Journal Matematika dan Pengetahuan Alam
Vol. 4, No. 1, Th. 1995 ISSN: 0853-0033

PENGUJIAN RELIABELITAS METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET SISTEM DUA KOMPONEN UNTUK PENENTUAN KADAR RIFAMPISINA YANG TERCAMPUR DENGAN PRODUK OKSIDASINYA

Akmal
Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas

ABSTRACT

Reliability of UV-Spectrophotometric method of two component to determine rifampicin and its oxydation product has been carried out. Measurement was made on two wavelengths 323 and 333 nm in phosphat buffer solution (pH 7,40). The result showed that the method was reliabel enough with mean errors of 0.23 % for rifampicin and 0.233 % for its oxydation product. The both figures refeal standart of deviation 1.728 % and 2.069 % respectively for rifampicin and its oxydation product. The advantage of this method is its capability to determine rifampicin content in the intact form and its oxydation product without any preliminary separation.

PENDAHULUAN

Metode penetapan kadar rifampisina yang biasa dilakukan yaitu cara spektrofotometri visibel, yang diukur pada panjang gelombang maksimum 475 nm dalam larutan dapar fosfat pH 7,40. Akan tetapi cara ini hanya baik digunakan untuk penentuan rifampisina murni, dan tidak repat lagi untuk penentuan rifampisina yang sebagian telah teroksidasi, karena serapan (absorban)nya akan diganggu oleh produk oksidasinya (Akmal, 1992). Akibatnya dapat terjadi kekeliruan dalam penentuan kadar rifampisina dalam sediaan obat, karena hasil oksidasi tersebut masih tetap terdeteksi padahal potensinya sudah sangat rendah (Akmal, 1993a : Akmal dkk, 1993b : Akmal, 1994a, Akmal, 1994b).

Oleh karena itu perlu dicari metode yang spesifik dan teliti terutama untuk penentuan kadar rifampisina yang tercampur dengan produk degradasinya. Cara yang akan diteliti reliabilitas (keandalan)nya pada percobaan ini adalah spektrofotometri ultraviolet sistem dua komponen. Dengan cara ini pengukuran

dapat dilakukan pada dua panjang gelombang maksimum dan perhitungan kadar masing-masingnya dilanjutkan berdasarkan penurunan hukum Lamber-Beer dengan mencari dua konsentrasi zat dari dua persamaan (Knowles, 1984 : Permadi, 1987). Cara ini diperkirakan lebih spesifik dan praktis, karena dapat menentukan kadar rifampisina dalam bentuk utuh dan kadar produk oksidasinya tanpa melakukan pemisahan terlebih dahulu. Secara teoritis metode ini dapat digunakan, karena rifampisina dalam larutan dapar fosfat memberikan dua puncak serapan maksimum yaitu pada 333 dan 474 nm, sedangkan produk oksidasinya pada 323 dan 449 nm (Akmal, 1993c : Akmal, 1993d).

Suatu metode penetapan kadar obat dikatakan reliabel (andal) apabila hasil yang diperoleh dapat dijamin ketelitian, ketepat-ulangannya dan kepraktisannya. Ketelitian, dapat digambarkan oleh kesalahan rata-rata yang diperoleh, sedangkan ketepat-ulangan terlihat dari standar deviasi (Akmal, 1994c : Satiadarma dkk, 1981).

METODE PENELITIAN

1. Pemeriksaan Bahan Baku Rifampisina

   Pemeriksaan meliputi : pemerian, titik leleh, identitas, kemurnian, keasaman, kadar dan potensinya (Yuhan, 1984 : WHO, 1988: USP, 1990).

2. Pembuatan Produk Oksidasi Rifampisina

   Pembuatan dilakukan dari rifampin standar dengan cara mengoksidasinya menggunakan amonium persulfat dalam tetrahidrofuran pada pH 7,40 seperti yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya (Kim, 1984)

3. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

   Ditentukan panjang gelombang serapan maksimum rifampisina dan produk oksidasinya dalam larutan dapar fosfat pH 7,40 dan dipilih puncak-puncak serapan yang berada dalam daerah ultraviolet (Florey, 1976; WHO, 1991).

4. Penentuan Kadar Rifampisina yang Tercampur dengan Produk Okidasinya

   Penentuan dilakukan dengan mengukur serapannya pada dua panjang gelombang serapan maksimum yang berbeda pada berbagai perbandingan konsentrasi rifampisina dan produk oksidasinya (Knowles and Burgess, 1984; Shimadzu, 1986; Pescock et al., 1976, Permadi, 1987).

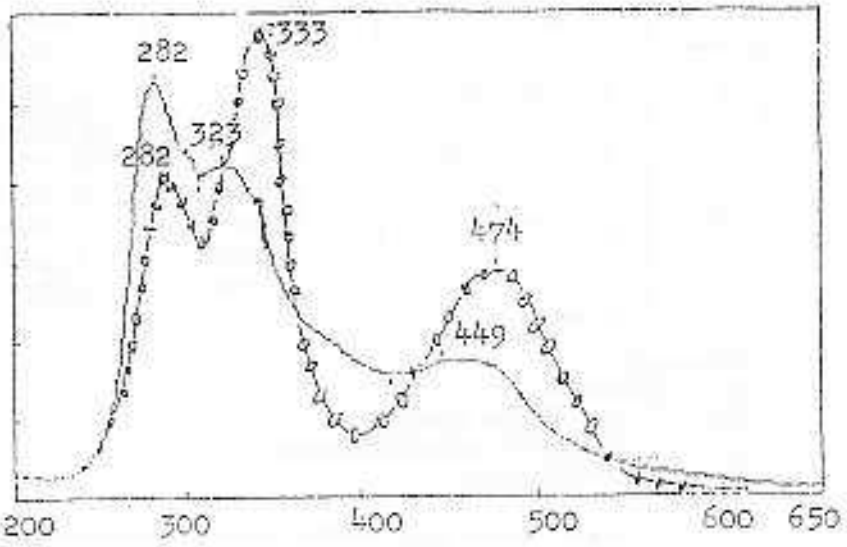
5. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara statistik dengan dengan cara menghitung besarnya kesalahan rata-rata dan standar deviasinya.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil pemeriksaan bahan baku rifampisina yang meliputi pemerian, titik leleh, identitas, kemurnian, keasaman, kadar dan potensinya, memenuhi persyaratan resmi dan dapat digunakan sebagai bahan baku standar pada percobaan ini. Begitu juga dengan produk oksidasi rifampisina yang telah disintesis dari rifampisina murni menurut metode yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya (Kim, 1984).

Pada penentuan panjang gelombang serapan maksimum rifampisina dan produk oksidasinya dalam larutan dapar fosfat pH 7,40, diketahui bahwa rifampisina mempunyai tiga puncak serapan yaitu pada : 282, 33 da, 474 nm, sedangkan produk oksidasinya pada : 282, 323 dan 449 nm (Gambar 1).



Gambar 1 : Spektrum serapan UV-VIS rifampisina dan produk oksidasinya dalam larutan dapar fosfat pH 7,40.

Keterangan : —o— : Rifampisina
— : Produk Oksidasi Rifampisina

Karena puncak serapan pada 282 nm tepat sama, maka puncak ini tidak dapat digunakan, puncak yang dipilih pada percobaan ini adalah yang berada pada daerah ultraviolet yaitu 323 dan 333 nm. Sedangkan puncak-puncak yang terdapat pada daerah visibel yakni 449 dan 474 nm juga dapat digunakan dan hal ini telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Akmal, 1994c). Pengukuran serapan dilakukan dalam larutan dapar fosfat pH 7,40, sesuai dengan pH stabilitas dari rifampisina (Akmal, 1993d).

Pada percobaan ini, rifampisina dan produk oksidasinya dicampurkan sedemikian rupa dengan tingkat perbandingan tertentu, kemudian dilakukan pengukuran serapannya pada dua panjang gelombang serapan maksimum yang berbeda yaitu pada 323 dan 333 nm (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengukuran Serapan Rifampisina dan Produk Oksidasinya dalam Larutan Dapar Fosfat pH 7,40 pada l maksimum 323 dan 333 nm.

No.	RF + ORF (ug/ml)	Serapan	
		λ 323 nm	λ 333 nm
1.	5 + 35	0,771	0,738
2.	10 + 30	0,834	0,823
3.	15 + 25	0,901	0,908
4.	20 + 20	0,965	0,993
5.	25 + 15	1,029	1,079
6.	30 + 10	1,095	1,164
7.	35 + 5	1,159	1,250

Keterangan :
RF : Rifampisina
ORF : Produk Oksidasi Rifampisina
323 nm : l maks Produk Oksidasi Rifampisina
333 nm : l maks Rifampisina

Dari data serapan yang diperoleh tersebut, perhitungan kadar yang didapatkan kembali (recovery) dilakukan dengan penurunan Hukum Lamber-Beer. Untuk menentukan kadar komponen 1 dan komponen 2 dalam campuran tersebut dilakukan dengan menggabung persamaan (1) dan (2) dan diselesaikan dengan metode dua persamaan dengan dua bilangan gaib.

Hasil perhitungan kadar masing-masing komponen dalam campuran dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 : Hasil Penetapan Kadar Rifampisina yang Tercampur dengan Produk Oksidasinya

No.	RF + ORF Teoritis (ug/ml)			RF + ORF Didapat (ug/ml)		
1.	5	+	35	4,905	+	35,179
2.	10	+	30	10,175	+	29,612
3.	15	+	25	14,715	+	25,536
4.	20	+	20	19,803	+	20,342
5.	25	+	15	25,087	+	14,806
6.	30	+	10	29,810	+	10,357
7.	35	+	5	35,095	+	4,822

Keterangan :

RF : Rifampisina
ORF : Produk Oksidasi Rifampisina
Besar Kesalahan Rata-rata RF : 0,230 %
Besar Kesalahan Rata-rata ORF : 0,233 %
Standar Deviasi RF : 1,728 %
Standar Deviasi ORF : 2,069 %

Dari hasil perhitungan secara statistik didapatkan tingkat reliabelitas metode spektroforometri ultraviolet sistem dua komponen ini untuk penetapan kadar rifampisina yang tercampur dengan produk oksidasinya sebagai berikut : kesalahan rata-rata sebesar 0,230% untuk rifampisina dan 0,233 % untuk produk oksidasinya serta dengan standar deviasi 1,728 % untuk rifampisina dan 2,069 % untuk produk oksidasinya. Hal ini menunjukkan bahwa metode ini cukup reliabel untuk penentapan campuran rifampisina dengan produk oksidasinya. Di samping itu, metode ini lebih sederhana, cepat dan praktis karena dapat menentukan secara langsung kadar kedua komponen dalam campuran tanpa harus melakukan pemisahan terlebih dahulu.

Jika dibandingkan dengan metode resmi yang digunakan selama ini, cara ini lebih baik dan menghasilkan tingkat ketelitian yang lebih tinggi. Begitu juga bila dibandingkan dengan metode yang sama tapi pengukuran dilakukan pada daerah visibel (panjang gelombang 449 dan 474 nm) yang telah diteliti sebelumnya (Akmal, 1994c), metode inipun memberikan hasil yang lebih baik, yaitu dengan tingkat kesalahan rata-rata dan standar deviasi yang lebih rendah.

KESIMPULAN

Dari percobaan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, metode spektrofotometri ultraviolet sistem dua komponen yang diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 323 dan 333 nm, cukup reliabel untuk penetapan kadar rifampisina yang tercampur dengan produk oksidasinya.

DAFTAR PUSTAKA

Akmal (1992), Studi Korelasi Penentuan Kadar Rifampisina dalam Larutan Air dengan Cara Spektrofotometri Uv-Vis dibandingkan dengan Penetapan Potensi dengan Cara Mikrobiologi, Tesis Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung, 1-50.

Akmal (1993a), Isolasi Senyawa Hasil Oksidasi Rifampisina dalam Sediaan Obat Cair dan Pengujian Aktivitas Mikrobiologinya, Majalah Farmasi Indonesia 4(1), 15-20.

Akmal, Fauzia Rozani, Yovita Lisawati, Zadiar dan Hendri (1993b), Uji Keandalan Beberapa Metode Kimia untuk Penentuan Kadar Rifampisina, Laporan Penelitian SPP/DPP Universitas Andalas, 1-15.

Akmal (1993c), Suatu Telaah Kesejajaran antara Kadar dan Potensi Rifampisina dalam Larutan Air pada Berbagai Kondisi Penyimpanan, Jurnal Penelitian Andalas 12, 128-137.

Akmal (1993d), Potensi Mikrobiologi Beberapa Senyawa Hasil Degradasi Rifampisin dalam Larutan Air, Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Industri, Bandung,

Akmal, Almahdy A. (1994a), Teknik Perhitungan Potensi Antibiotika dengan Pola Blok Rawu dengan Bantuan Program Komputer Bahasa Basic, Laporan Penelitian Fakultas MIPA Universitas Andalas, Padang, 1-5.

Akmal, Almahdy A. (1994b), Pengaruh Rifampisina Kuinon Terhadap Insidens Malformasi pada Mencit, Laporan Penelitian Fakultas MIPA Padang, 1-25.

Akmal, Fauzia Rozani dan Gusnita (1994c), Uji Keandalan Metode Kimia untuk Penetapan Kadar Ampisilina, Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam, 3(2), 41-47.

Akmal (1994d), Penggunaan Metode Spektrofotometri Visibel Multi Komponen untuk Analisa Kuantitatif Rifampin yang Tercampur dengan Rifampin Kuinon, Prosiding Seminar Ilmiah Peringatan 30 Tahun Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas, Padang.

Florey, K. (Ed.) (1976), Rifampin In : Analytical Profiles of Drug Substances, Academic Press, New York, 470- 505.

Kim, S.J. (1984), Bioavailability of Rifampicin Preparations, J. The Korean National Tuberculosis Association, Soul, 11-14.

Knowles, A and C. Burgess (1984), Practical Absorption Spectrometry, Ultraviolet Spectrometry Group, Chapman and Hall, London, 247.

Permadi, W.(1987), Analisis Kimia Senyawa Antibiotika dengan Metode Spekrofotometri ultraviolet-sinar tampak dan kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Prosiding Seminar Nasional Antibiotika, Bandung.

Pescok, R.L., Shields, L.D., Cairns, T. and McWilliam, I.G. (1976), Modern of Chemical Analysis, 2 nd. ed, John Wiley & Sons, New York, 41-51.

Satiadarma, K., K. Firman, S. Atmawidjaja, T. Gusdinar (1981), Relevansi Pengujian Kimia dan Fisikokimia pada Berbagai Antibiotika Dibandingkan dengan Cara Mikrobiologi, Laporan Penelitian ITB, Bandung

Shimadzu Co. (1986), Sophisticated Quantitative Deter-mination in The Uv-Vis Spectroscopy, Shimadzu Corporation.

United States Pharmacopeial Convention (1990), The United States Pharmacopeia XXII, The National Formulary XVII, United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, 1226-1227.

World Health Organization (1988), The International Pharmacopoeia, Vol.3, World Health Organization, Geneva, 278- 280.

World Health Organization (1991), Analytical Report of Rifampicin quinone, Pharm., 555 (12), 59-63.

Yuhan, Co.(1984), Scientific Profile of Rifampicin, Yuhan Co., Seoul, 1-40.