

## VALIDASI METODE ANALISIS CIPROFLOKSASIN MENGGUNAKAN HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

**Nugraheni, B.,<sup>1)\*</sup> Anggoro, A. B.**

Sekolah Tinggi Ilmu Pharmasi "Yayasan Pharmasi" Semarang  
Jl. Letjend Sarwo Edi Wibowo Km.1 Plamongansari-Semarang

\*Email: bn.nugraheni@gmail.com

### **Abstrak**

*Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui valid atau tidaknya suatu metode analisis. Pengembangan metode yang dilakukan yaitu menggunakan fase gerak asetonitril : 0,1 M dapar fosfat pH 4 (70 : 30). Selanjutnya dilakukan validasi ciprofloksasin. Parameter validasi dalam penelitian meliputi selektivitas, akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ. Kondisi HPLC meliputi perangkat HPLC merk Waters e2695 Separations, kolom Sunfire<sup>TM</sup> C18 (150mmx 46 mm, 5 $\mu$ m), dan detektor PDA dan kecepatan alir 1,0 mL/menit. Penelitian ini diperoleh hasil selektif, hal ini dinyatakan dengan tidak munculnya puncak pada matriks. Metode analisis HPLC pada ciprofloksasin memenuhi kriteria keberterimaan nilai akurasi % recovery larutan konsentrasi  $\geq$ 100  $\mu$ g/mL adalah 100,40-103,88%. Memenuhi syarat uji presisi %RSD untuk larutan konsentrasi  $\geq$ 100  $\mu$ g/mL adalah <5,3%. Nilai r pada linieritas  $\geq$ 0,9974 maka memenuhi syarat. Nilai LOD adalah 5,2471  $\mu$ g/mL dan nilai LOQ adalah 17,4905  $\mu$ g/mL.*

**Kata kunci :** ciprofloksasin, HPLC, validasi

### **PENDAHULUAN**

Golongan fluorokuinolon menjadi salah satu antibiotik yang banyak dipakai. Sejak 1996 hingga saat ini, penggunaan antibiotik golongan fluorokuinolon terus berkembang. Salah satu golongan fluorokuinolon tersebut adalah ciprofloksasin. Ciprofloksasin 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 Sani, *et al.*, (2011) mengenai validasi Ciprofloksasin menggunakan HPLC detektor UV, kondisi sistem kromatografi sebagai yaitu kolom (LichroCART® 125x4mm, 5 $\mu$ m) dengan fase gerak metanol: dapar asam ortofosfat (0,025M asam ortofosfat ditambah TEA sampai pH 3,0 $\pm$ 0,1) (40:60v/v), laju alir 2,0 mL/menit dan panjang gelombang 278 nm. Penelitian Aksoy, *et al* (2007) mengenai validasi ciprofloxacin HCl menggunakan HPLC detektor UV. Kondisi sistem kromatografi pada penelitian ini menggunakan campuran fase gerak 2,45 gram asam fosfat yang dilarutkan dalam air 1 L. Setelah tercampur, diatur pH 3 menggunakan TEA. Campuran tersebut diambil 870 mL dan dicampur 130 mL asetonitril; kecepatan alir 1,50 mL/menit, panjang gelombang 278 nm. Hasil diperoleh

LOD dan LOQ yaitu 5,159 dan 15,632  $\mu$ g/mL.

Penelitian ini mengacu Aksoy, *et al.* (2007) tetapi menggunakan pengembangan fase gerak yang berbeda. Kondisi sistem Kromatografi menggunakan HPLC detektor *Photo Diode Array (PDA)*, dengan fase gerak asetonitril : 0,1 M dapar fosfat pH 4 (70:30) dan laju alir 1,0 mL/menit.

### **METODOLOGI**

#### **Uji kesesuaian sistem (UKS)**

Dibuat larutan baku ciprofloksasin 500  $\mu$ g/mL. Kemudian dilakukan pengukuran 6 kali dengan HPLC, fase gerak yaitu asetonitril : 0,1 M dapar fosfat pH 4 (70:30) dan laju alir 1,0 mL/menit.

#### **Validasi**

##### **Uji selektifitas**

Dilakukan dengan membandingkan hasil kromatogram dan waktu retensi dua larutan ciprofloksasin 500  $\mu$ g/mL. Satu larutan ditambahkan matriks sedangkan larutan yang lain tidak ditambah matriks. Selektifitas dinyatakan dengan tidak munculnya puncak pada matriks yang dapat mengganggu.

##### **Uji akurasi**

Dibuat larutan sampel infus ciprofloksasin 300, 500 dan 700  $\mu$ g/mL. Masing-masing larutan dilakukan replikasi 3

kali dan diukur dengan HPLC. Nilai akurasi dinyatakan sebagai persen *recovery* (perolehan kembali).

### Uji presisi

Dibuat larutan baku ciprofloksasin 500 dan 700  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Masing-masing larutan dilakukan replikasi 3 kali dan diukur dengan HPLC.

### Uji linieritas

Dibuat deret baku ciprofloksasin konsentrasi 100, 300, 500, 700 dan 900  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Diukur dengan HPLC dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan luas area sehingga didapat persamaan  $y = bx + a$ .

### Uji LOD dan LOQ

Dibuat larutan baku ciprofloksasin konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Larutan diukur dengan HPLC dan dibuat persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan luas area. Kemudian dihitung nilai  $Y$  hitung dan slope. Harga LOD dan LOQ dihitung dengan rumus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji kesesuaian sistem

Berikut adalah tabel uji kesesuaian sistem:

**Tabel 1. Hasil uji kesesuaian sistem HPLC**

No.	RT (menit)	Area	Tailing	N
1.	1,237	23420935	1,0641	1106,5914
2.	1,238	23196453	1,0591	1136,9261
3.	1,237	23421821	1,0641	1106,5876
4.	1,235	23314794	1,0831	1142,9176
5.	1,233	22534045	1,0783	1147,7052
6.	1,236	23252908	1,1224	1125,4466
X	1,236	23190159,6	1,0785	1127,6957
SD	0,002	333742,8	0,0214	16,2976
%RSD	0,18%	1,44%	1,98%	1,45%

Uji kesesuaian sistem HPLC pada perbandingan fase gerak asetonitril : 0,1 M dapar fosfat pH 4 (70:30) dengan laju alir 1,0 mL/menit (tabel 1) diperoleh bahwa harga lempeng teoritis (N) yang besar, waktu retensi yang tidak bergeser dan *tailing factor*  $\leq 2$ . Kriteria keberterimaan untuk UKS adalah % RSD waktu retensi, lempeng

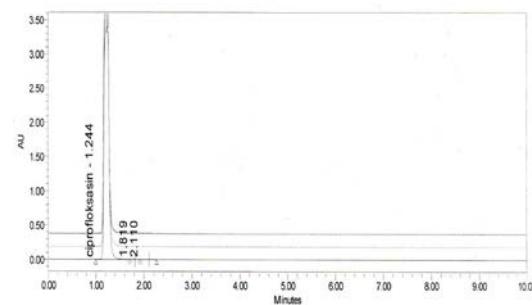
teoritis, dan luas area  $\leq 2\%$  (Gandjar & Rohman, 2007).

### Validasi

#### Uji selektifitas



**Gambar 1. Hasil kromatogram uji selektivitas ciprofloxacin baku tanpa matriks**



**Gambar 2. Hasil kromatogram uji selektivitas ciprofloxacin baku ditambah matriks**

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 1,241 menit untuk larutan ciprofloksasin tanpa matriks dan 1,244 menit untuk larutan ciprofloksasin yang ditambahkan campuran matriks PVP, Carbopol, HPMC, Talh, dan Mg Stearat

### Uji akurasi

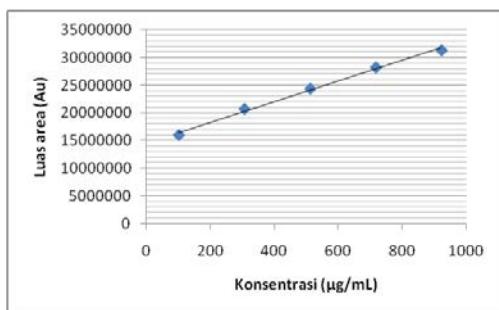
Pengujian akurasi dilakukan dengan menghitung nilai % *recovery*. Hasil uji akurasi sebesar 100,40-103,88%, hal ini memenuhi kriteria keberterimaan persentase perolehan kembali untuk larutan dengan konsentrasi  $\geq 100 \mu\text{g}/\text{mL}$  adalah 90-107% (Huber, 2007 : 146).

### Uji presisi

Hasil uji presisi *repeatability* sebesar 1,12%, hal ini memenuhi syarat keberterimaan untuk % RSD pada larutan yang mengandung zat aktif dengan konsentrasi  $\geq 100 \mu\text{g/mL}$  adalah  $<5,3\%$  dan untuk larutan yang mengandung zat aktif  $\geq 100 \mu\text{g/mL}$  adalah  $< 5,3\%$  (Huber, 2007:144).

### Uji linieritas

Selanjutnya dibuat kurva kalibrasi sehingga diperoleh persamaan linier  $y = bx + a$  dan dihitung nilai koefisien korelasi ( $r$ ). Hasil pengujian linieritas memenuhi syarat keberterimaan nilai koefisien korelasi  $\geq 0,997$  (Chan dkk., 2004 : 17).



Gambar 3. Kurva uji linieritas

### Uji LOD dan LOQ

Berikut adalah tabel hasil LOD dan LOQ:

Tabel 2. Hasil pengukuran parameter LOD & LOQ

Konsentrasi	Luas area
10 $\mu\text{g/mL}$	1385097
20 $\mu\text{g/mL}$	3324530
30 $\mu\text{g/mL}$	4347923
40 $\mu\text{g/mL}$	5740665
50 $\mu\text{g/mL}$	7028459

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 5,2471  $\mu\text{g/mL}$ . LOQ adalah konsentrasi sampel terendah yang masih dapat dideteksi secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Pada penelitian diperoleh nilai LOQ 17,4905  $\mu\text{g/mL}$ .

### KESIMPULAN

- Hasil parameter validasi % perolehan kembali sebesar 100,40-103,88%; %RSD sebesar 1,12%, linieritas  $r = 0,9974$ , LOD dan LOQ sebesar 5,2471 dan 17,4905  $\mu\text{g/mL}$ .
- Metode analisis ciprofloxacin secara HPLC memenuhi syarat parameter validasi yaitu selektivitas, akurasi, presisi *repeatability*, linearitas, LOD, dan LOQ.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan puji syukur atas berkat Tuhan dan menyampaikan terima kasih kepada Niwang Anggarukma atas dukungan dan bantuan yang diberikan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aksoy, B., Küçükgüze, I., Rollas, S, (2007), Development and Validation of a Stability-Indicating HPLC Method for Determination of Ciprofloxacin Hydrochloride and its Related Compounds in Film-Coated Tablets, *J. Chromatographia Supplement*, Vol. 66.
- Chan, CC., Lam, H., Lee., Zang, XM., (2004), *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, John Wiley & Sons Inc, Canada, p 16-18.
- Gandjar, IG, & Rohman, A, (2007), *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, hal 53, 401.
- Huber, L, (2007), *Validation and Qualification in Analytical Laboratories Second Edition*. New York : Informa Healthcare USA.
- Sani A. A., Chijioke, C., Mmuo., Rafat, O. Abdulraheem., Sikirat, S., Abdulkareem., Emmanuel, T.. Alemika., Musa, A. S., Mohammed, I., (2011), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method Development and Validation Indicating Assay for Ciprofloxacin Hydrochloride, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (08): 239-243.