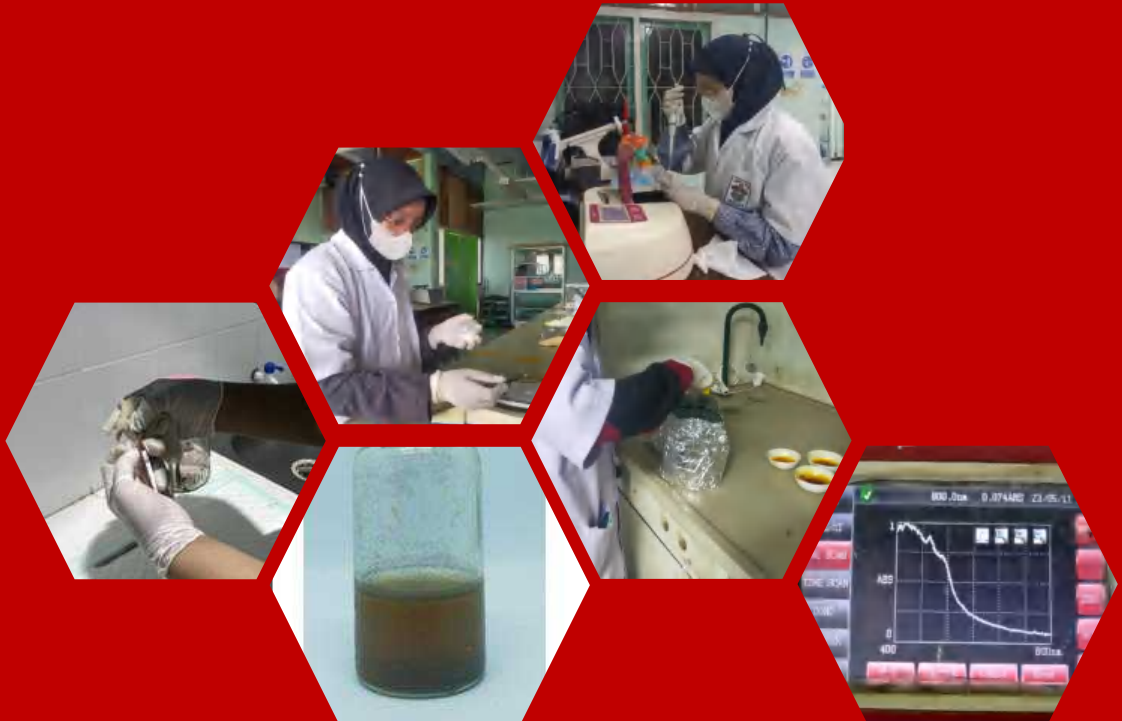


**VALIDASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis UNTUK
MENGUKUR KLINDAMISIN PADA JARINGAN KULIT TIKUS**



**IIS NURUL RAHMADANI
N011 20 1133**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Optimization Software:
www.balesio.com**

**VALIDASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis
UNTUK MENGUKUR KLINDAMISIN PADA JARINGAN KULIT
TIKUS**

**IIS NURUL RAHMADANI
N011201133**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**VALIDASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis UNTUK
MENGUKUR KLINDAMISIN PADA JARINGAN KULIT TIKUS**

IIS NURUL RAHMADANI
N011201133

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
DEPARTEMEN FARMASI SAINS DAN TEKNOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



Optimization Software:
www.balesio.com

SKRIPSI
VALIDASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis
UNTUK MENGUKUR KLINDAMISIN PADA JARINGAN KULIT
TIKUS

IIS NURUL RAHMADANI
N011201133

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi pada
26 Juli 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada



Mengesahkan:

Pembimbing tugas akhir,



Mengetahui:

Ketua Program Studi,



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc.,
Ph.D., Apt.

Pro M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Validasi Metode Analisis Spektrofotometri UV-Vis untuk Mengukur Klindamisin Pada Jaringan Kulit Tikus" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Andi Dian Permana, M.Si., Ph.D., Apt. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 26-07-2024



IIS NURUL RA. MADANI
NIM N011201133



Optimization Software:
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan dari Bapak Prof. Andi Dian Permana, M.Si., Ph.D., Apt. sebagai dosen pembimbing. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada beliau. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Ibu Sumiati, S.Si yang telah mengizinkan saya untuk melaksanakan penelitian dan menggunakan fasilitas serta peralatan di Laboratorium Farmasetika. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Bapak Rangga Meidianto Asri, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. sebagai dosen pengarah akademik dalam memberikan nasehat dan saran dalam proses penyelesaian skripsi ini.

Saya mengucapkan terima kasih atas beasiswa Cendekia Baznas yang diberikan selama menempuh program pendidikan sarjana. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program sarjana serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada adik saya tercinta dan seluruh keluarga atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai. Kepada tim PKM klindamisin dan keluarga PKM DDS'23 atau posokaa, saya mengucapkan terima kasih atas kerja sama dan dukungan selama pengerjaan penelitian.

Penulis,

Iis Nurul Rahmadani



ABSTRAK

IIS NURUL RAHMADANI. **Validasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur klindamisin pada jaringan kulit tikus** (dibimbing oleh Andi Dian Permana)

Latar belakang. Klindamisin (KLI) merupakan salah satu antibiotik yang direkomendasikan untuk pengobatan *Diabetic Foot Infection* (DFI) akibat *Staphylococcus aureus*. Sediaan KLI yang beredar memiliki potensi untuk menyebabkan resistensi antibiotik karena mengurangi bioavailabilitas KLI di area target. Dalam mendukung pengembangan penghantaran KLI pada jaringan kulit tikus, sehingga diperlukan metode analisis yang sensitif, selektif dan valid. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan mengetahui cara menentukan validasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis dengan agen kolorimetri untuk mengukur klindamisin pada jaringan kulit tikus. **Metode.** Penelitian dibagi ke dalam beberapa tahap, yakni 1) pembuatan ekstrak teh hijau dan AgNO_3 (AgNT) sebagai agen kolorimetri; 2) pengukuran panjang gelombang dan kurva baku klindamisin pada jaringan kulit tikus; dan 3) validasi metode analisis. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan koefisien korelasi (R) $\geq 0,9999$ dengan nilai LOD 0,76 $\mu\text{g/mL}$ dan LLOQ sebesar 2,31 $\mu\text{g/mL}$. Metode ini juga memenuhi kriteria akurasi dan presisi *intra-day* dan *inter-day* dengan %RSD sebesar $<15\%$. **Kesimpulan.** Metode analisis spektrofotometri UV-Vis klindamisin pada jaringan kulit tikus dinyatakan sensitif, selektif dan valid berdasarkan kriteria yang ditetapkan oleh International Council for Harmonisation (ICH).

Kata kunci: klindamisin, validasi, spektrofotometri UV-Vis, jaringan kulit



ABSTRACT

IIS NURUL RAHMADANI. **Validation of UV-Vis spectrophotometry analysis method for measuring clindamycin in rat skin tissue** (supervised by Andi Dian Permana)

Background. Clindamycin (CLY) is the most recommended antibiotic for the treatment of Diabetic Foot Infection caused by *Staphylococcus aureus*. The CLY administration have a potential towards antibiotic resistance because it can reduce bioavailability of CLY in the target area. To support the development of CLY administration on rat skin tissue, an analytical method should be sensitive, selective, and valid. **Aim.** The research aims to assessed the validation method of UV-Vis spectrophotometric analysis with colorimetric agent to measure clindamycin in rat skin tissue. **Methods.** The research consisted a few of serial steps, *i.e.* 1) preparation of green tea extract and AgNO₃ (AgNT) as colorimetric agent; 2) measurement of the wavelength and calibration curve of clindamycin in rat skin tissue; and 3) validation of analytical methods. **Results.** The results obtained showed a correlation coefficient (R) ≥ 0.9999 with an LOD value of 0.76 $\mu\text{g/mL}$ and LLOQ of 2.31 $\mu\text{g/mL}$. This method was also suitable with the acceptance criteria for intra-day and inter-day of accuracy and precision with %RSD of <15%. **Conclusion.** The analytical method UV-Vis spectrophotometry of clindamycin in rat skin tissue was indicated sensitive, selective and valid that are suitable with the acceptance criteria issued by International Council for Harmonisation (ICH).

Keywords: clindamycin, validation, UV-Vis spectrophotometry, skin tissue



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Manfaat	3
BAB II. METODE PENELITIAN.....	4
2.1 Tempat dan Waktu	4
2.2 Bahan dan Alat.....	4
2.3 Metode Penelitian	4
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1 Hasil	7
3.2 Pembahasan	11
BAB IV. KESIMPULAN.....	15
DAFTAR PUSTAKA.....	16
LAMPIRAN.....	18



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Ekstraksi KLI dengan metanol dan asetonitril dari jaringan kulit tikus	7
2. LOD dan LLOQ KLI pada jaringan kulit tikus	8
3. Presisi dan akurasi KLI <i>inter-day</i> dan <i>intra-day</i>	10
4. <i>Extraction recovery</i> KLI di jaringan kulit tikus	10
5. Metode ekstraksi KLI di jaringan kulit tikus	19
6. Penentuan LOD dan LLOQ KLI pada jaringan kulit tikus	21
7. Penentuan akurasi dan presisi <i>inter-day</i>	22
8. Penentuan akurasi dan presisi <i>intra-day</i>	22
9. Data konsentrasi KLI dalam larutan murni	24
10. Penentuan <i>extraction recovery</i>	24



DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Kurva kalibrasi KLI pada jaringan kulit tikus	8
2. Spektrum UV-Vis KLI di jaringan kulit tikus	9
3. Ekstrak teh hijau, AgNO ₃ 1 mM, larutan AgNT	9
4. Struktur senyawa klindamisin	13
5. Representasi skematis reduksi Ag ⁺ oleh senyawa polifenol	13
6. Kurva baku klindamisin.....	20
7. Preparasi sampel jaringan kulit tikus	25
8. Pembuatan AgNT	25
9. Penyiapan larutan stok KLI.....	25
10. Pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis	26
11. Pembuatan bubur jaringan kulit tikus	26



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Skema kerja penelitian	18
2. Data hasil validasi penetapan metode ekstraksi	19
3. Perhitungan persamaan regresi linear	20
4. Penentuan LOD dan LLOQ	21
5. Penentuan akurasi dan presisi	22
6. Penentuan <i>extraction recovery</i>	24
7. Dokumentasi penelitian	25



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit yang menyumbang angka kematian terbesar yaitu sekitar 6,7 jiwa pada populasi usia produktif di tahun 2021. Tingginya angka kematian ini disebabkan oleh DM dan komplikasinya (Webber, 2021). DM dapat menimbulkan berbagai macam komplikasi penyakit, yaitu *diabetic foot ulcer* (DFU) sebagai penyebab dari *diabetic foot infection* (DFI) yang 2,5 kali lebih mematikan dibandingkan dengan komplikasi DM lainnya (Sorber & Abularrage, 2021). DFI merupakan penyakit komplikasi DM berupa infeksi yang umumnya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) pada area kaki pada lapisan kulit hingga mencapai tulang (Hung et al., 2022).

Klindamisin (KLI) sebagai antibiotik terapi pilihan utama dalam mengatasi infeksi *S.aureus* yang direkomendasikan oleh U.S Food and Drug Administration. Sediaan beredar KLI pada terapi DFI tersedia dengan rute oral seperti kapsul dan suspensi, serta rute intravena. Namun, pada sediaan oral memiliki banyak kekurangan yang disebabkan oleh karakteristik KLI yang diklasifikasikan ke dalam *Biopharmaceutical Classification System Class III* dengan kemampuan penetrasi yang buruk sehingga menurunkan bioavailabilitas KLI di area target sehingga dapat menyebabkan resistensi (Álvarez et al., 2022). Selain itu, terapi KLI secara intravena dapat menyebabkan distribusi antibiotik yang tidak selektif terhadap bakteri, resistensi, indurasi, dan iritasi di area suntikan (Murphy et al., 2023). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan sistem penghantaran KLI melalui rute dermal untuk meningkatkan efektivitas terapi DFI pada jaringan kulit.

Dalam pengembangan sistem penghantaran obat baru, diperlukan kesesuaian metode analisis yang digunakan untuk melakukan berbagai pengujian dan karakterisasi. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan validasi

KLI menggunakan HPLC (*High Performance Liquid* and LC–MS/MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*). Sebut memerlukan biaya yang tinggi, waktu yang lebih lama, keahlian tertentu, sehingga diperlukan metode analisis mengukur KLI pada sampel biologis. Instrumen yang dapat



digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis yang lebih sederhana, mudah untuk digunakan, dan ekonomis (Rahmadani et al., 2023). Penerapan spektrofotometer UV-Vis telah banyak digunakan di hampir semua laboratorium ilmiah dan menjadikannya alat serbaguna dalam pengembangan obat yang dapat memberikan hasil yang sesuai, penelitian ini juga dilakukan dengan melibatkan validasi metode analisis berdasarkan pedoman ICH seperti selektivitas, linearitas, akurasi, presisi, *limit of detection* (LOD), *limit of quantification* (LOQ) dan *extraction recovery* (Azis et al., 2022).

Adanya faktor fisiologis dapat mempengaruhi kandungan obat pada organ/jaringan tertentu (Rahmadani et al., 2023). Pada jaringan kulit terdapat beberapa zat yang dapat mengganggu hasil pengukuran seperti ceramide, asam lemak, kolesterol, dan sterol ester (Pereira et al., 2018). Oleh karena itu, perlu dikembangkan sebuah metode alternatif yang dapat menghilangkan interferensi sehingga diperoleh hasil pengukuran yang tepat. Metode alternatif yang dapat digunakan yaitu dengan penambahan agen kolorimetri yang lebih sederhana, ekonomis, mudah untuk diperoleh, dan memungkinkan terjadinya pergeseran panjang gelombang KLI dari daerah UV ke daerah *visible* (Rahmadani et al., 2023).

Penggunaan AgNO_3 sebagai agen kolorimetri telah diaplikasikan pada beberapa bentuk sediaan farmasi. Namun, penggunaan Ag dapat mengurangi efek terapeutik obat dan menyebabkan timbulnya gejala yang tidak diinginkan, hal ini disebabkan oleh penggunaan komponen bahan kimia lainnya seperti pelarut dan zat yang bersifat toksik (Ebrahimi et al., 2022). Pada penelitian yang dilakukan oleh Permana et al., 2021 menggunakan kombinasi pereaksi AgNO_3 dan ekstrak teh (*Camellia sinensis*) untuk menggeser panjang gelombang ke daerah *visible*. Dibandingkan tanaman lainnya, ekstrak teh kaya akan kandungan senyawa polifenol khususnya senyawa katekin yang bertindak sebagai zat pereduksi sekaligus agen enkapsulasi Ag (Permana et al., 2021). Sehingga,

Ag terdapat pada kulit tidak akan mengganggu hasil analisis. Penelitian ini bertujuan untuk validasi metode analisis UV-Vis KLI pada jaringan kulit tikus untuk kuantifikasi KLI yang dalam studi dermatokinetik pada jaringan kulit.



1.2 Tujuan dan Manfaat

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka tujuan dan manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui cara menentukan parameter validasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur klindamisin pada jaringan kulit tikus.
2. Untuk mengetahui pengaruh agen kolorimetri terhadap parameter validasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur klindamisin pada jaringan kulit tikus.

