

MODUL
PRAKTIKUM ANALISIS OBAT
(FARP531)



Disusun oleh:
apt. Dian Purwita Sari, M.Biotech.

PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO
YOGYAKARTA
2023 / 2024

KATA PENGANTAR

Modul Praktikum Analisis Obat adalah petunjuk tata laksana mata kuliah Praktikum Analisis Obat (FARP531) yang harus dilaksanakan oleh mahasiswa semester IV Program Studi S1 Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta tahun ajaran 2023/2024. Panduan ini bukan merupakan referensi yang dapat dijadikan pustaka baku untuk sebuah makalah ataupun laporan, dengan demikian mahasiswa diharapkan untuk tetap mempelajari buku-buku referensi sekunder lain terkait keilmuan Analisis Obat guna menambah pengetahuan dan memperkuat pemahaman atas ilmu yang dipelajari dan praktikum yang dikerjakan.

Modul panduan Praktikum Analisis Obat ini merupakan pengembangan berbagai referensi yang tercantum dalam daftar pustaka, dalam rangka memberikan bekal keterampilan dan keilmuan yang relevan bagi mahasiswa S1 Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta. Namun demikian, masih terdapat banyak kekurangan dan masih memerlukan berbagai penyempurnaan lebih lanjut. Untuk itu, berbagai hal yang belum terakomodir dalam modul ini, akan diatur kemudian dalam proses pembelajaran Praktikum Analisis Obat. Selain itu, sangat diharapkan kritik dan saran bagi kelengkapan dan perbaikan modul ini.

Sebagai penutup, penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah ikut membantu dalam mewujudkan modul praktikum ini.

Yogyakarta, Februari 2024

Tim penyusun
apt. Dian Purwita Sari, M.Biotech.

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	1
Daftar Isi	2
Tata Tertib Praktikum Analisis Obat	3
Format Laporan Praktikum.....	4
Praktikum 1 Analisis Kadar Obat untuk Kontrol Kualitas Produk Sediaan Farmasi	6
Praktikum 2 Analisis Bahan Kimia Obat pada Sediaan Obat Tradisional	9
Praktikum 3 Analisis Kandungan Flavonoid Total dalam Bahan Baku Tanaman atau Obat Tradisional	12
Praktikum 4 Analisis Obat pada Sampel Hayati	15
Praktikum 5 Analisis Narkotika dan Psikotropika	18
Daftar Pustaka	21

TATA TERTIB PRAKTIKUM KIMIA ANALISIS

1. Setiap peserta harus hadir tepat pada waktu yang telah ditentukan. Apabila peserta terlambat lebih dari 15 (lima belas) menit dari waktu yang telah ditentukan, maka mahasiswa tidak diperkenankan mengikuti praktikum pada hari itu dan diwajibkan mengikuti praktikum pada hari lain (inhal untuk percobaan tersebut).
2. Selama mengikuti praktikum, peserta harus memakai sepatu (dilarang mengenakan sandal atau sepatu sandal) dan jas praktikum berwarna putih dan dikancingkan dengan rapi.
3. Setiap peserta wajib membuat laporan sementara sebelum mengikuti praktikum yang formatnya sudah ditentukan.
4. Setiap peserta wajib membuat catatan data praktikum dan ditandatangani dosen/asisten setelah selesai suatu acara praktikum.
5. Setiap peserta wajib membuat laporan akhir praktikum dan dikumpulkan sebelum mengikuti praktikum berikutnya.
6. Setiap peserta harus mengembalikan alat-alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering. Sebelum meninggalkan ruang praktikum, peserta harus mengembalikan botol-botol bahan kimia yang telah ditutup rapat ke tempat semula.
7. Setiap peserta harus **menjaga kebersihan dan kerapihan laboratorium**, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama mengikuti praktikum, peserta harus bersikap sopan, baik dalam berbicara maupun bergaul.
8. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K3).
9. Dapatkan nasehat/keterangan dari dosen atau asisten mengenai segala sesuatu yang berkaitan dengan hal yang kurang jelas sebelum melakukan percobaan.
10. Semua mahasiswa tidak dibenarkan bekerja di dalam laboratorium tanpa kehadiran dosen/ asisten praktikum.
11. Mahasiswa yang sakit atau memiliki keperluan mendesak sehingga tidak dapat mengikuti praktikum pada hari yang telah terjadwal, diperbolehkan inhal (menunda praktikum) dengan mengirim surat ijin/permohonan praktikum inhal kepada dosen yang mengampu.
12. Apabila peserta praktikum melanggar hal-hal yang telah diatur di atas maka yang bersangkutan dapat dikeluarkan dari laboratorium dan tidak diperkenankan untuk melanjutkan praktikum pada hari itu. Kegiatan praktikum dinyatakan batal dan tidak diijinkan untuk inhal.
13. Hal-hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian.

FORMAT LAPORAN SEMENTARA


Penyusunan laporan sementara mengikuti format sebagai berikut:

JUDUL PRAKTIKUM
Nama mahasiswa : NIM :
I. TUJUAN
II. DASAR TEORI
III. ALAT DAN BAHAN
IV. PROSEDUR KERJA Prosedur kerja dituliskan secara skematis, berupa diagram alir.
V. DATA DAN KALKULASI

FORMAT LAPORAN AKHIR

Penyusunan laporan akhir mengikuti format sebagai berikut:

Halaman sampul:

PRAKTIKUM ANALISIS OBAT JUDUL PRAKTIKUM

Nama Mahasiswa NIM Hari/tanggal praktikum
Nama dosen pengampu Nama asisten pendamping
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA 2024

Halaman isi, memuat:

JUDUL PRAKTIKUM	
I. TUJUAN	} Merupakan laporan sementara yang telah mendapatkan acc.
II. DASAR TEORI	
III. ALAT DAN BAHAN	
IV. PROSEDUR KERJA	
V. DATA DAN KALKULASI	
VI. PEMBAHASAN	
VII. KESIMPULAN	
VIII. DAFTAR PUSTAKA	
Dosen Pengampu	Praktikan
ttd	ttd
Nama Dosen	Nama mahasiswa

PRAKTIKUM 1

ANALISIS KADAR OBAT UNTUK KONTROL KUALITAS PRODUK SEDIAAN FARMASI

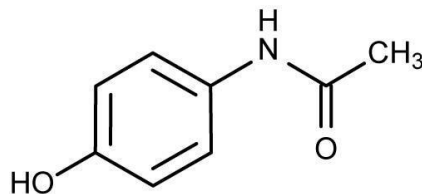
Tujuan

Mahasiswa dapat melakukan analisis kadar obat parasetamol pada produk jadi sediaan farmasi dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Landasan Teori

Obat merupakan bahan atau paduan bahan, termasuk produk biologi yang digunakan untuk mempengaruhi atau menyelidiki sistem fisiologi atau keadaan patologi dalam rangka penetapan diagnosis, pencegahan, penyembuhan, pemulihan, peningkatan kesehatan dan kontrasepsi, untuk manusia. Dalam proses pembuatan obat dibutuhkan bahan atau campuran bahan zat aktif lain yang apabila digunakan dapat menciptakan khasiat farmakologi atau efek langsung dalam diagnosis, penyembuhan, peredaan, pengobatan atau pencegahan penyakit, atau untuk memengaruhi struktur dan fungsi tubuh (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2011).

Parasetamol (asetaminofen) adalah obat analgesik (penahan rasa sakit atau nyeri) dan anti-piretik (penurun panas atau demam) yang aman, efektif, dapat ditoleransi dengan baik, dan murah dengan efek samping yang relatif sedikit bila digunakan pada dosis terapeutik yang dianjurkan. Parasetamol pertama kali diperkenalkan pada tahun 1955 untuk aplikasi klinisnya dalam menyembuhkan demam, sakit kepala dan rasa nyeri, kemudian sejak saat itu mulai banyak digunakan secara luas hampir di seluruh dunia (Ibrahim, dkk, 2013). Parasetamol sering sekali diresepkan dalam bentuk campuran dengan obat lain. Obat ini dapat ditemukan dalam berbagai macam sediaan seperti tablet, kaplet, kapsul, sirup, dan serbuk.



Gambar 1. Struktur Molekul Parasetamol (Asetaminofen)

Pada industri farmasi, pengawasan mutu merupakan salah satu bagian dari Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB) untuk memberikan kepastian bahwa produk mempunyai mutu yang sesuai dengan tujuan pemakaiannya, agar hasil produksi yang dipasarkan memenuhi persyaratan CPOB. Pada persyaratan ini perlu dilakukan penetapan kadar parasetamol dalam tablet, yang menurut persyaratan Farmakope Indonesia (FI) Edisi IV tahun 1995 yaitu tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%. Besarnya kadar zat aktif parasetamol dalam sediaan obat tablet yaitu 500 mg (Werner, dkk, 2010). Kadar yang tidak sesuai dengan kadar yang telah ditetapkan pada suatu senyawa obat akan mempengaruhi efek terapi yang diharapkan dan dapat menimbulkan hal-hal buruk, baik ditunjukkan dengan timbulnya efek samping yang tidak diinginkan ataupun timbulnya efek toksisitas yang dapat membahayakan bagi konsumen obat tersebut. Oleh karena itu, penetapan kadar parasetamol sangat penting dilakukan untuk mengetahui ketepatan kadar parasetamol dalam sediaan tablet tersebut.

Metode yang digunakan untuk penetapan kadar parasetamol dalam praktikum ini yaitu metode spektrofotometri UV-Visible. Spektrofotometri adalah teknik analisis yang menggunakan cahaya untuk mengukur konsentrasi suatu bahan kimia. Dalam uraian ini,

hanya dibatasi pada penggunaan cahaya di daerah ultraviolet (UV) yaitu antara panjang gelombang (λ) 200-400 nm yang memiliki energi setara dengan 72-150 kcal/mol, dan pada daerah sinar tampak (VIS, visible) yaitu antara panjang gelombang 400-800 nm yang memiliki energi setara dengan 36-72 kcal/mol. Rentang energi pada kisaran tersebut seringkali berhubungan dengan perbedaan energi antara keadaan elektron beberapa molekul. Transisi elektron dalam suatu molekul dapat terjadi apabila molekul tersebut menyerap energi yang sesuai dengan besarnya energi untuk keperluan tersebut.

Metode spektrofotometri UV-Vis untuk analisis parasetamol (Sayuthi dan Kurniawati, 2017) dilakukan dalam pelarut etanol 96%. Panjang gelombang maksimal diperkirakan antara 247-248 nm (Sayuthi dan Kurniawati, 2017), dan atau 310 nm (Pudjono, 2019). Sejumlah parameter validitas metode analisis antara lain, linieritas diperoleh nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9974 dengan nilai LOD yang diperoleh sebesar 0,8161 mg/L dan LOQ sebesar 2,7204 mg/L. Kestabilan untuk larutan standar parasetamol sampai menit ke 14.

Alat dan Bahan

Alat:

1. Timbangan digital analitik
2. Spektrofotometer UV-Vis
3. Kuvet kwarsa
4. Labu takar
5. Pipet volume
6. Pipet ukur
7. Pro pipet
8. Mikropipet
9. Yellow tip, blue tip
10. Erlenmeyer atau gelas beker
11. Mortir stamper
12. Corong gelas

Bahan:

1. Standard murni parasetamol
2. Sampel tablet parasetamol
3. Etanol 96%
4. Kertas saring whatman no 42

Prosedur Kerja

1. Pembuatan larutan induk parasetamol konsentrasi 400 ppm.
Serbuk standar parasetamol ditimbang sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas.
2. Penetapan panjang gelombang maksimum.
Larutan standar parasetamol dengan konsentrasi 6 ppm dibuat dengan cara memipet sebanyak 0,375 mL dari larutan induk parasetamol kemudian dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, encerkan dengan etanol sampai tanda batas, gojog sampai homogen dan ukur panjang gelombang maksimumnya pada rentang panjang gelombang antara 200-400 nm.
3. Penetapan *operating time*.
Larutan standar parasetamol dengan konsentrasi 6 ppm tersebut digojog hingga homogeny, ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum sampai diperoleh absorbansi yang relatif konstan dengan rentang pembacaan setiap 2 menit sekali selama 20 menit.

4. Pembuatan kurva baku.

Dari larutan induk 400 ppm dibuat larutan baku dengan seri konsentrasi 2; 4; 6; 8 dan 10 ppm sebanyak 25 mL. Larutan seri tersebut kemudian diukur serapannya masing-masing pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebanyak 2 kali pembacaan. Data hasil absorbansi yang diperoleh, selanjutnya dihitung persamaan kurva bakunya sehingga diperoleh persamaan garis $y = a + bx$.

5. Penetapan kadar sampel

Sepuluh tablet sampel uji yang telah memenuhi keseragaman bobot kemudian digerus hingga halus dan homogen, timbang sebanyak 20 mg dan larutkan dengan etanol, saring dengan kertas saring Whatman no. 42 dan masukkan dalam labu takar 50 mL, terakhir tera dengan etanol sampai tanda batas. Larutan tersebut dipipet sebanyak 0,25 mL, kemudian diencerkan dengan etanol hingga konsentrasi 4 ppm sebanyak 25 mL. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang maksimum. Apabila serapan dari larutan sampel uji masih berada di luar range serapan larutan standar, maka larutan diencerkan hingga serapannya masuk di dalam range. Penetapan kadar dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali.

PRAKTIKUM 2

ANALISIS BAHAN KIMIA OBAT PADA SEDIAAN OBAT TRADISIONAL

Tujuan

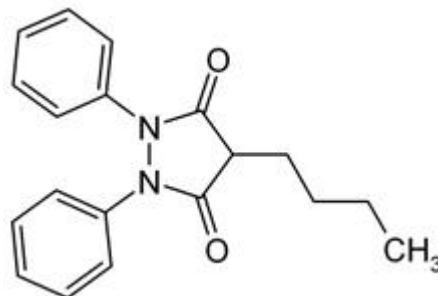
Mahasiswa dapat melakukan analisis bahan kimia obat (BKO) pada produk jadi sediaan obat tradisional pegal linu secara kualitatif maupun kuantitatif.

Landasan Teori

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku, obat tradisional dilarang menggunakan bahan kimia hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat, narkotika atau psikotropika dan hewan atau tumbuhan yang dilindungi (BPOM RI, 2006). Salah satu produk obat tradisional yang banyak diminati oleh masyarakat adalah Jamu pegel linu. Jamu pegel linu digunakan untuk menghilangkan pegel linu, nyeri otot dan tulang, memperlancar peredaran darah, memperkuat daya tahan tubuh dan menghilangkan sakit seluruh badan (Wahyuni dan Tanti 2004).

Minat masyarakat yang besar terhadap produk jamu pegel linu sering kali disalahgunakan produsen jamu yang nakal untuk menambahkan bahan kimia obat. Pemakaian bahan kimia obat dalam jangka panjang menyebabkan kerusakan fungsi organ tubuh. Oleh karena itu dibutuhkan pengawasan oleh BPOM supaya tidak beredar bahan kimia obat yang ditambahkan dalam jamu pegel linu (BPOM RI 2009). Badan POM RI (2009) telah memberikan peringatan keras kepada produsen jamu dan memerintahkan untuk menarik produk serta memusnahkannya, membatalkan nomor pendaftaran produk bahkan mengajukannya ke Pengadilan.

Namun demikian berdasarkan pemantauan Badan POM RI, diantara produk-produk jamu yang mengandung BKO masih ditemukan di toko jamu. Kasus serupa terulang pada akhir tahun 2010 dimana 46 produk jamu ditarik dari peredaran. Jamu-jamu yang ditarik dari peredaran tersebut oleh Badan POM justru merupakan jamu-jamu yang laris di pasaran karena efeknya yang cepat dalam mengobati berbagai penyakit seperti pegal linu, rematik, sesak napas, masuk angin dan suplemen kesehatan. Bahan-bahan kimia berbahaya yang digunakan meliputi metampiron, fenilbutazon, deksametason, allopurinol, CTM, sildenafil sitrat, tadalafil dan parasetamol. Obat-obat yang mengandung bahan-bahan kimia tersebut memiliki efek samping berbahaya. Misalnya jamu yang mengandung fenilbutazon dapat menyebabkan peradangan lambung dan dalam jangka panjang akan merusak hati dan ginjal (Badan Pengawasan Obat & Makanan RI, 2010).



Gambar 2. Struktur molekul fenilbutazon

Fenilbutazon adalah obat untuk terapi ankilosing spondolitis yang dapat menyebabkan radang tenggorokan, sariawan, memar, demam, malaise, ruam kulit pada kondisi tertentu. Efek samping pemberian fenilbutazon adalah parotitis, stomatitis, gondong, pankreatitis,

hepatitis, nefritis, gangguan penglihatan; leukopenia jarang, trombositopenia, agranulositosis, anemia aplastik, eritema multiforma (sindrom Stevens-Johnson) nekrosis epidermal toksik (sindrom Lyell), toksisitas paru-paru. Perlu dilakukan *Therapy Drug Monitoring* (TDM) pada penggunaan fenilbutazon yaitu menghitung darah sebelum dan selama pengobatan jika digunakan lebih dari 7 hari, mengurangi dosis pada pasien lansia, perhatian khusus pada pasien menyusui dan pasien yang memiliki kelainan alergi serta penghentian pengobatan jika muncul sindrom paru akut termasuk demam dan *dyspnea*. Selanjutnya, Natrium diklofenak adalah obat terapi awal dan akut untuk rematik yang disertai inflamasi dan degeneratif (arthritis rematoid, ankylosing spondylitis, osteoarthritis dan spondylarthritis), sindroma nyeri dan kolumna vertebralis, rematik non-artikular, serangan akut dari gout dan nyeri pascabedah. Natrium diklofenak termasuk golongan AINS yang dapat meningkatkan risiko kejadian trombotik kardiovaskuler serius, infark miokard, dan stroke, yang dapat fatal. Kejadian ini meningkat dengan lama penggunaan. Pasien dengan penyakit kardiovaskuler atau faktor risiko penyakit kardiovaskuler mempunyai risiko lebih besar. AINS dapat meningkatkan risiko kejadian efek samping gastrointestinal serius seperti pendarahan lambung, ulserasi, dan perforasi usus dan lambung, yang dapat fatal. Kejadian ini tidak dapat diduga sebelumnya dan tidak pasti kapan terjadinya. Pasien usia lanjut mempunyai risiko lebih besar untuk efek samping gastrointestinal ini. Oleh karena itu, penggunaan fenilbutazon dan natrium diklofenak sebaiknya hati-hati.

Alat dan Bahan

Alat:

1. Timbangan digital analitik
2. Sonicator (untuk efisiensi ekstraksi)
3. Spektrofotometer UV-Vis
4. Kuvet kwarsa
5. Labu takar
6. Pipet volume
7. Pipet ukur
8. Pro pipet
9. Mikropipet
10. Yellow tip, blue tip
11. Erlenmeyer atau gelas beker
12. Mortir stamper
13. Corong gelas
14. Chamber KLT

Bahan:

1. Standard murni fenilbutazon
2. Standard murni Na-diklofenak
3. Sampel jamu, obat tradisional pegal linu.
4. Plat KLT Silica Gel GF 254
5. Eppendorf
6. Conical tube 15 mL
7. Toluena (p.a)
8. Aseton (p.a)
9. Sikloheksan (p.a)
10. Kloroform (p.a)
11. Metanol (p.a)
12. NaOH
13. Kertas saring

Prosedur Kerja

1. Preparasi sampel

Sampel sebanyak 400 mg dilarutkan dalam metanol sampai 10 mL, homogenkan dengan disonifikasi selama 30 menit kemudian disaring.

2. Analisis Kualitatif dengan KLT

Analisis kualitatif dilakukan menggunakan KLT dengan jarak pengembangan masing-masing 8 cm dan fase gerak:

- a. Analisis Natrium diklofenak

Fase gerak = Toluena : aseton (1:2)

b. Analisis Fenilbutazon

Fase gerak = Sikloheksan : kloroform : metanol (60:30:10)

3. Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel yang menunjukkan hasil positif pada uji kualitatif, diuji lebih lanjut secara kuantitatif.

a. Pembuatan kurva baku

1). Natrium diklofenak

Stok larutan standar natrium diklofenak konsentrasi 0,1% menggunakan pelarut metanol digunakan untuk membuat larutan seri konsentrasi 5 µg/mL; 7 µg/mL; 9 µg/mL; 11 µg/mL; 13 µg/mL; 15 µg/mL; dan 17 µg/mL. Larutan tersebut disimpan pada suhu 2-8 °C dan dilindungi dari cahaya.

2). Fenilbutazon

Stok larutan standar fenilbutazon konsentrasi 0,1% dibuat menggunakan pelarut metanol digunakan untuk membuat larutan seri konsentrasi 3 µg/mL; 5 µg/mL; 7 µg/mL; 9 µg/mL; dan 11 µg/mL dalam Natrium Hidroksida 0,1N. Larutan stok disimpan pada -20 °C.

Masing-masing standar Na-diklofenak dan Fenilbutazon dibuat seri konsentrasi dari larutan standar yang kemudian dibaca dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimal.

b. Analisis kuantitatif

Ditimbang 400 mg sampel dilarutkan metanol 10 mL kemudian disonikator selama 30 menit dan disaring, diambil 25 µL ditambahkan metanol sampai 5 mL kemudian dibaca pada panjang gelombang maksimal 276 nm Hasil penotolan pada KLT yang mempunyai Rf sama dengan larutan standar fenilbutazon dilakukan penetapan kadar, ditimbang 400 mg sampel dilarutkan metanol 10 mL kemudian disonikator selama 30 menit dan disaring, diambil 25 µL ditambahkan Natrium hidroksida 5 mL kemudian dibaca pada panjang gelombang maksimal 264 nm.

PRAKTIKUM 3

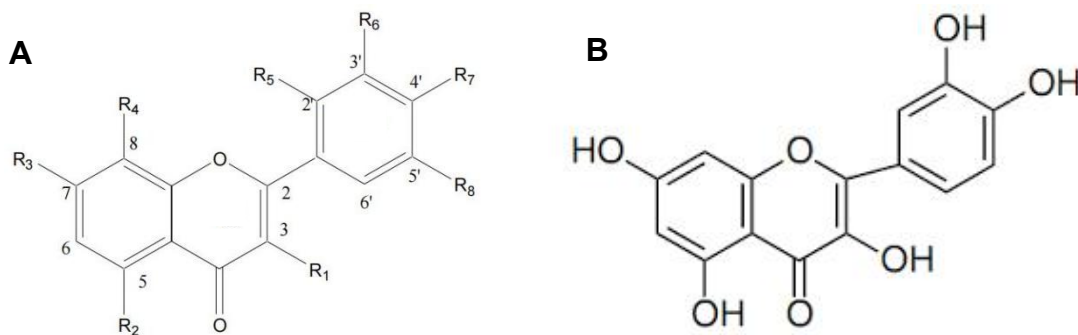
ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL DALAM BAHAN BAKU TANAMAN ATAU OBAT TRADISIONAL

Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan analisis kandungan fitokimia aktif flavonoid (kuersetin) dalam bahan baku herba atau obat tradisional secara kuantitatif.

Landasan Teori

Flavonoid merupakan kelompok fenol dengan sebuah cincin aromatik dan satu atau lebih gugus hidroksil yang tersebar di alam. Flavonoid merupakan kelompok molekul organik yang tersebar hampir pada seluruh bagian tanaman. Hampir semua bagian tanaman yaitu daun, akar, kayu, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji dapat mengandung flavonoid. Flavonoid mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan tubuh manusia antioksidan dan antiinflamasi.



Gambar 3. Struktur dasar turunan flavon (A) dan kuersetin (B)

Kuersetin adalah molekul flavonol yang merupakan salah satu jenis flavonoid. Sifat antioksidan dari senyawa kuersetin mampu menghambat proses karsinogenesis. Senyawa karsinogen merupakan senyawa yang mampu mengoksidasi DNA sehingga terjadi mutasi. Kuersetin sebagai antioksidan dapat mencegah terjadinya oksidasi pada fase inisiasi maupun propagasi. Kuersetin oleh sejumlah ahli kesehatan juga dipertimbangkan sebagai fitoestrogen yang memiliki fungsi yang sama dengan estrogen, yaitu memiliki efek anti estrogenik untuk mengurangi resiko kanker.

Uji kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes NaOH encer pada larutan sampel. Hasil positif mengandung flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning. Warna kuning disebabkan karena turunan senyawa flavon atau flavonol akan mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprene. Identifikasi flavonoid yang lainnya dapat dilakukan dengan larutan AlCl₃. Larutan AlCl₃ dapat membentuk kompleks berwarna dengan flavonoid sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visibel (tampak) ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Selanjutnya analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak. Pendeteksian senyawa menggunakan spektrofotometer ultraviolet dilakukan pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Radiasi senyawa pada panjang gelombang 254 nm menunjukkan radiasi gelombang pendek, sedangkan pada panjang gelombang 366 nm menunjukkan radiasi panjang gelombang. Bila senyawa menyerap sinar UV, maka akan tampak sebagai bercak gelap pada latar belakang yang berfluoresensi dan bila suatu senyawa menunjukkan pita serapan tunggal

antara 250 dan 260 nm, senyawa itu mungkin salah satu dari sejumlah senyawa fenol sederhana, suatu purin atau pirimidin.

Alat dan Bahan

Alat:

1. Timbangan digital analitik
2. Sonicator (untuk efisiensi ekstraksi)
3. Spektrofotometer UV-Vis
4. Kuvet kwarsa
5. Labu takar
6. Pipet volume
7. Pipet ukur
8. Pro pipet
9. Mikropipet
10. Yellow tip, blue tip
11. Erlenmeyer atau gelas beker
12. Mortir stamper
13. Corong gelas

Bahan:

1. Standard murni kuersetin
2. Sampel: kacang merah
3. Eppendorf
4. Conical tube 15 mL
5. Kertas saring
6. Etanol (teknis)
7. Etanol (p.a)
8. $AlCl_3$
9. Kalium asetat
10. NaOH
11. Aquades

Prosedur Kerja

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Kacang Merah.

Sebanyak 200 gram serbuk kacang merah dimaserasi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 1 x 24 jam dan disaring. Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Uji kualitatif flavonoid menggunakan pereaksi NaOH encer.

Larutan sampel direaksikan dengan pereaksi NaOH encer, terbentuknya warna kuning menunjukkan sampel positif mengandung flavonoid.

3. Uji Kuantitatif Flavonoid dengan Metode Kolorimetri secara Spektrofotometri Visibel

a. Pembuatan reagen larutan $AlCl_3$ 10%

Sebanyak 1 gram serbuk $AlCl_3$ ditimbang dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan sebagian etanol 70% hingga larut sempurna. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan etanol 70% hingga tanda batas.

b. Pembuatan larutan CH_3COOK 1M

Sebanyak 0,9814 gram serbuk kalium asetat ditimbang dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan sebagian aquades hingga larut sempurna. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan tambahkan aquades hingga tanda batas.

c. Larutan blangko

Etanol 70% 3 mL; $AlCl_3$ 10% 0,2 mL; CH_3COOK 1M 0,2 mL; dan aquades ad 10 mL.

d. Pembuatan larutan baku kuersetin

1). Pembuatan larutan baku induk kuersetin 1000 ppm

Sebanyak 50,0 mg baku standar kuersetin dilarutkan dengan sebagian metanol dalam beaker glass kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL dan ditambahkan metanol hingga tanda batas.

2). Pembuatan larutan baku kerja kuersetin 5 ppm

Larutan baku induk sebanyak 0,05 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL, ditambah 3 mL etanol 70%, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL CH_3COOK 1M, dan aquades hingga tanda batas.

e. Penentuan *Operating Time* (OT)

Larutan baku kerja kuersetin 5 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum teoritis 428 nm dari 0-40 menit dengan interval waktu 1 menit, amati kurva hubungan antara absorbansi dengan waktu dan tentukan OT.

f. Penentuan panjang gelombang maksimal larutan kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin diukur pada panjang gelombang 400-500 nm yang sebelumnya telah didiamkan terlebih dahulu pada OT yang diperoleh (menit ke-27) pada tempat gelap, amati kurva hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi untuk memperoleh panjang gelombang maksimal.

g. Penentuan seri kurva baku

Larutan seri baku 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ppm dari larutan baku induk dibuat dengan cara sebanyak 0,04 mL, 0,05 mL, 0,06 mL, 0,07 mL, 0,08 mL, 0,09 mL, 0,10 mL larutan baku induk, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Masing-masing larutan ditambahkan 3 mL etanol 70%, 0,2 mL AlCl_3 10% dan 0,2 mL CH_3COOK 1M, dan terakhir tambahkan aquades hingga tanda batas. Larutan dari konsentrasi terkecil hingga terbesar diukur pada spektrofotometer pada OT dan panjang gelombang maksimal.

h. Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol kacang merah

Sebanyak 250 mg ekstrak kental kacang merah dilarutkan dalam 25 mL aquades, diambil 1 mL, ditambahkan 3 mL etanol 70%, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL CH_3COOK 1M, dan terakhir tambahkan aquades sampai 10 mL. Larutan didiamkan pada tempat gelap pada OT yang diperoleh, kemudian diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum kuersetin, lakukan replikasi sebanyak 3 kali.

PRAKTIKUM 4

ANALISIS OBAT PADA SAMPEL HAYATI

Tujuan

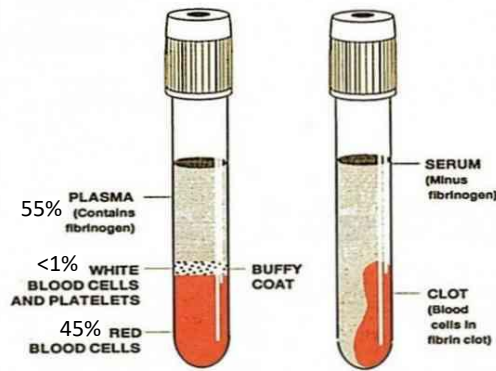
Mahasiswa dapat melakukan analisis kadar obat parasetamol pada sampel hayati (darah) dengan metode spektrofotometri UV-Vis

Landasan Teori

Pengukuran obat dalam sampel hayati atau sampel biologis sangat penting untuk melakukan evaluasi yang berhubungan dengan bioavailabilitas, bioekivalensi, pengembangan obat baru, penyalahgunaan obat, farmakokinetika klinik, dan penelitian obat sangat bergantung pada metode analisis. Penentuan kadar suatu obat dalam sampel hayati merupakan hal yang kompleks disebabkan sampel hayati pada umumnya merupakan suatu matriks yang kompleks. Jika suatu obat atau metabolitnya dalam sampel biologis dapat dianalisa langsung tanpa perlu dilakukan perlakuan awal terhadap sampel yang diperoleh maupun pemisahan obat atau metabolit yang ditentukan maka tentu hal ini merupakan suatu kemudahan. Akan tetapi sebagian besar analisis obat dalam sampel biologis memerlukan tahap perlakuan awal sampel maupun isolasi obat atau metabolit dari matriks biologis. Dalam pemilihan perlakuan awal sampel maupun metode untuk memisahkan atau mengisolasi obat dan/atau metabolitnya harus diperhatikan bahwa tahapan dari prosedur yang dipilih harus seminimal mungkin untuk menghindari kehilangan obat dari obat atau metabolit yang akan dianalisis. Semakin panjang tahapan prosedur untuk perlakuan awal maupun untuk memisahkan atau mengisolasi obat atau metabolitnya maka semakin besar kemungkinan hilangnya obat atau metabolit yang akan ditentukan sepanjang prosedur yang dilakukan.

Sampel hayati atau sampel biologis adalah sampel yang diambil dari sebagian tubuh untuk tujuan analisis, misalnya darah, urine, feses, saliva atau bagian tubuh. Darah merupakan sampel biologis yang paling baik untuk identifikasi obat/ zat aktif dan untuk analisis kuantitatif. Dalam kegiatan pengumpulan sampel darah dikenal istilah phlebotomy yang berarti proses mengeluarkan darah. Pengambilan darah atau flebotomi merupakan prosedur pengambilan sampel yang paling umum di laboratorium. Agar dapat diperoleh spesimen darah yang memenuhi syarat uji laboratorium, maka prosedur pengambilan sampel darah harus dilakukan dengan benar, mulai dari persiapan peralatan, pemilihan jenis antikoagulan, pemilihan letak vena, teknik pengambilan sampai dengan pelabelan.

Pengukuran konsentrasi obat di darah, serum, atau plasma adalah pendekatan secara langsung yang paling baik untuk menilai farmakokinetik obat di tubuh. Dengan berasumsi bahwa obat di darah dalam kesetimbangan equilibrium dengan jaringan, perubahan konsentrasi obat akan merefleksikan perubahan konsentrasi perubahan konsentrasi obat di jaringan. Darah mengandung elemen seluler mencakup sel darah merah, sel darah putih, keping darah, dan protein seperti albumin dan globulin. Pada umumnya serum atau plasma digunakan untuk pengukuran obat. Untuk mendapatkan serum, darah dibekukan dan serum diambil dari supernatan setelah disentrifugasi. Plasma diperoleh dari supernatan darah yang disentrifugasi dengan ditambahkan antikoagulan seperti heparin atau etilendiamintetraasetat (EDTA). Oleh karena itu serum dan plasma tidak sama. Plasma masih mengandung faktor pembekuan darah, sementara serum tidak lagi mengandung faktor pembekuan darah.



Gambar 4. Perbedaan plasma dan serum

Dalam penetapan kadar obat dalam darah (cairan tubuh), metode yang digunakan harus tepat, dan dalam pengerjaannya diperlukan statua ketelitian yang cukup tinggi agar diperoleh hasil yang akurat sehingga nantinya dapat menghindari kesalahan yang fatal. Dalam analisis ini, kesalahan hasil tidak boleh lebih dari 10% (tergantung pula alat apa yang digunakan dalam analisis). Akurasi yang baik untuk bahan obat dengan kadar kecil adalah 90-110%, akurasi untuk kadar obat yang lebih besar biasanya disepakati 95-105%, akurasi untuk bahan baku biasanya disepakati 98-102%, sedangkan untuk bioanalisis rentang akurasi 80-120% masih bisa diterima (Mulja & Hanwar, 2003). Selain akurasi, parameter presisi dan sensitivitas dari metode analisis juga harus ada. Untuk itu metode penetapan kadar secara umum perlu divalidasi.

Alat dan Bahan

Alat:

1. Scalpel/pisau bedah
2. Timbangan digital analitik
3. Ultracentrifuge
4. Vortex
5. Spektrofotometer UV-Vis
6. Kuvet kwarsa
7. Labu takar 10 mL dan 100 mL
8. Tabung reaksi
9. Pipet volume
10. Pipet ukur
11. Pro pipet
12. Mikropipet
13. Yellow tip, blue tip
14. Erlenmeyer atau gelas beker
15. Stopwatch

Bahan:

1. Standard murni parasetamol
2. Darah hewan uji
3. Conical flask 15 mL
4. Heparin (antikoagulan)
5. Asam trikloroasetat (TCA) 20%
6. NaNO₂ 10%
7. Asam Sulfamat 0,5%
8. N(1-Naftil) Etilendiamin 0,1% (NED)
9. HCl 6 N
10. Pendingin (es batu)
11. NaOH
12. Aquades

Prosedur Kerja

1. Preparasi reagen

Membuat larutan baku induk parasetamol: timbang 100,0 mg parasetamol. Dimasukkan dalam labu takar 100,0ml. Dilarutkan dengan aquades, dihomogenkan.

2. Preparasi sampel

Sampel darah ditampung dari hewan uji dengan penambahan heparin sebagai antikoagulan.

3. Membuat kurva baku

- a. Dihitung volume stok Parasetamol dan volume darah yang digunakan untuk membuat deret konsentrasi **0; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 µg/ml** sebanyak 250 µl.
- b. Sampel darah 3 mL ditambahkan larutan induk parasetamol, kemudian divortex 1 menit. Ditambahkan 2,0 mL TCA 20%, vortex 1 menit. Disentrifuge 2500 rpm, 10 menit, pastikan beban seimbang sebelum memutar sentrifuge. Diambil 1,5 mL plasma (bagian bening), dimasukkan labu takar 10 mL. Tambahkan 0,5 mL HCl 6N, 1 mL NaNO₂ 10%, campur homogen perlahan. Diamkan 15 menit pada suhu 15°C. Ditambah 1,0 mL asam sulfamat 1% dan 3,5 mL NED 0,1%, dan akuades hingga tanda tera labu takar kemudian campur homogen.
- c. Penentuan operating time
Lakukan pembacaan absorbansi dari larutan di atas terhadap blangko, dengan panjang gelombang 435 nm (panjang gelombang menurut literatur), pada menit ke 1, 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 sesudah reaksi kopling. Operating time ditetapkan sejak absorbansi yang diperoleh bernilai konstan.
- d. Penentuan panjang gelombang maksimum.
Lakukan scanning panjang gelombang larutan tersebut terhadap blangko pada rentang panjang gelombang 350 nm - 550 nm. Catat panjang gelombang yang menunjukkan absorbansi maksimal.
- e. Plot kurva baku hubungan konsentrasi parasetamol dan absorbansi.

4. Mengukur kadar parasetamol dalam sampel darah

- a. Sampel darah yang akan diukur kandungan parasetamol di dalamnya, ditampung sebanyak 3 mL dengan penambahan antikoagulan.
- b. Ditambahkan 2,0 mL TCA 20%, vortex 1 menit.
- c. Disentrifuge 2500 rpm, 10 menit, pastikan beban seimbang sebelum memutar sentrifuge.
- d. Ambil 1,5 mL supernatan, dimasukkan labu takar 10 mL.
- e. Tambahkan 0,5 mL HCl 6N, 1 mL NaNO₂ 10%, campur homogen perlahan. Diamkan 15 menit pada suhu 15°C.
- f. Ditambah 1,0 mL asam sulfamat 1% dan 3,5 mL NED 0,1%, dan akuades hingga tanda tera labu takar kemudian campur homogen.
- g. Dibaca absorbansi terhadap blangko, saat mencapai operating time, pada panjang gelombang maksimal.

Catatan Belajar

1. Pengukuran kadar parasetamol dalam percobaan ini dilakukan dengan derivatisasi senyawa analit menjadi garam diazonium yang kemudian dilanjutkan kopling untuk memperpanjang sistem aromatik dalam analit.
2. Pelajari kembali tentang reaksi diazotasi.
3. Uraikan reaksi derivatisasi yang terjadi pada analit parasetamol sesuai dengan reagen yang digunakan pada percobaan ini.
4. Pelajari fungsi masing-masing reagen pada tahapan perlakuan sampel/analit.

PRAKTIKUM 5 ANALISIS NARKOTIKA DAN PSIKOTROPIKA

Tujuan

Mahasiswa dapat melakukan analisis narkotika dan psikotropika pada sampel hayati secara kualitatif.

Landasan Teori

Narkotika berasal dari bahasa Yunani, yaitu kata *Narke* yang berarti beku, lumpuh dan dungu. Menurut Farmakologi medis, "Narkotika adalah obat yang dapat menghilangkan (terutama) rasa nyeri yang berasal dari daerah visceral dan dapat menimbulkan efek stupor (bengong masih sadar namun harus digertak) serta adiksi. Berdasarkan Undang-Undang Republik Indonesia No. 35 tahun 2009 pasal 6, jenis narkotika di bagi atas 3 golongan :

1. Narkotika golongan I adalah narkotika yang paling berbahaya dan memiliki daya adiktif sangat tinggi yang menyebabkan ketergantungan sehingga tidak dapat digunakan untuk kepentingan apapun, kecuali untuk penelitian atau ilmu pengetahuan. Contoh: Tanaman *Papaver somniferum* L, Opium, Ganja dan *Tetrahydrocannabinol*.
2. Narkotika golongan II adalah narkotika yang memiliki daya adiktif kuat, tapi bermanfaat untuk pengobatan dan penelitian. Contoh: Morfin, Fentanil, Metadon dan Petidin.
3. Narkotika golongan III adalah narkotika yang memiliki daya adiktif ringan, tetapi dapat bermanfaat untuk pengobatan dan penelitian. Contoh: Kodein, Etilmorfin dan Propiram.

Narkotika Golongan II dan III yang merupakan bahan baku untuk pengobatan dan penelitian, baik alami maupun sintesis digunakan berdasarkan indikasi medis. Seorang dokter dapat memberikan Narkotika Golongan II atau Golongan III dalam jumlah terbatas dan sediaan tertentu kepada pasien sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Berdasarkan Undang-Undang Republik Indonesia No. 5 tahun 1997, Psikotropika adalah zat atau obat, baik alamiah maupun sintetis, bukan narkotika yang berkhasiat psikoaktif melalui pengaruh selektif pada susunan syaraf pusat yang menyebabkan perubahan khas pada aktifitas mental dan perilaku, digunakan untuk mengobati gangguan jiwa.

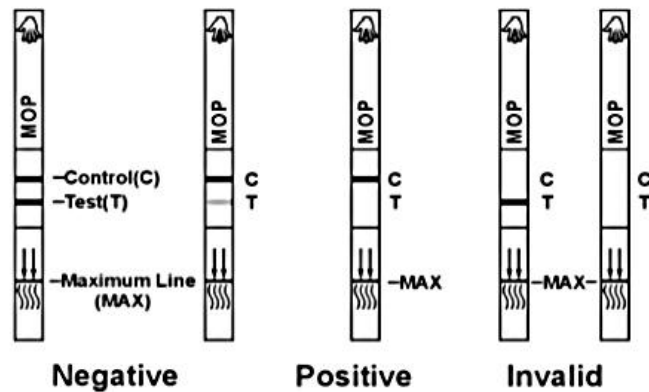
Zat yang termasuk golongan psikotropika dibedakan menjadi 4 golongan, yaitu:

1. Golongan I mempunyai potensi yang sangat kuat dalam menyebabkan ketergantungan dan dinyatakan sebagai barang terlarang. Contoh: ekstasi (MDMA= *3,4-methylenedeoxy methamphetamine*), dan LSD (*lysergic acid diethylamid*).
2. Golongan II mempunyai potensi yang kuat dalam menyebabkan ketergantungan. Contohnya amfetamin, metamfetamin (sabu), dan fenetilin.
3. Golongan III mempunyai potensi sedang dalam menyebabkan ketergantungan dan dapat digunakan untuk pengobatan tetapi harus dengan resep dokter. Contoh: amorbarbital, brupornorfina, dan magadon (sering disalahgunakan).
4. Golongan IV mempunyai potensi ringan dalam menyebabkan ketergantungan dan dapat digunakan untuk pengobatan terapi harus dengan resep dokter. Contoh: diazepam (turunan benzodiazepin), nitrazepam, lexotan (sering disalahgunakan), pil koplo (sering disalahgunakan), obat penenang (sedativa), dan obat tidur (hipnotika).

Pemeriksaan narkoba dan psikotropika seringkali dilakukan menggunakan berbagai spesimen biologis seperti darah, urine, cairan oral, keringat ataupun rambut. Urinalisa adalah metode analisa untuk mendapatkan bahan-bahan atau zat-zat yang dimungkinkan terkandung dalam urine dan juga untuk melihat adanya kelainan pada urine. Tes urine adalah jenis tes

yang paling umum dan dianggap sebagai *gold standard* pada pengujian obat. Alat tes urine sudah tersedia seperti pada tempat tes narkoba (*strip test*), analisis laboratorium, atau toko alat kesehatan.

Strip Test adalah metode *immunoassay* dengan prinsip pemeriksaan yaitu reaksi antigen dan antibodi secara kompetisi yang mungkin ada dalam spesimen urine dan bersaing melawan konjugat obat untuk mengikat situs pada antibodi. Selama pengujian, spesimen urine bermigrasi keatas dengan aksi kapiler dengan prinsip pemeriksaan reaksi antigen dan antibodi secara kompetisi. Spesimen urine dengan hasil positif tidak akan membentuk garis berwarna pada daerah garis uji karena persaingan obat, sementara spesimen urine dengan hasil negatif akan menghasilkan garis di daerah uji karena adanya kompetisi obat.



Gambar 5. Interpretasi *Strip Test*

Kontrol prosedural disertakan dalam tes. Sebuah garis merah muncul pada kontrol wilayah (C) dianggap sebagai pengendalian prosedural positif internal.

1. Negatif: apabila dua baris muncul, satu garis merah harus berada di wilayah kontrol (C) dan garis merah atau pink yang lain yang jelas harus berada di daerah uji (T).
2. Positif: apabila satu garis merah muncul di wilayah kontrol (C) dan tidak ada garis yang masuk pada daerah uji (T).
3. Invalid: Garis kontrol gagal muncul. Volume spesimen tidak mencukupi atau teknik prosedural yang salah dengan alasan yang paling mungkin karena kegagalan kontrol. Tinjau kembali prosedur dan ulangi dengan strip test baru.

Alat dan Bahan

Alat:

1. Timbangan digital analitik
2. Pipet tetes
3. Flakon
4. Mikropipet
5. Blue tip, yellow tip

Bahan:

1. Narcotest kit



Gambar 6. Teskit Narcotest

2. Benzodiazepin
3. Sampel urin
4. Pot urin
5. Aquades

Prosedur Kerja

1. Mengambil sampel urine yang akan di periksa dan memasukkannya kedalam tube secukupnya.
2. Membuka alat strip test yang telah disediakan dan meletakkannya diatas meja datar.
3. Celupkan secara vertikal strip pada spesimen urine selama 10 – 15 detik, tunggu hingga terbentuk garis C dan T pada alat strip test.
4. Apabila hanya terbentuk pita pink pada *Control* (C) maka hasil positif, terbentuk dua pita pink pada *Control* (C) dan pada *Test* (T) dinyatakan hasil negatif, dan alat invalid apabila tidak terbentuk pita pink pada *Control* (C) dan pada *Test* (T) atau terbentuk pita pink pada *Test* (T) sedangkan pada *Control* (C) tidak terbentuk pita.

Sensitifitas kit alat uji:

Narcotest 6in1

adalah kromatografi immunoassay dengan aliran lateral untuk deteksi kualitatif dari banyak obat dan metabolit obat dalam urin pada konsentrasi cut-off sebagai berikut:

Tes	Kalibrator	Kadar Minimal (ng/ml)	Kadar Minimal (ng/ml)
Morphine (MOP)	Morphine	300	300
Amphetamine (AMP)	D-Amphetamine	500	1000
Methamphetamine (MET)	D-Methamphetamine	500	1000
Tetrahydrocannabinol (THC)	11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH	50	50
Cocaine (COC)	Benzoylcegonine	300	300
Benzodiazepine (BZO)	Oxazepam	300	300

Narcotest 6in1 **MERK LAIN**

Gambar 7. Cut-off deteksi kadar zat pada testkit

Catatan Belajar

1. Tes diagnostik dan tes deteksi berbasis strip test umumnya didasarkan pada prinsip *immunoassay*, yaitu analisis berdasarkan interaksi antigen-antibodi antara analit dengan tester.
2. Pelajari kembali prinsip-prinsip imunologi.
3. Uraikan mekanisme kerja testkit imunologis, khususnya pada deteksi narkotik dan psikotropik. Silakan gunakan referensi yang relevan, bisa berupa jurnal atau textbook.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2015. Fenilbutazon. Diakses dari <http://pionas.pom.go.id/monografi/fenilbutazon> pada tanggal 16 April 2021.
- Anonim, 2015. Natrium Diklofenak. Diakses dari <http://pionas.pom.go.id/monografi/natrium-diklofenak> pada tanggal 16 April 2021.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H. M., dan Chern, J.C., 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal Food Drug and Analysis* 10.
- Harahap, U., dkk, 2019. Penuntun Praktikum Farmakokinetika Klinik dan Monitoring Terapi Obat. Fakultas Farmasi USU.
- Lathif, A., Suhendi, A., Hanwar, D., 2013. Analisis Bahan Kimia Obat dalam Jamu Pegal Linu yang Dijual di Surakarta Menggunakan Metode Spektrofotometri UV. Skripsi, Fakultas Farmasi UMS.
- Lindawati, N.Y., dan Ma'ruf, S.H. 2020. Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Metode Kompleks Kolorimetri secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 6(1): 83-91.
- Mulja, M, dan Hanwar, D. 2003. Prinsip-Prinsip Cara Berlaboratorium yang Baik (Good Laboratory Practice), *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol III No 2, 71-76.
- Nurung, S., 2016, Penentuan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, dan Karotenoid Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Pudjono, 2019. Petunjuk Praktikum Analisis Obat, Kosmetik, dan Makanan. Universitas Peradaban.
- Rambe, R.S., 2017. Analisa Narkoba Jenis Morfin, Amfetamin Dan THC (*Tetrahydrocannabinol*) Menggunakan Strip Test. Skripsi, Fakultas MIPA USU.
- Sayuthi, M.I., dan Kurniawati, P. 2017. Validasi Metode Analisis dan Penetapan Kadar Parasetamol dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri UV-Visible. *Prosiding Seminar Nasional Kimia FMIPA UNESA*. Surabaya, 7 Oktober 2017. 190-201.
- Tulandi, G.P., Sudewi, S., Lolo, W.A., 2015. Validasi Metode Analisis Untuk Penetapan Kadar Parasetamol Dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 4(4): 168-178.