

# PERBANDINGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET (UV) DAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) PADA PENETAPAN KADAR NATRIUM DIKLOFENAK

, <sup>1</sup>Kiki Rizqi Amalia <sup>2</sup>Sumantri, <sup>1</sup>Maria Ulfah

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

## ABSTRAK

Beberapa metode analisis telah dikembangkan untuk menentukan kadar natrium diklofenak, diantaranya dengan metode spektrofotometri UV dan KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Metode spektrofotometri UV dan KCKT masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kadar natrium diklofenak secara spektrofotometri UV dan KCKT dalam hal ketepatan, ketelitian dan sensitivitas.

Penetapan kadar natrium diklofenak dianalisis dengan metode spektrofotometri UV dengan melakukan penentuan panjang gelombang maksimal, penentuan *operating time*, pembuatan kurva baku, pengukuran serapan sampel, perhitungan kadar natrium diklofenak dalam sampel. Sedangkan metode KCKT dengan melakukan optimasi instrumen dan optimasi fase gerak, identifikasi natrium diklofenak dalam sampel, pembuatan kurva baku, pengamatan kromatogram sampel, perhitungan kadar natrium diklofenak dalam sampel. Pelarut yang digunakan adalah aquabidestilata dan fase gerak yang digunakan adalah campuran asetonitril dan buffer fosfat 0,01 M pH 3,5. Sedangkan fase diam yang digunakan adalah Oktadesil Silikat (ODS) C18 (4,6x150mm). Data kadar yang diperoleh dari masing-masing metode dibandingkan ketepatan, ketelitian dan sensitivitas dari dua metode tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar rata-rata natrium diklofenak secara Spektrofotometri UV adalah 17,9 µg/ml. Sedangkan secara KCKT adalah 17,3 µg/ml. Kadar rata-rata natrium diklofenak dalam sampel secara spektrofotometri UV dan KCKT memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia yaitu memiliki nilai rekovery yang masih dalam range 90,0 % -110 % dan memiliki nilai CV < 5%. Akan tetapi metode KCKT memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode Spektrofotometri UV.

Kata kunci: Spektrofotometri UV, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Natrium Diklofenak

## PENDAHULUAN

Banyak obat yang beredar di pasaran berada dalam bentuk kombinasi diantaranya adalah golongan obat antiinflamasi non steroid (AINS). Peredaran obat di masyarakat harus dilengkapi dengan adanya suatu kontrol kualitas obat, salah satunya dengan pengukuran analitik yang meliputi pengukuran konsentrasi.

Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Sznitowska *and* Stokrocka (2007), Lohe *et al* (2008), dan Khaskheli *et al* (2009) menyebutkan bahwa analisis natrium diklofenak dengan metode spektrofotometri UV memiliki validitas yang tinggi serta mudah dilakukan. Natrium diklofenak juga dapat dianalisis dengan menggunakan metode KCKT. Shafiee *et al* (2003), Demircan *et al* (2005), Hanysova *et al* (2005), Emami *et al* (2007), dan Kasperek (2008) mengembangkan metode analisis natrium diklofenak secara KCKT.

Penelitian terdahulu juga telah dilakukan untuk membandingkan metode pada penetapan kadar suatu zat secara spektrofotometri ultraviolet (*UV*) dan KCKT. Pada sirup oleh Wardani (2011), dan pada *Soft drink* oleh Nesya (2011), menyebutkan bahwa analisis penetapan kadar suatu zat dengan metode spektrofotometri *UV* memiliki validitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode KCKT. Pada penelitian ini, penulis meneliti perbandingan metode Spektrofotometri Ultraviolet (*UV*) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada penetapan kadar natrium diklofenak.

## METODOLOGI

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk uji KCKT adalah natrium diklofenak p.a. (*Merck*), Asetonitril p.a (*Merck*),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.01 M, Asam ortofosfat dan aquabidestilata (Ikapharmindo) sebagai fase gerak, serta fase diam Oktadesil Silikat (ODS) C18 (4,6x150mm). Sedangkan untuk uji Spektrofotometri *UV* adalah natrium diklofenak p.a. (*Merck*), dan aquabidestilata (Ikapharmindo)

### Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah instrumen KCKT (Waters ec 2695), Spektrofotometer (*Genesys 10w*), *vortex Thermolyne* (M 37610-26), timbangan analitik (*Mettler toledo TE 214 S*, kepekaan  $d = 0,1$ ), *Ultrasonic bath* (*Branson 5510*), *stopwatch*, mikropipet berbagai ukuran serta peralatan gelas yang lazim digunakan.

### Jalannya Penelitian

1. **Penetapan kadar natrium diklofenak secara Spektrofotometri *UV*** (Rohman dan Sumantri, 2006)

a. **Penentuan panjang gelombang maksimal**

Natrium diklofenak ditimbang 50,0 mg, dimasukkan dalam labu takar 100,0 ml, kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda (kadar 500  $\mu\text{g/ml}$  sebagai larutan stok), diambil 1,0; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5 ml kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 ml kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda. Serapan dibaca pada panjang gelombang antara 260-290 nm.

b. **Penentuan *operating time***

- 1) Natrium diklofenak ditimbang 50,0 mg, dimasukan dalam labu takar 100,0 ml, ditambah aquabidestilata sampai batas tanda (kadar 500  $\mu\text{g/ml}$ ), diambil sebanyak 1,0 ml, larutan dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 ml, ditambah aquabidestilata sampai batas tanda.
- 2) Serapannya dibaca pada panjang gelombang maksimal pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60.
- 3) Serapan yang tetap dicatat dan digunakan sebagai ukuran waktu pembacaan absorbansi pada pembuatan kurva baku dan penetapan kadar sampel.

c. **Pembuatan kurva baku**

- 1) Pembuatan seri larutan baku  
Natrium diklofenak ditimbang 50,0 mg, dimasukkan dalam labu takar 100,0 ml, kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda (kadar 500  $\mu\text{g/ml}$  sebagai larutan stok), diambil 1,0; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5 ml kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 ml kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda
- 2) Kemudian dibuat kurva  $Y = bX + a$ , dimana Y sebagai nilai dari hasil absorbansi dan X adalah sebagai kadar terukur.

**d. Pengukuran serapan sampel**

- 1) Ditimbang dengan saksama natrium diklofenak 50,0 mg dan laktosa sampai 70,0 mg, campur sampai homogen, Campuran serbuk dilarutkan dalam aquabidest sampai 100,0 ml (kadar 500  $\mu\text{g/ml}$ ), Larutan natrium diklofenak 500  $\mu\text{g/ml}$  diambil 1,0; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5 ml kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 ml kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda. Larutan sampel diukur absorbansinya pada spektrofotometer sesuai dengan panjang gelombang maksimal dan *operating time* yang sudah ditentukan.
- 2) Data absorbansi yang didapat dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku untuk mendapatkan kadar natrium diklofenak dalam sampel. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

**e. Perhitungan kadar natrium diklofenak dalam sampel**

Kadar natrium diklofenak dapat diketahui berdasarkan persamaan kurva baku:  $Y = bX + a$ , dengan Y nilai absorbansi dan X adalah kadar terukur.

**2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

**a. Optimasi Instrumen KCKT dan Optimasi fase gerak**

Preparasi instrumen KCKT meliputi pengaturan sistem KCKT yaitu penetapan panjang gelombang maksimal, waktu alir dan tekanan pompa yang akan digunakan. Fase gerak yang digunakan adalah campuran asetonitril (*for HPLC*) dan buffer fosfat 0,01 M pH 3,5 dengan perbandingan 70:30. Untuk 500 ml fase gerak diperlukan 350 ml asetonitril dan 150 ml buffer fosfat.

**b. Identifikasi natrium diklofenak dalam sampel**

Identifikasi natrium diklofenak dilakukan dengan menggunakan seri kadar 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; 20,0; 22,5 dan 25,0  $\mu\text{g/ml}$ . Natrium diklofenak ditimbang secara saksama sebanyak 50,0 mg, kemudian dimasukkan dalam labu takar 100,0 ml dilarutkan dengan aquabidestilata sampai batas tanda (kadar 500  $\mu\text{g/ml}$  sebagai larutan stok). Dari larutan 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; 20,0; 22,5 dan 25,0  $\mu\text{g/ml}$ , larutan tersebut diinjeksikan sebanyak 10  $\mu\text{l}$  kemudian dibaca absorbansinya pada  $\lambda$  gelombang maksimum 276 nm. Kadar natrium diklofenak terukur dihitung berdasarkan persamaan kurva baku.

**c. Pembuatan kurva baku.**

- 1) Pembuatan seri larutan baku natrium diklofenak  
Disiapkan seri baku dengan kadar 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; 20,0; 22,5 dan 25,0  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan baku dibuat dengan menggunakan natrium diklofenak dan dilarutkan dengan aquabidestilata.
- 2) Pembuatan kurva baku  
Sepuluh mikroliter larutan baku dari masing-masing kadar disuntikkan ke dalam kolom. Kurva baku dibuat dengan memplotkan kadar zat *versus* rasio luas puncak zat. Persamaan kurva baku dicari dengan metode regresi linear.

**d. Pengamatan kromatogram sampel**

Natrium diklofenak ditimbang 50,0 mg, dimasukkan dalam labu takar 100,0 ml, kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda (kadar 500  $\mu\text{g/ml}$  sebagai larutan stok), diambil 1,0; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5 ml kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 ml kemudian ditambah aquabidestilata sampai batas tanda (Kadar 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; 20,0; 22,5 dan 25,0  $\mu\text{g/ml}$ ). Larutan sampel diinjeksikan ke dalam kolom  $C_{18}$  untuk dielusi. Hasil pemisahan ditetapkan kadarnya dengan cara memasukkan data AUC ke dalam persamaan kurva baku untuk mendapatkan kadar natrium diklofenak dalam sampel. Dengan menggunakan persamaan garis regresi linear kurva baku, kadar natrium diklofenak dalam sampel dapat diketahui. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

**e. Perhitungan kadar natrium diklofenak dalam sampel**

Hasil kromatogram sampel dapat dihitung kadarnya (X) dengan melihat luas area sampel (Y) pada kromatogram dan dimasukkan dalam persamaan regresi linier kurva baku  $Y = b X + a$ .

**3. Perbandingan hasil penetapan kadar natrium diklofenak dalam sampel secara spektrofotometri UV dan KCKT dalam hal ketepatan, ketelitian dan kepekaan**

**a. Hasil Penetapan kadar natrium diklofenak secara Spektrofotometri UV dan KCKT dengan uji T test.**

Data yang diperoleh dari penetapan kadar natrium diklofenak dalam sampel dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok data secara Spektrofotometri UV dan secara KCKT. Dua kelompok data tersebut diuji secara statistika dengan uji Kolmogorov Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi normal dan homogen. Kemudian dilanjutkan dengan test T untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna atau tidak dari metode Spektrofotometri UV dan KCKT (Hartono, 2008).

**b. Ketepatan**

Pengukuran ketepatan dari suatu prosedur analisis mencerminkan kedekatan hasil penetapan kadar terukur dengan kadar yang sebenarnya (ICH, 2006). Parameter ini digambarkan dengan nilai rekoverti. Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Anonim, 1995) nilai rekoverti yang baik adalah tidak kurang dari 90,0 % dan tidak lebih dari 110 %.

**c. Ketelitian (*precision*)**

Hasil rata-rata kadar perlu dibandingkan ketelitiannya yaitu dengan cara menghitung standar deviasi (SD) dari masing-masing sampel dan menghitung nilai simpangan baku relatif (RSD).

**d. Kepekaan (*sensitivitas*)**

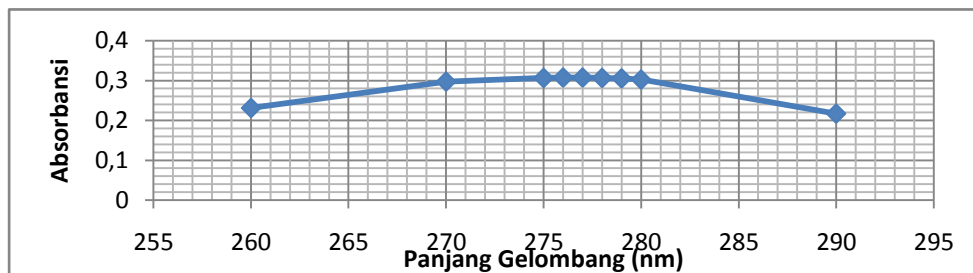
Kepekaan dapat diukur dengan nilai limit deteksi dan limit kuantitasi. Limit deteksi merupakan batas minimal terendah dari suatu analit yang masih bisa terdeteksi, tetapi tidak perlu terkuantitasi. Hal ini membuat nilai *limit of detection* (LOD) perlu diketahui. Untuk menghitung nilai LOD digunakan rumus  $Y = Y_B + 3S_B$ , dimana nilai Y diperoleh dari persamaan kurva baku dan luas area. Nilai LOQ dapat dihitung menggunakan rumus  $Y = Y_B + 10S_B$ .

**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

**A. Spektrofotometri Ultraviolet**

**1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal**

Dalam analisis spektrofotometri, pengukuran harus dilakukan dalam panjang gelombang maksimal, yaitu panjang gelombang yang memberikan serapan optimum. Hasil absorbansi panjang gelombang maksimal dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel I.



**Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimal Natrium diklofenak**

**Tabel I. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal**

No.	Panjang gelombang	Absorbansi
1.	250 nm	0,157
2.	260 nm	0,231
3.	270 nm	0,297
4.	275 nm	0,306
	<b>276 nm</b>	<b>0,307</b>
	277 nm	0,307
	278 nm	0,306
	279 nm	0,305
5.	280 nm	0,302
6.	290 nm	0,217
7.	300 nm	0,132
8.	350 nm	0,003

Panjang gelombang maksimal yang diperoleh adalah 276 nm karena pada puncak kurva tersebut membentuk serapan yang maksimal. Khaskheli *et al.*, (2009) menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimal natrium diklofenak adalah 276 nm.

## 2. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* pada spektrofotometri UV dilakukan dengan cara mengamati absorbansi larutan natrium diklofenak pada waktu-waktu tertentu. Hal ini bertujuan untuk menentukan waktu sempurnanya reaksi dan stabilnya reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi. Hasil absorbansi larutan baku standar natrium diklofenak pada menit ke 0 sampai 60 seperti Tabel II.

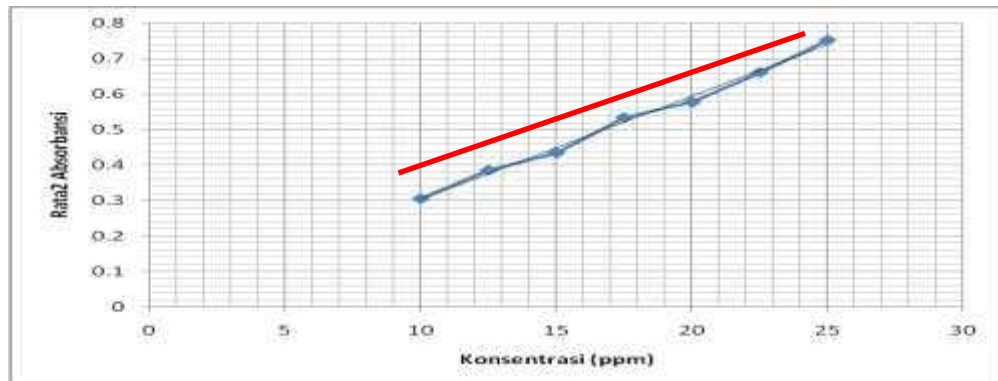
**Tabel II. Penentuan *Operating Time***

Menit ke	Absorbansi
0	0,154
5	0,160
<b>10</b>	<b>0,307</b>
<b>15</b>	<b>0,307</b>
<b>20</b>	<b>0,307</b>
25	0,310
30	0,320
35	0,320
40	0,320
45	0,340
50	0,350
55	0,350
60	0,370

Dari hasil absorbansi di atas dapat diketahui bahwa mulai menit ke-10 hingga menit ke-20 larutan natrium diklofenak tetap stabil. Pembacaan absorbansi yang dipilih adalah 10 menit.

## 3. Pembuatan Kurva Baku

Pembuatan kurva baku natrium diklofenak dilakukan untuk memperoleh persamaan kurva baku yaitu:  $Y = 0,029 X + 0,012$  dengan koefisien korelasi persamaan  $r = 0,993$  (Gambar 2).



**Gambar 2. Kurva Baku Natrium Diklofenak secara Spektrofotometer UV**

#### 4. Perhitungan kadar natrium diklofenak dalam sampel.

Kadar sampel (X) diperoleh dengan memplotkan hasil absorbansi sampel (Y) pada Tabel III ke dalam persamaan kurva baku  $Y = 0,029 X + 0,012$ . Sehingga dapat diperoleh kadar natrium diklofenak dalam sampel. Perhitungan tersebut dilakukan sebanyak 3 kali pada masing-masing sampel, kemudian dari hasil tersebut dibuat rata-rata sehingga didapat kadar rata-rata setiap sampel. Kadar rata-rata natrium diklofenak dalam sampel secara Spektrofotometri UV adalah sampel dengan kadar 10,0  $\mu\text{g/ml}$  (9,4  $\mu\text{g/ml}$ ); kadar 12,5  $\mu\text{g/ml}$  (14,1  $\mu\text{g/ml}$ ); kadar 15,0  $\mu\text{g/ml}$  (16,7  $\mu\text{g/ml}$ ); kadar 17,5  $\mu\text{g/ml}$  (17,9  $\mu\text{g/ml}$ ); kadar 20,0  $\mu\text{g/ml}$  (19,6  $\mu\text{g/ml}$ ); kadar 22,5  $\mu\text{g/ml}$  (22,6  $\mu\text{g/ml}$ ) dan kadar 25,0  $\mu\text{g/ml}$  (25,4  $\mu\text{g/ml}$ ).

**Tabel III. Hasil Absorbansi Sampel secara Spektrofotometri UV**

Konsentrasi Semula ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi Sampel		
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
10,0	0,147	0,139	0,158
12,5	0,210	0,220	0,221
15,0	0,300	0,218	0,246
17,5	0,262	0,272	0,281
20,0	0,296	0,285	0,31
22,5	0,346	0,342	0,332
25,0	0,383	0,367	0,391

#### B. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

##### 1. Optimasi Instrumen KCKT dan Optimasi fase gerak

Hasil optimasi alat dan fase gerak diperoleh waktu alir 1,0 ml/menit dengan panjang gelombang 276 nm.

##### 2. Identifikasi natrium diklofenak dalam sampel

Identifikasi adanya kandungan natrium diklofenak dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi ( $t_R$ ) sampel yang diduga mengandung natrium diklofenak dengan waktu retensi ( $t_R$ ) larutan baku natrium diklofenak. Hasilnya menunjukkan bahwa tujuh seri kadar yang dipilih mengandung natrium diklofenak, hal ini dapat dilihat dari waktu retensi ( $t_R$ ) sampel hampir sama dengan waktu retensi ( $t_R$ ) larutan baku natrium

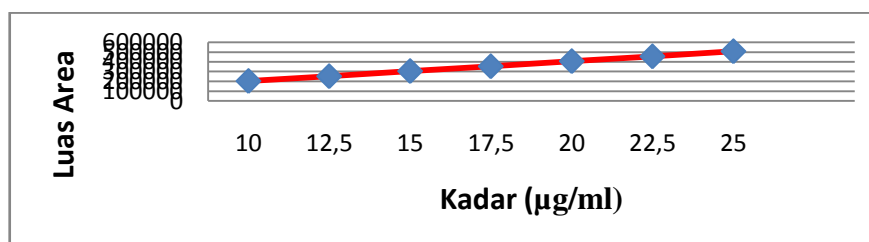
diklofenak. Semua sampel mengandung bahan natrium diklofenak. Hal ini dikarenakan waktu retensi semua sampel mendekati atau hampir sama dengan waktu retensi larutan baku natrium diklofenak dapat dilihat dalam Tabel IV sebagai berikut:

**Tabel IV. Hasil Identifikasi Natrium diklofenak secara KCKT**

Kadar (µg/ml)	t <sub>R</sub> Baku Natrium Diklofenak (menit)	t <sub>R</sub> sampel Replikasi I (menit)	t <sub>R</sub> sampel Replikasi II (menit)	t <sub>R</sub> sampel Replikasi III (menit)
10,0	3.523	3.483	3.490	3.498
12,5		3.482	3.491	3.495
15,0		3.486	3.492	3.499
17,5		3.484	3.494	3.496
20,0		3.483	3.495	3.498
22,5		3.485	3.494	3.496
25,0		3.484	3.492	3.494

### 3. Pembuatan Kurva Baku

Hasil pembuatan kurva baku diperoleh persamaan kurva baku sebagai berikut:  
 $Y = 20332 X - 1566$  dengan koefisien korelasi  $r = 0,999949$  terlihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Kurva Baku Natrium Diklofenak Secara KCKT**

### 4. Perhitungan kadar natrium diklofenak dalam sampel

Kadar natrium diklofenak (X) dalam sampel secara KCKT dihitung dengan memplotkan hasil kromatogram luas area (Y) pada Tabel V sampel dalam persamaan kurva baku yang telah diperoleh yaitu  $Y = 20332 X - 1566$ . Kadar rata-rata natrium diklofenak dalam sampel secara KCKT adalah : sampel dengan kadar 10,0 µg/ml (9,7 µg/ml); kadar 12,5 µg/ml (12,3 µg/ml); kadar 15,0 µg/ml (14,7 µg/ml); kadar 17,5 µg/ml (17,3 µg/ml); kadar 20,0 µg/ml (19,8 µg/ml); kadar 22,5 µg/ml (22,3 µg/ml) dan kadar 25,0 µg/ml (24,8 µg/ml).

**Tabel V. Hasil Kurva Baku Natrium Diklofenak Secara KCKT**

No	Kadar (µg/ml)	Luas area	t <sub>R</sub> (menit)
1.	10,0	202075	3.524
2.	12,5	252168	3.523
3.	15,0	303593	3.521
4.	17,5	354554	3.522
5.	20,0	405108	3.524
6.	22,5	454451	3.522
7.	25,0	507805	3.523

### **C. Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Natrium Diklofenak Dalam Sampel Secara Spektrofotometri UV dan KCKT dalam hal ketepatan, ketelitian dan kepekaan**

Data yang didapat baik spektrofotometri UV maupun KCKT diuji secara statistik dengan melakukan uji pendahuluan adalah uji homogenitas dan normalitas data menggunakan test Kolmogorov Smirnov, dari hasil tersebut diperoleh kesimpulan bahwa data yang diuji normal dan homogen, hal ini dapat dilihat dari nilai Signifikansi 0,000 dan nilai  $P < 0,05$ . Kemudian dilanjutkan dengan uji T test untuk mengetahui data kadar natrium diklofenak berbeda bermakna atau tidak dari dua metode tersebut. Hasil T test menyimpulkan bahwa kadar natrium diklofenak dalam sampel berbeda bermakna secara metode Spektrofotometri UV dan KCKT, hal ini dapat dilihat dari nilai signifikansinya  $0,02 < 0,05$ .

#### **1. Ketepatan**

Pengukuran ketepatan dari suatu prosedur analisis mencerminkan kedekatan hasil penetapan kadar dengan kadar yang sebenarnya (ICH, 2006). Parameter ini digambarkan dengan nilai rekovery dan juga kesalahan sistemik metode. Hasil rekovery yang diperoleh pada spektrofotometri UV adalah 102,8, sedangkan pada KCKT nilai rekovery adalah 98,6 dan menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Depkes RI, 1995) nilai rekovery yang baik adalah tidak kurang dari 90,0 % dan tidak lebih dari 110 %. Rata-rata rekovery menunjukkan bahwa metode analisis KCKT dan spektrofotometri UV memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia dalam hal rekovery, yaitu adalah tidak kurang dari 90,0 % dan tidak lebih dari 110 %. Metode KCKT dan spektrofotometri UV mempunyai ketepatan yang baik dan dapat digunakan untuk analisis kuantitatif natrium diklofenak.

#### **2. Ketelitian**

Hasil penetapan kadar natrium diklofenak dalam sampel secara Spektrofotometri UV dan KCKT telah didapat hasil kadar natrium diklofenak dalam sampel. Hasil rata-rata kadar tersebut perlu dibandingkan ketelitiannya yaitu dengan cara menghitung standar deviasi (SD) dan simpangan baku relatif (RSD) dari masing-masing sampel. Pada kadar rata-rata sampel secara spektrofotometri UV diperoleh nilai RSD rata-rata adalah 2,7%, sedangkan nilai RSD rata-rata pada sampel secara KCKT adalah 0,6%. Suatu metode dikatakan memiliki ketelitian yang baik jika nilai simpangan baku relative (RSD) atau koefisien variasi (CV) lebih kecil dari 5% (Yuwono and Indriyano, 2005). Semakin kecil nilai RSD dan SD maka semakin teliti. Dari hasil di atas terdapat perbedaan antara UV dan KCKT, dimana hasil RSD keduanya tidak melebihi 5% dan dapat dikatakan kedua metode tersebut teliti. Akan tetapi nilai RSD pada KCKT lebih kecil daripada UV. Ini membuktikan bahwa KCKT lebih teliti daripada UV.

#### **3. Sensitivitas (kepekaan)**

Pada penelitian ini di dapat nilai batas deteksi (*Limit of Detection*) secara KCKT sebesar 0,2 µg/ml, sedangkan secara Spektrofotometri UV sebesar 2,9 µg/ml. Nilai LOD ini diperoleh dari perhitungan persamaan kurva baku dan luas area (Y), dimana nilai Y adalah hasil dari penjumlahan  $Y_B + 3S_B$ . Nilai batas kuantitasi (*Limit of Quantification*) secara KCKT adalah sebesar 0,2 µg/ml sedangkan secara Spektrofotometri UV sebesar 7,7 µg/ml. Nilai ini diperoleh dari nilai  $Y_B + 10S_B$ .



## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Kadar rata-rata Natrium Diklofenak secara Spektrofotometri *UV* adalah 17,977 µg/ml. Sedangkan secara KCKT adalah 17,455 µg/ml.
2. Kadar rata-rata Natrium Diklofenak dalam sampel secara spektrofotometri *UV* dan KCKT memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia yaitu memiliki nilai rekoverti yang masih dalam range 90,0 % -110 % dan memiliki nilai CV < 5%. Akan tetapi metode KCKT memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode Spektrofotometri *UV*, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $P < 0,02 < 0,05$  sehingga diantara kedua metode terjadi perbedaan secara bermakna.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian penetapan kadar terhadap produk obat atau sediaan obat seperti tablet, sirup, salep, ataupun tetes mata yang mengandung zat natrium diklofenak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia, Edisi IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal 368, 459
- Demircan, S., Sayin, F., Basci, N.E., Kir, S., and Kocoglan, H., 2005, Determination of Diclofenac in Subretinal and Aqueous Humor Fluids by HPLC with Electrochemical Detector, *FABAD J. Pharm. Sci.*, **30**:33-39
- Emami, J., Ghassami N., Talari R.A., 2007. Rapid and Sensitive Modified HPLC Method for Determination of Diclofenac In Human Plasma and Its Application In Pharmacokinetic Study, *DARU*, **15**(3):132-138
- Hanysova, L., Mokry, M., Kastner, P., and Klimes, J., 2005, HPLC Evaluation of Diclofenac In the Various Form of Therapeutic Preparations, *Chemical Papers*, **59**(2):103-108
- Hartono, 2008, *SPSS 16,0*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, hal 147-148
- International Conference on Harmonization (ICH), 2006, *Validation of Analytical Procedures; Text and Methodology*, European Medicines Agency, London, 1-15
- Kasperek, R., 2008. Determination of Diclofenac Sodium and Papaverine Hydrochloride In Tablets by HPLC Method, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, **65**(4):403-408
- Khaskheli, A.R., Sirajuddin, Abro, K., Sherazi, S. T. H., Afridi, H.I., Mahesar, S.A., and Saeed, M., 2009. Simpler and Faster Spectrophotometric Determination of Diclofenac Sodium in Tablets, Serum and Urine Samples, *Pakistan Journal Anal. Environ. Chem*, **10**(1-2):53-58
- Lohe, R.W., Suruse, P.B., Kale, M.K., Barethiya, P.R., Kasture, A.V., and Lohe, S.W., 2008, Spectrophotometric Methods for Simultaneous Estimation of Rabepazole and Diclofenac from Combined Tablet Dosage Form, *Asian J. Research Chem*, **1**(1):26-28
- Nesya, A., 2011, Perbandingan Penetapan Kadar Natrium Benzoat Pada Lima Produk Soft Drink Secara Spektrofotometri *UV* Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Skripsi*, Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang
- Rohman, A., dan Sumantri, 2006, *Analisis makanan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal 87
- Shafiee, A., Amini, M., and Hajmahmodi, M., 2003. Improved Chromatographic Method for Determination of Diclofenac sodium In Injectable Solution and Prediction of Chemical Stability, *Journal of Sciences*, Islamic Republic of Iran, **14**(1):21-25
- Sznitowska, M., and Stokrocka, M., 2007, Determination of Diclofenac Released From Suppositories Using UV Spectrophotometry, Spectra Derivative Spectrophotometry and HPLC, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, **63**(5):401-405

- Wardani, A.P., 2011, Perbandingan Penetapan Kadar Natrium Benzoat Pada Lima Produk Sirup Secara Spektrofotometri UV Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Skripsi*, Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang
- Yuwono, M. and Indriyano, G., 2005, Validation of Chromatographic Methods of Analysis, in: (Brittain, H., Ed): *Profil of Drugs Substances, Excipients Related Methodology*, Volume 32, hal 243-258