

## PERBANDINGAN VALIDASI METODE KOMPLEKSOMETRI DAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DERIVATIF TABLET KALSIMUM LAKTAT

Rollando Rollando, Aprilia Eudia Duhu, Rehmadata Sitepu  
Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung  
*E-mail: ro.llando@machung.ac.id*

**Abstrak:** Analisis kadar logam seperti kalsium pada umumnya menggunakan atomic Absorption Spectroscopy (AAS) yang relatif mahal. Dalam farmakope Indonesia metode baku yang dapat digunakan adalah titrasi kompleksometri. Sebagai alternatif dapat pula ditambahkan metode spektrofotometri UV Vis. Metode titrasi kompleksometri yang dilakukan menggunakan indikator EBT dan pengompleks Na<sub>2</sub>EDTA untuk mendapatkan titik akhir titrasi. Sedangkan Metode Spektrofotometri UV Vis dilakukan dengan bantuan reagen spesifik yang dapat mengomplekskan kalsium. Hasil penelitian menunjukkan uji linearitas dengan menggunakan larutan standar kalsium pada spektrofotometri rentang mL mempunyai nilai R<sup>2</sup> sebesar 0,9995, sedangkan nilai batas deteksi dan batas kuantifikasi berturut-turut adalah 0.53322mg/100 mL dan 1.77739 mg/100 mL. Nilai akurasi ( recovery ) sebesar 99.995755, dan Presisi CV pengukuran adalah 3.722087298 dan nilai CV Horwitz yang telah dihitung dengan rumus  $0.66 \times 2(1-0.5 \log c)$  adalah sebesar 5.279873077.

**Kata kunci:** Kompleksometri; Spektrofotometri; Kalsium.

**Abstract:** Analysis of metal content such as calcium generally uses atomic Absorption Spectroscopy (AAS) which is relatively expensive. In Indonesian pharmacopoeia the standard method that can be used is complexometric titration. Alternatively, a UV Vis spectrophotometric method can also be added. The complexometric titration method is carried out using the EBT indicator and the Na<sub>2</sub>EDTA complex to obtain the end point of the titration. While the UV Vis Spectrophotometry Method was carried out with the help of specific reagents that can complex calcium. The results showed that the linearity test using a standard calcium solution in the mL range spectrophotometry had an R<sup>2</sup> value of 0.9995, while the detection limit and quantification limits were 0.53322mg / 100 mL and 1.77739 mg / 100 mL, respectively. The value of accuracy (recovery) is 99.995755, and the precision of CV measurement is 3.722087298 and the value of CV Horwitz which has been calculated with the formula  $0.66 \times 2(1-0.5 \log c)$  is equal to 5.279873077.

**Keywords:** Complexometric; spectrophotometry; calcium

### PENDAHULUAN

Kalsium adalah mineral yang sangat penting untuk berbagai aspek kesehatan, termasuk kesehatan tulang dan gigi, dan irama jantung yang normal. Mineral ini juga diperlukan untuk kontraksi otot dan relaksasi, fungsi saraf dan hormon, dan regulasi tekanan darah. Kalsium harus dicerna setiap hari dan diserap secara efektif untuk menjaga kesehatan yang optimal. Kebanyakan orang bisa mendapat cukup kalsium dengan mengonsumsi berbagai makanan yang kaya akan kalsium. Makanan yang secara alami mengandung kalsium termasuk susu dan produk susu lainnya; sayuran hijau, berdaun; seafood, kacang, dan kacang kering. Kalsium juga ditambahkan ke jus jeruk, sereal sarapan, roti, dan

produk makanan berbenteng lainnya. Asupan kalsium diet tinggi diperlukan untuk bayi, anak-anak dan remaja untuk mempromosikan pertumbuhan dan pembentukan tulang. (Pravina et al.,2013).

Kekurangan mineral dalam tulang pun bisa dicegah. Kekurangan kalsium atau defisiensi kalsium adalah suatu kondisi di mana tubuh memiliki jumlah kalsium yang tidak memadai. Asupan kalsium yang baik dapat membantu mencegah osteoporosis. Ketika mengalami osteoporosis maka tulang menjadi lemah dan tipis karena kehilangan kalsium sehingga dapat lebih mudah patah. (Dietitians of Canada,2014). Seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang kefarmasian, begitu banyak produk obat yang mengandung kalsium dalam berbagai bentuk sediaan obat yang tersebar dipasaran. Mengingat bahwa kalsium sangat dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan tubuh manusia sehari-hari. Selain itu, begitu banyak permasalahan yang disebabkan oleh defisiensi kalsium yang timbul dimasyarakat, sehingga begitu banyak produk obat kalsium yang ditawarkan dan dikeluarkan oleh perusahaan-perusahaan industri farmasi. The Institute of Medicine telah menetapkan jumlah asupan kalsium.

Salah satu sediaan yang paling banyak beredar di pasaran adalah tablet kalsium misalnya Tablet Kalsium Laktat. Kalsium Laktat merupakan salah satu sediaan yang sering digunakan sebagai terapi suplemen pada hipokalsemia atau kebutuhan kalsium meninggi. Sediaan ini merupakan garam kalsium yang berguna untuk menjamin kebutuhan tubuh akan kalsium. Oleh karena itu, dibutuhkan metode penetapan kadar tablet untuk mengetahui apakah kadarnya memenuhi literature sehingga dengan kadar yang tepat tablet dapat memberikan asupan mineral sesuai kebutuhan dan efek terapi yang dikehendaki .

Metode yang paling umum untuk analisis kadar kalsium adalah menggunakan metode titrimetri . Metode lain yang digunakan untuk analisis kalsium adalah dengan metode spektroskopi serapan atom menggunakan ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy) (Bakken,2010). Sebenarnya spektroskopi serapan atom dan titrimetri banyak digunakan karena lebih simpel, akurat dan presisi yang tinggi (Petrovich dkk., 2007). Namun peralatan tersebut khusus dan sedikit dimiliki oleh laboratorium pengujian di Indonesia serta relatif mahal, sehingga sulit untuk diaplikasikan bila harus melakukan analisis yang rutin. (Cai dkk., 2009), sehingga sebagai alternative lebih murah, dapat digunakan metode titrimetri. Metode titrimetri yang digunakan untuk analisis Kalsium adalah kompleksometri.

Titrisasi kompleksometri merupakan salah satu jenis titrasi yang didasarkan pada reaksi pembentukan senyawa kompleks antara ion logam target dengan zat pembentuk kompleks (Day dan Underwood, 2006). Zat pembentuk kompleks yang umum digunakan adalah asam etilena diamina tetraasetat (EDTA) yang akan membentuk kompleks kuat dengan perbandingan 1:1 dengan logam (Ward dan Carpenter, 2010). Selain digunakan metode titrasi, maka diperlukan metode lain sebagai pembanding untuk menetapkan kadar dari tablet Kalsium Laktat. Metode analisis berdasarkan pengukuran spektrofotometri UV atau penyerapan cahaya tampak yang paling populer dan paling sering digunakan dalam praktik laboratorium. Aparat yang tersedia secara komersial murah dan mudah dioperasikan. Prosedur spektrofotometri biasanya tidak memakan waktu dan tenaga. Aspek ekonomis dari

teknik UV-Vis juga perlu ditekankan. Namun kerugian utama dan keterbatasan spektrofotometri adalah selektifitasnya yang rendah. Spektrum UV-Vis yang terekam adalah jumlah absorbansi analit dan matriks. Biasanya, prosedur spektrofotometri UV-Vis tersebut dapat berhasil diterapkan hanya dalam kasus sampel sederhana, yakni dengan komposisi stabil dan dikenal baik atau ketika reagen yang sangat selektif digunakan. Isolasi analit dari matriks adalah solusi lain untuk meningkatkan selektivitas pengujian. Tetapi setiap operasi tambahan yang diperkenalkan ke prosedur persiapan sampel memperpanjang waktu dan biaya analisis tunggal dan meningkatkan risiko kehilangan atau kontaminasi analit.

Penelitian tentang pengembangan metode analisis penetapan kadar kalsium secara simultan dalam tablet kalsium dengan metode spektrofotometri derivative sudah pernah dilakukan untuk analisis kadar kalsium dalam kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). Maka dari itu dapat dilakukan juga analisis Kalsium Laktat dalam sampel tablet dengan menyertakan validasi metode spektrofotometri UV-Vis derivatif sebagai metode penetapan kadar kalsium yang alternatif. Parameter validasi metode analisis yang dapat dilakukan adalah selektif, linear, akurat, presisi, dan sensitif.

Pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar kalsium dalam sediaan tablet Kalsium Laktat dengan menggunakan dan membandingkan konsep dua metode yang berbeda, yakni metode spektrofotometri derivatif dan titrasi kompleksometri.

### **METODE**

#### **Pembuatan Titran Dinatrium Edetat ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )**

0,05 N (dalam 250 ml) Ditimbang seksama 4,652 g  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dan di masukan ke dalam labu ukur 250 ml, lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda kalibrasi untuk mendapatkan Pembuatan HCl encer (dalam 100 ml) Dipipet 22,80 ml HCl pekat ke dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambahkan dengan aquadest sampai tanda kalibrasi

#### **Pembuatan NaOH 1 N (dalam 250 ml)**

Ditimbang seksama 10 gram NaOH, kemudian dimasukkan dalam labu 250 ml, disonikator selama 5 menit sampai larut larut dan tambahkan akuades sampai tanda kalibrasi

#### **Amonium hidroksida (dalam 100ml)**

Dilakukan pengencerkan 38 ml larutan Amonia 25% dengan melarutkan dalam akuades sampai tanda 100 ml

#### **Pembuatan Dapar Amonia-amonium Klorida LP (dalam 100 ml)**

Ditimbang seksama 6,752 g ammonium klorida dimasukkan dalam labu 100 ml, lalu dilarutkan dalam 40 ml air. Setelah itu ditambahkan 57 ml Amonium hidroksida dan diencerkan dengan akuades sampai tanda kalibrasi.

**Indikator EBT (dalam 25 ml)**

Ditimbang seksama 25 mg EBT P kedalam labu ukur 25 ml, dilarutkan dengan etanol sampai tanda kalibrasi

**Pembakuan Titran Na<sub>2</sub>EDTA (diperkecil 2 kali dari literatur)**

Ditimbang lebih kurang 100 mg CaCO<sub>3</sub>, dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml, ditambahkan 5 ml air dan goyangkan hingga bentuk bubuk serta tutup dengan kaca arloji. Kemudian ditambahkan 1 ml HCL encer & goyangkan sampai CaCO<sub>3</sub> larut lalu diencerkan samibil diaduk dalam 100 ml air, ditambahkan 15 ml Na<sub>2</sub>EDTA, 7,5 NaOH LP dan beberapa tetes indikator biru hidroksi naftol P ( 6-7 tetes), lalu dilakukan titrasi dengan Na<sub>2</sub>EDTA

**Penetapan kadar Kalsium Laktat Berdasarkan Famakope Indonesia V**

Ditimbang dan serbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Ditimbang saksama sejumlah serbuk tablet setara dengan lebih kurang 350 mg Kalsium Laktat dan masukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 150 ml air dan 2 ml asam klorida 3 N, aduk menggunakan pengaduk magnetik selama 3 sampai 5 menit. Kemudian diambahkan pula lebih kurang 15 ml dinatrium edetat 0,05 M melalui buret , 5 ml dapar ammonia ammonium, 10 ml natrium hidroksida 1 N. sebelum dititrasi ditambahkan terlebih dahulu 2 ml indikator EBT, setelah itu dilakukan titrasi dengan dinatrium edetat sampai warna menjadi biru.

**Prosedur Validasi Metode Titrasi Kompleksometri**

**Linearitas**

Linearitas ditentukan dengan menggunakan larutan standar kalsium pada enam konsentrasi berbeda, yaitu 4 mg/100 mL, 6 mg/100 mL, 8 mg/100 mL, 10 mg/100 mL, 12 mg/100 mL, dan 24 mg/100 mL. Sebanyak 100 mL dari larutan tersebut dititrasi dengan menggunakan larutan Na<sub>2</sub>EDTA 0,050 M yang sudah dibakukan. Jumlah ulangan yang digunakan adalah tiga kali ulangan. Linieritas diukur dengan nilai R<sup>2</sup> dari kurva hubungan antara volume larutan Na<sub>2</sub>EDTA (sebagai sumbu y) yang digunakan untuk titrasi dengan konsentrasi larutan standar kalsium (mg/100 mL) (sebagai sumbu x). Linieritas yang baik adalah R<sup>2</sup> lebih dari 0,99 (AOAC, 2012).

**LOD dan LOQ**

Penentuan batas deteksi pada analisis ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Oleh karena itu, berdasarkan simpangan baku dari respon dan kemiringan (slope) kurva kalibrasi yang diperoleh maka nilai batas deteksi atau limit of detection (LOD) dan batas kuantifikasi atau limit of quantification (LOQ)

**Akurasi**

Studi akurasi dilakukan untuk mengevaluasi keakuratan metode, masing-masing 6 sampel pada tiga tingkat konsentrasi yang berbeda yang berbeda 80%, 100% dan 120% dari jumlah sampel yang digunakan pada penetapan kadar. Kemudian ditambahkan dengan

## Prosiding

Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2019

Malang, 03 November 2019

---

sejumlah reagen sesuai dengan perlakuan yang dilakukan pada prosedur penetapan kadar, kemudian dilakukan titrasi. Setelah itu akan dicari persen recovery dari membandingkan kadar yang ditimbang berdasarkan tiga tingkat konsentrasi yang berbeda dengan kadar yang didapatkan pada titik akhir titrasi, kemudian dihitung pula nilai RSD nya

### **Presisi**

Metode presisi dilakukan untuk mengetahui ketepatan metode pengujian dengan menganalisis enam sampel individu bahan baku kalsium. hari yang berbeda.

### **Pembuatan Pelarut**

Dilakukan optimasi untuk menentukan pembuatan kompleks merah bromotymol blue yang dilarutkan dalam etanol 20%.

### **Pembuatan Larutan Induk Baku Kalsium**

Ditimbang seksama sebanyak 50 mg Kalsium Laktat dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan pelarut hingga garis tanda kalibrasi agar memperoleh larutan dengan konsentrasi 500 µg/ml (LIB I). kemudian diambil pual 5 ml dari LIB I dan di encerkan dengan pelarut dan masukan ke dalam labu ukur 25 ml agar mendapatkan larutan dengan konsentrasi 100 µg/ml (LIB II)

### **Pembuatan Larutan Standar Kalsium**

Larutan standar Kalsium Laktat dibuat dalam 5 labu 10 ml teurukur dengan konsentrasi masing-masing 0.05 µg/mL, 0.25 µg/mL, 0.35 µg/mL, 0.5 µg/mL, dan 0.65 µg/mL. Kemudian dipipet dari LIB II Kalsium Laktat, lalu dimasukkan dalam 5 labu masing-masing dan ditambahkan volumenya dengan pelarut tanda kalibrasi.

### **Pembuatan Spektrum Serapan Maksimum Kalsium**

Diambil sebanyak volume tertentu dari LIB II Kalsium Laktat (konsentrasi =100 µg/mL) dan bromotymol blue kemudian dimasukan ke dalam labu 10 mL agar dilarutkan dengan pelarut lalu dikocok sampai tercampur homogen untuk memperoleh larutan Kalsium Laktat dan BTB dengan konsentrasi yang diinginkan. kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500-800 nm.

### **Pengujian Indikasi Pelarut Bromotymol blue**

Dilakukan pembuatan pelarut BTB dengan konsentrasi tertintgi yaitu 800 ppm, kemudian dilakukan induksi tiap 1 menit dalam 30 menit untuk melihat panjang gelombang dan absorbansi yang paling stabil pada panjang gelombang 200-800 nm.

### **Penentuan Panjang gelombang Kompleks**

Penentuan Panjang gelombang kompleks yang terbentuk antara Kalsium Laktat dan BTB diperoleh dengan terjadinya tumpang tindih spektrum serapan pada pada derivat dalam

berbagai konsentrasi larutan yang dibuat. Ini akan ditunjukkan melalui panjang gelombang yang mempunyai serapan berbeda dari serapan spectra BTB sendiri.

### **Pembuatan dan Penentuan Linieritas Spektrum kalibrasi kalsium**

Dilakukan pembuatan larutan induk 1000 ppm BTB dalam labu 25 ml dibuat dalam 5 labu 10 ml teurukur dengan konsentrasi masing-masing 0.05  $\mu\text{g/mL}$ , 0.25  $\mu\text{g/mL}$ , 0.35  $\mu\text{g/mL}$ , 0.5  $\mu\text{g/mL}$ , dan 0.65  $\mu\text{g/mL}$ . dengan memipet sejumlah tersebut dan di add dalam quadest 10 ml., lalu diukur pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan sebelumnya yaitu 200-800 nm. Kemudian dilakukan analisis hubungan antara nilai serapan dan konsentrasi sehingga diperoleh suatu persamaan regresi linear  $y = ax + b$ . Berdasarkan nilai serapan pada panjang gelombang analisis yang didapatkan, maka dapat dilakukan perhitungan limit deteksi / limit of detection (LOD) dan limit kuantitasi / limit of quantitation (LOQ)

### **Penentuan Kadar Kalsium Dalam Sediaan Tablet Kalsium Laktat**

Ditimbang 20 sampel sediaan tablet kalsium laktat 500 mg, kemudian digerus dalam lumpang sampai halus dan homogen. Selanjutnya ditimbang seksama sejumlah serbuk setara dengan 50 mg kalsium dengan serbuk ditimbang sebanyak 6 kali. Kemudian dimasukkan ke dalam labu 50 mL, dan dilarutkan dengan pelarut bromotymol blue sambil disonikator selama  $\pm 15$  menit), kemudian dicukupkan dengan bromotymol blue sampai garis tanda, dikocok sampai homogen. Kemudian larutan disaring, lebih kurang 10 mL filtrat pertama dibuang. Filtrat selanjutnya lalu ditampung dan dari filtrat ini dipipet sebanyak 0,24 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan dengan bromotymol blue sampai garis tanda. Diukur serapan pada panjang gelombang 200- 800 nm, selanjutnya spektrum serapan ditransformasikan menjadi spektrum serapan derivat kedua dengan  $\Delta\lambda$  10 nm pada panjang gelombang analisis 399-402 nm

### **Analisis Data Penetapan Kadar Secara Statistik**

Data perhitungan kadar kalsium dalam tablet Kalsium Laktat dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji T pada Tabel distribusi t, menurut Rohman (2007), rumus yang digunakan untuk mencari standar deviasi adalah :

### **Prosedur Validasi Metode Spektrofotometri Derivatif**

#### **Uji Akurasi**

Pada uji akurasi, metode penambahan bahan baku yang dilakukan yaitu dengan membuat 3 konsentrasi analit sampel dengan rentang spesifik 80%, 100%, 120%. Dimana pada rentang spesifik digunakan 70% sampel dan 30% baku yang akan ditambahkan (Harmita, 2004). Setelah itu campuran sampel dan baku diukur serapannya pada panjang gelombang 500-800 nm, selanjutnya spektrum serapan ditransformasikan menjadi spektrum serapan derivat kedua dengan  $\Delta\lambda$  10 nm pada panjang gelombang analisis kalsium 574 nm.

### Uji Presisi

Pada uji presisi diukur sebagai simpangan baku relatif atau koefisien variasi. Presisi merupakan ukuran yang akan menunjukkan suatu derajat kesesuaian antara hasil uji individual ketika secara berulang dilakukan suatu metode untuk sampel yang homogen. Apabila nilai simpangan baku relative memenuhi persyaratan maka akan menunjukkan adanya keseksamaan metode yang dilakukan (Harmita, 2004).

## HASIL

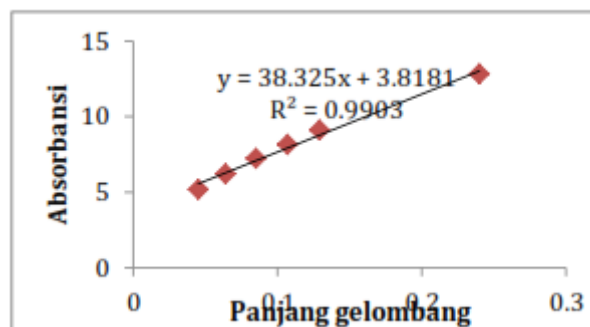
### Penetapan Kadar Titrasi Kompleksometri

Pada penetapan kadar Kalsium Laktat, pembentuk kompleks yang digunakan dalam titrasi kompleksometri adalah garam dinatrium etilendiamina tertraasetat atau dikenal dengan dinatrium edetat. Penentuan ion logam menggunakan indikator terhadap ion logam yang memiliki sifat seperti halnya indikator pH asam basa Indikator logam yang digunakan pada titrasi metode kompleksometri adalah indikator hitam eriokrom LP (EBT).

Berdasarkan prosedur penetapan kadar dari Farmakope Indonesia edisi 5 bahwa kadar Kalsium Laktat tidak kurang dari 98,0 % dan tidak lebih dari 101,0%, maka hasil penetapan kadar dari percobaan dapat dikatakan sesuai dengan literature, dimana sampel 1 memiliki kadar sebesar 101,860 % dan sampel 2 memiliki kadar sebesar 100,89 % dengan warna akhir titrasi adalah biru.

### Linearitas

Berdasarkan grafik linearitas didapatkan dengan rumus persamaan  $y = 38.325x + 3.8181$ , Terlihat bahwa nilai Koefisien determinasi ( $R^2$ ) memenuhi nilai yang dipersyaratkan, yaitu lebih besar 0,99 (AOAC 2012). Ternyata hasil penelitian ini hampir mendekati dengan nilai  $R^2$  yang diperoleh Baldut dkk. (2015), yaitu 0,9903. Baldut dkk. (2015) yang melakukan validasi analisis kadar kalsium pada obat rosuvastatin calcium secara titrasi kompleksometri



Gambar 1. Linearitas Kompleksometri

### LOD

Dengan mengasumsikan bahwa nilai absorbansi yang dihitung dari konsentrasi teoritis adalah  $y$  dan nilai absorbansi yang terukur dari alat spektrofotometer adalah sebesar  $x$ , maka nilai standar deviasi garis residual pada 5 titik kalibrasi adalah sebagai berikut. :  $y - x =$

$(y - y_0)^2 / n - 2 = 0.08769618$ . Sesuai dengan konsensus, maka nilai Limit of Detection (LOD), maka didapatkan nilai LOD adalah 0.209821

**LOQ**

Dengan mengasumsikan bahwa nilai absorbansi yang dihitung dari konsentrasi teoritis adalah  $y_0$  dan nilai absorbansi yang terukur dari alat spektrofotometer adalah sebesar  $y$ , maka nilai standar deviasi garis residual pada 5 titik kalibrasi adalah sebagai berikut. :  $(y - y_0)^2 / n - 2 = 0.08769618$ . Sesuai dengan konsensus, maka nilai Limit of Detection (LOD), maka didapatkan nilai LOD adalah 0.209821

**Akurasi**

Hasil akurasi menunjukkan nilai recovery memenuhi nilai recovery yang dipersyaratkan oleh Harmita (2004) yaitu 98-102%. Menurut Harmita (2004), keterulangan (repeatability) merupakan konsistensi hasil analisis jika dilakukan berulang kali oleh analisis menganalisis sampel beberapa kali ulangan.

**Tabel 1. Akurasi Kompleksometri**

Akurasi	Penimbangan bahan	Hasil titrasi	Persen recovery	Persen recovery	
80%	280.9		99.08		
	279.1	2.7	97.79		
	279.5	3.1	99.86	99.23666667	
	278.7	3.1	100.144		
	280.3	3.07	99.41		
	279.2	2.95	99.136		
100%	349.9	7.5	99.16		
	349.7	7.5	99.21		
	348.5	6.7	96.021	98.17016667	
	350.5	7.7	99.87		
	349.6	7.05	97.26		
	349.6	7.15	97.5		
120%	420.2	12.15	99.63		
	420.8	12.3	100.04		
	420.1	11.9	98.76	98.835	
	420	12.1	99.49		
	419.6	11.6	97.75		
	419.9	11.5	97.34		

**Presisi**

Berdasarkan penelitian Validasi Metode Analisis parameter presisi, didapatkan nilai Rata-rata 100.0159722, SD dari data presisi 3.722681799, kemudian RSD yang didapatkan adalah 0.037220873, untuk CV pengukuran presisi spektrofotometri yaitu sebesar 3.722087298. Konsentrasi dari tabel secara keseluruhan adalah 0.000100016 dan apabila di log didapatkan -3.999930639 yang kemudian log C dikalikan dengan 0.5 menghasilkan -1.99996532, dan 1- log 5 C didapatkan 2.99996532. maka 2 dipangkatkan (1-0.5 log C) didapatkan 7.999807693, sehingga CV horwitch adalah 5.279873077. setelah didapatkan masing-masing CV pengukuran dan CV Horwitch, dilihat persyaratan yaitu CV pengukuran harus lebih kecil dari CV Horwitch.

Dari hasil pengujian presisi didapatkan rentang presisi 96.021-101.3-97. Berdasarkan perhitungan didapatkan harga standar deviation (SD) yaitu 1.323584078 dan harga relative

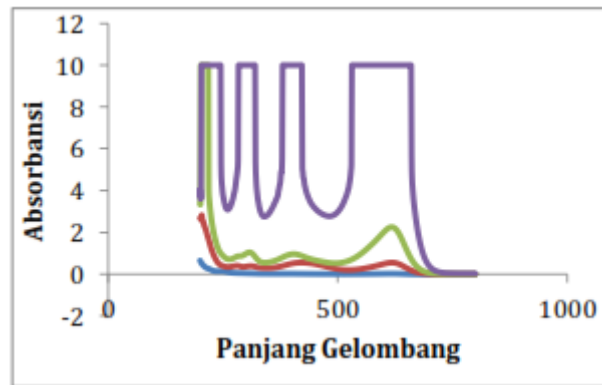
standar deviation (RSD) yaitu 0.013384393 dan CV atau harga RSD 1.338439266 %. Menurut Harminta (2004) harga SD < 2 dan harga RSD < 2 % dapat dikatakan mempunyai harga ketelitian yang baik. Hasil terlihat pada tabel di atas. Selain itu nilai CV Pengukuran < CV Horwitch juga menyatakan bahwa akurasi memenuhi persyaratan

**Tabel 2. Presisi Kompleksometri**

Akurasi	Penimbangan bahan	Hasil titrasi	Persen recovery	Persen recovery
80%	278.8	2.91	276.17	99.057
	280.2	3	277.756	99.058
	280.3	3.07	277.94	99.16
	279.5	3.1	272.5125	97.5
	279.7	2.85	275.524	98.408
	280.9	3.05	345.608	99.21
100%	348.5	6.7	342.123	96.021
	349.6	7.05	340.02	97.26
	349.9	7.5	346.96	99.16
	349.6	7.15	340.86	97.5
	350.5	7.7	350.044	99.87
	349.7	7.5	346.937	99.21
120%	419.6	11.9	414.439	
	420.2	11.95	415.569	98.76
	420.3	12.3	420.468	98.94
	420.8	12.6	425.592	100.04
	420.1	12.6	425.592	101.307
	420.6	11.8	413.256	101.307

### Optimasi Pengompleks

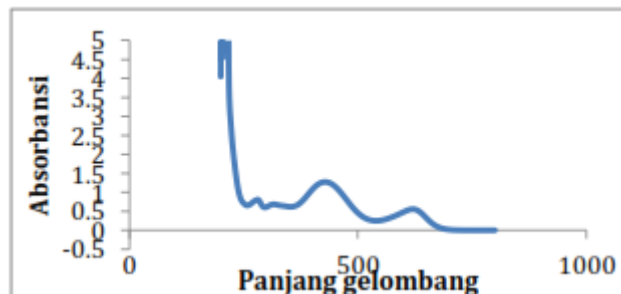
Pengompleks yang digunakan untuk melakukan penetapan kadar spektrofotometri derivatif adalah bromotimol biru. Bentuk terprotonasi bromotimol biru memiliki puncak serapan pada 692 nm karenanya memancarkan warna biru terang pada Berdasarkan kurva maka dapat terlihat bahwa pada grafik berwarna hijau dengan konsentrasi BTB sebesar 100 ppm memiliki model kurva terbaik dengan panjang gelombang maksimum 617nm dan dengan profil absorbansi yang sesuai dengan hukum lambert beer yaitu masuk dalam rentang 0.2-0.8.



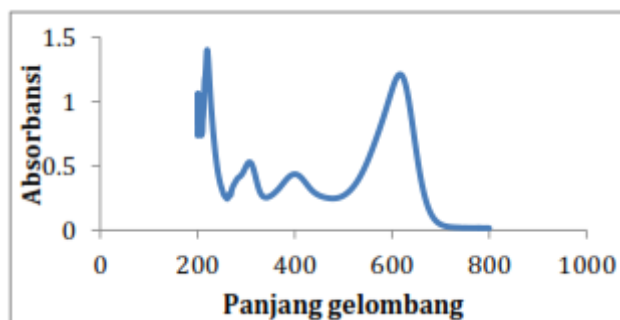
**Gambar 2. Kurva Penentuan Konsentrasi BTB**

**Penentuan Panjang Gelombang Kompleks BTB dan Kalsium Laktat**

Terlihat bahwa Gambar spektra sebelum terbentuk kompleks dan setelah terbentuk kompleks memiliki perbedaan panjang gelombang, yaitu pada puncak yang awalnya 418 kemudian bergeser ke kiri menjadi 399. Kemungkinan besar itu merupakan puncak terbentuknya kompleks dari Kalsium Laktat dengan bromotimol biru. Dapat dicurigai pada panjang gelombang 399-402 adalah panjang gelombang yang ditandai dengan terbentuknya reaksi antara BTB dan Kalsium Laktat yang menyebabkan perubahan warna dari biru menjadi hijau terang.



**Gambar 3. Spektra sebelum Pengompleksan**



**Gambar 4. Spektra sesudah Pengompleksan**

### **Percobaan Inkubasi Bromotimol Blue**

Spektra sebelum terbentuk kompleks dan setelah terbentuk kompleks memiliki perbedaan panjang gelombang, yaitu pada puncak yang awalnya 418 nm kemudian bergeser ke kiri menjadi 399 nm. Kemungkinan besar itu merupakan puncak terbentuknya kompleks dari Kalsium Laktat dengan bromotimol biru. Dapat dicurigai pada panjang gelombang 399-402 nm adalah panjang gelombang yang ditandai dengan terbentuknya reaksi antara BTB dan Kalsium Laktat yang menyebabkan perubahan warna dari biru menjadi hijau terang.

### **Penetapan Kadar Sampel Kalsium Laktat**

Berdasarkan kurva baku standart yang telah didapatkan dari penelitiannya, maka persamaan  $y = 0.3791x + 0.1835$  digunakan untuk melakukan perhitungan 3 buah sampel dengan konsentrasi 0.5 mikrogram/ml.

### **Validasi Metode Analisis Spektrofotometri Derivatif**

#### **Linearitas**

Berdasarkan grafik linearitas didapatkan persamaan  $y = 38.325x + 3.8181$ , Terlihat bahwa nilai r sebesar 0.9995. nilai r akan dikatakan baik jika nilainya mendekati 1. Maka berdasarkan hasil di atas dapat dikatakan nilai r memenuhi persyaratan, yaitu lebih besar 0,99.

#### **LOD**

Dengan mengasumsikan bahwa nilai absorbansi yang dihitung dari konsentrasi teoritis adalah  $y$  dan nilai absorbansi yang terukur dari alat spektrofotometer adalah sebesar  $y$ , maka nilai standar deviasi garis residual pada 5 titik kalibrasi adalah sebagai berikut.  $= (y - y) / (n - 2) = 1.810167$  LOD =  $3 \times SB / \text{slope} = 32.6342$

#### **LOQ**

Dengan mengasumsikan bahwa nilai absorbansi yang dihitung dari konsentrasi teoritis adalah  $y$  dan nilai absorbansi yang terukur dari alat spektrofotometer adalah sebesar  $y$ , maka nilai standar deviasi garis residual pada 5 titik kalibrasi adalah sebagai berikut.  $= (y - y) / (n - 2) = 1.810167$  LOQ =  $3 \times SB / \text{slope} = 108.701$ .

#### **Akurasi**

Hasil pada Tabel menunjukkan nilai recovery sebesar 99.995755, dan dapat dinyatakan memenuhi nilai recovery yang dipersyaratkan oleh Harmita 2004 yaitu 98-102%. Hal ini menunjukkan bahwa penetapan kadar kalsium laktat dengan menggunakan spektrofotometri derivatif UV-vis memiliki akurasi yang baik. Bentuk kurva dimana terbentuk adanya kompleks dapat dilihat pada gambar di bawah ini.

**Tabel 3. Data Pengujian Akurasi**

C	Persen Pembuatan		R	abs	rata-rata	kadar	%recovery
	Larutan						
0.4	80%	1	0.44393	0.44559	0.39463118	98.657796	
		2	0.457844		0.45958916	114.89729	
		3	0.434995		0.35291783	88.229458	
0.5	100	1	0.47094	0.465424	0.52072829	104.14566	
		2	0.470773		0.51994864	103.98973	
		3	0.454559		0.44425303	88.850607	
0.6	120	1	0.496005	0.48843	0.63774509	106.29085	
		2	0.495449		0.63514939	105.85823	
		3	0.473837		0.53425303	89.042172	

### Presisi

Berdasarkan Table penelitian Validasi Metode Analisis parameter presisi, didapatkan nilai Rata-rata 100.0159722, SD dari data presisi 3.722681799, kemudian RSD yang didapatkan adalah 0.037220873, untuk CV pengukuran presisi spektrofotometri yaitu sebesar 3.722087298. Konsentrasi dari tabel secara keseluruhan adalah 0.000100016 dan apabila di log didapatkan 3.999930639 yang kemudian log C dikalikan dengan 0.5 menghasilkan -1.99996532, dan  $1 - \log 5 C$  didapatkan 2.99996532. maka 2 dipangkatkan  $(1 - 0.5 \log C)$  didapatkan 7.999807693, sehingga CV horwitch adalah 5.279873077. setelah didapatkan masing-masing CV pengukuran dan CV Horwitch, Berdasarkan data didapatkan CV pengukuran adalah 3.722087298 dan nilai CV Horwitz yang telah dihitung dengan rumu  $0.66 \times 2(10.5 \log c)$  adalah sebesar 5.279873077. maka dapat disimpulkan bahwa uji presisi penelitian ini baik karena sudah memenuhi persyaratan.

**Tabel 4. Data Pengujian Presisi**

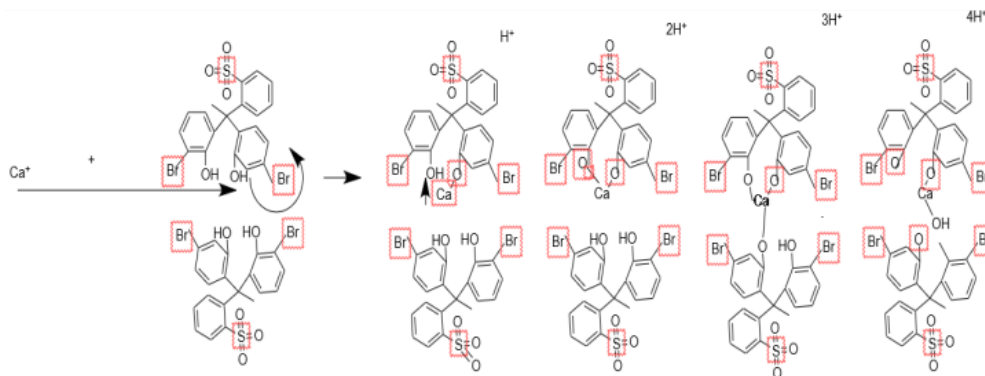
C	Persentase Pembuatan Larutan	R	absorbansi sampel	rata-rata	Kadar	persen kadar
0.4	80%	1	0.309056	0.30658	0.41497826	103.744565
		2	0.302779		0.38086413	95.2160326
		3	0.307912		0.40876087	102.190217
0.5	100	1	0.324261	0.32415	0.49761413	99.5228260
		2	0.321125		0.48057065	96.1141304
		3	0.327088		0.51297826	102.595652
0.6	120	1	0.340288	0.34338	0.58471739	97.4528985
		2	0.3495534		0.63507282	105.845471
		3	0.340298		0.58477173	97.4619565

### Hasil Analisis Data Secara Statistik

Hasil penelitian ini dilanjutkan dengan melakukan uji analisis data secara statistik menggunakan aplikasi R studi 3.2.1. Berdasarkan uji R dengan Shapiro wilk menunjukkan data akurasi terdistribusi normal karena nilai p value  $>0.05$ . Paired T-test menunjukkan data akurasi dari kedua metode baik kompleksometri dan spektrofotometri UV-Vis tidak memiliki perbedaan signifikan karena nilai p value  $>0.05$ . Berdasarkan uji R dengan Shapiro wilk menunjukkan data presisi terdistribusi normal karena nilai p value  $>0.05$ . Paired T-test menunjukkan data presisi dari kedua metode baik kompleksometri dan spektrofotometri UV-Vis tidak memiliki perbedaan signifikan karena nilai p value  $>0.05$

### PEMBAHASAN

Reaksi antara Kalsium dan Bromotimol biru terjadi yaitu ikatan kalsium bereaksi secara penta yaitu mengikat dengan 4 tangan karena habis bereaksi dengan 2 kali bromotimol biru. Ca akan memberbentuk penta dengan 4 tangan yang mengikat O membentuk kompleks Kalsium Bromotimol biru. Ikatan Ca dan bromotimol biru membentuk kompleks seperti pada gambar reaksi di bawah ini :



**Gambar 5. Reaksi Kalsium laktat+Bromotimol biru**

### SIMPULAN DAN SARAN

1. Penelitian ini dapat dikembangkan dengan melakukan derivatisasi pada senyawa pengompleks yang mungkin lebih selektif dengan pergeseran panjang gelombang yang lebih jauh agar reaksi kompleks yang terbentuk lebih kuat
2. Perlu dilakukan parameter uji stabilitas untuk mengetahui reaksi yang terbentuk akan bertahan sekian lama
3. Parameter lain bisa ditambahkan dalam validasi metode analisis kedua metode ini terutama untuk metode spektrofotometri dengan senyawa penderivatif untuk memperkuat hasil penelitian nilai recovery yang dipersyaratkan.
4. Dapat disimpulkan secara keseluruhan, apabila berdasarkan farmakope yang diberikan adalah metode kompleksometri untuk penetapan kadar titrasi kompleksometri, maka Spektrofotometri UV-Vis juga dapat digunakan sebagai metode lain dengan bantuan senyawa penderivat.

#### DAFTAR RUJUKAN

- Bolstad AI, Jensen HB, Bakken V. Taxonomy, Biology and Periodontal Aspects of *F.nucleatum*. *Clinical Microbiology Reviews* 1996; 9(1): 55-71
- Day, R. A. & Underwood, A. L. (2006). *Analisis Kimia Kuantitatif* (6th ed). Jakarta: Erlangga
- Dietitians of Canada. Food sources of soluble fibre. Available at [www.dietitians.ca](http://www.dietitians.ca) Accessed 17 June 2014
- Harmita, 2004. "Petunjuk Pelaksanaan Validasi dan Perhitungannya". *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol.I, No.3, Hal 117-130
- Nielsen, S. S. (2010). Complexometric Determination of Calcium. In Nielsen, S.S. (Ed.). *Food analysis laboratory manual* (pp. 61-67). New York, NY: Springer.
- Nurhidayati. 2007. Synthesis of Poliblend Polystyrene with Tapioca Starch and its Characterization. Tugas akhir. Program Studi Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Bandung. Bandung: Indonesia
- Pravina K., Ravindra K. R., Goudar K. S., Vinod D. R., Joshua A. J., Wasim P., et al. (2007). Safety evaluation of acoMind™ in healthy volunteers: a phase I study. *Phytomedicine* 14, 301-308. 10.1016/j.phymed.2007.03.010
- Rohman, A. (2009). *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hal.184, 187
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja, 2007, *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Keenam, 262, 269-271, PT. Elex Media Komputindo, Jakarta
- Ward, R. E., & Carpenter, C. E. (2010) Traditional Methods for Mineral Analysis. In Nielsen, S. S. (Ed). *Food analysis 4 th* (pp. 201-215). New York, NY: Springer
- Watson, D.G. 2009. *Analisis Farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*. Penerjemah: Syarif, W.R. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran