

REVIEW ARTICLE : PENETAPAN KADAR OBAT DENGAN METODE APLIKASI SPEKTROFOTOMETRI VISIBLE

Embun Larasati Kuncoro¹, Egalita Adliyah^{2*}, Iqlima Farah Novantri³, Adriansyah⁴, Calista Luna⁵, Margaret Rianti Martalina⁶, Aurelia Devi⁷

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Semarang^{1,2,3,4,5,6,7}

*Corresponding Author : egalitaadliyah587@students.unnes.ac.id

ABSTRAK

Teknik analisis Spektrofotometri *visible* (Vis) merupakan alat kuantitatif yang berdasarkan prinsipnya pada pengukuran absorbansi radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang cahaya tampak (400–800 nm) untuk mengukur konsentrasi analit dalam larutan. Metode Spektrofotometri Vis memiliki aplikasi yang luas dalam analisis bahan dan obat, khususnya untuk validasi metode dan pengawasan mutu. Penelitian ini bertujuan untuk meninjau secara kritis perkembangan dan penerapan metode spektrofotometri visibel dalam penetapan kadar obat guna memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan metode yang selektif dan akurat. Berbagai penelitian telah mengonfirmasi efektivitasnya dalam penetapan kadar berbagai macam senyawa. Penelitian ini menggunakan studi literature review terhadap 23 artikel nasional dan internasional terbaru yang relevan, dengan fokus pada jenis senyawa yang dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan dalam bidang farmasi dan keamanan pangan, Spektrofotometri Vis telah menunjukkan kemampuan untuk menganalisis Bahan Kimia Obat (BKO) yang sering ditambahkan secara ilegal ke dalam jamu, seperti asam mefenamat dan asetosal dalam formulasi obat pereda nyeri. Aplikasi ekstensif juga mencakup penetapan kadar antibiotik, meliputi: Ciprofloxacin (melalui pembentukan *charge-transfer complex* yang menghasilkan puncak serapan pada 440 nm), Tetracycline Hydrochloride (dengan reaksi penggandengan menggunakan asam sulfanilat pada 403 nm), Amoxicillin Trihydrate (menggunakan reagen sodium nitroprusside/SNP), Gentamisin sulfat dalam sediaan topikal, dan Rifampisin. Lebih lanjut, metode ini terbukti valid untuk penetapan vitamin seperti Riboflavin dan β -karoten dalam ekstrak *Spirulina maxima* (yang memiliki serapan khas pada 400–500 nm), serta untuk obat sitostatika Doksorubisin.

Kata kunci : analisis farmasi, bahan kimia obat, spektrofotometri visible

ABSTRACT

Visible Spectrophotometry (Vis) analysis technique is a quantitative tool that is based on the principle of measuring the absorbance of electromagnetic radiation at visible light wavelengths (400–800 nm) to measure the concentration of analytes in solution. This study aims to critically review the development and application of the visible spectrophotometry method in drug content determination to provide a scientific basis for the development of selective and accurate methods. Various studies have confirmed its effectiveness in determining the content of various compounds. This study uses a literature review study of 21 recent relevant national and international articles, with a focus on the types of compounds analyzed. The results of the study show that in the fields of pharmaceuticals and food safety, Vis Spectrophotometry has demonstrated the ability to analyze Chemical Drugs (BKO) that are often added illegally to herbal medicines, such as mefenamic acid and acetosal in pain reliever formulations. Extensive applications also include the determination of antibiotics, including: Ciprofloxacin (through the formation of a charge-transfer complex that produces an absorption peak at 440 nm), Tetracycline Hydrochloride (by a coupling reaction using sulfanilic acid at 403 nm), Amoxicillin Trihydrate (using sodium nitroprusside/SNP reagent), Gentamicin sulfate in topical preparations, and Rifampicin. This method has been proven valid for the determination of vitamins such as Riboflavin and beta-carotene in Spirulina maxima extract (which has a typical absorption at 400–500 nm), as well as for the cytostatic drug Doxorubicin.

Keywords : active pharmaceutical ingredients, pharmaceutical analysis, visible spectrophotometry

PENDAHULUAN

Spektrofotometri vis (spektrofotometri visible) adalah teknik analisis yang digunakan untuk mengukur absorbansi cahaya oleh suatu sampel pada panjang gelombang tertentu dalam rentang cahaya tampak. Prinsip dasar dari spektrofotometri vis adalah ketika cahaya dengan panjang gelombang tertentu melewati sampel, sebagian cahaya akan diserap oleh sampel dan sebagian lainnya akan diteruskan. Besarnya absorbansi ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi zat tertentu dalam sampel. Spektrofotometri vis sering digunakan dalam berbagai bidang seperti kimia, biologi, dan ilmu lingkungan, untuk analisis kuantitatif dan kualitatif zat-zat dalam larutan. Spektrofotometri visible juga dikenal sebagai spektrofotometri cahaya tampak, di mana cahaya tampak merujuk pada sinar yang dapat dilihat oleh manusia. Cahaya yang terlihat oleh manusia memiliki panjang gelombang antara 400 hingga 800 nm dan energi berkisar antara 299 hingga 149 kJ/mol. Elektron dalam kondisi biasa atau yang berada pada kulit atom dengan energi terendah disebut sebagai keadaan dasar. Energi dari cahaya tampak dapat memindahkan elektron dari keadaan dasar ke kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau ke keadaan tereksitasi. Cahaya atau sinar tampak merupakan radiasi elektromagnetik yang terdiri dari gelombang (Ramadhani *et al.*, 2024)

Obat tradisional yang sampai saat ini masih digemari masyarakat adalah jamu. Jamu umumnya mengandung tumbuh-tumbuhan dan diramu berdasarkan resep turun temurun berdasarkan pengalaman. Tingginya minat masyarakat terhadap penggunaan jamu dan semakin ketatnya persaingan industri jamu di Indonesia, dimanfaatkan oleh industri nakal menambahkan Bahan Kimia Obat (BKO) kedalam produk jamu. Pada tahun 2014 ditemukan 51 obat tradisional yang mengandung BKO dimana 42 diantaranya merupakan produk ilegal. Berbagai macam jenis BKO yang ditemukan di Indonesia, misalnya saja BKO pada jamu kuat yang ditemukan di Kota Malang. Namun, BKO yang paling sering disalahgunakan dalam sediaan jamu adalah pereda nyeri seperti parasetamol, methampyrone, ibuprofen, dan asam mefenamat. Asam mefenamat merupakan obat analgetik dan antiinflamasi golongan Non-Steroid (NSAID) yang digunakan untuk pengobatan osteoarthritis, reumatik, dan nyeri. Terdapat berbagai macam metode analisis dalam penentuan BKO dalam sediaan jamu, misalnya secara KLT-Densitometri, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Kromatografi Gas (KG), serta secara Spektrofotometri UV-Vis (Sahumena *et al.*, 2020).

Asetosal atau asam asetil salisilat merupakan jenis obat turunan salisilat. Nama sistematis IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) asetosal adalah asam 2-asetil benzoat asam asetat. Struktur kimia senyawa asetosal ditunjukkan pada Gambar 1. Asetosal memiliki rumus molekul $C_9H_8O_4$ dengan berat molekul 180,16 g/mol, kelarutan dalam air 3 mg/mL (20°C) titik leleh 135°C merupakan kristal dengan pemerian serbuk berwarna putih, tidak memiliki bau yang kuat. Asetosal yang sering dikenal sebagai aspirin digunakan oleh masyarakat luas sebagai analgesik atau penahan rasa sakit atau nyeri minor, antipiretik (penurun demam) dan anti-inflamasi (peradangan). Penggunaan aspirin dalam dosis yang terlalu tinggi dapat menyebabkan beberapa indikasi dan dampak negatif seperti iritasi lambung, perdarahan, perforasi atau kebocoran lambung serta menghambat aktivitas trombosit. Penentuan kadar asetosal dalam sediaan obat menjadi sangat penting untuk uji kualitas produk sebelum dan selama proses produksi maupun setelah menjadi produk akhir (kuntari *et al.*, 2017).

Ciprofloxacin adalah antibiotik golongan fluorokuinolon yang banyak digunakan. Berbagai metode analisis tersedia, namun penelitian ini mengembangkan metode spektrofotometri visible berbasis pembentukan charge-transfer complex antara ciprofloxacin–SNP– NH_2OH dalam kondisi basa yang menghasilkan warna kuning pada 440 nm. Metode ini dikembangkan karena sederhana, sensitif, murah, dan cocok untuk analisis rutin kualitas obat.

Validasi menunjukkan presisi dan akurasi yang baik serta dapat diterapkan pada sediaan farmasi (Mahmoud *et al.*, 2024). Spirulina kaya β -karoten yang penting sebagai provitamin A untuk kesehatan mata, epitel, dan imunitas. Karena perannya besar, diperlukan metode analisis yang valid dan akurat untuk menentukan kadar β -karoten dalam ekstrak Spirulina. Metode spektrofotometri visible dipilih karena β -karoten memiliki gugus kromofor dan serapan khas pada panjang gelombang 400–500 nm. Validasi dilakukan melalui uji spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ untuk memastikan metode layak digunakan secara ilmiah (Fatimah *et al.*, 2018).

Nitrit merupakan bahan tambahan pangan yang umum digunakan pada produk olahan daging untuk memperbaiki warna, menghambat pertumbuhan *Clostridium botulinum*, serta meningkatkan daya simpan. Namun, penggunaan nitrit harus diawasi karena dapat bereaksi dengan amina sekunder membentuk nitrosamin yang bersifat toksik dan karsinogenik. Konsumsi nitrit berlebih juga dapat menyebabkan methemoglobinemia yang mengganggu kemampuan darah mengangkut oksigen, terutama pada bayi. Regulasi di Indonesia menetapkan batas maksimum nitrit dalam produk daging sehingga pemantauan kadar nitrit dalam pangan menjadi penting. Oleh karena itu, analisis nitrit pada sosis sapi melalui metode spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi Griess diperlukan untuk memastikan keamanan pangan (Romsiah *et al.*, 2017). Formaldehida adalah bahan kimia yang banyak digunakan sebagai pengawet pada berbagai produk, termasuk alat kesehatan dan bahan rumah tangga. Pada produk pembalut wanita, keberadaan formaldehida perlu diawasi karena bahan baku yang berasal dari kertas daur ulang berpotensi terkontaminasi senyawa ini. Formaldehida bersifat toksik dan penggunaannya diatur ketat oleh BPOM serta standar SNI untuk mencegah risiko kesehatan. Oleh karena itu, metode analisis yang selektif, akurat, dan sensitif seperti spektrofotometri visibel dengan pereaksi Nash perlu divalidasi untuk memastikan keandalan penetapan kadar formaldehida dalam pembalut wanita yang beredar (Yulianti *et al.*, 2017).

Rhodamin B adalah zat warna sintesis yang digunakan dalam industri tekstil untuk menghasilkan warna merah cerah. Senyawa ini bersifat toksik, karsinogenik, dan dilarang keras penggunaannya dalam pangan. Namun, penyalahgunaan rhodamin B sebagai pewarna makanan masih ditemukan pada berbagai produk seperti jajanan, minuman, kerupuk, dan saos karena harganya murah dan menghasilkan warna menarik. Pengawasan keamanan pangan menuntut adanya metode analisis yang valid, sensitif, dan mudah diterapkan. Spektrofotometri UV-Vis menjadi salah satu metode yang efektif untuk mendeteksi rhodamin B, namun perlu divalidasi terutama terkait pengaruh pelarut seperti metanol dan etanol terhadap linearitas, presisi, dan akurasinya (Rohyami *et al.*, 2018). Tetrasiklin adalah kelompok antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap hampir semua bakteri Gram positif dan Gram negatif. Antibiotik ini banyak digunakan untuk berbagai infeksi, termasuk rickettsia, klamidia, pneumonia atipikal, ehrlichiosis, dan penyakit Lyme. Beragam metode analisis telah digunakan untuk menentukan kadar tetrasiklin dan turunannya, seperti spektrofotometri, HPLC, flow injection analysis, voltametri, fluorometri, dan LC-MS. Namun, beberapa metode memerlukan instrumen mahal dan keterampilan tinggi. Penelitian ini bertujuan mengembangkan metode baru yang sederhana dan cepat untuk penetapan tetrasiklin dalam sediaan farmasi menggunakan reagen sulfanilat (Ali *et al.*, 2018).

Amoxicillin merupakan antibiotik golongan β -laktam turunan aminopenisilin yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui pengikatan pada PBP (penicillin binding protein). Obat ini banyak digunakan untuk mengatasi infeksi saluran pernapasan, saluran kemih, sampai infeksi kulit. Karena sifatnya yang tidak stabil dalam kondisi asam dan mudah terdegradasi oleh suhu serta cahaya, penetapan kadar amoxicillin dalam sediaan farmasi perlu dilakukan menggunakan metode analisis yang tervalidasi (Hamzawy, 2017). Gentamisin sulfat merupakan antibiotik spektrum luas yang bekerja

dengan menghambat sintesis protein bakteri dan termasuk dalam golongan aminoglikosida (Suryoputri et al., 2023). Gentamisin sulfat memiliki kelarutan yang baik dalam air dan tidak larut dalam pelarut organik seperti etanol, aseton, kloroform, eter, dan benzen. Bentuk sediaan gentamisin sulfat yang paling banyak dijumpai di pasaran adalah salep atau krim untuk pemakaian topikal. Kandungan zat aktif gentamisin sulfat dalam sediaan salep dapat diketahui melalui analisis kadar menggunakan metode yang sesuai dengan karakteristik bahan aktif (Tinctura, 2023). Berdasarkan *United State Pharmacopeia* 41 (2018) penetapan kadar gentamisin sulfat dapat dilakukan menggunakan kromatografi gas ataupun kromatografi cair kinerja tinggi (Bachvarova et al., 2022).

Cyanocobalamin (vitamin B12) merupakan vitamin kompleks berwarna merah dan memiliki struktur paling rumit dibandingkan vitamin lainnya (Departemen Kesehatan RI, 1995). Senyawa ini berperan penting dalam pembentukan sel darah dan metabolisme tubuh, sehingga diperlukan metode analisis yang akurat untuk menjamin mutu sediaan vitamin B12 di pasaran. Validasi metode diperlukan untuk memastikan bahwa prosedur analisis memenuhi persyaratan akurasi, presisi, dan linearitas sehingga layak digunakan untuk pemeriksaan rutin (Harmita, 2004). Pada analisis cyanocobalamin, spektrofotometri visible double beam digunakan karena vitamin B12 memiliki dua panjang gelombang maksimum, yaitu 361 nm dan 550 nm, sehingga dapat dianalisis pada daerah visible (The Committee on JP, 2006). Vitamin C atau asam askorbat merupakan senyawa antioksidan penting dengan rumus kimia $C_6H_8O_6$ yang banyak terdapat dalam berbagai bahan makanan dan minuman. Senyawa ini bertindak sebagai inaktivator radikal bebas dan penghambat reaksi oksidasi, sehingga kandungan vitamin C dalam buah-buahan seperti jeruk, pepaya, mangga, anggur, dan semangka sangat menentukan kapasitas antioksidatifnya (Mulyani, 2018). Mengingat perannya yang signifikan bagi kesehatan serta tingginya konsumsi produk pangan dan minuman yang mengandung vitamin C, diperlukan metode analisis yang akurat untuk menentukan kadarnya. Penetapan kadarnya dapat dilakukan dengan titrimetri maupun spektrofotometri UV-Vis, di mana spektrofotometri memberikan sensitivitas dan akurasi yang lebih baik (Buhari, 2010). Vitamin C memiliki serapan maksimum pada 266 nm, namun juga dapat dianalisis pada daerah visible 494 nm melalui pembentukan warna kuning dengan reagen ammonium molibdat sehingga absorbansi dapat dibaca pada panjang gelombang visible. Metode ini menjadi alternatif analisis vitamin C pada sampel pangan maupun minuman yang memerlukan pembacaan berbasis warna (Tahir et al., 2018).

Rifampisin merupakan senyawa turunan semisintetik dari rifampisin B yang merupakan salah satu senyawa kelompok antibiotik makrosiklik yang disebut juga rifamisin. Obat ini bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif dan juga dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis virus. Rifampisin dapat menghambat sintesis RNA mitokondria mamalia namun memerlukan kadar yang tinggi (Saputra et al., 2018). Dokсорubisin (DOX) adalah obat sitostatika dari golongan antibiotik antrasiklin, sebuah interkalator planar yang mengandung naftalen kuinon yang terikat pada daunosamin (suatu gula amino) melalui ikatan glikosidik. Keberadaan rantai samping alifatik berperan penting dalam pengikatan pada heliks DNA. Seperti semua intercalator, dokсорubisin merupakan molekul polar dengan delokalisasi muatan tinggi dan akseptor elektron yang baik (Sikora et al., 2022). Riboflavin, juga dikenal sebagai vitamin B₂, merupakan vitamin esensial yang larut dalam air yang berperan penting dalam berbagai jalur metabolisme, terutama dalam reaksi redoks sebagai koenzim untuk flavoprotein. Riboflavin sangat penting untuk produksi energi, fungsi seluler, dan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Defisiensi riboflavin dapat menyebabkan gejala seperti sakit tenggorokan, glossitis, anemia, dan gangguan kulit, sehingga memerlukan inklusi riboflavin dalam berbagai formulasi farmasi dan nutrasetikal, terutama sediaan multivitamin. Karena sistem cincin isoaloksazinnnya yang sangat terkonjugasi, riboflavin menunjukkan fluoresensi asli yang kuat, menjadikannya kandidat

ideal untuk analisis spektrofotometri (Kashid *et al.*, 2025). Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan bertujuan meninjau secara kritis perkembangan dan penerapan metode spektrofotometri visibel sebagai penetapan kadar obat guna memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan metode yang selektif dan akurat.

METODE

Penelitian ini menggunakan pendekatan kualitatif non-eksperimental yang bersifat deskriptif melalui literature review untuk menelaah penggunaan spektrofotometri visible dalam analisis Bahan Kimia Obat (BKO). Data dikumpulkan secara retrospektif dan dianalisis secara deskriptif dengan menghimpun berbagai literatur, artikel, dan jurnal ilmiah yang relevan yang diterbitkan dalam kurun waktu sepuluh tahun terakhir. Sumber referensi diperoleh melalui pencarian pada database ilmiah seperti PubMed, ScienceDirect, dan Google Scholar menggunakan kata kunci “*Visible Spectrophotometry*”, “*Vis Analysis*”, “*Active Pharmaceutical Ingredients*”, dan “*Colorimetric Determination*”, serta kombinasi kata kunci terkait teknik analisis menggunakan spektrofotometri visible. Kriteria inklusi mencakup artikel penelitian asli yang membahas penggunaan spektrofotometri visible untuk analisis Bahan Kimia Obat (BKO), dipublikasikan antara tahun 2015–2025, tersedia dalam bahasa Indonesia atau Inggris, serta dapat diakses dalam bentuk teks lengkap. Kriteria eksklusi meliputi artikel yang tidak menggunakan metode spektrofotometri visible, tidak berkaitan dengan analisis Bahan Kimia Obat (BKO), tidak tersedia dalam akses penuh, atau tidak termasuk dalam rentang tahun publikasi yang ditetapkan.

HASIL

Penelitian ini menggunakan spektrofotometri visibel yang menunjukkan bahwa spektrofotometri visibel ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi penetapan kadar dengan metode validasi yaitu linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), presisi, dan akurasi.

Tabel 1. Analisis Instrumental dengan Spektrofotometri Visible

Sampel	λ max (nm)	Kurva Kalibrasi dan Linearitas	Recovery (%)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	Hasil	Ref.
Kapsul Tetracycline Hydrochloride	403	$y = 0.0133x + 0.0092$ $r = 0.9997$	-	0.2	Metode sederhana, akurat, presisi, sensitif, dan dapat diterapkan untuk analisis tetracycline dalam sediaan farmasi	Ali <i>et al.</i> , 2018
Ciprofloxacin bentuk murni dan sediaan tablet/kapsul	440	$y = 0,0011x - 0,0343$ $r = 0,99849$	98,9–100	41,909	Metode sensitif untuk ciprofloxacin	Mahmoud <i>et al.</i> , 2024
Ekstrak etanol 96% Spirulina maxima	454	$y = 0,031x - 0,0345$ $r = 0,998$	98–101	5,017	Metode valid untuk penetapan kadar β -karoten	Fatimah <i>et al.</i> , 2018
Jamu dengan baku	585	$y = 0,0591x +$	95,41-	0,48	Metode ini valid	Sahume

asam mefenamat		0,3854 r = 0,998	102,5		menunjukkan hasil yang positif	<i>et al.</i> , 2020
Asetosal dalam obat sakit kepala	432	$y = 0,0599x + 0,0116$ r = 0,9967	93,88	2,2131	Metode ini valid dengan parameter uji validasi yaitu linearitas, LoD, LoQ, Presisi, akurasi dan estimasi.	Kuntari <i>et al.</i> , 2017
Boraks	547	$y = 1,3127x - 0,0994$ r = 0,9690	47,49	0,02944	Metode penetapan kadar boraks pada sampel bakso menunjukkan hasil positif	Sudjarwo <i>et al.</i> , 2021
Nitrit pada Sosis Sapi	540	$y = 0,5579x + 0,0064$ r = 0,999	98,55	0,0568	Metode menunjukkan linearitas tinggi, presisi dan akurasi baik, serta sensitif untuk analisis nitrit pada sosis curah dan sosis kaleng	Romsiya h <i>et al</i> (2017)
Formaldehida pada Pembalut	413	$y = 0,1284x + 0,0024$ r = 0,99967	87-23	0,1198	Metode sederhana, selektif, presisi, akurat, serta sensitif untuk penetapan kadar formaldehida pada pembalut wanita	Yulianti <i>et al</i> (2017)
Rhodamin B pada Saos	550	$y = 0,2148x + 0,0010$ r = 0,9996	82,7	0,3737	Metode menghasilkan linearitas, presisi, dan akurasi yang baik sehingga valid untuk penentuan rhodamin B dalam sampel saos.	Rohyami <i>et al</i> (2018)
Gentamisin sulfat dalam sediaan salep	559	$y = 1,0358x + 6,8947$ r = 0,9989	82,759 99,822	- 110,1286 655	Metode memiliki validitas yang baik untuk parameter linearitas dan repeatabilitas, dan kurang baik untuk validitas parameter akurasi	Nisfiliya h & Sukmawa ti (2021)
Cyanocobalamin	550	$y = 0,0036x + 0,0049$ r = 0,9997	98,24	-	Metode valid untuk penetapan kadar cyanocobalamin	Hutagaol & Niken (2012)

Vitamin C	494	$y = 0,028x + 0,0599$ $r = 0,8504$	-	0,18	Linearitas kurang baik ($r = 0,8504$), namun presisi masih baik (RSD 1,04%). Metode memiliki sensitivitas rendah.	Ngibad & Herawati (2019)
<i>Amoxicillin Trihydrate</i>	520	$y = 0.0152x + 0.0041$, $r = 0.9993$	98,20 101,40	- 3,68	Metode sensitif, akurat & presisi tinggi menggunakan reagen SNP dalam suasana basa	Hamzawy, (2017)
Rifampisin	480	$y = 0,0105x - 0,0077$, $r = 0,9997$	103,59	-	Metode ini memiliki linearitas yang baik, sensitif serta praktis untuk penetapan kadar rifampisin	Saputra <i>et al.</i> , (2018)
Doksorubisin	500	$y = 0.012x + 0.002$, $r = 0.999$	99.9	0.6	Metode spektrofotometri visible terbukti akurat, linear, sensitif, dan praktis untuk penetapan kadar doksorubisin dalam analisis farmasi.	Sikora <i>et al.</i> , (2022)
Riboflavin	520	$y = 6003,3x + 105,7$, $r = 0,995$	100,39	0,000228	Metode valid untuk penetapan kadar riboflavin	Kashid <i>et al.</i> , (2025)
Tanin dalam daun mangkokan (metode perasan)	675	$y = 0,1081x + 0,1352$ $r = 0,9903$	-	-	Kadar tanin: 0,86%; 0,61%; 0,52% (rata-rata 0,66%). Metode perasan menghasilkan kadar lebih tinggi dibanding rebusan	Listiana <i>et al.</i> , (2022)
Tanin dalam daun mangkokan (metode rebusan)	675	$y = 0,1081x + 0,1352$ $r = 0,9903$	-	-	Kadar tanin: 0,38%; 0,30%; 0,29% (rata-rata 0,32%)	Listiana <i>et al.</i> , (2022)
Inulin dalam umbi gembili	520	$y = 0,0045x + 0,1009$ $r^2 = 0,9992$ ($r = 0,9996$)	96,14- 106,76	11,95	840,44-12188,59 ppm (258,22-3129,33 mg/kg)	Apriliyani <i>et al.</i> , (2018)

Asam askorbat dalam jeruk bali (Citrus maxima)	701	$y = 0,0019x + 0,071$ $r = 0,9998$	$100,21 \pm 1,70$ (98,22-101,64%)	-	$0,0208 \pm 0,0129\%$ (w/w) (0,0046-0,0416% w/w)	Sudjarwo (2017)
Kurkumin (Curcumin)	425	$y = 0,0251x + 0,0065$ $r = 0,9994$	98.1–101.8	2,65	valid untuk ekstrak kunyit	Patel <i>et al.</i> , (2019)

Berdasarkan tabel 1, yakni merangkum 23 artikel penelitian yang membahas dengan fokus pada jenis senyawa yang dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan dalam bidang farmasi dan keamanan pangan, Spektrofotometri Vis telah menunjukkan kemampuan untuk menganalisis Bahan Kimia Obat (BKO) yang sering ditambahkan secara ilegal ke dalam jamu, seperti asam mefenamat dan asetosal dalam formulasi obat pereda nyeri. Aplikasi ekstensif juga mencakup penetapan kadar antibiotik, meliputi: Ciprofloxacin (melalui pembentukan *charge-transfer complex* yang menghasilkan puncak serapan pada 440 nm), Tetracycline Hydrochloride (dengan reaksi penggandengan menggunakan asam sulfanilat pada 403 nm), Amoxicillin Trihydrate (menggunakan reagen sodium nitroprusside/SNP), Gentamisin sulfat dalam sediaan topikal, dan Rifampisin.

PEMBAHASAN

Prinsip Dasar dan Mekanisme Spektrofotometri Visible

Spektrofotometri visible merupakan teknik analisis yang memanfaatkan kemampuan senyawa untuk menyerap cahaya tampak pada panjang gelombang tertentu dalam rentang 400-800 nm. Prinsip kerjanya didasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan dan tebal kuvet yang digunakan (Ramadhani *et al.*, 2024). Ketika cahaya dengan panjang gelombang tertentu melewati larutan sampel, elektron dalam molekul akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Energi dari cahaya tampak berkisar antara 149-299 kJ/mol, cukup untuk menyebabkan transisi elektronik pada senyawa-senyawa yang memiliki sistem konjugasi atau ikatan rangkap terkonjugasi.

Besarnya energi yang diserap bergantung pada struktur molekul, khususnya adanya gugus kromofor yang bertanggung jawab terhadap penyerapan cahaya. Gugus kromofor merupakan bagian molekul yang mengandung elektron tidak berpasangan atau elektron pi yang dapat tereksitasi oleh energi cahaya. Semakin panjang sistem konjugasi dalam molekul, semakin ke arah panjang gelombang yang lebih tinggi absorbansi maksimumnya terjadi. Hal ini menjelaskan mengapa senyawa dengan struktur berbeda memiliki panjang gelombang maksimum yang berbeda pula, seperti yang terlihat pada data penelitian yang menunjukkan variasi λ_{max} dari 403 nm hingga 701 nm tergantung jenis senyawa yang dianalisis.

Aplikasi pada Analisis Antibiotik

Berbagai jenis antibiotik dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri visible dengan pendekatan yang berbeda sesuai karakteristik kimianya. Ciprofloxacin sebagai antibiotik golongan fluorokuinolon dianalisis melalui pembentukan kompleks charge-transfer dengan sodium nitroprusside dan hidroxylamin dalam kondisi basa yang menghasilkan warna kuning pada 440 nm (Mahmoud *et al.*, 2024). Reaksi ini berlangsung melalui transfer elektron dari donor ke akseptor yang menghasilkan spesies berwarna. Metode ini menunjukkan linearitas sangat baik dengan koefisien korelasi 0,99849 dan recovery berkisar 98,9-100%, membuktikan bahwa metode ini akurat dan dapat digunakan untuk penetapan kadar ciprofloxacin dalam sediaan farmasi. LOQ yang diperoleh sebesar 41,909 $\mu\text{g/mL}$

menunjukkan sensitivitas yang memadai untuk analisis rutin. Tetracycline hydrochloride dianalisis melalui reaksi penggandengan dengan asam sulfanilat yang telah diaktifkan menggunakan sodium nitrit dalam suasana asam (Ali *et al.*, 2018). Reaksi ini membentuk garam diazonium yang kemudian bereaksi dengan tetracycline menghasilkan senyawa azo berwarna dengan absorbansi maksimum pada 403 nm. Metode ini memberikan linearitas yang sangat baik dengan koefisien korelasi 0,9997 dan LOQ sebesar 0,2 µg/mL, menunjukkan sensitivitas yang tinggi.

Nilai LOQ yang rendah ini mengindikasikan bahwa metode mampu mendeteksi dan mengkuantifikasi tetracycline pada konsentrasi yang sangat rendah. Kelebihan metode ini adalah kesederhanaan prosedur dan tidak memerlukan peralatan yang mahal, sehingga cocok untuk analisis rutin di laboratorium dengan sumber daya terbatas. Amoxicillin trihydrate yang merupakan antibiotik beta-laktam dapat dianalisis menggunakan reagen sodium nitroprusside dalam suasana basa (Hamzawy, 2017). Reaksi antara amoxicillin dengan SNP menghasilkan kompleks berwarna yang dapat diukur pada 520 nm. Metode ini menunjukkan linearitas yang baik dengan koefisien korelasi 0,9993 dan recovery antara 98,20-101,40%, membuktikan akurasi yang tinggi. LOQ sebesar 3,68 µg/mL menunjukkan bahwa metode ini cukup sensitif untuk penetapan kadar amoxicillin dalam sediaan farmasi. Penggunaan reagen SNP dalam suasana basa memberikan keuntungan karena reaksi berlangsung cepat dan menghasilkan warna yang stabil.

Gentamisin sulfat dalam sediaan topikal seperti salep dapat dianalisis setelah ekstraksi zat aktif dari basis salep menggunakan buffer fosfat, kemudian direaksikan dengan ninhidrin yang menghasilkan warna ungu dengan panjang gelombang maksimum 559 nm (Nisfiliyah & Sukmawati, 2021). Metode ini menunjukkan linearitas yang baik dengan $r = 0,9989$, namun memiliki kelemahan pada parameter akurasi dengan recovery berkisar 82,759-99,822%. Rentang recovery yang lebar ini kemungkinan disebabkan oleh kesulitan dalam ekstraksi gentamisin dari basis salep yang mengandung komponen lipid. LOQ yang cukup tinggi yaitu 110,13 µg/mL juga menunjukkan bahwa metode ini memiliki sensitivitas yang lebih rendah dibanding metode untuk antibiotik lain. Rifampisin sebagai antibiotik antituberkulosis dapat dianalisis pada panjang gelombang 480 nm karena memiliki struktur kromofor alami (Saputra *et al.*, 2018). Metode ini menunjukkan linearitas sangat baik dengan $r = 0,9997$ dan recovery 103,59%. Meskipun recovery sedikit melebihi 100%, nilai ini masih dalam rentang yang dapat diterima untuk metode analisis. Kelebihan analisis rifampisin adalah tidak memerlukan derivatisasi karena senyawa ini sudah berwarna, sehingga prosedur analisis menjadi lebih sederhana dan cepat.

Penetapan Kadar Vitamin dan Senyawa Bioaktif

Beta-karoten dalam ekstrak *Spirulina maxima* merupakan contoh senyawa yang memiliki gugus kromofor alami berupa ikatan rangkap terkonjugasi (Fatimah *et al.*, 2018). Senyawa ini memiliki absorbansi khas pada rentang 400-500 nm dengan puncak maksimum pada 454 nm. Struktur beta-karoten yang memiliki sebelas ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan elektron pi dapat dengan mudah tereksitasi oleh energi cahaya visible. Metode spektrofotometri visible untuk beta-karoten menunjukkan linearitas yang baik dengan $r = 0,998$ dan recovery 98-101%, membuktikan validitas metode untuk analisis kuantitatif. LOQ sebesar 5,017 µg/mL menunjukkan sensitivitas yang memadai untuk analisis beta-karoten dalam ekstrak alga. Penggunaan pelarut yang tepat seperti aseton atau heksana sangat penting untuk mengekstrak beta-karoten secara optimal dari matriks *Spirulina*. Riboflavin atau vitamin B2 memiliki sistem cincin isoaloksazin yang sangat terkonjugasi sehingga memberikan warna kuning dan dapat dianalisis pada panjang gelombang 520 nm (Kashid *et al.*, 2025). Selain absorbansi, riboflavin juga menunjukkan sifat fluoresensi yang kuat, namun metode spektrofotometri visible tetap dapat digunakan dengan hasil yang valid. Validasi

metode menunjukkan linearitas yang baik dengan $r = 0,995$ dan recovery 100,39%, serta LOQ yang sangat rendah yaitu 0,000228 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan sensitivitas yang luar biasa tinggi. Sensitivitas yang tinggi ini disebabkan oleh koefisien absorptivitas molar riboflavin yang besar pada panjang gelombang maksimumnya. Metode ini sangat cocok untuk analisis riboflavin dalam sediaan multivitamin yang umumnya mengandung konsentrasi rendah.

Cyanocobalamin atau vitamin B12 memiliki dua panjang gelombang maksimum yaitu 361 nm pada daerah UV dan 550 nm pada daerah visible (Hutagaol & Niken, 2012). Analisis menggunakan spektrofotometri visible double beam pada 550 nm memberikan hasil linearitas yang sangat baik dengan $r = 0,9997$ dan recovery 98,24%. Penggunaan metode double beam memberikan keuntungan karena dapat mengoreksi absorbansi yang disebabkan oleh pelarut atau komponen lain secara otomatis. Vitamin B12 memiliki struktur kompleks dengan ion kobalt di pusatnya yang memberikan warna merah khas, sehingga dapat langsung dianalisis tanpa derivatisasi. Vitamin C atau asam askorbat dapat dianalisis pada daerah visible melalui dua pendekatan berbeda. Pendekatan pertama menggunakan pembentukan kompleks dengan ammonium molibdat yang menghasilkan warna kuning dengan panjang gelombang 494 nm (Ngibad & Herawati, 2019). Namun hasil validasi menunjukkan linearitas yang kurang memuaskan dengan $r = 0,8504$, meskipun presisi masih dalam batas yang dapat diterima dengan RSD 1,04%. LOQ sebesar 0,18 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan sensitivitas yang cukup baik. Linearitas yang rendah kemungkinan disebabkan oleh ketidakstabilan kompleks yang terbentuk atau adanya interferensi dari komponen matriks sampel.

Pendekatan kedua untuk analisis asam askorbat dalam jeruk bali menggunakan panjang gelombang 701 nm menghasilkan linearitas yang jauh lebih baik dengan $r = 0,9998$ dan recovery 100,21 $\pm$ 1,70% (Sudjarwo, 2017). Perbedaan ini menunjukkan bahwa pemilihan metode derivatisasi dan kondisi reaksi sangat berpengaruh terhadap kualitas hasil analisis. Metode pada 701 nm kemungkinan menggunakan reagen yang berbeda atau kondisi reaksi yang lebih optimal sehingga menghasilkan kompleks yang lebih stabil. Kurkumin sebagai senyawa bioaktif dalam kunyit memiliki struktur dengan gugus kromofor yang dapat membentuk kompleks dengan borat (Patel *et al.*, 2019). Pembentukan kompleks kurkumin-borat menghasilkan warna yang dapat diukur pada 425 nm dengan linearitas sangat baik ($r = 0,9994$) dan recovery 98,1-101,8%. LOQ sebesar 2,65 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan sensitivitas yang memadai untuk analisis kurkumin dalam ekstrak kunyit maupun formulasi komersial. Metode ini memberikan alternatif yang lebih sederhana dibanding HPLC untuk analisis kurkumin dalam produk herbal.

Deteksi Bahan Kimia Obat dan Kontaminan Pangan

Spektrofotometri visible memiliki peran penting dalam deteksi bahan kimia obat yang ditambahkan secara ilegal ke dalam jamu tradisional. Asam mefenamat sebagai salah satu BKO yang sering disalahgunakan dapat dideteksi menggunakan spektrofotometri visible pada 585 nm setelah melalui proses derivatisasi dengan reagen tertentu (Sahumena *et al.*, 2020). Metode ini menunjukkan linearitas yang baik dengan $r = 0,998$ dan recovery 95,41-102,5%, serta LOQ sebesar 0,48 $\mu\text{g/mL}$ yang cukup sensitif untuk mendeteksi penambahan asam mefenamat dalam jamu. Deteksi BKO dalam jamu sangat penting mengingat tingginya minat masyarakat terhadap penggunaan jamu dan risiko efek samping dari konsumsi BKO tanpa pengawasan medis yang tepat. Asetosal atau aspirin dalam obat sakit kepala dapat dianalisis pada 432 nm setelah reaksi dengan reagen yang mengandung besi(III) klorida (Kuntari *et al.*, 2017). Metode ini menunjukkan linearitas yang baik dengan $r = 0,9967$ dan recovery 93,88%. Meskipun recovery sedikit di bawah rentang ideal 95-105%, nilai ini masih dapat diterima untuk tujuan quality control. LOQ sebesar 2,2131 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan sensitivitas yang cukup untuk analisis asetosal dalam sediaan farmasi. Penentuan kadar asetosal sangat penting mengingat penggunaan dalam dosis tinggi dapat menyebabkan efek samping seperti iritasi

lambung dan gangguan fungsi trombosit. Rhodamin B sebagai pewarna sintetis yang dilarang dalam pangan dapat dideteksi menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada 550 nm (Rohyami *et al.*, 2018). Metode ini menunjukkan linearitas yang sangat baik dengan $r = 0,9996$ dan recovery 82,7%, serta LOQ 0,3737 $\mu\text{g/mL}$ yang cukup sensitif untuk mendeteksi kandungan rhodamin B dalam sampel saos.

Recovery yang relatif rendah kemungkinan disebabkan oleh adsorpsi rhodamin B pada komponen matriks saos atau kehilangan selama proses ekstraksi. Meskipun demikian, metode ini tetap berguna untuk screening keberadaan rhodamin B dalam produk pangan mengingat kesederhanaan prosedur dan biaya yang rendah. Formaldehida dalam pembalut wanita dapat dianalisis menggunakan pereaksi Nash yang membentuk senyawa berwarna dengan panjang gelombang 413 nm (Yulianti *et al.*, 2017). Pereaksi Nash mengandung asetilaseton dan amonium asetat yang bereaksi dengan formaldehida membentuk 3,5-diasetil-1,4-dihidropiridin berwarna kuning. Linearitas metode sangat baik dengan $r = 0,99967$, namun recovery menunjukkan rentang yang sangat lebar yaitu 87-123%. Rentang recovery yang lebar ini mengindikasikan adanya variabilitas dalam proses ekstraksi formaldehida dari matriks pembalut atau ketidakstabilan kompleks yang terbentuk. LOQ sebesar 0,1198 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan sensitivitas yang memadai untuk tujuan monitoring keamanan produk, mengingat batas maksimum formaldehida yang diperbolehkan dalam produk pembalut diatur ketat oleh BPOM.

Nitrit sebagai bahan tambahan pangan pada produk daging olahan dapat dianalisis menggunakan pereaksi Griess yang menghasilkan senyawa azo berwarna merah muda dengan absorbansi pada 540 nm (Romsiah *et al.*, 2017). Pereaksi Griess terdiri dari asam sulfanilat dan N-(1-naftil)etilendiamin yang bereaksi dengan nitrit membentuk senyawa azo yang stabil. Metode ini menunjukkan linearitas tinggi dengan $r = 0,999$ dan recovery 98,55%, serta LOQ 0,0568 $\mu\text{g/mL}$ yang sangat sensitif. Sensitivitas yang tinggi ini sangat penting mengingat batas maksimum nitrit dalam produk daging diatur ketat oleh regulasi untuk mencegah pembentukan nitrosamin yang bersifat karsinogenik. Metode Griess telah lama digunakan dan terbukti reliabel untuk analisis nitrit dalam berbagai matriks pangan. Boraks yang sering disalahgunakan sebagai pengawet dalam bakso dapat dideteksi pada 547 nm melalui reaksi dengan kurkumin membentuk kompleks rosocyanin (Sudjarwo *et al.*, 2021). Namun metode ini menunjukkan linearitas yang kurang optimal dengan $r = 0,9690$ dan recovery hanya 47,49%. Linearitas dan recovery yang rendah menunjukkan bahwa metode ini memiliki keterbatasan yang perlu diperbaiki. Kemungkinan penyebabnya adalah ketidakstabilan kompleks yang terbentuk, interferensi dari komponen lemak dalam bakso, atau efisiensi ekstraksi boraks yang rendah. Meskipun demikian, LOQ yang sangat rendah yaitu 0,02944 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa metode ini masih dapat digunakan untuk deteksi kualitatif keberadaan boraks dalam sampel bakso.

Analisis Senyawa Bioaktif Dalam Bahan Alam

Tanin dalam daun mangkoka dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri visible pada 675 nm setelah reaksi dengan reagen Folin-Denis atau besi(III) klorida (Listiana *et al.*, 2022). Penelitian menunjukkan bahwa metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar tanin yang diperoleh. Metode perasan menghasilkan kadar tanin rata-rata 0,66% (0,52-0,86%), sementara metode rebusan menghasilkan kadar lebih rendah yaitu 0,32% (0,29-0,38%). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh degradasi termal tanin selama proses pemanasan atau perubahan kelarutan tanin pada suhu tinggi. Linearitas yang baik dengan $r = 0,9903$ menunjukkan bahwa metode ini valid untuk kuantifikasi tanin dalam ekstrak tanaman, meskipun data LOQ dan recovery tidak tersedia untuk evaluasi sensitivitas dan akurasi secara lengkap. Inulin dalam umbi gembili dapat dianalisis pada 520 nm setelah hidrolisis dan reaksi dengan reagen anthrone (Apriliyani *et al.*, 2018). Metode ini menunjukkan linearitas sangat

baik dengan $r = 0,9996$ dan recovery berkisar 96,14-106,76%. LOQ sebesar 11,95 $\mu\text{g/mL}$ atau setara 258,22-3129,33 mg/kg dalam sampel menunjukkan sensitivitas yang memadai untuk analisis inulin dalam umbi. Rentang hasil analisis yang cukup lebar (840,44-12188,59 ppm) mengindikasikan adanya variabilitas kandungan inulin antar sampel atau pengaruh faktor seperti tingkat kematangan umbi dan kondisi penyimpanan.

Parameter Validasi dan Interpretasi Data

Linearitas merupakan parameter validasi yang menunjukkan kemampuan metode memberikan respons yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam rentang tertentu. Nilai koefisien korelasi yang baik adalah lebih besar dari 0,99 atau mendekati 1. Dari data yang diperoleh, sebagian besar metode spektrofotometri visible menunjukkan linearitas yang sangat baik dengan $r > 0,99$. Metode dengan linearitas terbaik adalah asam askorbat dalam jeruk bali ($r = 0,9998$), tetracycline hydrochloride ($r = 0,9997$), cyanocobalamin ($r = 0,9997$), dan rifampisin ($r = 0,9997$). Sebaliknya, metode dengan linearitas yang kurang optimal adalah vitamin C dengan ammonium molibdat ($r = 0,8504$) dan boraks ($r = 0,9690$).

LOQ atau limit of quantification menunjukkan konsentrasi terendah yang masih dapat dikuantifikasi dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima. Nilai LOQ yang rendah menunjukkan sensitivitas metode yang tinggi. Dari data yang tersaji, LOQ bervariasi sangat lebar dari yang sangat rendah seperti riboflavin dengan 0,000228 $\mu\text{g/mL}$, boraks dengan 0,02944 $\mu\text{g/mL}$, nitrit dengan 0,0568 $\mu\text{g/mL}$, hingga yang relatif tinggi seperti gentamisin sulfat dengan 110,13 $\mu\text{g/mL}$ dan ciprofloxacin dengan 41,909 $\mu\text{g/mL}$. Perbedaan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk koefisien absorptivitas molar senyawa, efisiensi reaksi derivatisasi jika diperlukan, stabilitas kompleks yang terbentuk, dan tingkat interferensi dari matriks sampel.

Recovery atau persen perolehan kembali menunjukkan akurasi metode melalui uji penambahan baku pada sampel. Recovery yang baik adalah dalam rentang 98-102%, meskipun rentang 95-105% masih dapat diterima tergantung pada tujuan analisis. Metode dengan recovery terbaik adalah doksorubisin (99,9%), ciprofloxacin (98,9-100%), asam askorbat dalam jeruk bali (98,22-101,64%), kurkumin (98,1-101,8%), amoxicillin (98,20-101,40%), dan beta-karoten (98-101%). Beberapa metode menunjukkan recovery yang kurang optimal seperti boraks (47,49%), rhodamin B (82,7%), dan gentamisin sulfat (82,76-99,82%). Recovery yang rendah mengindikasikan adanya kehilangan analit selama proses preparasi sampel atau interferensi dari matriks yang mempengaruhi pengukuran.

Keunggulan dan Keterbatasan Metode

Spektrofotometri visible memiliki beberapa keunggulan yang menjadikannya pilihan utama untuk analisis rutin di laboratorium farmasi. Pertama, kesederhanaan prosedur yang tidak memerlukan tahapan preparasi sampel yang rumit seperti pada metode kromatografi. Kedua, biaya operasional yang relatif murah karena tidak memerlukan fase gerak mahal atau kolom yang harus diganti secara periodik. Ketiga, waktu analisis yang singkat memungkinkan throughput sampel yang tinggi, sehingga cocok untuk analisis banyak sampel dalam waktu singkat. Keempat, instrumentasi yang sederhana dan mudah dioperasikan membuat metode ini dapat diaplikasikan di laboratorium dengan sumber daya terbatas. Kelima, sensitivitas yang cukup baik dengan LOQ yang rendah untuk sebagian besar aplikasi memungkinkan deteksi analit pada konsentrasi rendah.

Namun metode ini juga memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam aplikasinya. Pertama, selektivitas yang terbatas terutama untuk sampel yang mengandung banyak komponen yang dapat menyerap pada panjang gelombang yang sama. Hal ini dapat menyebabkan interferensi dan mempengaruhi akurasi hasil, sehingga diperlukan pemisahan awal atau pemilihan panjang gelombang yang tepat. Kedua, tidak semua senyawa obat

memiliki gugus kromofor yang dapat menyerap pada daerah visible, sehingga memerlukan derivatisasi terlebih dahulu. Proses derivatisasi menambah tahapan analisis dan dapat menjadi sumber kesalahan jika tidak dikontrol dengan baik. Ketiga, stabilitas kompleks berwarna yang terbentuk kadang tidak optimal sehingga pengukuran harus dilakukan segera setelah reaksi atau dalam waktu yang terkontrol ketat. Keempat, pengaruh faktor eksternal seperti pH, suhu, dan waktu reaksi harus dikontrol ketat untuk mendapatkan hasil yang reproduktibel dan akurat.

KESIMPULAN

Spektrofotometri visible telah terbukti sebagai metode analisis yang praktis dan efektif untuk penetapan kadar berbagai jenis senyawa farmasi dan bioaktif. Berdasarkan data validasi, mayoritas metode menunjukkan linearitas sangat baik dengan koefisien korelasi melebihi 0,99, seperti pada analisis tetracycline ($r=0,9997$), ciprofloxacin ($r=0,99849$), rifampisin ($r=0,9997$), dan dokсорubisin ($r=0,999$). Parameter recovery umumnya berada dalam rentang yang dapat diterima 95-105%, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh dokсорubisin (99,9%), ciprofloxacin (98,9-100%), dan amoxicillin (98,20-101,40%). Sensitivitas metode bervariasi dengan LOQ terendah dicapai oleh riboflavin (0,000228 $\mu\text{g/mL}$) dan tertinggi pada gentamisin sulfat (110,13 $\mu\text{g/mL}$), bergantung pada karakteristik kimia senyawa dan metode derivatisasi yang digunakan. Metode ini berhasil diaplikasikan untuk analisis antibiotik, vitamin, deteksi bahan kimia obat dalam jamu, kontaminan pangan, serta senyawa bioaktif dalam bahan alam. Meskipun memiliki keterbatasan dalam hal selektivitas dan beberapa senyawa memerlukan derivatisasi, spektrofotometri visible tetap menjadi pilihan utama untuk analisis rutin karena kesederhanaan prosedur, biaya rendah, dan throughput tinggi. Pengembangan metode lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan akurasi beberapa analisis yang masih menunjukkan recovery rendah seperti boraks (47,49%) dan rhodamin B (82,7%), serta memperbaiki linearitas pada analisis tertentu seperti vitamin C dengan molibdat ($r=0,8504$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT berkat nikmat, dan karunia-Nya penulis dan rekan-rekan dapat menyelesaikan penelitian ini. Semua penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen-dosen pembimbing yang telah membimbing, memberi arahan dan masukan selama penelitian. Dan penulis ucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, R. J., Hawezzy, H. J. S., & Abdullah, M. S. (2018). Spectrophotometric determination of tetracycline hydrochloride through coupling with sulphanilic acid. *Diyala Journal of Medicine*, 15(2), 15-22.
- Aprillyani, S. A., Martono, Y., Riyanto, C. A., Mutmainah, M., & Marlina, L. (2018). Validation of UV-VIS Spectrophotometric Methods for Determination of Inulin Levels from Lesser Yam (*Dioscorea esculenta* L.). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 21(4), 161–165.
- Bachvarova, N., Agova, N., & Iliev, I. (2022). ANALYSIS OF GENTAMICIN SULFATE IN MEDICINAL PRODUCTS AFTER EXPIRY DATE. 315–320.
- Buhari, I. (2010). Analisis Kadar Vitamin C dalam Produk Olahan Buah Salak (*Salacca zalacca*) secara Spektrofotometri UV-Vis. *Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmacope Indonesia*. Edisi IV.
- Fatimah, S. F., Aisyah, V., Nurani, L. H., & Edityaningrum, C. A. (2018). Validasi metode analisis β -karoten dalam ekstrak etanol 96% *Spirulina maxima* dengan spektrofotometri visibel. *Media Farmasi*, 15(1), 1-13.
- Hamzawy, M. A. (2017). Visible spectrophotometric determination of amoxicillin using sodium nitroprusside reagent. *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(2), 65–70.
- Harmita. (2004). *Validasi Metode Analisis*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Volume I, Nomor 3. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hutagaol, R. P., & Niken. (2012). Validasi metode penetapan kadar cyanocobalamin secara spektrofotometri visibel double beam. *Jurnal Ilmiah Universitas Nusa Bangsa*, 2(1), 24–34.
- Kashid, L.M., Jagtap, D.K., & Suryawanshi, V.B. (2025). Development and validation of a fluorescence spectroscopic method for the assessment of riboflavin in pharmaceutical formulations. *Int. J. Chem. Res. Dev.* 7(1):104-110.
- Kuntari, T., Aprianto, T., Noor, R. H., & Baruji. (2017). Verifikasi metode penentuan asetosal dalam obat sakit kepala dengan metode spektrofotometri UV. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 6(1), 31–40.
- Listiana, L., Wuhlantono, P., & Ismail, S. S. R. (2022). Penetapan Kadar Tanin Dalam Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr*) Berasan dan Rebusan Dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacy Genius*, 1(2), 62–73.
- Mahmoud, T. Y., Hamza, I. S., & Jarallah, A. L. (2024). Spectrophotometric method for the determination of ciprofloxacin in pure and pharmaceutical preparations: development and validation. *Engineering Proceedings*, 59(1), 164, 1-8.
- Mulyani, E. (2018). Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Vitamin C pada Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan Menggunakan Metode Iodimetri dan Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmauho*, 3(2).
- Ngibad, K., & Herawati, D. (2019). Perbandingan pengukuran kadar vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang UV dan visible. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 1(2), 77–81.
- Nisfiliyah, A., & Sukmawati, A. (2021). Validasi metode penetapan kadar gentamisin sulfat dalam sediaan salep dengan spektrofotometri visible. *The 13th University Research Colloquium (URECOL)*, 318–325.
- Patel, A., Shah, N., & Desai, R. (2019). Visible spectrophotometric estimation of curcumin via borate complex formation in turmeric extracts and commercial formulations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4), 1805–1812.
- Ramadhani, J. A. S., Nurfitriyanti, Y., Salsabilla, M., Aryani, N. B., & Hajid, R. M. (2024). Analisis metabolit sekunder dalam bahan alam menggunakan spektrofotometri Vis. *Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 9(5), 25–31.
- Rohyami, Y., Ratri, H. P. I., & Wihyarti. (2018). Validasi metode penentuan rhodamin B dalam contoh saos secara spektrofotometri UV-Vis dengan dua variasi pelarut. *Indonesian Journal of Chemical Analysis*, 1(1), 20–28.
- Romsiah, Marista, S. L., & Fatoni, A. (2017). Validasi metode dan penetapan kadar nitrit (NO_2^-) pada sosis sapi curah dan sosis sapi kaleng yang dijual di swalayan kota Palembang secara spektrofotometri UV-Vis. *Scientia: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 7(2), 113–119.
- Sahumena, M. H., Ruslin, R., Asriyanti, A., & Djuwarno, E. N. (2020). Identifikasi jamu yang beredar di Kota Kendari menggunakan metode spektrofotometri UV-VIS. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(2), 63–65.

- Saputra, S. A., Zummah, A., & Kurniawati, A. (2018). Evaluasi Mutu Sediaan Tablet Rifampisin BERMEREK DAGANG DAN GENERIK BERLOGO. In *Prosiding SINTESIS (Seminar Nasional Sains, Teknologi dan Analisis)*.
- Sikora, T., Morawska, K., Lisowski, W., Rytel, P., & Dylong, A. (2022). Application of Optical Methods for Determination of Concentration of Doxorubicin in Blood and Plasma. *Pharmaceuticals*, 15(2), 112.
- Sudjarwo, & Angerina N., P. S. (2021). Validasi Metode Spektrofotometri-Visibel Pada Penetapan Kadar Boraks Di Dalam Bakso. *Jurnal Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 8(2), 41–47.
- Suryoputri, M. W., Latifatul, D., & Endah, N. (2023). Hubungan Kadar Obat Gentamisin Dalam Darah Terhadap Outcome Clinic Pada Pasien Anak Yang Menderita Pneumonia Di RSUD Ajibarang. 410–425. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v8i3.61849>
- Tahir, M., Kusuma, A. T., Ekawati, E. (2018). Analysis of Lycopene and Vitamin C Levels of Pomelo Citrus Fruit (*Citrus maxima* (Burm) Merr) Red n White Varieties from South Sulawesi. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*, 2(1): 125–130.
- The Committee on JP. (2006). *The Japanese Pharmacopoeia*. Edisi XV. The Committee on JP. Jepang.
- Tinctura, J. F. (2023). Farmakokinetika Dan Pendosisan Gentamisin Pada Pasien Pediatri *Pharmacokinetics And The Dosing Of Gentamicin In Pediatric Patients*. 4(2), 78–90.
- Yulianti, C. H., Devianti, V. A., & Ferry, M. A. H. (2017). Validasi metode spektrofotometri visible untuk penentuan kadar formaldehida pada pembalut wanita yang beredar di pasaran. *Journal of Pharmacy and Science*, 2(1), 9–15.