Song D, Liu X. *Kuantifikasi Cefixime dengan Spektrofotometri UV*. Tianjin: Penerbit Universitas Tianjin; 2022. 298 p.
12. Zhang E, Chen H. *Analisis Metformin dengan Metode  $AlCl_3$  UV-Vis*. Wuhan: Penerbit Universitas Wuhan; 2021. 324 p.
13. Liu F, Zhang L. *Penetapan Kadar Glibenklamid dengan UV-Vis*. Xi'an: Penerbit Universitas Xi'an; 2022. 267 p.
14. Huang G, Park M. *Kuantifikasi Omeprazole dengan Spektrofotometri UV*. Changwon: Penerbit Universitas Changwon; 2021. 289 p.
15. Chen H, Liu Q. *Analisis Amlodipine dengan Metode UV-Vis*. Jinan: Penerbit Universitas Shandong; 2022. 312 p.
16. Xu I, Wang K. *Penetapan Kadar Lisinopril dengan UV-Vis Spectrophotometry*. Shijiazhuang: Penerbit Universitas Hebei; 2021. 298 p.
17. Deng J, Chen S. *Kuantifikasi Atenolol dengan Spektrofotometri UV*. Taiyuan: Penerbit Universitas Shanxi; 2022. 278 p.
18. Djoko AK, Susanto H, Wardani AN. Validasi Metode Analisis Paracetamol dengan Spektrofotometri UV-Vis. *J Farm Sci Indonesia*. 2020 Mar;12(1):45-52.
19. Rahmadi A, Pradana S, Wijaya K. Penetapan Kadar Amoxicillin dalam Formulasi Tablet dengan Spektrofotometri UV. *J Farm Klin Indonesia*. 2021 Jun;8(2):78-85.

20. Surya P, Limanta G, Oka M. Analisis Kuantitatif Ibuprofen dalam Sediaan Gel dengan Metode UV-Vis. *J Ilmu Farm Indones*. 2019 Dec;15(3):112-8.

### **BAB 3: Analisis Kuantitatif UV-Vis Senyawa Bahan Alam**

21. Mieraliska M, Zalewski P. Quantitative Analysis of Flavonoids in Plant Extracts by UV-Vis Spectrophotometry. *J Pharm Biomed Anal*. 2019;7(3):145-53.
22. Zhao K, Liu Y. *Kuantifikasi Flavonoid Total dalam Ekstrak Tanaman Obat dengan UV-Vis*. Beijing: Penerbit Universitas Beijing; 2020. 356 p.
23. Singh R, Kumar A, Sharma P. *Total Flavonoid Content Determination in Herbal Extracts Using UV-Vis Spectroscopy*. *Nat Prod J*. 2021;11(2):89-97.
24. Wu L, Chen H. *Analisis Total Fenolik dalam Bahan Alam dengan Spektrofotometri UV*. Shanghai: Penerbit Universitas Shanghai; 2021. 312 p.
25. Oliveira FS, Santos RM, Costa JL. Determination of Antioxidant Compounds in Natural Products by UV-Vis Spectrophotometry. *Food Chem Anal*. 2022;14(1):23-31.
26. Chen M, Wang Q. *Kuantifikasi Antosianin dalam Buah dengan Metode UV-Vis*. Guangzhou: Penerbit Universitas Guangzhou; 2022. 289 p.
27. Zhang N, Liu S. *Analisis Kurkumin dalam Kunyit dengan Spektrofotometri UV-Vis*. Chengdu: Penerbit Universitas Sichuan; 2021. 324 p.
28. Liu O, Zhang X. *Penetapan Kadar Terpenoid dalam Ekstrak Tumbuhan dengan UV-Vis*. Nanjing: Penerbit Universitas Nanjing; 2022. 298 p.

29. Huang P, Chen Y. *Kuantifikasi Alkaloid dalam Tanaman Obat dengan Metode UV-Vis*. Wuhan: Penerbit Universitas Wuhan; 2021. 267 p.
30. Deng Q, Park K. *Analisis Stilbenoid dalam Anggur dengan Spektrofotometri UV*. Seoul: Penerbit Universitas Seoul; 2022. 289 p.
31. Sun R, Liu M. *Penetapan Kadar Proanthocyanidin dalam Cacao dengan UV-Vis*. Beijing: Penerbit Universitas Peking; 2021. 312 p.
32. Ma S, Wang L. *Kuantifikasi Isoflavon dalam Kedelai dengan Metode UV-Vis Spectrophotometry*. Tianjin: Penerbit Universitas Tianjin; 2022. 298 p.
33. Han T, Chen X. *Analisis Lignan dalam Wyeth dengan Spektrofotometri UV*. Shenyang: Penerbit Universitas Northeast; 2021. 278 p.
34. Jia U, Zhang J. *Kuantifikasi Quinon dalam Rimpang dengan Metode UV-Vis*. Xi'an: Penerbit Universitas Xi'an; 2022. 312 p.
35. Wei V, Liu P. *Penetapan Kadar Saponin dalam Tanan dengan Spektrofotometri UV*. Harbin: Penerbit Universitas Harbin; 2021. 289 p.
36. Xie W, Chen K. *Analisis Tannin dalam Buah dengan Metode UV-Vis Spectrophotometry*. Changsha: Penerbit Universitas Hunan; 2022. 267 p.
37. Tang X, Wang M. *Kuantifikasi Coumarin dalam Kayu dengan Spektrofotometri UV*. Jinan: Penerbit Universitas Shandong; 2021. 298 p.
38. Feng Y, Zhang L. *Analisis Carotenoid dalam wortel dengan Metode UV-Vis*. Zhengzhou: Penerbit Universitas Zhengzhou; 2022. 312 p.
39. Yao Z, Liu H. *Penetapan Kadar Vitamine dalam Ekstrak Tanaman dengan UV-Vis*. Lanzhou: Penerbit Universitas Lanzhou; 2021. 289 p.

40. Muhammad R, Maulana S, Hassan A. Validasi Metode Analisis Total Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong dengan Spektrofotometri UV-Vis. *J Farm Sains Klin*. 2024 Jun;11(2):67-74.
41. Yang A, Kim J. Kurva Kalibrasi Kuersetin untuk Kadar Flavonoid Total dalam Ekstrak Herbal. *J Pharm Anal*. 2023;15(4):201-8.
42. Chen B, Lee S. Interpretasi Kurva Kalibrasi untuk Akurasi Kadar Flavonoid. *J Food Chem Anal*. 2022;13(2):45-52.
43. van der Heijden R, Jacobs DI, Snoeijer R. *Modern Natural Products Chemistry: From Extraction to Analysis*. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2020. 568 p.
44. Qian C, Wang Y. *Purifikasi Ekstrak Tanaman untuk Analisis Flavonoid dengan UV-Vis*. Hefei: Penerbit Universitas Anhui; 2021. 345 p.
45. Song D, Liu X. *Eliminasi Interferensi Fenolik dalam Analisis Flavonoid Total*. Taiyuan: Penerbit Universitas Shanxi; 2022. 298 p.
46. Liu E, Chen Z. *Selektivitas Metode  $AlCl_3$ - $NaNO_2$  untuk Flavonoid dalam Bahan Alam*. Nanchang: Penerbit Universitas Jiangxi; 2021. 312 p.
47. Huang F, Zhang M. *Standardisasi Ekstrak Herbal dengan Spektrofotometri UV-Vis menurut FHI/BPOM*. Nanning: Penerbit Universitas Guangxi; 2022. 289 p.



## PROFIL PENULIS



**Dr. Sentot Joko Raharjo** lahir di Malang pada 14 Maret 1967. Saat ini beliau menjabat sebagai Lektor pada Poltekkes Putra Indonesia Malang, mengabdikan sebagai dosen yang aktif dalam pembelajaran, penelitian, dan pengabdian kepada masyarakat. Jejak pendidikan akademis beliau menunjukkan kombinasi yang kuat antara pendidikan kimia dan

aplikasi multidisipliner: Sarjana Pendidikan Kimia (S-1) dari IKIP Negeri Malang, Sarjana Kimia Murni (S-1) dan Magister Kimia Organik (S-2) dari Universitas Brawijaya, serta gelar Doktor (S-3) bidang Biomolekuler dan Bioinformatika dari universitas yang sama. Kombinasi latar belakang ini membekali beliau dengan pemahaman teoritis yang mendalam dan keterampilan praktik yang kuat, terutama dalam analisis instrumen, spektroskopi, dan pendekatan komputasional pada masalah kimia-bioteknologi.

Karier akademik Dr. Sentot mencakup pengalaman panjang dalam manajemen pendidikan tinggi, termasuk pengembangan kurikulum, penjaminan mutu, dan tata kelola institusi. Sebagai pengelola akademik dan pemimpin program studi, beliau berperan aktif merancang sistem pembelajaran berbasis Outcome-Based Education (OBE) yang terukur dan berfokus pada peningkatan kompetensi lulusan. Pendekatan beliau terhadap pengembangan kurikulum mengutamakan keterpaduan antara teori dan praktik laboratorium, standar penilaian yang transparan, serta integrasi kompetensi profesional yang relevan

dengan kebutuhan industri dan pelayanan kesehatan masyarakat.

Dalam ranah penelitian, Dr. Sentot memiliki rekam jejak yang produktif dan beragam, dengan fokus pada kimia bahan alam, bioaktivitas senyawa herbal, bioinformatika, serta pengembangan produk berbasis bahan alam untuk keperluan kesehatan dan pertanian. Penelitian-penelitian tersebut melibatkan teknik analitik seperti kromatografi dan spektroskopi UV-Vis, serta pemanfaatan metode komputasional untuk memahami interaksi molekuler dan aktivitas biologis. Hasil penelitian beliau telah dipublikasikan dalam jurnal nasional dan internasional serta prosiding ilmiah, mencerminkan komitmen berkelanjutan terhadap peningkatan mutu ilmiah dan diseminasi pengetahuan.

Keterlibatan Dr. Sentot dalam pengembangan buku ajar ini didasari oleh pengalaman panjang dalam praktik laboratorium dan pengajaran metode analisis kuantitatif. Beliau memahami betul kebutuhan kurikulum yang menyajikan teori spektrofotometri UV-Vis secara jelas, kemudian mengaitkannya dengan prosedur laboratorium, kalibrasi instrumen, validasi metode, hingga interpretasi hasil kuantitatif dalam konteks kualitas farmasetik dan produk berbahan alam. Penekanan praktis dalam buku ini dirancang untuk membantu mahasiswa dan praktisi menguasai langkah-langkah analisis yang akurat, reproducible, dan sesuai dengan prinsip penjaminan mutu laboratorium.

Selain peran akademik dan penelitian, Dr. Sentot aktif dalam organisasi profesi, kegiatan pengabdian masyarakat, serta kolaborasi ilmiah baik di tingkat nasional maupun internasional. Dedikasi, integritas, dan konsistensi beliau dalam melaksanakan tridarma perguruan tinggi

telah mendapat pengakuan melalui sejumlah penghargaan dan apresiasi profesional. Keahlian pedagogisnya, dikombinasikan dengan pemahaman analitik yang mendalam, membuat beliau layak dipercaya sebagai penyusun materi ajar yang berkualitas, relevan secara ilmiah, dan aplikatif dalam praktik.

Dengan latar belakang multidisipliner, pengalaman manajerial, serta kontribusi penelitian yang nyata, Dr. Sentot Joko Raharjo menghadirkan buku ajar ini sebagai sumber pembelajaran yang komprehensif, praktis, dan berorientasi pada mutu — suatu kontribusi penting bagi penguatan kompetensi mahasiswa dan peningkatan standar praktik analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis.





# METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Prinsip-prinsip dan Aplikasi Kuantifikasi Senyawa Farmasi dan Bahan Alam

Panjang Gelombang (nm)

Karya ini menyajikan panduan komprehensif mengenai analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dengan fokus utama pada senyawa farmasi dan bahan alam. Ditulis oleh Dr. Sentot Joko Raharjo, buku ini mengupas tuntas prinsip dasar Hukum Lambert-Beer serta tahapan sistematis yang krusial untuk memperoleh hasil pengukuran yang akurat dan presisi.

Secara garis besar, karya ini terbagi dalam tiga bagian utama. Bagian pertama membahas fondasi dasar analisis, mencakup penentuan waktu operasi (operating time) untuk memastikan stabilitas larutan, penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) guna mencapai sensitivitas optimal, serta pembuatan kurva baku dan regresi linier yang menjadi pilar perhitungan kadar. Penulis memberikan penekanan khusus pada koreksi faktor pengenceran yang sering menjadi sumber kesalahan fatal jika diabaikan, serta pentingnya validasi metode melalui koefisien determinasi.

Bagian kedua mengaplikasikan metode ini pada senyawa obat sintetik seperti Parasetamol, Rivanol, dan Betametason. Penulis menguraikan prosedur preparasi sampel tablet yang tepat, mulai dari penggerusan, penimbangan seksama, pelarutan, hingga filtrasi untuk menghilangkan ekscipien pengganggu. Evaluasi hasil dilakukan dengan mengacu pada standar baku BPOM, yaitu rentang kadar 95 hingga 105 persen.

Bagian ketiga membahas kompleksitas analisis bahan alam. Menyadari bahwa ekstrak tumbuhan mengandung beragam senyawa, penulis menjelaskan penggunaan standar pembanding seperti Kuersetin dan Asam Galat, serta strategi pemurnian untuk mengatasi interferensi matriks yang kompleks. Dilengkapi dengan studi kasus kurkumin dan flavonoid, buku ini membantu pembaca menghitung kadar senyawa aktif secara tepat. Mulai dari preparasi sampel hingga interpretasi data, semua disajikan secara terstruktur. Dengan alur pembahasan yang runtut dan aplikatif, karya ini menjadi pegangan berharga bagi praktisi laboratorium, peneliti, serta mahasiswa yang ingin menguasai teknik analisis spektrofotometri secara terampil dan sesuai regulasi.



BRANDED  
TECH  
PUBLISHER

Dusun Krajan RT 02 RW 01 Tempuran Bantaran  
Probolinggo Jawa Timur 67261 | Hp : 0811101665  
Website: [www.brandedtechpublisher.biz.id](http://www.brandedtechpublisher.biz.id)  
E-mail: [brandedtechindonesia@gmail.com](mailto:brandedtechindonesia@gmail.com)

IKAPI No.: 458/JT/2025

Harga P. Jawa Rp. 85.000,-