

STABILITAS DAN KADAR LAMIVUDIN DALAM SEDIAAN RACIKAN PUYER PADA BERBAGAI WAKTU PENYIMPANAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dewa Ayu Ika Pramitha, Ni Made Suaniti, dan I Wayan Suarsa

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai kadar lamivudin dalam sediaan racikan puyer secara Spektrofotometri UV-Vis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas lamivudin dalam sediaan racikan puyer pada berbagai waktu penyimpanan. Dalam penelitian ini juga dilakukan validasi terhadap metode penentuan lamivudin standar dengan hasil sebagai berikut: persamaan regresi linier $y = 0,045x - 0,005$ dengan koefisien korelasi (r^2) 0,9998. Selanjutnya diperoleh juga batas deteksi 0,46 $\mu\text{g/mL}$, batas kuantisasi 1,53 $\mu\text{g/mL}$, koefisien variasi 0,23%, ketepatan 3,59%, serta perolehan kembali sebesar 96,41%. Stabilitas lamivudin dalam sediaan puyer menurun selama waktu pengamatan yaitu pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28 dimana kadar lamivudin yang diperoleh berturut-turut adalah 87,46%; 86,22%; 84,44%; 76,87%; 79,38%.

Kata kunci: lamivudin, stabilitas, sediaan puyer, spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

This paper describes the determination of lamivudine content in pulveres by UV-Vis spectrophotometry. The purpose of this study was to determine the stability of lamivudine in various storage times. In this study, the validation of the method of the determination of lamivudine standard was also investigated with the following results: the linear regression equation $y = 0.045x - 0.005$ with correlation coefficient (r^2) of 0.9998. Furthermore the detection limits obtained was of 0.46 $\mu\text{g/mL}$, quantitation limit of 1.53 $\mu\text{g/mL}$, the coefficient of variation of 0.23%, accuracy of 3.59%, and the recovery was of 96.41%. The stability of lamivudine in the samples decreased during the observation period i.e. 0, 7, 14, 21, and 28 days, during which the contents of lamivudine obtained were 87.46%, 86.22%, 84.44%; 76, 87%, 79.38%, respectively.

Keywords: lamivudine, stability, pulveres, UV-Vis spectrophotometry

PENDAHULUAN

Terdapat banyak kasus mengenai terinfeksi HIV (*Human Immunodeficiency Virus*). Berdasarkan data WHO (2009), penularan HIV dari ibu ke bayi tanpa dengan menggunakan terapi antiretroviral (ART) berkisaran 15-45%. Dari penelitian terbaru di Negara industri maju, menunjukkan bahwa transmisi dapat sangat dikurangi hingga 2% jika pasien penderita HIV diberikan terapi dengan antiretroviral (ARV)

selama masa kehamilan dan persalinan (WHO, 2009).

Lamivudin termasuk ke dalam kategori Inhibitor *Reverse Transcriptase* Nukleosida (NRTI), yaitu inhibitor yang bekerja dengan penghambatan kompetitif *reverse transcriptase* HIV-1 sehingga menyebabkan perubahan RNA menjadi DNA terhambat dan juga dapat menghentikan pemanjangan DNA (DepkesRI, 2006; Katzung, 2004; USFDA, 1995).

Dalam pemberian obat untuk anak-anak sering terjadi kendala, yakni dalam hal dosis

ataupun cara pemberian terkait dengan jumlah dosis yang kecil dibandingkan dengan penderita dewasa. Antiretroviral yang tersedia untuk dewasa, sebagian besar juga dapat digunakan untuk anak-anak, tetapi bentuk sediaan obat yang khusus anak belum tentu tersedia, oleh karena itu diperlukan modifikasi pemberian dalam bentuk pembagian tablet dan pembuatan puyer (DepkesRI, 2008; WHO, 2009). Berdasarkan informasi yang di dapat pada diskusi (senin, 22/10/2012) dengan salah seorang dokter yang menangani HIV pada anak menyatakan bahwa kurangnya efektifitas pada obat puyer racikan yang diberikan untuk pasien anak dibandingkan dengan pemberian obat dalam bentuk tablet. Hal ini kemungkinan adanya ketidakstabilan pada obat dalam bentuk puyer selama penyimpanan.

Belum ada data mengenai stabilitas lamivudin dalam bentuk sediaan racikan puyer. Oleh sebab itu, akan dilakukan penelitian mengenai stabilitas dan kadar lamivudin dalam sediaan racikan puyer pada berbagai waktu penyimpanan secara spektrofotometri UV-Vis.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yakni metanol (CH_3OH) dalam derajat pro analisis, akuades, baku lamivudin (*Mylan/Matrix Labs*), serta sampel obat lamivudin yang sudah dipuyer.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, mortar, labu ukur, gelas ukur, botol vial, kertas saring (*Whatman no. 41*) batang pengaduk, gelas beaker, inkubator, pipet ukur, spatula, pH meter (*schott instrument*), Spektrofotometer UV-Vis (UV-1800 *Shimadzu double beam*).

Cara Kerja

Pembuatan Larutan Induk Baku Lamivudin

Standar lamivudin ditimbang secara teliti 10 mg dan ditempatkan dalam labu ukur 10 mL. Kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol, dikocok selama 5 menit. Volume dibuat sampai

tanda batas dengan metanol untuk mendapatkan konsentrasi akhir 1000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan standar dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dipipet dan dipindahkan sebanyak 2,50 mL ke dalam labu ukur 25 ml kemudian dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas untuk mendapatkan konsentrasi larutan standar 100 $\mu\text{g/mL}$.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar lamivudin 100 $\mu\text{g/mL}$, dipipet 1,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan metanol sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Sebagai hasil pengukuran, diperoleh panjang gelombang maksimum dari standar lamivudin.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat konsentrasi bervariasi larutan standar yakni 5 $\mu\text{g/mL}$; 10 $\mu\text{g/mL}$; 15 $\mu\text{g/mL}$; 20 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing larutan standar diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan cara diplot konsentrasi (ppm) versus absorbans.

Metode Validasi Spektrofotometri UV-Vis

Linearitas

Penentuan linieritas dapat dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x). Uji linieritas dilakukan dengan cara mengukur berbagai konsentrasi lamivudin yakni 5 $\mu\text{g/mL}$; 10 $\mu\text{g/mL}$; 15 $\mu\text{g/mL}$; 20 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$ sehingga diperoleh absorbansi untuk membuat kurva kalibrasi masing-masing ARV.

Batas deteksi dan kuantitasi (LoD dan LoQ)

Batas deteksi merupakan kadar analit yang masih memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan tiga simpangan baku blanko ($3S_b$) (Harmita, 2004; Gandjar dan Rohman, 2012). Batas kuantitasi (LoQ) diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan.

Ketelitian (precision) dan ketepatan (accuracy)

Ketelitian dilakukan dengan mengukur standar lamivudin 40,0 mg yang dilarutkan hingga 250 kali, sehingga didapatkan konsentrasi larutan standar lamivudin 16 µg/mL dengan replikasi sebanyak 3x. ketelitian dihitung dari harga koefisien variasi (KV) sehingga didapatkan koefisien variasi (KV) dari metode analisis.

Penentuan Stabilitas Sampel

Perlakuan sampel

Sampel berupa puyer obat lamivudin disimpan selama satu bulan pada suhu rata-rata 39±1°C dengan kelembaban rata-rata 58±2%. Dilakukan analisis stabilitas puyer masing-masing bungkus dengan 3 replikasi pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28.

Penentuan kadar lamivudin dalam sediaan puyer

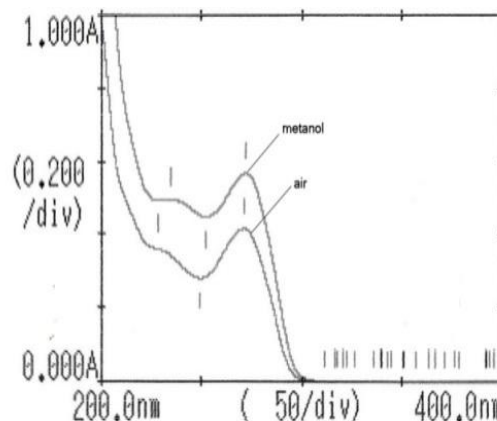
Penentuan kadar lamivudin yang terkandung pada setiap bungkus puyer sampel obat lamivudin dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan dengan 3 replikasi setiap hari, yaitu pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28.

Ditimbang satu bungkus puyer lamivudin, kemudian ditempatkan pada labu ukur 10 mL. Lalu ditambahkan 5 mL metanol, kocok dan diencerkan dengan metanol hingga tanda batas. Kemudian disaring. Dipipet 1,0 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas dan kocok. Dipipet lagi 1,0 mL larutan, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas, kocok dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Standar

Seperti yang ditampilkan pada Gambar 1, puncak serapan maksimum senyawa murni lamivudin dalam metanol dan air yakni pada panjang gelombang 271,8 nm dan 271 nm. Dipilih metanol sebagai pelarut dan untuk analisis selanjutnya. Hal ini dikarenakan kelarutannya yang lebih baik.

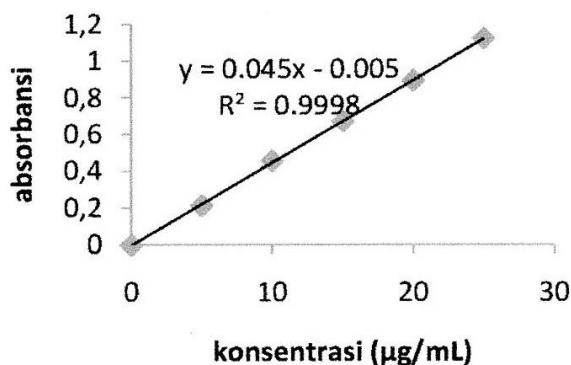


Gambar 1. Spektrum lamivudin dengan spektrofotometer UV-Vis

Validasi Metode Spektrofotometri UV-Vis

Linieritas

Perhitungan hasil analisis diperoleh persamaan garis regresi senyawa standar. persamaan garis regresi senyawa standar lamivudin dengan pelarut metanol adalah $y = 0,045x - 0,005$.



Gambar 2. Spektrum lamivudin dengan spektrofotometer UV-Vis

Nilai koefisien korelasi digunakan sebagai parameter untuk menentukan linieritas (Harmita, 2004). Hasil perhitungan berdasarkan menunjukkan nilai koefisien korelasi dari senyawa standar lamivudin yaitu $r = 0,9998$. Menurut Gandjar dan Rohman (2013), linieritas diperbolehkan jika nilai koefisien relative ($r \geq 0,997$). Dengan demikian, maka metode validasi lamivudin dalam pelarut metanol dengan spektrofotometri UV-Vis mempunyai linieritas yang baik.

Batas Deteksi dan Kuantifikasi

Dari hasil perhitungan diperoleh batas deteksi untuk pengujian lamivudin dengan metode spektrofotometri UV-Vis yaitu pada 0,46 µg/mL. Ini berarti lamivudin pada konsentrasi tersebut masih dapat terbaca absorbansinya tetapi tidak dapat digunakan dalam perhitungan, karena dapat membuat bias dalam perhitungan.

Nilai batas kuantitasi pada pengujian ini sebesar 1,53 µg/mL. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menimbulkan bias dalam perhitungan.

Ketelitian dan Ketepatan

Hasil perhitungan data analisis diperoleh nilai ketepatan dan ketelitian dari larutan standar lamivudin yaitu disajikan dalam Tabel 1. sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Perhitungan Lamivudin Standar dalam Metanol

Penimbangan (mg)	Kons teoritis (µg/mL)	Kons terukur
40,00	16	15,4511
40,00	16	15,4400
40,00	16	15,3844
Simpangan baku (Sb)		0,0357
Koefisien variasi (KV) (%)		0,23
Ketepatan (%)		3,59
% Recovery		96,41

Validasi ketelitian dapat ditentukan dari simpangan baku dan koefisien variasinya. Koefisien variasi menunjukkan suatu ketidaktelitian pengukuran. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa koefisien variasi pada standar lamivudin 40,00 mg adalah 0,23%. Nilai KV yang diizinkan adalah $\leq 2\%$, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan mempunyai ketelitian yang baik.

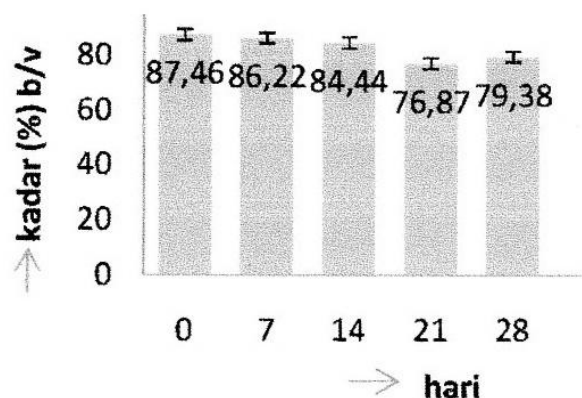
Hasil ketepatan yang diperoleh pada spektrofotometri UV-Vis adalah 3,59%. Menurut Harnita (2004) menyatakan bahwa selisih kadar pada berbagai penentuan harus 5% atau kurang pada setiap konsentrasi analit pada saat prosedur dilakukan. Nilai ketepatan yang didapatkan menunjukkan bahwa metode analisis Spektrofotometri UV-Vis memenuhi persyaratan. Maka, metode analisis Spektrofotometri memiliki

ketepatan yang baik dan dapat digunakan untuk analisis kuantitatif Lamivudin.

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai perolehan kembali (% *recovery*) pada standar lamivudin adalah 96,41%. Nilai ini dapat diterima karena memenuhi syarat akurasi dengan rentang rata-rata hasil persen perolehan kembali adalah 80-110% (Gonzalez, *et. al.*, 2010 dalam Gandjar dan Rohman, 2013).

Stabilitas Sampel

Stabilitas suatu sediaan obat ditentukan oleh beberapa faktor seperti suhu, kelembaban, cahaya, pH, dan lain-lain. Pada hasil penelitian selama penyimpanan puyer lamivudin dalam suhu $39 \pm 1^\circ\text{C}$ dan kelembaban $58 \pm 2\%$ selama satu bulan, memberikan data mengenai stabilitas pada kadar dari masing-masing puyer obat lamivudin pada setiap minggu, yakni pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28. Terjadi penurunan pada kadar lamivudin yang terkandung pada sediaan puyer, seperti pada Gambar 3. sebagai berikut :



Gambar 3. Diagram perubahan kadar lamivudin

Gambar 3 menunjukkan adanya penurunan kadar lamivudin pada setiap minggu. Pada hari ke-0 jumlah kadar lamivudin yang terkandung dalam puyer adalah 87,46%. Selanjutnya pada hari ke-7, kadar lamivudin pada puyer mengalami penurunan yakni dengan kadar 86,22%. Begitu pula pada minggu berikutnya yakni pada hari ke-14 dengan kadar 84,44%, pada hari ke-21 dengan kadar 76,87%, dan pada hari ke-28 dengan kadar 79,38%. Hal ini terjadi karena homogenitas dari masing-masing bungkus puyer lamivudin berbeda-beda.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Penentuan kadar lamivudin standar secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 271,8 nm memberikan garis regresi yang linier dengan persamaan $y = 0,045x - 0,005$ dan koefisien korelasi (r^2) = 0,9998, Batas deteksi dan batas kuantitasi yang diperoleh berturut-turut adalah 0,46 ppm dan 1,53 ppm. Koefisien variasi (KV) sebesar 0,232% dengan ketepatan sebesar 3,5925% dan persen perolehan kembali sebesar 96,41%.
2. Stabilitas puyer lamivudin mengalami penurunan dan ketidakstabilan setelah disimpan pada suhu $39 \pm 1^\circ\text{C}$ kelembaban $58 \pm 2\%$ selama satu bulan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai stabilitas obat lamivudin dalam bentuk sediaan puyer racikan dengan metode lain seperti IR dan GC-MS, menggunakan variasi waktu yang lebih lama dengan penyimpanan pada suhu ruangan dan suhu rendah. Serta perlu dilakukan penelitian mengenai perubahan bentuk kristal dari puyer lamivudin tersebut selama penyimpanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Rasmaya Niruri, S.Si.,M.Farm.Klin.,Apt., Ni Putu

Diantariani, S.Si., M.Si., dan I Gusti Ngurah Agung Dewantara Putra, S.Farm., M.Sc., Apt., serta kepada semua pihak yang membantu dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Drs. I Gusti Gupta Widotama, SpFRS., yang telah memberikan bantuan zat kepada penulis untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktur Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2006, *Pedoman Pelayanan Kefarmasian untuk Orang dengan HIV/AIDS (ODHA)*, Depkes RI, Jakarta
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2012, *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*, Pustaka Pelajar (Anggota IKAPI), Jogjakarta
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Review*, Majalah Ilmu Kefarmasian, I (3) : 117-135
- Katzung, B. G., 2004, *Farmakologi Dasar dan Klinik, Buku 3, Edisi 8*, Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Surabaya
- USFDA, 1995, *Drug and Polymer Profiles*, <http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/3453/13/13_chapter%202.pdf>, diakses pada tanggal 23-10-2012
- WHO, 2009, *Buku Saku Pelayanan Anak di Rumah Sakit*, WHO Indonesia, Jakarta, <http://whqlibdoc.who.int/publications/2005/9789791947701_ind.pdf>, diakses pada tanggal 21-10-2012