

## VALIDASI METODE ANALISIS SPEKTROFLUOROMETRI UNTUK PENETAPAN KADAR SIPROFLOKSASIN GENERIK DALAM SAMPEL URIN MANUSIA

Erlien Dwi Cahyani

Program Studi Farmasi DIII (Kampus Kota Madiun) - Fakultas Vokasi  
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

### ABSTRACT

*Ciprofloxacin tablet generic usage has been increasing recently due to its economically reason. The generic tablet needed to assure its bioequivalence towards the innovator, one of them by determining total amount of ciprofloxacin excreted in urine. The aim of this research was to validate the simple, selective and sensitive spectrofluorometric analysis method to determine total amount of ciprofloxacin excreted in human urine sample that can be developed for bioequivalence study purpose. Urine samples were obtained from the subjects of six healthy men who were asked to take ciprofloxacin tablet. The assay of ciprofloxacin in tablet preparation were tested its validation according to linearity, accuracy, precision, limits of detection (LOD) and limits of quantitative (LOQ). The validation parameter with analysis method obtained linear regression curve  $Y = 0,6878X + 2,8332$  ( $r = 0,9994$ ) with limits of detection and limits of quantitation were  $0,0721 \mu\text{g/ml}$  and  $0,2402 \mu\text{g/ml}$  respectively, coefficient of variation of  $0,0036\%$ , and accuracy value of  $92,81\%$ . The total amount of ciprofloxacin excreted was within the range of  $270,19 \mu\text{g/ml}$  to  $341,91 \mu\text{g/ml}$ .*

**Keywords:** Spectrofluorometry, Ciprofloxacin, Method Validation, Urine Sample

### A. Pendahuluan

Infeksi saat ini masih menjadi penyebab masalah kesehatan utama dengan persentase yang cukup besar di seluruh dunia. Infeksi menyebabkan jumlah angka kesakitan dan kematian yang tinggi. Salah satu penyebab dari tingginya angka kejadian infeksi adalah bakteri yang semakin resisten, mobilitas penduduk yang tinggi dan meningkatnya pathogen penyakit menular (Blasi, *et al.*, 2005). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) merilis data bahwa dari tahun 2002 sampai dengan tahun 2030, infeksi akan menjadi penyebab kematian terbesar di seluruh dunia pada urutan ke 5. Hal ini mendorong semakin berkembangnya obat antibiotik untuk mengatasi masalah kesehatan ini (Becker *et al.*, 2005).

Siprofloksasin merupakan salah satu antibiotik golongan fluorokuinolon yang digunakan secara luas untuk mengatasi infeksi oleh karena spektrum aktifitasnya yang luas. Dalam sebuah penelitian terhadap penggunaan antimikroba golongan fluorokuinolon di Departemen Penyakit Dalam RUMKITAL Dr. Ramelan Surabaya, sebanyak 57 pasien objek penelitian, 49,1% mendapatkan terapi dengan siprofloksasin, 29,83% mendapatkan terapi dengan levofloksasin, dan 5,2% diterapi dengan gatifloksasin (Primanthari, 2006).

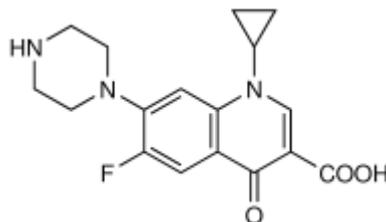
Obat generik adalah obat yang apabila nama patennya habis masa berlakunya, maka perusahaan farmasi lain dapat memasarkan obat tersebut dan dapat dipasarkan dengan nama generiknya, yaitu nama umum yang ditetapkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) (Yusuf, 2016). Obat generik harus memiliki mutu khasiat dan keamanan yang setara dengan obat paten. Siprofloksasin generik sediaan tablet merupakan salah satu antibiotika yang banyak digunakan untuk mengatasi infeksi. Siprofloksasin tablet generik harus memiliki efikasi, keamanan dan mutu yang setara dengan obat paten. Salah satu cara untuk menjamin mutu dan khasiat obat generik yaitu dengan melakukan uji ketersediaan hayati. Salah satu indikator ketersediaan hayati adalah kadar maksimum obat dalam tubuh setelah dikonsumsi ( $C_{max}$ ), yang dapat diperoleh dengan melakukan penetapan kadar obat dalam matriks serum atau urin (Shargel *et al.*, 2005).

Diperlukan metode penetapan kadar siprofloksasin yang sederhana, akurat dan spesifik sehingga dapat dikembangkan untuk melakukan uji ketersediaan hayati. Spektrofluorometri merupakan salah satu metode analisis senyawa obat yang berdasarkan pada penyerapan radiasi suatu molekul yang berfluoresensi. Siprofloksasin dapat membentuk kelat dengan logam sehingga menghasilkan molekul yang meningkat intensitas fluoresensinya (El-Kommos, *et al.*, 2002). Berdasarkan hal tersebut maka dalam penelitian ini dilakukan penetapan kadar siprofloksasin tablet generik dengan menggunakan metode spektrofluorometri dalam sampel urin manusia.

## B. Tinjauan Pustaka

### 1. Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan golongan quinolon yang dihasilkan dari 4-kuinolon terfluorinasi dan menunjukkan peningkatan efek terapi yang besar dari kuinolon oleh karena memiliki spektrum aktivitas yang besar dan efektif setelah pemberian oral untuk terapi berbagai macam penyakit infeksi (Petri, 2006). Siprofloksasin merupakan antibakteri spektrum luas yang menghambat sintesis DNA melalui aktivitas spesifiknya pada DNA girase, yang terdiri atas subunit A dan B. Siprofloksasin aktif melawan sebagian besar bakteri aerob gram-negatif, termasuk *Enterobacteriaceae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Siprofloksasin juga aktif melawan banyak bakteri aerob gram-positif meliputi stafilokokus yang menghasilkan penisilinase, tidak menghasilkan penisilinase, dan resisten terhadap metisilin, meskipun banyak galur streptokokus yang relatif resisten terhadap obat ini (McEvoy, 2004).



Gambar 1. Struktur Kimia Siprofloksasin (Sweetman, 2005)

Berbagai penelitian metode analisis untuk siprofloksasin telah dilakukan, antara lain metode titrasi bebas air, spektrofotometri UV-Vis, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan detektor UV maupun fluoresensi. Siprofloksasin memiliki gugus karbonil (C=O) dan molekul ikatan rangkap terkonjugasi (gambar 1) yang memungkinkan senyawa ini memiliki intensitas fluoresensi. Dikarenakan intensitas fluoresensi pada molekul ini masih rendah sehingga diperlukan peningkatan intensitas fluoresensi yaitu dengan pembentukan kelat dengan logam (El-Kommos *et al.*, 2002; Satiadarma, *et al.*, 2004; Schneider, 2009).

## 2. Spektrofluorometri

Teknik analisis spektroskopi didasarkan pada antar aksi radiasi elektromagnetik dengan komponen atom atau molekul yang menghasilkan fenomena bermakna sebagai parameter analisis. Pada spektroskopi, pembangkit sinyal adalah hasil antar aksi energi radiasi elektromagnet dengan elektron dalam atom atau molekul analit yang menyebabkan transisi elektron valensi atom atau molekul dari tingkat energi elektron dasarnya ke tingkat energi elektron tertentu yang lebih tinggi atau meningkatkan energi vibrasi-rotasi ikatan antar atom dalam molekul. Salah satu teknik spektroskopi yaitu spektrofluorometri (Satiadarma *et al.*, 2004).

Spektrofluorometri merupakan bagian dari metode fisiko-kimia fotoluminesensi yaitu suatu metode kolektif dari tiga macam metode analisis meliputi fluoresensi (pendar fluor), fosforesensi (pendar fosfor), dan luminesensi kimia. Fluoresensi ialah cahaya yang dipancarkan oleh senyawa pada tingkat eksitasi yang telah dicapai setelah adanya absorpsi energi radiasi. Suatu senyawa dikatakan fluoresen jika senyawa tersebut dapat menghasilkan fluoresensi. Intensitas fluoresensi sebanding dengan banyaknya molekul yang mengemisikan radiasi, dapat digunakan untuk analisis kuantitatif senyawa fluoresen (Satiadarma *et al.*, 2004).

Beberapa komponen instrumen untuk mengukur fluoresensi memiliki komponen dengan fotometer maupun spektrofotometer UV-Vis. Hampir semua instrumen fluoresensi menggunakan sistem optik *double beam* (berkas radiasi ganda), yang bertujuan untuk mencegah fluktuasi intensitas radiasi dari sumber radiasi yang dipakai. Instrumen spektrofluorometer pada umumnya terdiri atas sumber radiasi, monokromator untuk menyeleksi radiasi eksitasi dan emisi, wadah sampel berupa kuvet, dan detektor yang berfungsi mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik (Mulja dan Suharman, 1995; Skoog, 1998).

## 3. Validasi metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode analisis terdiri dari parameter linieritas, akurasi, presisi, linieritas, serta batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) (Harmita, 2004).

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Nilai linieritas ditentukan

dengan adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $Y = a + bX$  (Harmita, 2004).

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) kadar suatu senyawa yang dianalisis. Untuk mencapai akurasi yang baik dapat dilakukan dengan cara menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur (Harmita, 2004).

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) (Harmita, 2004).

Batas deteksi (*Limit of Detection*, LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi (*Limit of Quantification*, LOQ) diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

## C. Metode Penelitian

### 1. Bahan Penelitian

Serbuk siprofloksasin baku dari PT Kimia Farma, tablet siprofloksasin uji (generik) dari industri, metanol p. a. (J. T. Baker), akuabides (Otsuka Pharmaceutical), dinatrium hidrogen fosfat dihidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) p. a. (Riedel-de Han), ammonium molibdat p. a. (Fluka A. G), sampel urin dari 6 laki-laki dewasa sehat.

### 2. Alat Penelitian

Neraca analitik, sentrifuge, vortex, Spektrofluorometri Hitachi F-4000, Socorex, tabung reaksi, labu ukur, erlenmeyer, gelas beker, batang pengaduk, gelas ukur, *venoject*.

## D. Prosedur Penelitian

### 1. Pembuatan Larutan Dapar Sitrat-fosfat pH 3,4

Larutan dapar sitrat-fosfat pH 3,4 dibuat dengan mencampurkan larutan asam sitrat 0,1 M sebanyak 35,9 ml dengan larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,2 M sebanyak 14,1 ml kemudian ditambahkan aquabidest bebas  $\text{CO}_2$  ke dalam campuran hingga volume tepat 100 ml.

### 2. Pembuatan Larutan Amonium Molibdat 7,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Larutan ammonium molibdat dibuat dengan menimbang 50,0 mg ammonium molibdat kemudian dilarutkan dalam aquabidest volume tepat 500 ml sehingga diperoleh larutan dengan kadar 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Selanjutnya larutan tersebut diambil sebanyak 15,0 ml, kemudian ditambahkan aquabidest hingga volume tepat 200 ml.

### 3. Pembuatan Larutan Baku

Pembuatan larutan baku induk dibuat dari siprofloksasin sehingga diperoleh kadar 500 µg/ml. Larutan baku kerja siprofloksasin dibuat dengan cara mengencerkan larutan baku induk dengan akuabides sehingga menghasilkan rentang kadar 1 µg/ml; 5 µg/ml; 10 µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; dan 200 µg/ml.

### 4. Penentuan Panjang Gelombang (λeksitasi dan λemisi) Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan melakukan pemeriksaan profil intensitas eksitasi dan emisi larutan baku kerja siprofloksasin 500 µg/ml. Larutan baku kerja siprofloksasin 500 µg/ml dipreparasi sesuai dengan metode ekstraksi sampel, kemudian diamati nilai intensitasnya pada rentang panjang gelombang 200-600 nm menggunakan spektrofotometer.

### 5. Perlakuan Sampel

Sampel urin diperoleh dari 6 laki-laki usia 20 - 26 tahun sehat (berdasarkan pemeriksaan fungsi ginjal dan hati). Subyek berpuasa mulai pukul 22.00. Pada hari berikutnya, subyek menampung urin pertama dan digunakan sebagai blanko. Subyek diminta minum siprofloksasin tablet generik dengan air sebanyak 250 ml, kemudian subyek diminta minum air putih sebanyak 250 ml setiap 30 menit dan ditampung sampai sedikitnya tercapai 7 kali waktu paruh eliminasi obat ( $7 \times t_{1/2}$ ) yaitu selama 48 jam. Waktu penampungannya yaitu pada waktu ke 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 48 jam setelah waktu minum obat.

Sampel urin disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan yang diperoleh diambil sebanyak 25 µl dan dimasukkan ke dalam *venoject* yang telah dikalibrasi 10,0 ml, ditambahkan akuabides sebanyak 75 µl. Selanjutnya ditambahkan larutan ammonium molibdat 7,5 µg/ml sebanyak 1,0 ml, dapar sitrat fosfat sebanyak ± 3 ml (hingga diperoleh pH 3,5), kemudian ditambahkan methanol hingga 10 ml dan. Selanjutnya diamati intensitasnya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang eksitasi dan emisi maksimum (El-Kommos, *et al.*, 2003).

### 6. Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis dilakukan dengan menentukan parameter-parameter berikut ini:

#### a. Linieritas

Linieritas dibuat dari larutan baku kerja siprofloksasin mulai dari kadar 5 µg/ml - 500 µg/ml, yang dipreparasi seperti cara ekstraksi sampel, kemudian diamati nilai intensitas dari setiap larutan baku kerja siprofloksasin pada panjang gelombang eksitasi dan emisi maksimum.

Penentuan linieritas suatu metode dapat dilakukan dengan melihat nilai koefisien korelasi ( $r$ ), yang diperoleh dari persamaan garis regresi linear. Suatu metode akan linear bila nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang diperoleh lebih besar dari harga  $r$  tabel. ( $r_{hitung} > r_{tabel}$ ) (Yuwono, dkk., 1999).

#### b. Presisi

Presisi diperoleh dengan cara mengukur intensitas larutan baku siprofloksasin pada kadar 5 µg/ml; 50 µg/ml; dan 500 µg/ml dengan replikasi

sebanyak 3 kali pada setiap kadar kemudian ditentukan nilai koefisien variasinya (KV) menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$KV = \frac{SD}{X} \cdot 100\%$$

di mana SD adalah standar deviasi intensitas larutan dari 3 kali replikasi dan X adalah rata-rata intensitas dari 3 kali replikasi. Suatu metode dikatakan presis bila nilai KV yang diperoleh tidak lebih dari 10% ( $KV < 10\%$ ) (Yuwono, dkk., 1999).

**c. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)**

Batas deteksi dan kuantifikasi dapat ditentukan dengan cara melakukan pengenceran terhadap larutan baku kerja dengan kadar terkecil, yaitu 5 µg/ml yang telah dipreparasi hingga diperoleh 5 larutan baku kerja baru yang lebih kecil kadarnya. Lima baku kerja siprofloksasin tersebut diamati intensitasnya. Dibuat kurva regresi hubungan antara intensitas terhadap kadar. Harga slope dari persamaan garis regresi tersebut merupakan sensitivitas slope (S). Selanjutnya diukur respon blanko beberapa kali dan dihitung simpangan baku respon blanko. Kemudian dihitung harga LOD/LOQ (C) dengan rumus:

$$C = \frac{k \cdot Sb}{S}$$

di mana C merupakan LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantifikasi), k merupakan konstanta (3 untuk batas deteksi dan 10 untuk batas kuantifikasi, S merupakan *slope* persamaan regresi antara kadar dan intensitas dan Sb merupakan standar deviasi intensitas blanko.

**d. Perolehan Kembali Kadar Siprofloksasin dalam Urin (% Recovery)**

Penentuan % *recovery* dilakukan dengan terlebih dahulu membuat larutan baku kerja siprofloksasin dengan kadar 5 µg/ml - 500 µg/ml dalam urin, kemudian dilakukan preparasi dengan cara yang sama dengan penentuan linieritas. Intensitas pengukuran yang diperoleh selanjutnya disubstitusikan ke dalam pengukuran garis regresi linear pada penentuan linieritas, sehingga diperoleh kadar yang diperoleh kembali (*recovery*). Persentase perolehan kembali (% *recovery*) didapatkan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\frac{\text{Kadar yang diperoleh kembali}}{\text{Kadar awal}} \cdot 100\%$$

Metode dikatakan akurat bila persen *recovery* yang diperoleh bernilai 80-100% (Yuwono, dkk., 1999).

**7. Penetapan Kadar Siprofloksasin dalam Urin dengan Metode Spektrofluorometri**

Kadar siprofloksasin dalam urin didapatkan dengan cara menganalisis sampel urin sesuai dengan prosedur ekstraksi sampel dan diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang eksitasi dan emisi maksimum. Untuk perhitungan kadar siprofloksasin didapatkan dengan cara menstutitusikan intensitas sampel ke dalam persamaan garis regresi yang telah dibuat sehingga diperoleh kadar siprofloksasin dalam sampel urin manusia.

## E. Hasil dan Pembahasan

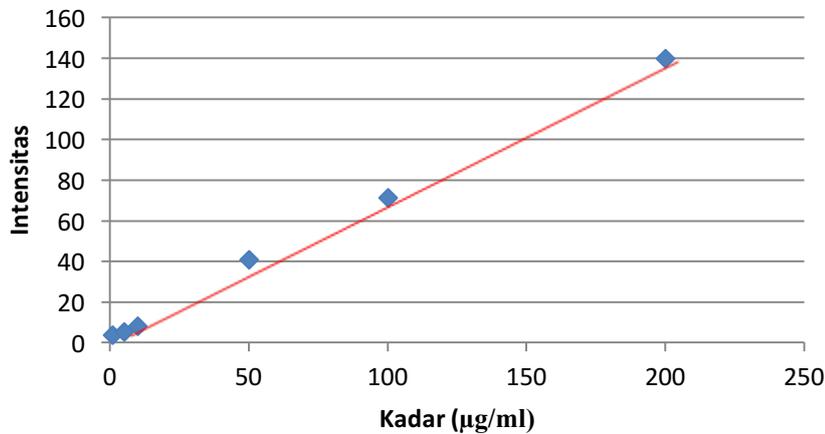
Metode penetapan kadar siprofloksasin yang tertera dalam Farmakope Indonesia edisi V adalah menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan suatu metode analisis alternatif yaitu spektrofluorometri. Metode spektrofluorometri dipilih karena sederhana, lebih cepat dalam pelaksanaannya, membutuhkan biaya yang lebih sedikit, dan memiliki sensitifitas yang tinggi untuk kadar yang rendah dalam sampel. Metode ini dapat dikembangkan untuk menetapkan kadar siprofloksasin dalam sampel urin yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut untuk menetapkan parameter farmakokinetik dan ketersediaan hayati obat dalam tubuh.

Penetapan kadar siprofloksasin secara spektrofluorometri berdasarkan pada struktur gugus karbonil dalam siprofloksasin yang memiliki sifat fluoresensi, akan tetapi masih lemah. Oleh karena itu diperlukan peningkatan intensitas fluoresensinya dengan pembentukan kelat dengan molibdenum. Pembentukan kelat dengan molibdenum dapat meningkatkan intensitas fluoresensi hingga 400 kali lipat dengan tidak mempengaruhi panjang gelombang eksitasi ( $\lambda_{eks}$ ) dan emisi ( $\lambda_{em}$ ) maksimumnya. Dalam penelitian ini diperoleh  $\lambda_{eks}$  dan  $\lambda_{em}$  masing-masing pada 279 nm dan 445 nm (Gambar 2). Penetapan  $\lambda_{eks}$  dan  $\lambda_{em}$  maksimum ini bertujuan agar pengamatan intensitas yang optimal (El Kommos, *et al.*, 2003).

Validasi metode analisis diperlukan jika suatu metode belum pernah digunakan sebelumnya atau belum tercantum dalam suatu kompendial. Validasi metode diperlukan sebagai konfirmasi bahwa metode yang digunakan dapat memberikan hasil yang konsisten dan dapat diandalkan, meskipun digunakan oleh teknisi yang berbeda, atau pada laboratorium yang berbeda, atau oleh keduanya (Sharma, 2018). Parameter validasi metode yang dilakukan meliputi penelitian linieritas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), dan presisi dengan menentukan persen perolehan kembali (% *recovery*).

### 1. Linieritas

Validasi metode linieritas dilakukan dengan membuat larutan baku kerja pada kadar 1  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 50  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , dan 200  $\mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya masing-masing kadar tersebut diukur intensitasnya pada panjang gelombang eksitasi dan emisi maksimum dan dibuat sebuah persamaan garis regresi linear antara kadar dengan intensitas yang terukur sehingga diperoleh persamaan  $y = 0,6878x + 2,8332$ , dengan koefisien korelasi ( $r_{hitung}$ ) sebesar 0,9994 ( $r_{tabel} = 0,754$ , dengan  $df = 5$ ;  $\alpha = 0,05$ ). Berdasarkan Yuwono, dkk. (1999), metode ini dapat dikatakan linear oleh karena  $r_{hitung} > r_{tabel}$ .



**Gambar 2. Kurva Regresi Linear Siprofloksasin**

## 2. Akurasi

Akurasi metode ditetapkan berdasarkan harga persen *recovery*, dimana metode ini dapat dikatakan akurat karena persen *recovery* yang diperoleh yaitu  $92,81 \pm 15,16\%$  berada pada rentang yang dipersyaratkan dalam literatur yaitu 80-100% untuk sampel biologis (Yuwono, dkk., 1999).

**Tabel 1. Hasil Uji Akurasi Siprofloksasin dalam Sampel Urin**

Kadar Siprofloksasin ( $\mu\text{g/ml}$ )	% <i>Recovery</i>
1	120,00
5	79,20
10	77,95
50	91,84
100	93,33
200	94,55
Rata-rata	$92,81 \pm 15,16$

## 3. Presisi

Suatu metode dikatakan memenuhi parameter presisi bila nilai KV yang diperoleh tidak lebih dari 10% (Yuwono, dkk., 1999). Metode dalam penelitian ini dapat dikatakan presis karena nilai KV yang diperoleh adalah sebesar  $0,0199 \pm 0,0184\%$ .

**Tabel 2. Hasil Uji Presisi Siprofloksasin**

Kadar Siprofloksasin	Intensitas Sampel
Replikasi 1	37,67
Replikasi 2	37,76
Replikasi 3	37,94
Rata-rata % KV	0,0036

#### 4. LOD dan LOQ

Pengukuran batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dilakukan dengan mengencerkan kadar terkecil dari baku kerja, yaitu 1 µg/ml, menjadi 5 kadar baru yang lebih kecil yaitu 0,1 µg/ml, 0,2 µg/ml, 0,4 µg/ml, 0,6 µg/ml dan 0,8 µg/ml. dari masing-masing kadar tersebut diukur intensitasnya pada panjang gelombang eksitasi dan emisi maksimum, dan dibuat kurva hubungan antara intensitas dan kadar. Selanjutnya diukur pula intensitas blanko yang direplikasi sebanyak 10 kali. Dari kurva hubungan intensitas dan kadar, nilai slope dari persamaan tersebut merupakan sensitivitas slope (S), harga LOD dan LOQ dapat dihitung menggunakan rumus seperti yang tertulis dalam bab IV. dari hasil perhitungan tersebut diperoleh bahwa batas deteksi spektrofotometer terhadap intensitas siprofloksasin (LOD) adalah sebesar 0,0721 µg/ml dan batas jumlah terkecil siprofloksasin dalam sampel (LOQ) yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama adalah 0,2402 µg/ml.

#### 5. Penetapan Kadar Siprofloksasin Tablet Generik

Pengambilan sampel urin yang mengandung Siprofloksasin ditampung sampai sedikitnya tercapai 7 kali waktu paruh eliminasi obat ( $7 \times t_{1/2}$ ) yaitu selama 48 jam. Waktu paruh adalah waktu yang diperlukan oleh senyawa obat untuk mencapai setengah dari kadar maksimumnya dalam darah. Penetapan 7 kali  $t_{1/2}$  diharapkan bahwa seluruh Siprofloksasin telah diekskresikan seluruhnya dari dalam tubuh (Shargel, 2005).

**Tabel 3. Kadar Total Siprofloksasin dalam Sampel Urin**

Subyek	Kadar Total Siprofloksasin (µg/ml)
AR	341,91
JO	320,62
AL	315,76
SA	313,26
SE	322,29
YA	270,19

Berdasarkan hasil penetapan kadar menggunakan metode spektrofotometer, diperoleh hasil total kadar pada rentang antara 270,19 µg/ml hingga 341,91 µg/ml. Beberapa faktor yang menyebabkan perbedaan rentang hasil

kadar total siprofloksasin perbedaan fisiologis subyek, faktor asupan makanan yang belum dikontrol sehingga dapat mempengaruhi jumlah kadar obat yang diabsorpsi, aktifitas fisik yang tidak dikendalikan sehingga mempengaruhi kecepatan metabolisme obat dalam tubuh subyek (Shargel, 2005).

## F. Kesimpulan dan Saran

### 1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode analisis siprofloksasin menggunakan spektrofotometri memberikan hasil yang linier, akurat, presisi dan batas deteksi serta kuantifikasi yang rendah. Parameter linieritas memberikan korelasi yang memenuhi persyaratan dengan nilai  $r$  hitung lebih dari  $r$  tabel. Hasil koefisien variasi sebesar  $0,0199 \pm 0,0184$  %, persen perolehan kembali (% recovery)  $92,81 \pm 15,16$  %, serta memiliki batas deteksi dan batas kuantifikasi masing-masing sebesar  $0,0721 \mu\text{g/ml}$  dan  $0,2402 \mu\text{g/ml}$ .

### 2. Saran

Perlu dilakukan aplikasi metode spektrofotometri untuk menetapkan parameter farmakokinetik dari tablet siprofloksasin menggunakan sampel urin.

## Daftar Pustaka

- Becker, K., Hu, Y., Andorno, N. B., 2005. Infectious Disease – A Global Challenge. *International Journal of Medical Microbiology*, Vol. 296, pp. 179-185.
- Blasi, F., Tarsia, P., Aliberti, S., Santus, P., Allegra, L., 2005. Highlite on the Appropriate Use of Fluorofquinolones in Respiratory Tract Infection. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 19, pp. 11-19.
- El-Kommos, M., Saleh, G.A., El-Ghizawi, S.M., Abou-Elwafa, M.A. 2002. Spectrofluorometric Determination of Certain Quinolon Antibacterials Using Metal Chelation. *Talanta*. Vol. 60: 1033-1050.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1 (3): 117-135.
- Mulja, M. dan Suharman, 1995. Analisis Instrumental. Airlangga University Press: Surabaya. pp. 82-91.
- McEvoy, G. K., 2002. *AHFS Drug Information*. American Society of Health System Pharmacists. pp. 764-780.
- Petri, William A., Jr. 2006. *Sulfonamide, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Quinolones, and Agents for Urinary Tracts Infections*. In: Laurence L. Brunton (Eds.). Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. 11<sup>th</sup>. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Primanthari, A. K. 2006. Studi Penggunaan Antimikroba Golongan Fluorokuinolon di Departemen Penyakit Dalam RUMKITAL dr. Ramelan Surabaya. *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

- Satiadarma, *et. al.*, 2004. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*, ed. 1. Surabaya: Airlangga University Press. pp. 98-106.
- Schneider, M. J. 2009. *Methods for the Analysis of Fluoroquinolones in Biological Fluids*. *Bioanalysis*. Vol. 1 (2): 415-435.
- Shargel, L., Wu-Pong, S., Yu, A. B. C., 2005. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. Ed. 5<sup>th</sup>, Boston: McGraw-Hill's Companies, Inc.
- Sharma, S., Goyal, S., Chauhan, K. 2018. A Review on Analytical Method Development and Validation. *Int. J. App. Pharm.* Vol. 10 (6): 8-15.
- Skoog, 1998. *Principles of Instrumental Analysis*, Ed. 5<sup>th</sup>. Florida: Harcourt Brace & Company. pp. 355-370.
- Sweetman, Sean, C.(Eds.), 2005. *Martindale the Complete Drug Reference*, ed. 34<sup>th</sup>. London: Pharmaceutical Press.
- Wisudyarningsih, B. 2012. Studi Performulasi: Validasi Metode Spektrofotometri Ofloksasin dalam Larutan Dapar Fosfat. *Stomatognatic (J.K.G. Unej)*. Vol (9)2: 77-81.
- Yusuf, Faisal. 2016. Studi Perbandingan Obat Generik dan Obat dengan Nama Dagang. *Jurnal Farmanesia*. Vol. 9 (11): 5-10.
- Yuwono, M., Muhammad, M. Indrayanto, G., 1999. *HPLC*. Surabaya: Unit Layanan Konsultasi, Pengujian dan Kerjasama Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, hal. 2, 49-57.