

STUDI DEGRADASI SEDIAAN INFUS CIPROFLOKSASIN MENGGUNAKAN HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Bekti Nugraheni¹

Abstrak

Penelitian ini menggambarkan perlakuan degradasi infus ciprofloksasin yang dikondisikan dengan pemanasan, penambahan asam dan basa. Produk degradasi dianalisis menggunakan perangkat HPLC merk *Waters e2695 Separations*, kolom *SunFire™ C18*, detektor PDA, fase gerak metanol : air : dapar fosfat 0,1 N : asetonitril (80:10:5:5) dan kecepatan alir 1,0 mL/menit. Hasil penelitian diperoleh bahwa persen degradasi infus ciprofloksasin karena pemanasan pada menit ke-30; 60; 90 dan 120 sebesar 7,84%; 8,02%; 8,96%; dan 10,09%. Sedangkan degradasi karena asam dan basa sebesar 100%. Validasi metode analisis ciprofloksasin menggunakan HPLC memenuhi syarat parameter-parameter validasi yaitu selektivitas, akurasi, presisi *repeatability*, linearitas, LOD, dan LOQ.

Kata kunci : Stabilitas, ciprofloksasin, infus, validasi, HPLC.

Abstract

This study described the treatment of ciprofloxacin infusion degradation that was conditioned by heating, and addition of acids and bases. The degradation products were analyzed using HPLC *Waters e2695 Separations*, *SunFire™ C18* column, PDA detector, mobile phase methanol: water: 0.1 M phosphate buffer: acetonitrile (80: 10: 5: 5) and a flow rate of 1.0 mL / minute. The results showed that percent degradation infusion of ciprofloxacin for heating in the 30; 60; 90 and 120 minute were 7.84%; 8.02%; 8.96%; and 10.09%. While the degradation due to acids and bases was 100%. Validation of ciprofloxacin analytical method using HPLC qualified validation parameters namely selectivity, accuracy, precision repeatability, linearity, LOD and LOQ.

Keywords: Stability, ciprofloxacin, infusion, validation, HPLC.

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Farmasi" Semarang

PENDAHULUAN

Ciprofloksasin adalah antibiotik golongan kuinolon kelompok fluorokuinolon yang bekerja dengan menghambat enzim topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV pada bakteri. Ciprofloksasin efektif digunakan dalam terapi infeksi saluran kemih, infeksi saluran napas maupun infeksi saluran pencernaan.

Penelitian- penelitian tentang stabilitas ciprofloksasin dari Narayan, *et al.* (2014) menggunakan HPLC Phenomenex ODS, kolom C18 (250x 4.6mm, 5 μ m), fase gerak 20 mmol/L ammonium format : acetonitrile (70:30); pH diatur sampai pH 4.0 menggunakan asam formiat, kecepatan alir 1 mL/menit dan panjang gelombang 280 nm. Penelitian Bushra, *et al.* (2013) menggunakan HPLC (Shimadzu-UFLC Prominence) dengan kondisi sistem kromatografi sebagai berikut: kolom Phenomenex C-18 (25 cm x 4.6 mm, 5 μ m), detektor UV-Vis (Model-SPD 20A), fase gerak Kalium dihidrogen orto fosfat pH : acetonitrile (80:20) dan kecepatan alir 1 mL/min

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah instrumentasi KCKT merk Waters e2695 Separations, kolom C18, detektor PDA, neraca analitik digital merk Ohaus, ultrasonik bath, pH meter, filtration unit for HPLC dan alat-alat gelas.

Bahan -bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain baku pembanding ciprofloksasin yang diperoleh dari PT. Zenith Pharmaceutical Semarang, infus ciprofloksasin yang diperoleh dari PT. Quantum Lab, metanol pro HPLC (Merck), Aqua steril (PT. Otsuka), asetoneitril pro HPLC (Merck), dan KH₂PO₄.

Prosedur kerja penelitian

1. Uji kesesuaian sistem

Uji kesesuaian sistem, dilakukan dengan membuat larutan baku ciprofloksasin 50 μ g/mL. Kemudian dilakukan pengukuran 6 kali dengan KCKT fase gerak metanol : aquabidest : bufer fosfat 0,1 N : asetoneitril (80:10:5:5) dan laju alir 1,0 mL/menit. Kriteria keberterimaan untuk UKS

adalah % RSD waktu retensi, lempeng teoritis, dan luas area tidak lebih dari 2% (Gandjar & Rohman, 2007).

2. Validasi metode analisis

a. Uji selektifitas

Dilakukan dengan membandingkan hasil kromatogram dan waktu retensi dua larutan ciprofloksasin 50 μ g/mL. Satu larutan ditambahkan matriks sedangkan larutan yang lain tidak ditambah matriks. Selektifitas dinyatakan dengan tidak munculnya puncak pada matriks yang dapat mengganggu. Kromatogram yang dihasilkan tunggal dan waktu retensi kedua larutan hampir mirip. Nilai resolusi dipersyaratkan untuk memastikan komponen-komponen terelusi dengan waktu retensi berdekatan tersebut terpisah dengan baik dan juga untuk memastikan efisiensi pemisahan sistem. Chan, *et al.* (2004) menyatakan resolusi memenuhi syarat jika nilai $R_s \geq 1,5$.

b. Uji akurasi

Dilakukan dengan membuat larutan baku dan sampel infus ciprofloksasin 30, 50 dan 70 μ g/mL. Masing-masing larutan dilakukan replikasi 3 kali dan diukur dengan KCKT. Nilai akurasi dinyatakan sebagai persen *recovery* (perolehan kembali).

c. Uji presisi

Dilakukan dengan membuat larutan baku ciprofloksasin 30, 50 dan 70 μ g/mL. Masing-masing larutan dilakukan replikasi 3 kali dan diukur dengan KCKT.

d. Uji linieritas

Dilakukan dengan membuat deret baku ciprofloksasin konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 μ g/mL. Diukur dengan KCKT dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan luas area sehingga didapat persamaan $y = bx + a$. Menurut Chan (2004), kriteria keberterimaan untuk linieritas adalah koefisien korelasi (r) lebih besar atau sama dengan 0,997.

e. Uji LOD dan LOQ

Dilakukan dengan membuat larutan ciprofloksasin konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 μ g/mL. Larutan diukur dengan KCKT dan dibuat persamaan regresi linier antara

konsentrasi dengan luas area. Kemudian dihitung nilai Y hitung dan slope. Harga LOD dan LOQ dihitung dengan rumus.

3. Degradasi infus ciprofloksasin
 - a. Degradasi karena pemanasan (Dabhi, et al., 2013).
Sampel infus ciprofloksasin 50 µg/mL dipanaskan pada suhu 80°C selama 0, 30, 60, 90 dan 120 menit.
 - b. Degradasi karena penambahan larutan asam Sampel infus ciprofloksasin 50 µg/mL dipanaskan pada suhu 80°C selama 1 jam. Kemudian 1,0 mL sampel tersebut ditambah 0,5 mL larutan 0,1 M HCl pada pH 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 dan 5,5.
 - c. Degradasi karena penambahan larutan basa Sampel infus ciprofloksasin 50 µg/mL dipanaskan pada suhu 80°C selama 1 jam. Kemudian 1,0 mL sampel tersebut ditambah 0,5 mL larutan 0,1 M NaOH pada pH 8,5; 9,0; 9,5; 10,0 dan 10,5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

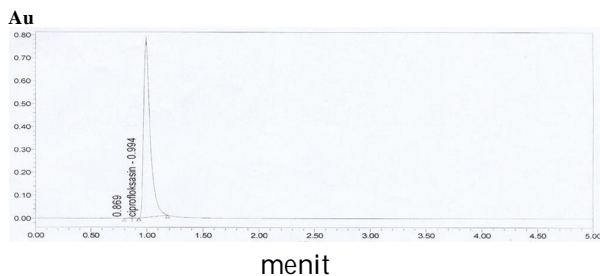
Uji kesesuaian sistem KCKT diperoleh bahwa perbandingan fase gerak adalah metanol : aquabidest: bufer fosfat 0,1 N : asetonitril (80:10:5:5) dengan laju alir 1,0 mL/menit. Hal ini ditunjukkan dengan harga lempeng teoritis (N) yang besar, waktu retensi yang tidak bergeser dan *tailing factor* tidak lebih dari sama dengan 2.

Tabel 1. Hasil uji kesesuaian sistem HPLC

No.	RT (menit)	Area	Tailing N
1.	0,993	2941351	1,6561 1531,2259
2.	0,995	2945043	1,6297 1550,4594
3.	0,996	2982402	1,6293 1581,0055
4.	0,995	2907989	1,6256 1566,9107
5.	0,992	2970978	1,6644 1527,6566
6.	0,994	3018321	1,6547 1534,0645
X	0,994	2961014	1,6433 1548,5537
SD	1,4719 x 10 ⁻³	38194,70	0,0169 21,6361
% RSD	0,14	1,28	1,03 1,39

Selektifitas adalah kemampuan mengukur analit secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain dalam sampel. Pada penelitian dilakukan dengan membandingkan kromatogram larutan ciprofloksasin yang tidak ditambahkan matriks dengan yang ditambahkan

matriks. Matriks yang digunakan NaCl, karena sampel yang digunakan dalam bentuk sediaan infus.



Gambar 1. Profil kromatogram uji selektivitas pada konsentrasi 50 µg/mL dengan parameter HPLC:

Fase diam: Sunfire™ C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm) Detektor: PDA

Fase gerak: metanol : aquabidest : buffer fosfat 0,1N : asetonitril (80:10:5:5)

Kecepatan alir: 1,0 mL/menit

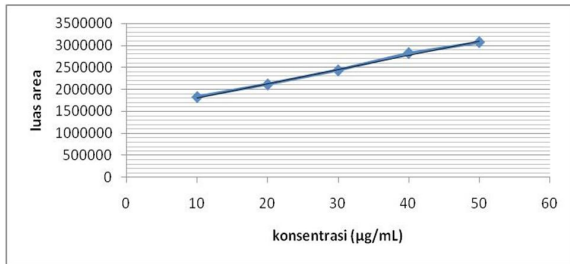
Volume injeksi: 20 µL

Hasil dari uji selektifitas adalah metode analisis dinyatakan selektif ditunjukkan dengan kromatogram yang dihasilkan tunggal tidak terdapat *peak* lain di sekitar waktu retensi ciprofloksasin. Waktu retensi yang dihasilkan mirip yakni 0,994 menit untuk larutan ciprofloksasin tanpa matriks dan 0,996 menit untuk larutan ciprofloksasin yang ditambahkan matriks NaCl.

Akurasi adalah ukuran kedekatan nilai terukur yang diperoleh dari hasil analisis dengan nilai yang sebenarnya. Pengujian akurasi dilakukan dengan menghitung nilai persentase perolehan kembali (*recovery*). Hasil uji akurasi sebesar 98,8-104,8 %, hal ini memenuhi kriteria keberterimaan persentase perolehan kembali untuk larutan dengan konsentrasi ≥ 10 µg/ mL adalah 80-110% dan untuk larutan dengan konsentrasi ≥ 100 µg/mL adalah 90-107% (Huber, 2007 : 146).

Uji presisi repeatability adalah ukuran kedekatan nilai bila dilakukan serangkaian pengukuran yang sama di bawah kondisi yang sama, analisis yang sama, laboratorium yang sama serta dalam waktu interval yang pendek. Hasil uji presisi repeatability sebesar 2,95%, hal ini memenuhi syarat keberterimaan untuk persentase baku relatif (RSD) pada larutan yang

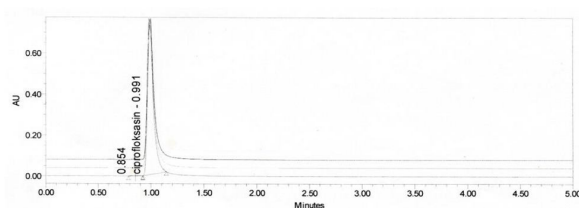
mengandung zat aktif dengan konsentrasi ≥ 10 $\mu\text{g/mL}$ adalah $<7,3\%$ dan untuk larutan yang mengandung zat aktif ≥ 100 $\mu\text{g/mL}$ adalah $< 5,3\%$ (Huber, 2007:144).



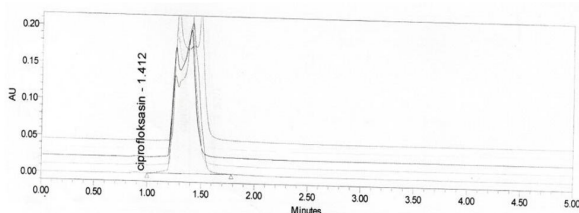
Gambar 2. Kurva uji linieritas

Linieritas merupakan ukuran seberapa baik metode menghasilkan respon yang linier dengan konsentrasi analit. Hasil pengujian linieritas memenuhi syarat keberterimaan nilai koefisien korelasi $\geq 0,997$ (Chan dkk., 2004 : 17).

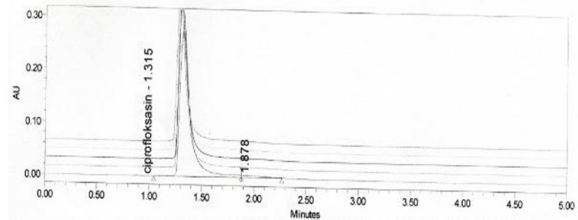
Limit of detection (LOD) merupakan konsentrasi terendah dari suatu sampel yang masih dapat terdeteksi oleh metode analisis namun tidak perlu terkuantifikasi sebagai nilai yang tepat. Pada penelitian diperoleh nilai LOD 0,2707 $\mu\text{g/mL}$. *Limit of quantitation* (LOQ) adalah konsentrasi sampel terendah yang masih dapat dideteksi secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Pada penelitian diperoleh nilai LOQ 0,9026 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 3. Degradasi karena pemanasan



Gambar 4. Degradasi karena penambahan larutan asam



Gambar 5. Degradasi karena penambahan larutan basa

Aplikasi penetapan kadar infus ciprofloksasin yang dipengaruhi pemanasan diperoleh hasil pada menit ke-30 sebesar 7,84%; menit ke-60 sebesar 8,02%; menit ke -90 sebesar 8,96%; dan menit ke-120 sebesar 10,09%. Hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada degradasi karena pemanasan (gambar 3). Sedangkan infus ciprofloksasin yang ditambah larutan asam dan basa mengalami degradasi 100% (gambar 4 dan 5) bentuk *peak* pecah. Degradasi karena penambahan larutan asam (0,1 M HCl) dan basa (0,1 M NaOH) terbentuk senyawa baru, karena waktu retensi ciprofloksasin 0,994 menit berubah menjadi 1,387 dan 1,297 menit.

KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Persen degradasi infus ciprofloksasin karena pemanasan pada menit ke-30; 60; 90 dan 120 sebesar 7,84%; 8,02%; 8,96%; dan 10,09%; dan persen degradasi karena penambahan asam dan basa sebesar 100%.
2. Validasi metode analisis ciprofloksasin secara HPLC memenuhi syarat parameter validasi yaitu selektivitas, akurasi, presisi *repeatability*, linearitas, LOD, dan LOQ.

DAFTAR ACUAN

- Bushra, M. U., Huda, M. N., Mostafa, M., Sultan, M.Z, Rahman, 2013, Study of forced degradation of ciprofloxacin HCl indicating stability using RP-HPLC method, *Der Pharma Chemica*, 5(6):132-137.
- Chan, CC., Lam, H., Lee., Zang, XM., 2004, *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, John Wiley & Sons Inc, Canada, p 16-18.

- Dabhi, B., Parmar, B., Patel, N., Jadeja, Y., Patel, M., Jebaliya, H., Karia, D., Shah, A. K. A., 2007, Stability Indicating UPLC Method for the Determination of Levofloxacin Hemihydrate in Pharmaceutical Dosage Form: Application to Pharmaceutical Analysis. *Chromatography Research International*.
- Gandjar, I.G, dan Rohman, A, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 2007, hal 53 dan 401.
- Huber, L, 2007, *Validation and Qualification in Analytical Laboratories Second Edition*. New York : Informa Healthcare USA, p 144 & 146
- Narayan, S. R., Shisir, S., Umashankar, M., Bamakanta, G., Kumar, S.S, Deepak, H., 2014, Stability Indicating RP-HPLC Method Development and Validation of Ciprofloxacin. *Internanational Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, Vol 3(1):244-254.

